



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

**Generación de señales de calcio, producción de ROS y activación del factor de transcripción NF –kB en el tejido cerebral por periodontopatógenos:
Revisión sistemática de la literatura**

Hazel Paulina Lira López

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

REVISIÓN SISTEMÁTICA CUALITATIVA

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE

CIRUJANO-DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL

Dra. Andrea Paula-Lima

Adscrito a Proyecto FIOUCH C19-04

Santiago – Chile

2022



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

**Generación de señales de calcio, producción de ROS y activación del factor de transcripción NF –kB en el tejido cerebral por periodontopatógenos:
Revisión sistemática de la literatura**

Hazel Paulina Lira López

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

REVISIÓN SISTEMÁTICA CUALITATIVA

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE

CIRUJANO-DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL

Dra. Andrea Paula-Lima

Adscrito a Proyecto FIOUCH C19-04

Santiago - Chile

2022

Para mi mamá, que sé que estaría orgullosa.

AGRADECIMIENTOS

Ha sido un camino largo y difícil y en cada paso y en cada año fueron apareciendo personas que me impulsaron a continuar, desde amigos, compañeros, pacientes y profesores le agradezco a cada uno de ellos, sobre todo a esos profesores más cercanos que confiaron en mí e hicieron que yo también lo hiciera y llegara a pensar que podría ser una buena dentista.

Agradezco a mis amigos de la universidad y ahora de la vida y para la vida, Cris, Caro, Carlos, Wen e Iveth, pasamos tantos años juntos, ni que nos hubiésemos puesto de acuerdo para partir y terminar al mismo tiempo. Siempre fueron un apoyo, contención y compañía, porque nadie entiende que es estar ahí hasta que lo vive y creo que seremos grandes profesionales.

A mi Pablo, el mejor de todos, mi compañero inseparable que cree más en mí de lo que yo hago. Siempre me ha apoyado y empujado a realizar mis sueños y estar terminado este camino es en gran parte por ti.

Agradecer además a mi familia, a mi tía Fabiola por apoyarme en esta idea loca de cambiarme de carrera y a mi papá que me tuvo que apoyar y lo hace hasta las últimas.

Y por último quiero dar las gracias a mi tutora, la Dra. Andrea y al equipo de BNI. Gracias profesora, porque particularmente este año ha sido super difícil y aun así me ha ayudado y orientado para poder terminar con este proceso. Ha sido un honor tenerla como tutora porque la admiro mucho y es un ejemplo a seguir.

ÍNDICE

	Pag.
1. RESUMEN	
2. INTRODUCCIÓN	1
3. MARCO TEÓRICO	2
3.1 <i>Enfermedad Periodontal</i>	2
3.2 <i>Factor nuclear Kappa B</i>	3
3.3 <i>Asociación entre periodontitis y enfermedad de Alzheimer</i>	7
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	12
5. OBJETIVO GENERAL	12
6. METODOLOGÍA	13
6.1 <i>Protocolos y fuentes de información</i>	13
6.2 <i>Criterios de elegibilidad de los estudios</i>	13
6.3 <i>Métodos de búsqueda para la identificación de los estudios</i>	14
6.4 <i>Selección de estudios</i>	15
6.5 <i>Análisis de riesgo de sesgo de los artículos seleccionados</i>	16
7. RESULTADOS	17
7.1 <i>Descripción de los estudios seleccionados</i>	17
7.2 <i>Análisis de riesgo de sesgo en estudios seleccionados</i>	22
7.3 <i>Asociación entre enfermedad periodontal, estrés oxidativo y enfermedad de Alzheimer</i>	27
7.4 <i>Asociación entre periodontitis, activación de NF-κB y enfermedad de Alzheimer</i>	28
8. DISCUSIÓN	31
8.1 <i>Aumento en la producción de ROS en células de la glía estimuladas con LPS de <i>P.gingivalis</i> en estudios <i>in vitro</i></i>	32
8.2 <i>Asociación entre enfermedad periodontal, deterioro cognitivo y la presencia del marcador de estrés oxidativo en estudio clínico observacional</i>	35
8.3 <i>Posible desregulación en los niveles de [Ca²⁺]_i en células de la glía relacionada a la presencia de periodontopatógenos</i>	36
8.4 <i>El LPS de <i>P.gingivalis</i> activa la vía de señalización de NF-κB</i>	38
8.5 <i>Posible asociación entre periodontopatógenos y sus productos de virulencia con la producción de ROS, la generación de señales de calcio y activación del factor de transcripción NF –κB en el tejido cerebral.</i>	41
8.6 <i>Heterogeneidad de los estudios</i>	42

8.7 Análisis del riesgo de sesgo	43
8.8 Limitaciones del estudio	44
9. CONCLUSIONES	46
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

1. RESUMEN

Introducción: La enfermedad periodontal es una patología inflamatoria crónica multifactorial e infecciosa, caracterizada por una disbiosis de la microbiota oral. Ha sido considerada como un factor de riesgo para patologías que afectan a sitios distantes de la cavidad oral y en las cuáles la inflamación juega un papel importante, como las enfermedades cardiovasculares y la enfermedad de Alzheimer (EA). En la EA ocurre neuroinflamación, donde la activación microglial es fundamental; la microglía se diferencia a un fenotipo proinflamatorio, conocido como fenotipo M1, que induce la producción de ROS, la activación NF- κ B y se impulsa la expresión de mediadores inflamatorios, los cuales podrían actuar directamente sobre las neuronas para inducir muerte neuronal. La activación de la microglía y la disfunción neuronal asociadas a la neuroinflamación dependen en gran medida de la señalización por Ca^{2+} y de la consecuente activación del factor de transcripción NF- κ B. En este trabajo, reunimos sistemáticamente la información existente en la literatura, relacionando la microglía y su papel en la disfunción neuronal asociada a la EA, con la vía de señalización Ca^{2+} /NF- κ B, la cual podría representar un nexo con la enfermedad periodontal.

Metodología: Este estudio se realizó bajo las directrices del protocolo PRISMA del 2020. La búsqueda se realizó en MEDLINE PubMed, WEB OF SCIENCE, LILACS y SCOPUS. Los estudios fueron seleccionados por la autora de la tesis, y confirmados por la tutora principal. Se evaluó el riesgo de sesgo de los estudios con las herramientas Newcastle Ottawa y SYRCLE.

Resultados: Se encontraron 77 artículos y según criterios de elegibilidad se seleccionaron 8 estudios originales (realizados en modelos animales, *in vitro* y uno observacional en humanos) con riesgo de sesgo moderado. No se encontraron estudios que relacionaran la enfermedad periodontal con niveles de Ca^{2+} en células cerebrales. En las investigaciones se observa la activación del Factor NF- κ B en células de la glía expuestas a LPS de *P. gingivalis* asociada con la producción de una multitud de citoquinas inflamatorias implicadas en la neurotoxicidad, y también se observa el aumento del estrés oxidativo, que en conjunto dan lugar a la neuroinflamación.

Conclusión: Los periodontopatógenos contribuyen a la generación de un estado neuroinflamatorio cerebral, estimulando vías de señalización celular, las cuales podrían contribuir a una mayor producción de A β y a la patología de la EA.

Se requieren más estudios que relacionen la desregulación de las señales de Ca $^{2+}$ con la enfermedad periodontal en células cerebrales.

2. INTRODUCCIÓN

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria crónica multifactorial asociada con la microbiota subgingival que provoca una respuesta inflamatoria e inmunitaria del hospedero (Kwon y cols., 2021), involucrando tanto la inmunidad primaria como secundaria (Cekici et al., 2014). En ella se observa por un lado la regulación positiva de factores de transcripción proinflamatorios como el Factor nuclear kappa B (NF- κ B) (Gu & Han, 2020) encargado de la expresión de un conjunto de genes que codifican citoquinas proinflamatorias, quimioquinas, además de otros genes importantes para el desarrollo del sistema inmunológico (Oeckinghaus & Ghosh, 2009): Por otro lado, la periodontitis involucra un desequilibrio oxidativo a favor de las moléculas e iones pro-oxidantes, los cuales desempeñan un papel clave en la pérdida del soporte periodontal (Osorio et al., 2015). Se ha demostrado que la periodontitis, a pesar de ser una enfermedad inflamatoria oral, contribuye a estados patológicos y patología inflamatoria en sitios distantes (Konkel et al., 2019), como es el caso del cerebro afectado por la enfermedad de Alzheimer (EA) (Sansores-España et al., 2021).

La EA se caracteriza patológicamente por la acumulación cerebral de ovillos neurofibrilares (NFT), por la presencia de placas seniles que contienen depósitos extracelulares de péptido β -amiloide (A β) (Teixeira et al., 2017) y por la presencia de neuroinflamación (Webers et al., 2020), siendo la activación microglial un componente principal del proceso (Tang & Le, 2015). La microglía se diferencia a un fenotipo proinflamatorio, conocido como fenotipo M1 que induce la producción de ROS y la activación NF- κ B, que promueve la expresión de mediadores inflamatorios como IL-1 β , IL-6 y TNF- α (Lee et al., 2008), los cuales podrían actuar directamente sobre las neuronas para inducir muerte neuronal (Muñoz et al., 2018).

3. MARCO TEÓRICO

3.1 *Enfermedad periodontal*

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria crónica multifactorial asociada con la microbiota y caracterizada por la destrucción progresiva del aparato de soporte dental. Sus características principales incluyen la pérdida de inserción clínica (CAL), la pérdida de hueso alveolar, la presencia de sacos periodontales, sangrado gingival, pérdida de dientes y disfunción masticatoria (Papapanou et al., 2018). Esta enfermedad es considerada un importante problema de salud pública debido a su alta prevalencia tanto a nivel nacional como mundial (Carvajal, 2016). Se estima que la periodontitis severa afecta al 10% de la población mundial (Peres et al., 2019), y a nivel nacional la enfermedad periodontal está presente en aproximadamente 90% de los adultos chilenos, en distintos grados de severidad (Minsal, 2017).

El inicio y la progresión de la periodontitis están relacionados con múltiples factores etiológicos y de riesgo, dentro de los más importantes se encuentra la microbiota local y la respuesta inmune del hospedero (Pan et al., 2019). En los sacos periodontales, las bacterias se encuentran en un biofilm dental, formado por microorganismos y sus componentes (endotoxina/LPS, factores de virulencia, etc.), en una matriz extracelular de polisacáridos, proteínas y compuestos inorgánicos. La estructura de la biopelícula dental favorece el crecimiento de las células bacterianas periodontales, al tiempo que proporciona protección frente a los mecanismos de defensa del hospedero y los antibacterianos de origen exógeno (Lamont et al., 2018). Siendo considerada una infección bacteriana mixta, la periodontitis es causada principalmente por bacterias anaerobias Gram-negativas y entre los varios patógenos periodontales, existen dos que se asocian claramente a la periodontitis: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) y *Porphyromonas gingivalis* (Pg) (Bascones A & Caballero A, 2000). Sin embargo, la microbiota periodontopatógena es necesaria pero no suficiente para que exista enfermedad, siendo además

fundamental la presencia de un hospedero susceptible (Bascones A & González M, 2003).

La respuesta inmunitaria inflamatoria en la periodontitis es compleja e involucra tanto la inmunidad primaria como secundaria (Cekici et al., 2014). Como resultado de una mayor maduración de la biopelícula, las especies patógenas que se desarrollan en los sacos periodontales poseen una serie de factores de virulencia, antígenos o subproductos que evaden los mecanismos de defensa del hospedero, causando daños a las células y los tejidos a través de interacciones inflamatorias desreguladas, que suelen reclutar neutrófilos, monocitos/macrófagos, células dendríticas, células T y células B (plasmáticas) (Liu et al., 2010). Las células epiteliales y los fibroblastos gingivales interactúan directamente con los microorganismos o sus subproductos, generan y secretan señales moleculares para desencadenar la inflamación y atraer a las células inmunitarias. Las células del hospedero reconocen a los microorganismos a través de la interacción de los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) con los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) presentados por los microorganismos, como son los lipopolisacáridos (LPS), principal componente de las paredes celulares Gram negativas (Gu & Han, 2020). Entre los PRR están los receptores tipo Toll (TLR), que se expresan constitutivamente en la membrana celular de las células del hospedero. El reconocimiento por TLR de ligandos microbianos conduce a la secreción de importantes mediadores moleculares de la inflamación, incluidas citoquinas inflamatorias (como $\text{TNF}\alpha$ e $\text{IL-1}\beta$) y quimioquinas (como CXCL8 / IL-8, CCL2, CCL3 y CCL5). Entonces, cuando los PAMP como el LPS se unen a los TLR, se activa la ruta inflamatoria clásica, lo que conduce a la regulación positiva de factores de transcripción proinflamatorios como el **Factor nuclear kappa B (NF- κ B)** (Gu & Han, 2020).

3.2 FACTOR NUCLEAR KAPPA B (NF- κ B)

NF- κ B es un factor de transcripción evolutivamente conservado que proporciona un medio para lograr respuestas inmunitarias inducibles, específicas y reguladas. Su

función como regulador maestro de la respuesta inflamatoria se debe a su papel crítico en la regulación de la expresión de una variedad de genes relevantes para el sistema inmunitario, en particular los que codifican citoquinas proinflamatorias, quimioquinas y otros genes importantes para el desarrollo del sistema inmunitario (Oeckinghaus & Ghosh, 2009).

Aunque a menudo se le denomina un único factor de transcripción, el NF- κ B en los mamíferos constituye en realidad en una familia de factores de transcripción relacionados estructuralmente, que consta de cinco proteínas, p65 (RelA), RelB, c-Rel, p105/p50 (NF- κ B1) y p100/52 (NF- κ B2), que se asocian entre sí para formar distintos complejos homo y heterodiméricos (Oeckinghaus & Ghosh, 2009). Estos activan un gran número de genes diana mediante la unión a un elemento de DNA específico, induciendo la expresión de varios genes proinflamatorios, desempeñando además un papel fundamental en la regulación de la supervivencia, activación y diferenciación de las células inmunitarias innatas y las células T inflamatorias (Liu et al., 2017). Debido a esta capacidad para influir en la expresión de numerosos genes, la actividad de NF- κ B está estrechamente regulada a múltiples niveles para mantener la homeostasis (Oeckinghaus & Ghosh, 2009), ya que su activación aberrante está relacionada a inflamación crónica, oncogénesis y enfermedad autoinmune (Yu et al., 2020).

En la mayoría de las células no estimuladas, los dímeros de NF- κ B se retienen en forma inactiva en el citosol a través de su interacción con las proteínas inhibidoras, llamados proteínas inhibidoras kappa B (I κ B) enmascarando las señales de localización nuclear de NF κ B (Mitchell & Carmody, 2018). A su vez, el NF- κ B controla la transcripción de I κ B α , dando lugar a un bucle de retroalimentación negativa que provoca oscilaciones en la actividad de NF- κ B y conduce a cambios dinámicos en la expresión génica que pueden depender del número, la duración y la intensidad de dichas oscilaciones (Oeckinghaus & Ghosh, 2009).

La activación de NF- κ B implica dos vías de señalización principales, las vías canónica y no canónica (o alternativa), ambas importantes para regular las respuestas inmunes e inflamatorias a pesar de sus diferencias en el mecanismo de señalización (Liu et al., 2017). La vía canónica responde a numerosos estímulos

como factor de necrosis tumoral α (TNF α), interleuquina-1 β (IL-1 β), interleuquina-6 (IL-6), el ligando activador del receptor NF κ B (RANKL), LPS y otros agentes bacterianos y virales. A través del reconocimiento de productos microbianos por receptores como los TLR, una actividad transcripcional rápida pero transitoria se lleva a cabo para regular la expresión de varios genes proinflamatorios (Yu et al., 2020). Todo lo anterior hace que esta vía sea especialmente importante durante las respuestas inmunitarias innatas en las células de primera respuesta, como los macrófagos (Dorrington & Fraser, 2019)

En esta vía, las diferentes señales convergen en el complejo I κ B quinasa (IKK), compuesto por subunidades catalíticas (IKK α e IKK β), y una subunidad reguladora denominada modulador esencial NF- κ B (NEMO) o IKK γ (Oeckinghaus & Ghosh, 2009). Tras la activación, IKK fosforila I κ B, lo que desencadena su ubiquitinación y degradación proteasomal, liberando dímeros de NF κ B, predominantemente p50/RelA y p50/c-Rel (Liu et al., 2017), permitiéndoles unirse a sitios reguladores del DNA (llamados sitios κ B) y así acumularse rápidamente en el núcleo (Yu et al., 2020). Tras la activación de la vía canónica, el NF- κ B induce la producción de citoquinas como TNF- α e IL-1 β y quimioquinas, la mayoría de las cuales actúan de manera proinflamatoria, lo que a menudo conduce a la activación de NF- κ B y, por lo tanto, constituye un circuito de retroalimentación positiva (Dorrington & Fraser, 2019).

Por otra parte, la vía no canónica NF- κ B responde selectivamente a un grupo específico de estímulos, incluidos ligandos de un subconjunto de miembros de la superfamilia TNFR como LT β R, BAFFR, CD40 y RANK (Mitchell et al., 2016). Esta vía se basa en el procesamiento de la proteína precursora de NF- κ B2, p100, y el procesamiento de p100 implica la degradación de su estructura similar a I κ B C-terminal, lo que da como resultado la generación de p52 de NF- κ B2 maduro y la translocación nuclear del complejo p52/RelB de NF- κ B no canónico (Sun, 2011). Dado que la activación de esta vía implica la síntesis de proteínas, la cinética de activación del NF- κ B en la vía no canónica es lenta pero persistente, en concordancia con sus funciones biológicas en el desarrollo de células inmunitarias y órganos linfoides, homeostasis y respuesta inmunitarias (Yu et al., 2020).

El factor NF- κ B también participa en daño óseo osteoclástico que se produce durante la periodontitis. Lo descrito anteriormente depende del activador del receptor del ligando del factor nuclear κ B (RANKL) que corresponde a una citoquina miembro de la familia TNF. Su función predominante es estimular la diferenciación de los osteoclastos, la fusión y activación celular, lo que lleva a la resorción ósea (Gu & Han, 2020). La unión de RANKL con su receptor RANK en los osteoclastos precursores u osteoclastos diferenciados conduce a la unión de la porción citoplasmática de RANK con una proteína adaptadora denominada TRAF6, la cual estimula una vía de señalización que activa a NF- κ B. Esto permite también la expresión del Factor de Transcripción de Células T Activadas Citoplasmático1 (NFATc1), el cual es el factor de transcripción maestro del osteoclasto. Para que se dé la osteoclastogénesis, este factor de transcripción no solo necesita expresarse sino también activarse, lo cual se da gracias a la acción de la calcineurina, una enzima con actividad fosfatasa que es activada por señales de Ca^{2+} intracelulares que se generan por la interacción RANKL-RANK (Moreno Correa & Contreras Rengifo, 2013). Existen controles y equilibrios y en esta vía, esto toma la forma de un receptor señuelo RANKL llamado Osteoprotegerina (OPG) siendo un factor osteoprotector clave que juega un papel central en la homeostasis ósea ya que se une a RANKL y evita que se asocie con RANK, reduciendo así la tasa de diferenciación de osteoclastos y resorción ósea. La OPG es una proteína soluble, similar a otros miembros de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral, que también se une al RANKL. La actividad biológica de OPG contrarresta los efectos de RANKL compitiendo con el receptor activador RANK por la unión con el ligando (Weitzmann, 2017). Las citoquinas inflamatorias derivadas de células inmunitarias como IL-17, TNF e IL-1 β , así como componentes bacterianos (p. Ej., Lipopolisacáridos) regulan positivamente la relación RANKL/OPG en células osteoblásticas y células del ligamento periodontal, por lo que estos factores pueden contribuir de manera crítica al daño óseo (Tsukasaki, 2021).

Por otro lado, se ha reportado que un desequilibrio oxidativo a favor de las moléculas e iones pro-oxidantes desempeña un papel clave en la pérdida del soporte periodontal. En contraste con el papel ampliamente conocido de las

especies reactivas de oxígeno (ROS) como desencadenantes del daño celular oxidativo, estudios *in vitro* han propuesto que en bajas concentraciones podrían modular la función de las proteínas sensibles al redox, como son el factor de transcripción NF- κ B, los canales de membrana de Ca^{2+} y las enzimas que pueden ser relevantes para la homeostasis e inflamación periodontal (Osorio et al., 2015). Se ha propuesto que el Ca^{2+} extracelular desempeña un papel como segundo mensajero en los fibroblastos hPDL, y que regula el recambio del tejido mineralizado y la inflamación con la participación de la señalización NF- κ B en los cementoblastos murinos (Osorio et al., 2015). La exposición de los hPDL a dosis bajas subletales de hasta 5 μM de H_2O_2 indujeron un aumento rápido y considerable de la concentración de Ca^{2+} libre citoplasmática en los fibroblastos humanos. También se observó una activación dependiente de la dosis de H_2O_2 en la vía del NF- κ B, reflejada en la translocación nuclear de la subunidad p65 y que un quelante de Ca^{2+} previene dicha translocación. A su vez, las citoquinas pueden estimular aún más la producción de ROS en las células fagocíticas, contribuyendo a su fenotipo hiperreactivo durante la periodontitis (Osorio et al., 2015). No obstante, no se pueden descartar otros mecanismos que controlen la señalización del NF- κ B en respuesta al H_2O_2 en los fibroblastos humanos.

3.3 ASOCIACIÓN ENTRE PERIODONTITIS Y ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Se ha demostrado que la periodontitis, a pesar de ser una enfermedad inflamatoria oral, contribuye a estados patológicos y patología inflamatoria en sitios distantes de la cavidad oral (Konkel et al., 2019). Estudios epidemiológicos y experimentales han relacionado la periodontitis con el desarrollo y/o exacerbación de otras enfermedades crónicas, que van desde la artritis reumatoide hasta la enfermedad de Alzheimer (EA) (Sansores-España et al., 2021). Una posibilidad reportada es la de que las bacterias periodontales y sus productos pueden acceder a la circulación, especialmente en presencia de sacos ulcerados, lo que puede dar lugar a la diseminación sistémica de los productos bacterianos y a una inflamación sistémica crónica inducida por la enfermedad periodontal (Sparks Stein et al., 2012).

La EA es la forma más común de demencia, una enfermedad progresiva que causa problemas de memoria, alteraciones en el pensamiento, el lenguaje, la planificación y el comportamiento (Jones & Kounatidis, 2017). La EA se caracteriza patológicamente por la acumulación cerebral de ovillos neurofibrilares (NFT) intraneuronales que contienen proteína tau hiperfosforilada, y por la presencia de placas seniles que contienen depósitos extracelulares de péptido β -amiloide ($A\beta$) (Teixeira et al., 2017), el cual se origina a partir de la proteólisis secuencial de la proteína precursora amiloide (APP) por la β -(BACE1) y γ -secretasas (Qiao et al., 2021), causando disfunción de sináptica y pérdida de neuronas (Teixeira et al., 2017). De acuerdo con la hipótesis de la cascada amiloide, la acumulación, agregación y el depósito de péptido $A\beta$ constituye el paso inicial para la secuencia de eventos que lleva a la demencia en la EA (Haas et al., 1995). Más recientemente, se ha descubierto que otros tipos de agregados de $A\beta$, que no forman los depósitos fibrilares que constituyen las placas seniles, y que, por el contrario, son los oligómeros solubles del péptido ($A\beta$ Os) los más tóxicos, porque justamente pueden circular con el líquido cefalorraquídeo por las diferentes regiones cerebrales (Paula-Lima et al., 2013). Los $A\beta$ Os generan aumentos de ROS (San Martín et al., 2017) y promueven una desregulación de la señalización por Ca^{2+} . En neuronas de hipocampo, los $A\beta$ Os inducen señales anómalas de Ca^{2+} que se inician con la entrada de Ca^{2+} a través de receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA), que posteriormente se amplifican a través de los receptores de ryanodina (RyR), los cuáles son co-activados por las señales de entrada de Ca^{2+} y por el aumento de los niveles de ROS producidos por los $A\beta$ Os (Paula-Lima et al., 2011). Los RyR son canales de Ca^{2+} que median el fenómeno conocido como liberación de Ca^{2+} mediada por Ca^{2+} (o CICR, del inglés, Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release). Los niveles intracelulares excesivos de Ca^{2+} a su vez, conducen a la pérdida del potencial de la membrana mitocondrial, la apertura del poro de transición mitocondrial, la sobreproducción de ROS, la inhibición de las enzimas de la cadena respiratoria y la consiguiente disminución de la síntesis de ATP. Como resultado de este desequilibrio del estado oxidativo, las mitocondrias son incapaces de

restablecer los gradientes de iones transmembrana y, por lo tanto, generar ATP, lo que provoca la muerte celular (García et al., 2020).

Además de lo anterior, la EA también se caracteriza por la presencia de neuroinflamación (Webers et al., 2020), siendo la activación microglial un componente principal (Tang & Le, 2015). Las células de microglía son la población especializada de macrófagos residentes en el sistema nervioso central (SNC) responsables de la defensa inmunitaria cerebral. En condiciones normales, estas células comprenden aproximadamente del 10 al 15% de todas las células del SNC (Dresselhaus & Meffert, 2019), participan en funciones esenciales como la protección contra los estímulos nocivos, incluidos los patrones moleculares asociados a daño (DAMP) (Kwon & Koh, 2020). En respuesta a tales estímulos, la microglía produce citoquinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral (TNF- α), interleuquinas (IL-1 β , IL-16) y quimioquinas para reclutar células adicionales y eliminar agentes patológicos (Hickman et al., 2018). Aunque la neuroinflamación es un mecanismo neuroprotector que visa combatir los patógenos y el daño, la neuroinflamación sostenida puede inducir neurotoxicidad y está relacionada con la neurodegeneración (Kwon & Koh, 2020). Actualmente se reconoce que la activación crónica de TLR2 y/o TLR4 en la microglía conduce a respuestas secretoras y diferenciación fenotípica proinflamatoria, conocida como fenotipo M1 (Block & Hong, 2005), el cual se caracteriza por la producción de niveles aumentados de IL-1 β , IL-6 y TNF- α en respuesta al ataque inflamatorio crónico; por el contrario, el fenotipo inmunomodulador M2 secreta niveles aumentados de IL-4, IL-10 y factor de crecimiento transformante (TGF- β 1) en respuesta a la inflamación cerebral aguda. El incremento en los niveles de citoquinas proinflamatorias y las respuestas microgliales induce un ambiente encefálico inflamatorio crónico que desencadena la generación y acumulación del péptido A β (Lee et al., 2008). Aunque las células M2 pueden neutralizar la presencia de estos mediadores inflamatorios, bajo una producción constante y aumentada de citoquinas, las células M2 no logran su función homeostática, lo que lleva a la activación de las células M1 y la consiguiente inducción de astrocitos (Doens & Fernández, 2014). Estos procesos moleculares y celulares generan una respuesta celular conocida como astrogliosis,

que conduce a estrés oxidativo, baja importación de glucosa y oxígeno, producción de ROS y A β , que afecta la fisiología neuronal (Mirzaei et al., 2022).

A pesar de que el NF- κ B tiene poca actividad basal en las células de la glía, es conocido que, bajo ciertas condiciones, la expresión génica dependiente de NF- κ B en subtipos gliales puede tener resultados beneficiosos para mantener la salud del cerebro a través de la activación de la respuesta inmune. Sin embargo, se ha demostrado que la activación glial excesiva de NF- κ B de forma crónica es neurotóxica (Dresselhaus & Meffert, 2019), teniendo un papel importante en los procesos inflamatorios que son neurodegenerativos (Shabab et al., 2016), asociándose además su desregulación a la patogénesis de la EA (Snow & Albeni, 2016). Por otro lado, neuronas expuestas a un estímulo eléctrico exhiben una entrada de Ca²⁺ que es amplificada por canales de Ca²⁺ de las reservas intracelulares simultáneo a aumento de ROS que llevan a la activación del factor de transcripción NF- κ B, el cual, en este contexto, juega un papel importante en la supervivencia, arborización dendrítica y formación de axones y plasticidad (Riquelme et al., 2011).

Los agregados de A β y los DAMPs pueden desencadenar la activación de las microglías y astrocitos a través de las vías dependientes de TLR, lo que lleva a una inflamación local que puede amplificar aún más la muerte neuronal (Meraz-Ríos et al., 2013). La activación de NF- κ B induce la producción de ROS e impulsa la expresión de mediadores inflamatorios como las citoquinas. Las citoquinas proinflamatorias, como TNF- α , IL-1 β e IL-6 podrían actuar directamente sobre las neuronas para inducir la apoptosis. Además, factores como TNF- α e IL-1 β liberados por la microglía pueden activar los astrocitos, mientras que los factores liberados por los astrocitos pueden conducir a un efecto deletéreo en las neuronas (Muñoz et al., 2018). Los mediadores inflamatorios que actúan sobre las neuronas podrían contribuir a una mayor producción de A β , activando aún más la inflamación mediada por microglía. Por tanto, la comunicación entre las neuronas y la glía puede amplificar la producción de factores neurotóxicos que contribuyen a la patología de la EA (Glass et al., 2010). Es interesante notar que la función de la microglía

también depende en gran medida de la señalización del Ca^{2+} intracelular. Estudios *in vitro* han sugerido que las elevaciones de las concentraciones de calcio intracelular ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) juegan un papel central en el proceso de activación microglial las cuales pueden ser provocadas por lipopolisacáridos, sustancias amiloidogénicas, etc. Se ha demostrado que estas señales de Ca^{2+} mediadas por receptores controlan las funciones de la microglía como la liberación de factores tróficos, NO, así como citoquinas y quimioquinas proinflamatorias (Eichhoff et al., 2011). NF- κ B también puede ser activado en respuesta a aumentos de $[\text{Ca}^{2+}]_i$, lo cual podría perpetuar e incluso aumentar los niveles de A β en un contexto patológico, activando la secretasa BACE1 en células gliales activadas y neuronales (Chami et al., 2012).

Si bien existen múltiples estudios que sugieren que la periodontitis puede estar asociada con la aparición, progresión y agravamiento de la EA (C. K. Chen et al., 2017a; Dioguardi et al., 2020; Ide et al., 2016a; Liccardo et al., 2020; Teixeira et al., 2017), en los cuales se relaciona la exposición a la periodontitis a un aumento de aproximadamente 1,7 veces en el riesgo de desarrollar EA (C. K. Chen et al., 2017), no está completamente claro el mecanismo por el cual estas bacterias y sus productos actúan en células de la glía. La hipótesis de que la inflamación sistémica contribuye a la neurodegeneración a través de la activación microglial y la liberación de moléculas proinflamatorias, lo que impulsa la progresión de la EA, podría relacionarse a diferentes vías de señalización intracelulares que controlan cambios de expresión génica (Dioguardi et al., 2020). En esta tesis, pretendemos revisar la evidencia relacionando periodontopatógenos como la *Porphyromonas gingivalis*, con la alteración en los niveles de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ y ROS y la activación NF- κ B en células cerebrales, de manera a verificar si esta vía pudiese participar, al menos en parte, la asociación entre la periodontitis y la EA.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Los periodontopatógenos podrían activar señales de Ca^{2+} y la producción de ROS, y en forma conjunta activar el factor de transcripción NF- κ B en el tejido cerebral, contribuyendo a la aparición y progresión de la enfermedad de Alzheimer?

5. OBJETIVO GENERAL

Determinar, mediante una revisión de la literatura, si los periodontopatógenos o sus factores de virulencia, promueven la alteración en las señales de calcio, producción de ROS y activación del factor de transcripción NF- κ B en neuronas y células de la glía.

6. METODOLOGÍA

6.1 PROTOCOLO Y FUENTE DE INFORMACIÓN

El presente estudio consta de una revisión sistemática cualitativa, el cual se llevará a cabo según diagrama de flujo “PRISMA” (Declaración de Ítems Preferidos para Reportes para Revisiones Sistemáticas y Metaanálisis) del año 2020 (Page et al., 2021), en base a la pregunta **P.I.C.O.**:

Formato PICoR

- **Población (P):** Personas, modelos animales y/o cultivos celulares de tejido cerebral.
- **Intervención (I):** Exposición a bacterias periodontopatógenas y sus productos en tejido cerebral
- **Comparación (C):** Personas, modelos animales y/o cultivos celulares de tejido cerebral sin exposición a periodontopatógenos y sus productos
- **Resultado (R):** Activación de señales de calcio, de ROS y de factor de transcripción NF- κ B en el tejido cerebral contribuyendo a la aparición y/o progresión de la enfermedad de Alzheimer

La búsqueda de los artículos científicos se realizó en las siguientes bases de datos: PubMed (Biblioteca Nacional de Medicina), Web of Science (Thomson Reuters), LILACS (Literatura Latinoamericana y del Caribe en Ciencias de la Salud) y SCOPUS® (Elsevier).

6.2 CRITERIOS DE ELEGIBILIDAD

Los estudios se seleccionaron según los siguientes criterios:

Criterios de inclusión:

- Estudios realizados en personas, animales o células cerebrales que refieran asociaciones entre la periodontopatógenos y la EA.

- Estudios que se presenten como ensayos clínicos, estudios observacionales (casos y control, cohorte de casos), estudios experimentales *in vivo* e *in vitro*, reportes de casos y literatura gris
- Artículos en idioma inglés o español
- Artículos publicados hasta el 15 de julio del 2022

Criterios de Exclusión:

- Estudios no relacionados a células cerebrales
- Estudios que no se refieran a periodontopatógenos
- Revisiones sistemáticas previas con y sin metaanálisis
- Estudios de etiología infecciosa relacionada a hongos y virus, como también microorganismos bacterianos no relacionados a la cavidad oral

6.3 MÉTODOS DE BÚSQUEDA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LOS ESTUDIOS

Búsqueda Electrónica

La búsqueda de artículos se realizó en las siguientes bases de datos: MEDLINE-PubMed, WEB OF SCIENCE, LILACS y SCOPUS.

Las palabras claves serán: Periodontitis, enfermedad periodontal, *Porphyromonas gingivalis*, Enfermedad de Alzheimer, Factor transcripcional NF- κ B, Calcio y estrés oxidativo.

La estrategia de búsqueda se realizó utilizando los términos MeSH:

Periodontitis OR Periodontal disease OR *Porphyromonas gingivalis* AND Alzheimer disease AND NF kappa b

Periodontitis OR Periodontal disease OR *Porphyromonas gingivalis* AND Alzheimer disease AND Oxidative Stress

Periodontitis OR Periodontal disease OR *Porphyromonas gingivalis* AND Alzheimer disease AND Calcium

Búsqueda manual

Se complementó la búsqueda con la revisión manual de las referencias bibliográficas de los estudios encontrados en la búsqueda electrónica, con la finalidad de incluir artículos que hayan quedado fuera de la estrategia de búsqueda antes mencionada.

6.4 SELECCIÓN DE ESTUDIOS

Recopilación de los datos y análisis de los estudios

Selección de estudios

Los artículos encontrados en las bases de datos fueron ordenados en el software EndNote™, en el cual se eliminaron los duplicados. Posteriormente, se utilizó la plataforma Rayyan® – Intelligent Systematic Review, donde se seleccionaron los artículos por su título y su resumen.

De este primer filtro, se recuperaron los estudios incluidos, se descargaron y ordenaron en una tabla en Microsoft Excel® para evaluar el texto completo. De esta forma, los artículos que cumplieron a cabalidad con los criterios de inclusión fueron utilizados para el desarrollo de esta revisión. De dichos estudios, se revisó sus referencias bibliográficas para investigar en artículos que no hayan sido incluidos en la estrategia de búsqueda inicial.

Se aplicaron los criterios de elegibilidad y en el caso de controversia en la selección de un estudio, se resolvió con una discusión entre la autora y su tutora.

Extracción de datos

Una vez seleccionados los artículos, se realizó la selección de datos mediante un formulario adaptado al estudio basados en el manual Cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones, Versión 5.1.0 con el fin de llevar a cabo un análisis cualitativo de los datos

Extracción de información desde los estudios

Después de ordenar los artículos seleccionados, se procedió a extraer la información de dichos artículos y organizarla en la tabla Excel® antes mencionada.

6.5 ANÁLISIS DE RIESGO DE SESGO DE LOS ARTÍCULOS SELECCIONADOS

Posterior a la selección y organización de los textos, se realizó la evaluación de riesgo de sesgo de los artículos. Para los estudios clínicos no aleatorizados, se utilizó la herramienta Newcastle-Ottawa Scale (NOS), la cual fue diseñada para evaluar la calidad de investigaciones incorporadas en revisiones sistemáticas. Funciona mediante un sistema de estrellas, donde el estudio se evaluó desde tres perspectivas: selección de los grupos de estudio, comparabilidad de los grupos y la determinación de la exposición o el resultado de interés. Se asignó estrellas según las respuestas de cada pregunta dentro de los ítems, posteriormente se contabilizaron y clasificaron los estudios según la escala de calidad “alta” (puntuación mayor a 7 estrellas), “moderada” puntuación de 5 a 7 estrellas) y “baja” (puntuación menor a 5 estrellas) (Wells, 2014).

Para los estudios experimentales realizados en animales, se utilizó la herramienta Systematic Review Center for Laboratory animal Experimentation (SYRCLE), la cual deriva de la herramienta de evaluación de riesgo de sesgo de estudios clínicos aleatorizados de Cochrane (Hooijmans et al., 2014), su escala consta de 10 ítems relacionados con 6 tipos de sesgos (selección, desempeño, detección, deserción, notificación y otros sesgos), que contiene distintas preguntas de señalización que ayudan en el proceso de juicio del estudio. Las respuestas fueron: Si (cuando la pregunta se respondió adecuadamente); POCO CLARO (cuando no hubo suficiente información para responder la pregunta) y NO (cuando la pregunta no fue respondida). Se evaluó un tipo de riesgo de sesgo alto, moderado o bajo según resultado de cada dominio (Hooijmans et al., 2014)

7. RESULTADOS

7.1 DESCRIPCIÓN DE LOS ESTUDIOS SELECCIONADOS

La búsqueda electrónica en las bases MEDLINE-PubMed, WEB OF SCIENCE, LILACS y SCOPUS arrojó un total de 77 artículos.

- 44 artículos corresponden a la búsqueda de Periodontitis OR Periodontal disease OR *Porphyromonas gingivalis* AND Alzheimer disease AND oxidative stress.
- 13 artículos corresponden a la búsqueda de Periodontitis OR Periodontal disease OR *Porphyromonas gingivalis* AND Alzheimer disease AND calcium
- 20 artículos corresponden a la búsqueda de Periodontitis OR Periodontal disease OR *Porphyromonas gingivalis* AND Alzheimer disease AND NF kappa b

Posterior a la eliminación de artículos duplicados, resultaron un total de 63 artículos (38,11 y 14 respectivamente).

Los estudios fueron evaluados dentro de la plataforma Rayyan® – Intelligent Systematic Review por su título y su resumen. Inicialmente se seleccionaron 21 artículos, y luego de ser revisados detalladamente y ordenados en la tabla Excel®, fueron elegidos 4 estudios y excluidos 17 (Figura 1). Los artículos fueron excluidos por no cumplir con los criterios de elegibilidad antes mencionados como por ejemplo no ser estudios realizados en células de la glía, y además gran número de correspondían a revisiones de la literatura, siendo todos los estudios relacionados a calcio excluidos por esta razón.

Con la búsqueda manual (revisión de las referencias bibliográficas de los estudios seleccionados), se agregaron 4 artículos, 3 relacionados al factor NF kappa b y 1 relacionado a estrés oxidativo.

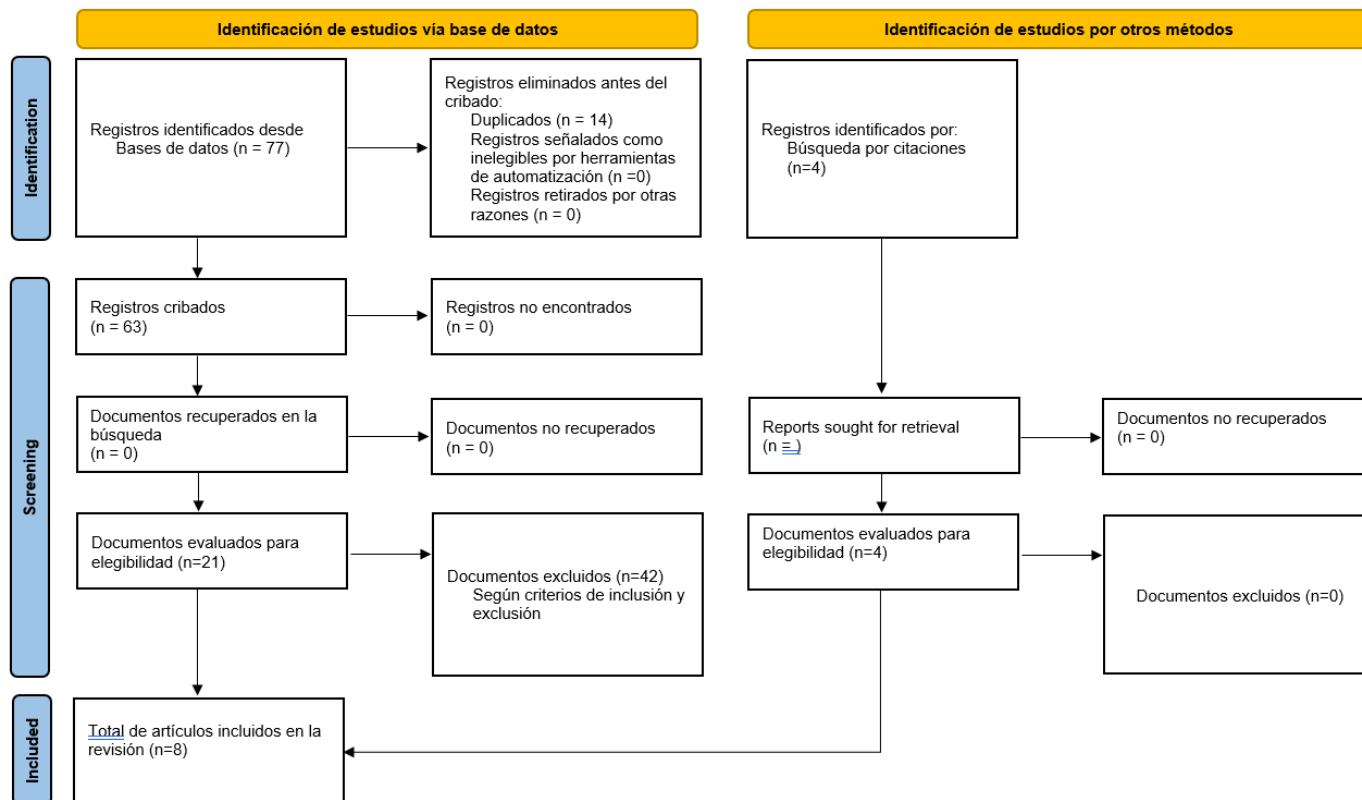


Figura N°1. Diagrama de flujo prisma. Procedimientos de selección de estudios para análisis en revisión cualitativa.

De los 8 estudios seleccionados 4 corresponden a estudios experimentales en animales e *in vitro* (Hayashi et al., 2019; Hu et al., 2020; Wu et al., 2017; Zhang et al., 2018), 3 experimentales *in vitro* (Bahar & Singhrao, 2021; Qiu et al., 2021; Tran et al., 2021) y 1 estudio observacional en humanos (Li et al., 2022)

A continuación, se presenta la Tabla N°1, que resume el análisis de los artículos seleccionados incluyendo con los datos de cada estudio identificando autoría, año de publicación, diseño del estudio y elementos de la pregunta P.I.C.O. (población estudiada, intervención, comparación y resultados) detallada en la metodología de esta revisión.

Tabla N°1. Artículos seleccionados y Extracción de datos.

Tabla de extracción de datos P.I.C.O. de estudios observacionales y experimentales seleccionados

Periodontitis OR Periodontal disease OR Porphyromonas gingivalis AND Alzheimer disease AND Oxidative Stress						
Referencia	Título	Diseño del estudio	Población	Intervención	Comparación	Resultados
An Li, y cols., 2022	Periodontitis and cognitive impairment in older adults: The mediating role of mitochondrial dysfunction	Clínico observacional en humanos	Humanos con Periodontitis en estadio III y IV	Evaluación de estado cognitivo y medición de la concentración de ácido metilmalónico (MMA) circulante como biomarcador de disfunción mitocondrial	Humanos con Periodontitis en estadio I y II	Patógenos derivados de la periodontitis alteran los procesos de producción de energía en las mitocondrias y alteran el equilibrio entre la producción de ROS y las defensas antioxidantes. MMA representó una proporción estadísticamente significativa de la asociación de periodontitis con memoria verbal retrasada y velocidad de procesamiento de información
Bojlul Baha y cols., 2021	An evaluation of the molecular mode of action of trans-resveratrol in the <i>Porphyromonas gingivalis</i> lipopolysaccharide challenged neuronal cell model	Experimental <i>in vitro</i>	Línea celular de neuroblastoma humano	Células tratadas con 10 µg/ml de LPS de <i>P. gingivalis</i>	Células en medio no tratadas con LPS de <i>P. gingivalis</i>	El tratamiento de las células con LPS de <i>P. gingivalis</i> activa la vía de la fosfatidilinositol-3-quinasa/Akt1 (PI3K/Akt1) que conduce a la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la respuesta inflamatoria crónica inducida por la activación del factor nuclear kappa B (NF-κB). Los efectos antioxidantes y antiinflamatorios del trans-resveratrol fueron evidentes a partir de la regulación a la baja de varias quinasas reguladoras clave, receptores transmembrana, enzimas y citoquinas inflamatorias.
Van Thi Ai Tran y cols., 2021	Oral Pathogenic Bacteria-Inducing Neurodegenerative Microgliosis in Human Neural Cell Platform	Experimental <i>in vitro</i>	Microglía humanas de cultivo único y neuronas y astrocitos humanos cocultivados	- 10 ng/ml de LPS de <i>P. gingivalis</i> . - Medios acondicionados bacterianos (BCM) - Medios acondicionados bacterianos con microglías estimuladas (MBCM) - Medios acondicionados de neuronas/astrocitos tratados con BCM o MBCM (NBCM o NMBCM)	Cultivos control no estimulados	La microglía tratada con BCM expresó un nivel significativamente más alto de iNOS y NO en comparación al control. Los medios acondicionados bacterianos con microglía estimulada (MBCM) indujeron astrogliosis y neurodegeneración. La microglía tratada con medios acondicionados con neuronas/astrocitos activó significativamente la vía iNOS, en comparación con las células no estimuladas. Los datos mostraron que la astrogliosis estimulada por BCM también podría inducir la activación microglial.

Periodontitis OR Periodontal disease OR Porphyromonas gingivalis AND Alzheimer disease AND NF kappa b						
Referencia	Título	Diseño del estudio	Población	Intervención	Comparación	Resultados
Che Qiu y cols., 2021	Lipopolysaccharide Preparation Derived from <i>Porphyromonas gingivalis</i> Induces a Weaker Immuno-Inflammatory Response in BV-2 Microglial Cells Than Escherichia coli by Differentially Activating TLR2/4-Mediated NF- κ B/STAT3 Signaling Pathways	Experimental <i>in vitro</i>	Microglia BV-2 derivada del murino C57/BL6	LPS de <i>P. gingivalis</i> (1 μ g/mL) en el medio de cultivo, tratamientos por diferentes tiempos.	LPS de <i>E. coli</i> (1 μ g/mL) en el medio de cultivo tratados por diferentes tiempos.	El LPS de <i>P. gingivalis</i> podría aumentar la expresión génica y la liberación de factores proinflamatorios en las células microgliales BV-2. También se observó un aumento en el nivel de señalización del receptor tipo Toll 2/4 (TLR2/4) y NF- κ B/STAT3. Los cambios mencionados anteriormente fueron más significativos con el LPS de <i>E. coli</i> y los efectos de ambos tipos de LPS podrían revertirse diferencialmente mediante la administración del inhibidor de TLR2 C29 y el inhibidor de TLR4 TAK-242.
Yi Hu y cols., 2020	Periodontitis Induced by <i>P. gingivalis</i> -LPS Is Associated With Neuroinflammation and Learning and Memory Impairment in Sprague-Dawley Rats	Experimental <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	Ratas Sprague-Dawley macho de 10 semanas de edad Microglia y astrocitos de la corteza cerebral	Grupo <i>P. gingivalis</i> y <i>P. gingivalis</i> + TAK-242 (inhibidor eficaz/específico de TLR4) se aplicó de forma tópica de LPS de <i>P. gingivalis</i> (0,5 mg/kg) dos veces por semana en el surco gingival palatino de los primeros molares superiores durante 10 semanas. El grupo LPS + TAK-242 y solo TAK-242 se le inyectó TAK-242 (0,5 mg/kg, ip) dos veces por semana	Ratas controles Sprague-Dawley macho de 10 semanas de edad recibieron inyecciones de solución salina equivalente. Microglia y astrocitos de la corteza cerebral controles	En las pruebas <i>in vivo</i> se observa el LPS de <i>P. gingivalis</i> condujo a la pérdida de hueso maxilar, la disminución de la capacidad de aprendizaje y memoria y el aumento de citoquinas proinflamatorias en comparación al grupo control, lo cual disminuyó o no existió diferencia significativa con el control en grupos que se administró TAK-242. En las pruebas <i>in vitro</i> se observó un aumento de citoquinas proinflamatorias en la corteza en el grupo LPS y una mayor expresión de TLR4, CD14, p65, que se redujo con la administración de TAK-242. Esto indica que la periodontitis indujo la neuroinflamación a través de las cascadas de la vía TLR4/NF- κ B.
Kenyu Hayashi cols., 2019	Continuous intracerebroventricular injection of <i>Porphyromonas gingivalis</i> lipopolysaccharide induces systemic organ dysfunction in a mouse model of Alzheimer's disease	Experimental <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	Ratones 5XFAD de 6 meses (jóvenes) y 13 (mediana edad) Área periventricular (fimbria del hipocampo y sustancia blanca)	Inyección intracerebroventricular (ICV) de 2 μ g de LPS de <i>P. gingivalis</i>	Ratones 5XFAD inyectados con solución salina en región ICV Área periventricular (fimbria del hipocampo y sustancia blanca) no estimulada	En las pruebas <i>in vivo</i> se observó que el LPS de <i>P. gingivalis</i> redujo la latencia de la prueba Rotarod en ratones jóvenes, redujo significativamente las puntuaciones en ratones de mediana edad en pruebas de construcción de nidos y no mostraron diferencias significativas en las pruebas del laberinto Y y del laberinto acuático de Morris. En los estudios <i>in vitro</i> se observó que la inyección ICV continua del LPS aumentó en la expresión de NF- κ B y COX-2 fosforilados significativamente en los ratones de mediana edad

Jing Zhang, y cols., 2018	<i>Porphyromonas gingivalis</i> lipopolysaccharide induces cognitive dysfunction, mediated by neuronal inflammation via activation of the TLR4 signaling pathway in C57BL/6 mice	Experimental <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	Ratones C57BL/6 macho de 8 semanas de edad Astrocitos y microglía en la corteza cerebral y el hipocampo	Al grupo de <i>P. gingivalis</i> -LPS, al grupo de TAK y al grupo de <i>P. gingivalis</i> -LPS más TAK se les administró <i>P. gingivalis</i> -LPS (5 mg/kg, ip) y TAK-242 (5 mg/kg, ip, 1 h antes de la administración de <i>P. gingivalis</i> -LPS).	Ratones C57BL/6 macho de 8 semanas de edad recibió un volumen equivalente de solución salina Astrocitos y microglía en la corteza cerebral y el hipocampo de ratones no estimulados	En las pruebas <i>in vivo</i> se observó que la administración de LPS de <i>P. gingivalis</i> perjudicó significativamente el aprendizaje espacial y la memoria durante la prueba de laberinto de Morris y atenuó la capacidad de aprendizaje de evitación pasiva durante la prueba de evitación pasiva. Y en las pruebas <i>in vitro</i> se observó la activación de la microglía y los astrocitos en el hipocampo y la corteza, el aumento significativo de citoquinas proinflamatorias en la corteza cerebral, la expresión elevada de proteínas de TLR4, CD14, IRAK1 y p-p65/p65 en comparación con los ratones de control y la activación de la vía de señalización TLR4/NF- κ B (TLR4, CD14, IRAK1 y p-p65), todo lo cual fue prevenido por TAK-242.
Zhou Wu y cols., 2017	Cathepsin B plays a critical role in inducing Alzheimer's disease-like phenotypes following chronic systemic exposure to lipopolysaccharide from <i>Porphyromonas gingivalis</i> in mice	Experimental <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	Ratones C57BL/6 Microglías y neuronas del hipocampo	Exposición sistémica a LPS de <i>P. gingivalis</i> (1 mg/ml en agua destilada desionizada, DDW) diariamente por vía intraperitoneal; durante 5 semanas	Ratones C57BL/6 exposición sistémica a agua destilada desionizada diariamente Microglías y neuronas del hipocampo no estimuladas	En las pruebas <i>in vivo</i> se observó que la exposición a LPS de <i>P. gingivalis</i> durante cinco semanas indujo déficits de aprendizaje y memoria en ratones WT de mediana edad, que se inhibió significativamente por la deficiencia de CatB. Y en las pruebas <i>in vitro</i> se observó en la microglía, la CatB inducida por el LPS está involucrada en la producción de mIL-1 β y la degradación de I κ B α para la activación crónica de la señalización de TLR2/NF κ B en comparación con ratones de mediana edad expuestos a DDW

7.2 ANÁLISIS DE RIESGO DE SESGO EN LOS ARTÍCULOS SELECCIONADOS

Para evaluar el riesgo de sesgo en las investigaciones realizadas en animales se utilizó la herramienta SYRCLE.

En el primer dominio, todos los estudios se clasificaron como “Poco Claro” ya que, si bien en los artículos se nombra la asignación aleatoria de los casos, no especificó el método que utilizaron para ello.

En el dominio número 2, todos los estudios se clasificaron con un “Si” ya que los grupos eran similares experimentales y control al comienzo del estudio.

En el dominio número 3 todos los estudios fueron clasificados como “Poco claro” debido a la ausencia total de informes sobre la aleatorización al asignar animales a los grupos de intervención/control.

El dominio número 4 se marcó como “Sí” en todos los casos, una vez que si bien no se mencionó la distribución al azar de los animales en las jaulas, es poco probable que los resultados se vean influenciados por este motivo y al ser el mismo modelo de animal, se espera que reaccionen de manera similar a las intervenciones.

Dentro de los dominios número 5, 6 y 7 se referían al cegamiento durante la intervención o al evaluar el resultado del estudio todos se clasificaron como “Poco claros” ya que la mayoría no indicaron de manera clara que los investigadores estaban cegados a las intervenciones, en la elección del animal ni que la evaluación de resultados.

El dominio número 8 se asignó "Sí" a todos los estudios, ya que es poco probable que los resultados faltantes influyan en los resultados finales. Solo una investigación indicó que cambió el número de animales, mencionando 3 ratones murieron (2 casos y 1 control) sin especificar la causa (Kenyu Hayashi cols., 2019).

Finalmente, **los dominios número 9 y 10** se marcaron como “Si” en todas las investigaciones por presentar algún tipo de sesgo dentro de los métodos de la investigación, además de declarar que no hubo influencia de financiamientos.

En términos generales, dentro de los 10 dominios SYRCLE a evaluar, 5 estudios fueron clasificados con “SI”, y 5 de ellos como “Poco claros”. Todos estos datos se encuentran en la tabla N° 2.

Tabla N° 2 SYRCLE. Evaluación de riesgo de sesgo en ensayos experimentales en animales.					
Dominios SYRCLE		Yi Hu y cols., 2020	Kenyu Hayashi cols., 2019	Jing Zhang, y cols., 2018	Zhou Wu y cols., 2017
1	¿Se generó y aplicó adecuadamente la secuencia de asignación?	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro
	¿Los investigadores describieron un componente aleatorio en el proceso de generación de secuencias como: ■ Hacer referencia a una tabla de números aleatorios; ■ Usar un generador de números aleatorios por computadora.	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro
2	¿Fueron los grupos similares al inicio del estudio o se ajustaron por factores de confusión en el análisis?	Si	Si	Si	Si
	¿Estaba equilibrada la distribución de las características iniciales relevantes para los grupos de intervención y de control?	Si	Si	Si	Si
	Si corresponde, ¿los investigadores ajustaron adecuadamente la distribución desigual de algunas características de referencia relevantes en el análisis?	-	-	-	-
	¿Fue adecuado el momento de la inducción de la enfermedad?	Si	Si	Si	Si
3	¿Se ocultó adecuadamente la asignación a los diferentes grupos?	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro
	¿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? ■ Codificación de terceros de la asignación de grupos experimentales y de control Aleatorización central por un tercero ■ Sobres cerrados, opacos, numerados secuencialmente	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro
4	¿Se alojaron los animales al azar durante el experimento?	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro
	¿Los autores colocaron al azar las jaulas o los animales dentro de la sala/instalación de animales? ■ Los animales se seleccionaron al azar durante la evaluación de resultados	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro

	¿Es poco probable que el resultado o la medición del resultado hayan sido influenciados por no alojar aleatoriamente a los animales?	Si	Si	Si	Si
5	¿Estaban los cuidadores y/o investigadores cegados del conocimiento de qué intervención recibió cada animal durante el experimento?	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro
	¿Se aseguró el cegamiento de los cuidadores y los investigadores, y era poco probable que se hubiera roto el cegamiento? <ul style="list-style-type: none"> ■ Las tarjetas de identificación de animales individuales o las etiquetas de jaulas/animales están codificadas y tienen una apariencia idéntica. ■ Los envases de medicamentos numerados secuencialmente son idénticos en apariencia. Las circunstancias durante la intervención son precisas y similares en ambos grupos <ul style="list-style-type: none"> ■ Las condiciones de alojamiento de los animales durante el experimento se aleatorizan dentro de la habitación 	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro
6	¿Se seleccionaron los animales al azar para la evaluación de resultados?	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro.
	¿Los investigadores eligieron al azar un animal durante la evaluación de resultados o usaron un componente aleatorio en la generación de secuencias para la evaluación de resultados? <ul style="list-style-type: none"> ■ Hacer referencia a una tabla de números aleatorios; ■ Usar un generador de números aleatorios por computadora; ■ Etc 	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro
7	¿Estaba cegado el evaluador de resultados?	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro
	¿Se aseguró el cegamiento del evaluador de resultados y era poco probable que se hubiera roto el cegamiento? <ul style="list-style-type: none"> ■ Los métodos de evaluación de resultados fueron los mismos en ambos grupos. ■ Los animales se seleccionaron al azar durante la evaluación de resultados 	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro
	¿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?	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro
8	¿Se abordaron adecuadamente los datos de resultados incompletos?	Si	Si	Si	Si
	¿Se incluyeron todos los animales en el análisis?	Si	Si	Si	Si
	¿Era poco probable que las razones por las que faltaban los datos de resultado estuvieran relacionadas con el resultado real?	Si	Si	Si	Si
	¿Los datos de resultados faltantes están equilibrados en números entre los grupos de intervención, con razones similares para los datos faltantes entre los grupos?	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro
	¿Se imputan los datos de resultados faltantes utilizando métodos apropiados?	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco .claro
	¿Los informes del estudio están libres de informes de resultados selectivos?	Si	Si	Si	Si

9	¿Estaba disponible el protocolo del estudio y se informaron todos los resultados primarios y secundarios preespecificados del estudio en el manuscrito actual?	Si	Si	Si	Si
	*¿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)?	Si	Si	Si	Si
10	¿Estaba el estudio aparentemente libre de otros problemas que pudieran resultar en un alto riesgo de sesgo? (*)	Si	Si	Si	Si
	¿El estudio estuvo libre de contaminación (agrupación de fármacos)?	Si	Si	Si	Si
	¿Estuvo el estudio libre de la influencia inapropiada de los financiadores?	Si	Si	Si	Si
	¿El estudio estuvo libre de errores en la unidad de análisis?	Si	Si	Si	Si
	*¿Estuvieron ausentes los riesgos de sesgo específicos del diseño?	No	No	No	No
	¿Se agregaron nuevos animales a los grupos de control y experimentales para reemplazar los abandonos de la población original?	No	No	No	No


El estudio observacional realizado en humanos (An Li, y cols., 2022) fue evaluado mediante el **sistema de evaluación de riesgo de Newcastle-Ottawa** según 8 aspectos. Dentro del criterio de **“Selección”** el estudio obtuvo las 4 estrellas, por cumplir con los criterios de ser la cohorte expuesta un promedio representativo de personas, además de la cohorte no expuesta ser extraídos de la misma comunidad, siendo la determinación de la exposición un registro seguro junto con una entrevista estructurada y no se conocía el resultado de interés al inicio del estudio.

En **“Comparabilidad”** obtuvo 1 estrella por realizar emparejamiento de ambas cohortes según Variables sociodemográficas (edad, sexo, raza o etnia, nivel educativo e ingresos familiares anuales), factores de comportamiento (tabaquismo, consumo de alcohol y visita al dentista) entre otros.

En los **“Resultados”** el estudio obtuvo 3 estrellas ya que en él hubo una vinculación de registros, entre la presencia/ausencia de enfermedad periodontal, puntaje en pruebas de habilidades cognitivas y presencia/ausencia de biomarcador de disfunción mitocondrial en una muestra de sangre. Además, al ser un estudio

transversal el tiempo de seguimiento no era influyente en la obtención de resultados y se realizó un seguimiento completo con todos los temas contabilizados. Al calcular la cantidad de estrellas otorgadas al estudio se observa que fue calificado con 8 estrellas, siendo consideradas como una investigación de calidad alta. Todos estos datos están presentados en la **Tabla N° 3**

Tabla N°3. Escala Newcastle Ottawa. Evaluación de Riesgo de Sesgo en estudio observacional seleccionado		
Criterios de evaluación de la calidad	Acceptable	An Li, y cols., 2022
Selección		
Representatividad de la cohorte expuesta	Verdaderamente representativo del promedio de personas con periodontitis estadio III y IV en la comunidad	★
Selección de la cohorte no expuesta	Extraídos de la misma comunidad que la cohorte expuesta	★
Determinación de la exposición	Registro seguro (examen periodontal) y entrevista estructurada	★
Demostración de que el resultado de interés no estaba presente al inicio del estudio	Si	★
Compatibilidad		
Comparabilidad de las cohortes sobre la base del diseño o análisis	Controles de estudio para Variables sociodemográficas (edad, sexo, raza o etnia, nivel educativo e ingresos familiares anuales), factores de comportamiento (tabaquismo, consumo de alcohol y visita al dentista), factores relacionados con la salud (diabetes mellitus, hipertensión, dislipidemia, obesidad, adiposidad abdominal, enfermedad cardiovascular y cáncer), recuento de glóbulos blancos y número de dientes perdidos	★
Resultados		
Evaluación del resultado	Se obtuvieron a partir de registros seguros (Evaluación periodontal, examen de sangre, pruebas de habilidades cognitivas)	★
El seguimiento fue lo suficientemente largo como para que ocurrieran los resultados	Si	★

Adecuación del seguimiento de cohorte	Seguimiento completo - todos los temas contabilizados	
	Nivel de calidad general máximo 9 Alto: > 7; Moderado: 5-7; Bajo: <5	8
	Categoría de calidad	Alto

7.3 ASOCIACIÓN ENTRE ENFERMEDAD PERIODONTAL, ESTRÉS OXIDATIVO Y ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Dentro de los estudios seleccionados que relacionan la enfermedad periodontal con el estrés oxidativo y la EA se encuentra el de Bojlul Baha y cols. Este estudio tuvo como objetivo evaluar el modo de acción del trans-resveratrol en la modulación de la inflamación metabólica inducida por el LPS de *P. gingivalis* sobre células de neuroblastoma humano (IMR-32). En este estudio se demostró que la respuesta inflamatoria crónica en células IMR-32 desafiadas con LPS de *P. gingivalis* induce la activación de NF-kB y estrés oxidativo celular causado por la activación de la vía de la fosfatidilinositol-3-quinasa/Akt1(PI3K/Akt1) conduciendo a la producción de ROS. Se reportó también que la activación de esta vía inflamatoria podría modularse por trans-resveratrol, el cual jugaría un papel neuroprotector ya que posee actividad antioxidante mediada por la inhibición de dos vías vitales de estrés oxidativo producción de óxido nítrico (NO) y ROS por la actividad de iNOS.

En el estudio *in vitro* de Van Thi Ai Tran y cols., se evaluó la microgliosis, la astrogliosis y la neurodegeneración utilizando dos plataformas independientes, microglia de cultivo único y neuronas y astrocitos humanas cocultivados. Las microglias fueron estimuladas con LPS de *P. gingivalis* (10 ng/ml) o medios acondicionados bacterianos (BCM) que se obtuvo por la proliferación de *P. gingivalis* en caldo Brain Heart Infusion (BHI). Las células microglias tratadas con BCM expresaron un nivel significativamente más alto de iNOS y NO, que fue 4,8 y 3,7 veces mayor que el control, respectivamente.

Por otro lado, en el estudio clínico observacional seleccionado de An Li, y cols., se analizaron datos de Encuesta Nacional de Examen de Salud y Nutrición 2011–2014, se evaluó el estado periodontal, la función cognitiva y la presencia del biomarcador de disfunción mitocondrial derivado de la mitocondria (MMA). Se observó que los patógenos derivados de la periodontitis alteran los procesos de producción de energía en las mitocondrias y alteran el equilibrio entre la producción de ROS y las defensas antioxidantes. Además, los niveles de MMA aumentados asociados a la periodontitis se correlacionaron de forma estadísticamente significativa con una memoria verbal retrasada y una alteración en la velocidad de procesamiento de información, concluyendo que el estrés oxidativo mitocondrial son características compartidas entre la periodontitis y las alteraciones cognitivas que se observan en la enfermedad de Alzheimer.

7.4 ASOCIACIÓN ENTRE PERIODONTITIS, ACTIVACIÓN DE NF-κB Y ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Diferentes investigaciones han relacionado el LPS de *P. gingivalis* con la actividad del factor NF-κB en el cerebro y su posible relación con la neuroinflamación y por consiguiente con la EA de acuerdo a lo sumariado en la Tabla nº1.

En el estudio experimental *in vitro* de Che Qiu y cols., se estimuló células microgliales con LPS de *P.gingivalis* y los resultados mostraron que este tratamiento regulaba al alza la expresión génica y la secreción de factores proinflamatorios en las microglías, incluidos IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-17 e IL-23. También se observó un aumento en el nivel de señalización del receptor tipo Toll 2/4 (TLR2/4) y la fosforilación y translocación nuclear de NF-κB p65.

De acuerdo a lo anterior, los resultados de estudios experimentales realizados en animales también confirman una asociación positiva entre el LPS de *P. gingivalis* y la activación de NF-κB. En el estudio de Kenyu Hayashi y cols., se utilizaron ratones 5XFAD (un modelo transgénico de la EA) de 6 meses (jóvenes) y 13 (mediana edad, los cuales desarrollan síntomas de la enfermedad a esta edad y no antes) los cuales

fueron tratados con inyección intracerebroventricular del LPS o solución salina (vehículo). Tras dicho tratamiento con *P. gingivalis*, la expresión de NF- κ B y COX-2 fosforilados aumentó significativamente en los ratones de mediana edad en comparación a los ratones jóvenes.

En los otros tres estudios experimentales en animales también se reporta una asociación entre los receptores tipo Toll (TLR) y el NF- κ B, tras la estimulación por *P. gingivalis* (Hu y cols. de 2020). En este trabajo se estableció un modelo de periodontitis mediante la aplicación tópica del LPS de *P. gingivalis* en el surco gingival palatal de ratas Sprague-Dawley, posterior a lo cual se observó la activación de la vía de señalización de TLR4/NF- κ B, además de la activación de la microglía y de astrocitos con cuerpos celulares agrandados y protuberancias irregulares (Hu y cols. de 2020). En otro estudio, se inyectó a ratones C57BL/6 el LPS de *P. gingivalis* en presencia o ausencia de un inhibidor del receptor tipo Toll 4 (TLR4) (TAK-242) (Zhang y cols, 2018). Se observó que tanto los astrocitos como la microglía se activaron en la corteza y el hipocampo en el grupo tratado con el LPS en ausencia del inhibidor. El ARN mensajero y la expresión proteica de las citoquinas inflamatorias (TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-8) fueron regulados positivamente por el LPS en la corteza y, además, se activó la vía de señalización TLR4/NF- κ B (TLR4, CD14, IRAK1 y p-p65) cuyos efectos fueron mitigados efectivamente por TAK-242 (Zhang y cols, 2018).

Por otro lado, se ha planteado la hipótesis de que la catepsina B (CatB) juega un papel fundamental en el inicio de la neuroinflamación y la disfunción neuronal después de la exposición sistémica crónica al LPS de *P. gingivalis* (Wu y cols., 2017). Esta última aumentó significativamente la expresión de CatB en microglía y neuronas en ratones C57BL/6N de mediana edad, aumentó la expresión del ARNm de IL-1 β y TLR2, y disminuyó los niveles de proteína de I κ B α en la microglía cultivada, así como en la microglía primaria de ratones C57BL/6N. Se observó también que el LPS de *P. gingivalis* purificado utilizado se une tanto a TLR2 como a TLR4, y que la expresión de TLR2 aumentó significativamente en la microglía de ratones de mediana edad infectados. La transcripción de TLR2 está estrechamente regulada por la activación de NF- κ B, ya que su promotor contiene sitios de unión a

NF- κ B, y se plantea que una de las posibilidades para la expresión de TLR2 mediada por CatB es que CatB pueda estar involucrado en la degradación proteolítica de I κ B α y la subsiguiente translocación nuclear de NF- κ B.

8. DISCUSIÓN

Los hallazgos de esta revisión ofrecen evidencia de que *P. gingivalis* en el cerebro juegan un papel central en desarrollo y progresión de la EA, donde se han observado vías patológicas similares en el establecimiento de ambas enfermedades, incluidas características celulares y moleculares como el daño oxidativo y la inflamación (Sansores-España et al., 2021). La evidencia reciente indica que las infecciones periféricas, el daño a los vasos sanguíneos y el estrés oxidativo pueden agravar la inflamación en el cerebro y desempeñar un papel importante en la patogenia de la demencia y la EA (Chen et al., 2017). La enfermedad periodontal se encuentra entre las infecciones crónicas más comunes de los seres humanos, (Singhrao et al., 2015), siendo *Porphyromonas gingivalis*, uno de los principales agentes etiológicos que contribuye a la periodontitis crónica (How et al., 2016).

Los patógenos periodontales asociados con la periodontitis, son ricos en endotoxinas y lipopolisacáridos que estimulan la actividad de las células inmunitarias y la producción de citoquinas, las cuales puede propagarse al cerebro por el torrente sanguíneo o por las terminales nerviosas periféricas (Ide et al., 2016), y posteriormente estimular a la microglía, que actúa como primera línea de defensa en el SNC. La microglía anormalmente activada puede acelerar significativamente las respuestas neuroinflamatorias y neurotóxicas mediante la liberación de varias citoquinas y mediadores proinflamatorios, y la neuroinflamación conducirá eventualmente a la degeneración sináptica, muerte de células neuronales y disfunción cognitiva (Qiu et al., 2021).

Este estudio corresponde a una revisión sistemática de la literatura que tiene por objetivo determinar la relación entre los periodontopatógenos y sus productos de virulencia con la producción de ROS, la generación de señales de Ca^{2+} y la activación del factor de transcripción en el NF κ B en el tejido cerebral y como todo esto puede contribuir en la aparición y progresión de la EA. En esta revisión se consideraron estudios en animales donde se indujo la enfermedad periodontal ya sea con inyección o aplicación tópica de LPS de *P. gingivalis*, estudios *in vitro* en

los que se estimularon células de la glía con el LPS de *P. gingivalis*, y un estudio clínico observacional donde se relacionó la enfermedad periodontal, con bajo nivel cognitivo y la presencia de un biomarcador de disfunción mitocondrial asociado a estrés oxidativo. Es importante considerar que la evidencia encontrada nos permite tener una idea sobre los mecanismos inflamatorios y oxidativos por los cuales puede actuar *P. gingivalis* a nivel cerebral, sin embargo, siguen faltando estudios que lo respalden.

8.1 AUMENTO EN LA PRODUCCIÓN DE ROS EN CÉLULAS DE LA GLÍA ESTIMULADAS CON LPS DE *P. gingivalis* EN ESTUDIOS IN VITRO

El estrés oxidativo se define como un desequilibrio en los prooxidantes y antioxidantes asociado con una mayor producción de ROS y especies reactivas de nitrógeno (RNS), incluido el anión radical superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo (HO^\cdot), óxido nítrico (NO) y peroxinitrito ($ONOO^-$) (Tönnies & Trushina, 2017), los cuales pueden dañar el sistema biológico cuando están presentes en cantidades excesivas, ya que son capaces de oxidar todas las biomoléculas principales, incluidos los ácidos nucleicos (ADN, ARN), proteínas y lípidos (Wang et al., 2014).

En los artículos seleccionados se observó la relación entre la presencia de LPS de *P. gingivalis* y estrés oxidativo en células de la glía, siendo reconocido como un factor que contribuye al envejecimiento y a la progresión de múltiples enfermedades neurodegenerativas, incluida la EA (Tönnies & Trushina, 2017), puesto que cerebro es altamente susceptible al desequilibrio oxidativo por su alta demanda de energía, alto consumo de oxígeno, rica abundancia de ácidos grasos poliinsaturados fácilmente peroxidables, alto nivel de hierro potente catalizador de ROS y relativa escasez de antioxidantes (Wang et al., 2014)

En un estudio *in vitro* reciente se evaluó la microgliosis, la astrogliosis y la neurodegeneración utilizando dos plataformas independientes, microglia de cultivo único y neuronas y astrocitos humanas cocultivados, estimuladas con *P. gingivalis* en alta y bajas concentraciones ($BCM_{H/L}$) se observó un aumento significativo en los

niveles de expresión de la iNOS y su producto NO en las microglías estimuladas con la bacteria, lo que causa la neurodegeneración. Además, se demostró la elevación de los mediadores de proteínas perjudiciales, CD86 e iNOS y la producción de varios marcadores proinflamatorios a partir de la microglía estimulada. El NO se sintetiza mediante la conversión de la L-arginina en NO y L-citrulina a través de una reacción catalizada por la NOS. Este juega un papel como segundo mensajero y también se une a la enzima citocromo c oxidasa, disminuyendo su afinidad por el oxígeno. El NO tiene, por lo tanto, la capacidad de influir en la función de la cadena respiratoria y provoca disfunción mitocondrial contribuyendo a las enfermedades neurodegenerativas (Jodeiri Farshbaf & Kiani-Esfahani, 2018). Por otro lado, se identificaron los componentes de los medios acondicionados bacterianos considerados como posibles inductores de la inflamación. La Succinato deshidrogenasa estuvo presente tanto en BCM_H como en BCM_L, la cual aumenta la oxidación de succinato, siendo principal desencadenante de la generación de ROS (Jodeiri Farshbaf & Kiani-Esfahani, 2018). El succinato regula al alza los niveles de óxido nítrico y citoquinas proinflamatorias (Tran et al., 2021). Tras la estimulación con LPS, la microglía puede inducir la glucólisis y aumentar la oxidación del succinato por las actividades de la enzima succinato deshidrogenasa. Se postuló que la coestimulación podría ser el factor crítico asociado con el aumento de la microgliosis, que da como resultado la disfunción y pérdida de las células neuronales debido a la regulación positiva del óxido nítrico y las citoquinas proinflamatorias (Tran et al., 2021) Este artículo se confirma la relación de *P. gingivalis* y el estrés oxidativo en células de la glía, lo cual se ha asociado con la pérdida de la función mitocondrial y la defensa antioxidante reducida, afectando directamente la actividad sináptica y la neurotransmisión en las neuronas, conduciendo a la disfunción cognitiva (Tönnies & Trushina, 2017). Es importante destacar que existen estudios que informan que el daño oxidativo generalizado en pacientes con deterioro cognitivo leve podría preceder a las alteraciones neuropatológicas pronunciadas de la EA, estos hechos sugieren fuertemente que el desequilibrio oxidativo aparece en la etapa muy temprana de la

EA y es probablemente una característica central de la patogenicidad (Wang et al., 2014).

Así, sería de gran importancia realizar más estudios en los que se utilizaran antioxidantes para el tratamiento en etapas tempranas de la EA, con el objetivo de reducir el estrés oxidativo y recuperar estado redox celular normal con el fin de reducir la neuroinflamación. Teniendo en consideración que la eliminación total de ROS o en un estado reducido también es perjudicial, debido a que son fundamentales en la señalización como segundos mensajeros, experimentando un entrecruzamiento con la señalización mediada por Ca^{2+} y con otras vías intracelulares críticas (Muñoz et al., 2020), es importante apostar a la regulación homeostática de esta vía para lograr posibles beneficios terapéuticos. Existen varios estudios que investigan los principales mecanismos antioxidantes disponibles en el sistema nervioso o la utilización de agentes externos como antioxidantes derivados de la dieta, como ácidos fenólicos, flavonoides, isoflavonas, flavonas, antocianinas y cumarinas, señalando que estas moléculas son potencialmente útiles en el tratamiento del estrés oxidativo (Muñoz et al., 2020). En este sentido, el estudio *in vitro* de Bahar y cols se utilizó Trans-resveratrol, un polifenol bioactivo con propiedades inmunomoduladoras que puede antagonizar la toxicidad de A β y reducir el daño oxidativo en las neuronas (J. Gu et al., 2021). Así, células de neuroblastoma IMR-32 fueron sometidas a tratamiento con LPS de *P. gingivalis* (Bahar & Singhrao, 2021), resultando en una notable regulación al alza de moléculas de señalización clave, incluidos factores de transcripción, quinasas, receptores de membrana, factores de crecimiento, enzimas y citoquinas, lo que indican la posible activación de las cascadas oxidativa e inflamatoria. Al utilizar trans-resveratrol como estrategia para disminuir el daño inflamatorio y oxidativo generado, se logró disminuir la expresión y/o actividad de varias quinasas reguladoras clave, receptores transmembrana, enzimas y citoquinas inflamatorias, inhibiendo significativamente las vías del estrés oxidativo celular. Se disminuyó la producción de NO y ROS, y además inhibió las principales vías de señalización inflamatoria, como la señalización de NF-kB, señalización neuroinflamatoria, respuesta de fase aguda, entre otras. Por esto, se propuso que los antioxidantes

podrían considerarse como una estrategia terapéutica en la enfermedad proinflamatoria mediada por *P. gingivalis*. Concordantemente, se han llevado a cabo diversos experimentos para investigar el potencial terapéutico del resveratrol en el tratamiento de la EA a través de modelos *in vivo* e *in vitro* (Chen et al., 2019), ya que se sabe que posee importantes propiedades neuroprotectoras (Rahman et al., 2020). El resveratrol ha sido utilizado no solo para minimizar las concentraciones de la iNOS y la peroxidación lipídica en las células neuronales como antioxidante, sino también para aumentar la producción de hemooxidación-1 (HO-1) y prevenir la oxidación (Rahman et al., 2020). Sin embargo, hasta ahora no ha habido un ensayo clínico completo a gran escala. Se ha visto que el resveratrol se absorbe bien y la toxicidad no se informa de manera significativa, sin embargo, no es biodisponible, tiene baja solubilidad en agua y es químicamente inestable debido a su escasa biodisponibilidad. Si bien los problemas de las aplicaciones clínicas, como la biodisponibilidad, la dosis y los efectos secundarios, son enormes, aún buscan investigar el mecanismo integral y la administración clínica efectiva del resveratrol (Rahman et al., 2020).

8.2 ASOCIACIÓN ENTRE ENFERMEDAD PERIODONTAL, DETERIORO COGNITIVO Y PRESENCIA DE UN MARCADOR DE ESTRÉS OXIDATIVO EN ESTUDIO CLÍNICO OBSERVACIONAL

En el estudio clínico seleccionado tenía como objetivo evaluar el MMA circulante, asociado a la carga oxidativa, y su vínculo entre el estado periodontal y el rendimiento cognitivo entre los adultos mayores. La concentración de MMA circulante se considera un biomarcador de disfunción mitocondrial lo que resultaría en una mayor producción de ROS (Tönnies & Trushina, 2017), lo que representa una fuente importante del desequilibrio oxidativo observado en la EA (Wang et al., 2014). El MMA se produce en cantidades relativamente bajas en el cerebro, sin embargo, su acumulación intracerebral podría conducir a la neurodegeneración (Li et al., 2022).

Los resultados nos muestran que los adultos mayores con periodontitis en estadio III y IV mostraron un peor rendimiento cognitivo que la periodontitis en estadio I/II y

la disfunción mitocondrial puede desempeñar un papel mediador en la asociación de periodontitis con memoria verbal retrasada y velocidad de procesamiento de información deficientes. Un mecanismo biológicamente aceptado para las asociaciones observadas es que la periodontitis y el deterioro cognitivo pueden compartir un trasfondo patogénico a través de la disfunción mitocondrial. ya que también se ha visto en diversos estudios en que fibroblastos tratados con LPS de *P. gingivalis* provocaron un aumento del estrés oxidativo debido a la disfunción en la mitocondria (Bullon et al., 2011).

Los hallazgos de este estudio indican que la disfunción mitocondrial puede ser un mediador potencial del vínculo periodontitis-demencia, lo que refuerza aún más la necesidad de futuras investigaciones donde se realicen intervenciones con suplementos antioxidantes en pacientes con periodontitis para mejorar la salud periodontal, y evaluar efectos a largo plazo en la función cognitiva.

8.3 POSIBLE DESREGULACIÓN EN LOS NIVELES DE $[Ca^{2+}]_i$ EN CÉLULAS DE LA GLÍA, RELACIONADA A LA PRESENCIA DE PERIODONTOPATÓGENOS

El Ca^{2+} participa en una amplia gama de señales celulares que regulan varios procesos críticos, como el crecimiento celular, la diferenciación, el metabolismo, la exocitosis y la apoptosis (del Prete et al., 2014). La coordinación entre varias proteínas/bombas/canales de Ca^{2+} y el almacenamiento de Ca^{2+} en varios organelos es fundamental para mantener sus niveles citosólicos, y la homeostasis celular, lo cual es fundamental tanto en células de la glía como en neuronas (Sukumaran et al., 2021).

En la presente revisión no se encontraron estudios en los que se relacionan la enfermedad periodontal con la alteración de los niveles de Ca^{2+} en células de la glía y su asociación con la EA. Sin embargo, sí hay estudios que describen que la neuroinflamación generada por la enfermedad periodontal, donde las citoquinas, bacterias o sus factores de virulencia podrían estimular las células gliales (Sansores-España et al., 2021), pudiéndose hacer la asociación con otros artículos donde se ha observado la presencia de citoquinas y mediadores inflamatorios en el

medio extracelular inducen niveles elevados de Ca^{2+} en células gliales, los cuales modulan las respuestas inflamatorias, estimulando la producción y liberación de citoquinas (Sama & Norris, 2013).

Se ha demostrado que la desregulación de Ca^{2+} en la glía, especialmente en los astrocitos, puede aumentar la actividad de la calcineurina (CN) y conducir a la producción y liberación de factores inflamatorios. Estos factores pueden entonces iniciar la activación de las vías de señalización de la MAP quinasa (p38) y la desregulación del Ca^{2+} en las neuronas, lo que conduce a una mayor actividad de la CN. Los cambios en la señalización neuronal de Ca^{2+} pueden perpetuar aún más la desregulación de Ca^{2+} , los déficits de plasticidad sináptica y los deterioros cognitivos (Sama & Norris, 2013) (Figura N°2).

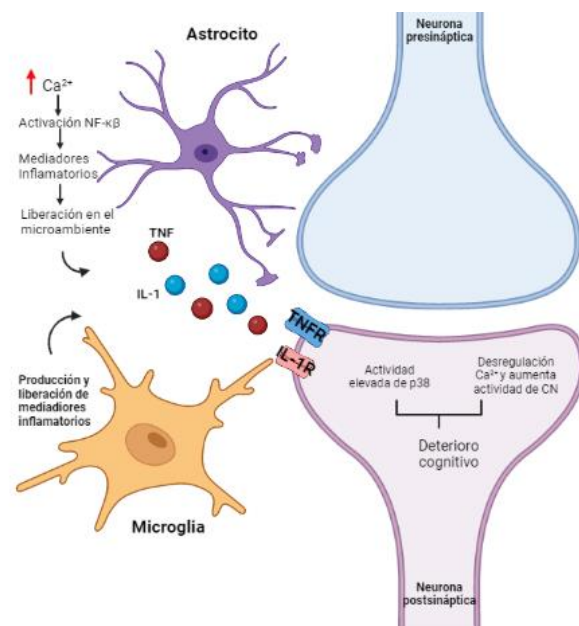


Figura N°2. Relación entre la desregulación del Ca^{2+} y la neuroinflamación (Sama & Norris, 2013).

Además, existen estudios donde relacionan las mitocondrias disfuncionales, presente en el estrés oxidativo, con la pérdida de la homeostasis del calcio a través de una capacidad amortiguadora deteriorada o un impacto directo en los canales de calcio del retículo endoplásmico (Wang et al., 2014). Existen también otros estudios

experimentales donde estimulan neuronas y células de la glía con el LPS de *E.coli*. La endotoxina asociada a *E. coli* puede actuar sobre los TLR4, aumentar $[Ca^{2+}]_i$ y promover la muerte celular en cultivos envejecidos de neuronas de hipocampo de rata. Se observó que sólo el 30% de las células no neuronales mostraron señales de Ca^{2+} en respuesta a LPS, a menudo en forma de oscilaciones de $[Ca^{2+}]_i$ (Calvo-Rodríguez et al., 2017).

Al encontrar estudios que relacionan a la periodontitis con estrés oxidativo en el cerebro y la neuroinflamación, indirectamente estos se podrían asociar con una desregulación en los niveles de Ca^{2+} tanto en neuronas como en células de la glía. Sin embargo, deberían realizarse estudios que los asocien directamente ya que como se dijo anteriormente, esta molécula es fundamental para diversas funciones en este tipo de células.

8.4 EL LPS DE *P.gingivalis* ACTIVA LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE NF- κ B

Los miembros de NF- κ B están abundantemente presentes en neuronas, vasos sanguíneos cerebrales y en las células gliales, pudiendo regular procesos neuroprotectores, la neurotoxicidad y la neuroinflamación (Jha et al., 2019). La activación de NF- κ B es necesaria para la inducción transcripcional de muchos mediadores proinflamatorios implicados en la inmunidad primaria, como las moléculas de adhesión celular, citoquinas y factores de crecimiento, pero también participa en la regulación genética de la resolución de la inflamación (Djordjevic et al., 2017), jugando un papel activo en la progresión de la EA (Jha et al., 2019), ya que la microglía anormalmente activada puede acelerar significativamente las respuestas neuroinflamatorias y neurotóxicas mediante la liberación de varias citoquinas y mediadores proinflamatorios, y la neuroinflamación eventualmente conducirá a la degeneración sináptica, la muerte de las células neuronales y la disfunción cognitiva (Qiu et al., 2021).

Dentro de los estudios seleccionados, en cuatro de ellos la periodontitis indujo la neuroinflamación a través de las cascadas de la vía TLR4/NF- κ B. (Hayashi et al., 2019; Hu et al., 2020; Qiu et al., 2021; Zhang et al., 2018). Los TLR se expresan

principalmente en células inmunitarias y también se han identificado en diversos tipos de células del SNC, como la microglía (Qiu et al., 2021). La activación de TLR-4 conduce a la activación de NF- κ B, que se asocia con la producción de citoquinas proinflamatorias a través de una vía dependiente del factor de diferenciación mieloide 88 (MyD88) (Zhao et al., 2019). Además, en 3 de los estudios se utilizó un bloqueador selectivo de TLR4, TAK-242, y se observó una reducción de la expresión del ARNm de NF- κ B p65 y proteína fósforo-p65/p65 inducida por el LPS de *P. gingivalis* (Qiu et al., 2021).

En general, estos resultados proporcionan evidencia de la participación de *P. gingivalis* en las vías de señalización río abajo del receptor TLR4 y la activación final de la vía de señalización de NF- κ B (Zhang et al., 2018). La vía de señalización TLR4 activada y las citoquinas desreguladas podrían estimular los procesos inflamatorios y afectar al procesamiento de APP influyendo en la producción de A β . Se ha demostrado que múltiples citoquinas proinflamatorias aumentan la expresión de APP y la actividad de BACE1 en el cerebro (Chen et al., 2012) y se ha demostrado que la periodontitis inducida por el LPS de *P. gingivalis* podría facilitar el procesamiento anormal de APP a través de una mayor actividad de la secretasa en los sitios β y γ , en consonancia con el aumento de la APP en pacientes con periodontitis crónica (Hu et al., 2020). De acuerdo, en el estudio de Wu y cols. se propone que la exposición sistémica crónica al LPS de *P. gingivalis* induce fenotipos similares a los de la EA, en los ratones de mediana edad de manera dependiente de la catepsina B (CatB), la cual es una proteasa lisosomal de cisteína, promueve el procesamiento y la secreción de IL-1 β madura por la microglía activada, también tiene actividad beta secretasa, que está involucrada en el procesamiento de APP para la formación de A β (Wu et al., 2017). Además, en la microglía, la CatB estimulada por *P. gingivalis* está involucrada en la degradación de I κ B α para la activación crónica de la señalización de TLR2/NF- κ B, lo que amplifica la neuroinflamación mediada por la microglía. A diferencia de los otros estudios seleccionados, se determinó en este artículo que TLR2 tiene una alta afinidad de unión al LPS de *P. gingivalis* en la microglía y su expresión aumentó

significativamente en ratones de mediana edad infectados con el LPS y se redujo significativamente por la inhibición genética y farmacológica de CatB.

Por otro lado, los efectos del LPS de *P. gingivalis* en las neuronas dependen de la microglía, se ha visto que la *mIL-1 β* , cuya producción está mediada por la microglía, aumenta la producción de CatB y APP dependientes de IL-1/NF- κ B a través de la señalización de IL-1R. El aumento de CatB en las neuronas está involucrado en el procesamiento de APP para la acumulación de A β directamente y la activación de NF- κ B para la producción de APP y CatB (Figura n°3)

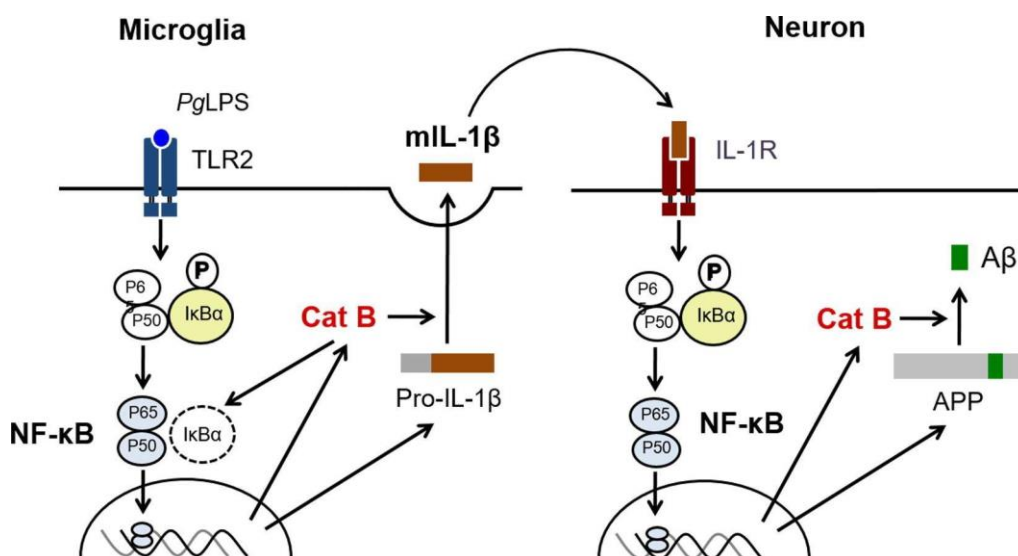


Figura N°3 Una representación esquemática de las funciones críticas de CatB en el inicio de fenotipos similares a AD durante la exposición sistémica crónica al LPS de *P. gingivalis*. (Wu et al., 2017)

En conjunto, estos hallazgos sugieren que CatB está involucrado en la activación de la señalización de TLR2/NF- κ B durante la exposición sistémica crónica al LPS de *P. gingivalis* por lo que CatB puede ser un objetivo terapéutico para prevenir el deterioro cognitivo asociado a la periodontitis en la EA.

8.5 POSIBLE ASOCIACIÓN ENTRE PERIODONTOPATÓGENOS Y SUS PRODUCTOS DE VIRULENCIA CON LA PRODUCCIÓN DE ROS, DESREGULACIÓN DE SEÑALES DE CALCIO Y ACTIVACIÓN DE NF- κ B EN TEJIDO CEREBRAL NF- κ B

Se propone que existe un aumento de la respuesta proinflamatoria mediada por LPS de *P.gingivalis* a través de la participación de moléculas de receptores de reconocimiento de patógenos (PRR), como los receptores tipo toll 4 (TLR-4) y 2 (TLR-2), Los cuales una vez activados, recluta la proteína adaptadora MyD88 para la activación del factor de transcripción aguas abajo NF- κ B y las cascadas de señalización, lo que provoca la producción de una multitud de citoquinas inflamatorias implicadas en la neurotoxicidad incluidas TNF α , IL-6 e IL1 β (R. Chen et al., 2021), jugando un papel importante en la inflamación cerebral y la defensa antioxidante, así como en la regulación de la función mitocondrial (Djordjevic et al., 2017)

Dado que NF- κ B es importante en la inflamación, se ha visto que algunas enzimas que promueven la producción de ROS también se regulan como sus objetivos, como la NADPH oxidasa NOX2 (gp91 phox) la cual depende de, y es inducida por, NF- κ B. Por otro lado, la iNOS está muy regulada al alza por NF- κ B, pudiendo potenciar el daño celular por ROS (Morgan & Liu, 2011). Así, la activación de NF- κ B también contribuiría en el estrés oxidativo y por su parte las ROS además de modular la supervivencia celular y respuesta celular a los factores estresantes, activan los mecanismos proinflamatorios (Bhatt et al., 2021), activando y reprimiendo la señalización de NF- κ B en distintos niveles (Morgan & Liu, 2011).

Se ha visto que los ROS se generan principalmente por las mitocondrias, especialmente a través de la fuga de electrones en la fosforilación oxidativa (Morgan & Liu, 2011) y que las mitocondrias disfuncionales son productores menos eficientes de ATP pero productores más eficientes de ROS. Estas mitocondrias disfuncionales contribuyen a la pérdida de la homeostasis del Ca²⁺, donde se observa un aumento del [Ca²⁺]_i por distintas vías. Se observa una capacidad amortiguadora deteriorada o un impacto directo en los canales de calcio del retículo endoplásmico,

desarrollando una sobrecarga de Ca^{2+} citoplasmático (Wang et al., 2014). La presencia del LPS de *P. gingivalis* podría, por lo tanto, generar un aumento de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ en forma de oscilaciones, lo que podría perpetuar aún más el estado inflamatorio.

8.6 HETEROGENEIDAD DE LOS ESTUDIOS

Los 8 estudios analizados en esta revisión sistemática de tipo cualitativa se caracterizaron por ser altamente heterogéneos, por lo tanto, un análisis estadístico de los datos no fue realizado. En los 2 estudios experimentales *in vitro* relacionados al estrés oxidativo, la heterogeneidad metodológica se relacionó con los diferentes tipos de ensayos y las células utilizadas para ello. Con respecto a los tipos de células, cultivos y pruebas realizadas, en uno se utilizaron microglías humanas en cultivo único y neuronas y astrocitos humanas cocultivados, para investigar la neuroinflamación y la neurodegeneración inducidas por microgliosis y astrogliosis estimuladas por un medio acondicionado con LPS de *P. gingivalis* en distintas concentraciones (Tran et al., 2021). Y en el otro estudio se utilizaron líneas celulares de neuroblastoma humano IMR-32 y se trataron con 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de LPS de *P.gingivalis* y con 25 μM de trans-resveratrol al 98% de *P.cuspidatum* en presencia/ausencia del LPS (Bahar & Singhrao, 2021), Además el tiempo de exposición de las células al LPS de *P.gingivalis* fue distinto, en el estudio de Van Thi Ai Tran las microglías se expusieron por 3 días al medio acondicionado bacteriano y los astrocitos y neuronas por 12 días, en cambio en el otro estudio las células fueron estimuladas con el LPS y el antioxidante por 24hrs.

En cuanto a los 4 estudios realizados en animales relacionados a NF- κ B la heterogeneidad en su metodología se relaciona en la forma de estimular la periodontitis. Se reportan la inyección intracerebroventricular continua de LPS de *P.gingivalis* en solución salina (2 μg de Pg-LPS/día) (Hayashi et al., 2019), la aplicación tópica de LPS de *P. gingivalis* (0,5 mg/kg, dos veces por semana) en el surco gingival palatal de los primeros molares superiores de ratas con o sin la inyección del inhibidor del receptor Toll4 TAK-242 (0,5 mg/kg, ip, dos veces por

semana) (Hu et al., 2020) o inyección intraperitoneal de LPS de *P. gingivalis* (1 mg/kg/día, durante 5 semanas) (Wu et al., 2017). Además, el tercer estudio informa que se inyectó LPS de *P. gingivalis* (5 mg/kg, ip) con o sin inhibidor del receptor tipo Toll (TAK-242) (Zhang et al., 2018). En cuanto a las especies de ratas o ratones utilizadas en los estudios, la edad y el tiempo en que fueron sacrificados fueron distintos entre cada estudio.

Entre los experimentos para evaluar función cognitiva se realizaron laberinto en Y, construcción de nidos (Hayashi et al., 2019), pruebas de campo abierto (Hu et al., 2020; Zhang et al., 2018), prueba de evitación pasiva (Wu et al., 2017; Zhang et al., 2018) y la prueba de laberinto de agua de Morris (Hayashi et al., 2019; Hu et al., 2020; Zhang et al., 2018), que evalúan capacidades cognitivas diferentes. En la parte *in vitro* los experimentos realizados fueron Análisis RT-PCR (Hu et al., 2020; Wu et al., 2017; Zhang et al., 2018), análisis ELISA (Hu et al., 2020; Wu et al., 2017; Zhang et al., 2018), inmunohistoquímica (Hayashi et al., 2019; Hu et al., 2020; Zhang et al., 2018) y Western blot (Hayashi et al., 2019; Hu et al., 2020; Wu et al., 2017; Zhang et al., 2018).

8.7 ANÁLISIS DEL RIESGO DE SESGO

En cuanto a la evaluación realizada a los estudios experimentales en animales, la herramienta SYRCLE clasificó la mitad de los dominios como "**poco claro**", debido a la falta o ausencia de información. Por ejemplo, ningún estudio se mencionó explícitamente algún método de asignación al azar de los grupos casos y controles, la distribución en sus jaulas durante el experimento, ni para la evaluación de los resultados. Tampoco se informó sobre el cegamiento de los investigadores. Todo esto podría llevar a que se produjera un posible sesgo por información, ya que al saber a qué grupo pertenece cada animal, podría influir en la evaluación de los resultados por parte de los investigadores.

La evaluación del riesgo de sesgo del estudio observacional en humanos se realizó por medio de la herramienta Newcastle-Ottawa y se clasificó con calidad Alta. En la sección de selección el estudio cumplió los 4 ítem, lo que indica que la elección de

los grupos fue generalmente adecuada. En relación con la sección de comparación en este estudio se consideraron variables que podrían influir en los resultados como variables sociodemográficas, factores de comportamiento y de salud por lo que también se cumplió con el ítem. Con respecto a los resultados, se evaluaron de forma independiente las variables y resultados se obtuvieron a partir de registros seguros (Evaluación periodontal, examen de sangre, pruebas de habilidades cognitivas), además dentro del estudio se informa un adecuado seguimiento y que en cuyos casos donde no se obtuvieron todos los datos sobre función cognitiva y las evaluaciones de biomarcadores oxidativos fueron excluidos por lo que se otorgó el máximo de estrellas en esta sección. El riesgo de sesgos presentes en algunos estudios sobre todo los realizados en animales indican la necesidad de revisar cuidadosamente los resultados para poder interpretarlos de manera adecuada. Utilizar herramientas como SYRCLE o Newcastle-Ottawa en futuras investigaciones podrían ayudar a disminuir el riesgo de sesgo y mejorar la calidad de ellas.

8.8 LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Dentro de las limitaciones de este estudio se encuentra la escasa literatura encontrada en relación con el tema de investigación. Si bien, existe gran cantidad de artículos que relacionan la enfermedad periodontal con la EA, faltan estudios ya sea *in vivo* o *in vitro* que especifiquen los mecanismos neuroinflamatorios de cómo los periodontopatógenos y sus productos podrían activar las vías inflamatorias, el estrés oxidativo y la homeostasis de calcio en la microglía.

En esta revisión no se encontró ningún estudio que relacione la periodontitis con un desbalance en los niveles de Ca^{2+} a nivel cerebral, siendo que existe amplia literatura que relaciona al Ca^{2+} con la EA. Estudios en este sentido permitirían entender las vías por las cuales los periodontopatógenos y sus productos podrían perpetuar este estado neuroinflamatorio, con la consiguiente neurodegeneración. Por último, en todos los estudios experimentales seleccionados se utilizó *P. gingivalis* para estimular células neuronales o inducir la periodontitis en animales por ser uno de sus los principales agentes etiológicos, sin embargo, existen otras

bacterias asociadas fuertemente con la enfermedad periodontal como la *A. actinomycetemcomitans*, que ha sido poco estudiada en general, y podría ser importante su relación con la enfermedad de Alzheimer y compararla con la actividad de *P. gingivalis* a nivel cerebral.

9. CONCLUSIONES

- Los periodontopatógenos contribuyen a la generación de un estado neuroinflamatorio cerebral, estimulando vías de señalización celular, las cuales podrían contribuir a una mayor producción de A β y a la patología de la EA.
- El LPS de *P. gingivalis* puede generar estrés oxidativo en la microglia, por lo que la utilización de antioxidantes como Trans-resveratrol se podría considerar como tratamiento en etapas tempranas de la EA.
- El LPS de *P. gingivalis* activa el TLR-4 en la microglia lo que conduce a la activación de NF- κ B, que se asocia con la producción de una multitud de citoquinas inflamatorias implicadas en la neurotoxicidad incluidas TNF α , IL-6 e IL1 β .
- El Ca²⁺ posee varias funciones en las células de la glía y neuronas y se ha visto su desregulación en presencia de neuroinflamación y estrés oxidativo, por lo que seguramente debe existir una asociación entre los periodontopatógenos y sus productos con la alteración en sus niveles, pero faltan estudios que lo respalden.

10. REFERENCIAS BLIOGRAFICAS

- Bahar, B., & Singhrao, S. K. (2021). An evaluation of the molecular mode of action of trans-resveratrol in the Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide challenged neuronal cell model. *Molecular Biology Reports*, 48(1), 147. <https://doi.org/10.1007/S11033-020-06024-Y>
- BASCONES A, & CABALLERO A. (2000, September). *Actinobacillus Actinomycetemcomitans y Porphyromonas Gingivales como principales patógenos periodontales.* https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852000000200002&lng=es.
- Bascones A, & González M. (2003, December). *Mecanismos inmunológicos de las enfermedades periodontales y periimplantarias.* https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852003000300003
- Bhatt, S., Puli, L., & Patil, C. R. (2021). Role of reactive oxygen species in the progression of Alzheimer's disease. *Drug Discovery Today*, 26(3), 794–803. <https://doi.org/10.1016/J.DRUDIS.2020.12.004>
- Block, M. L., & Hong, J. S. (2005). Microglia and inflammation-mediated neurodegeneration: Multiple triggers with a common mechanism. *Progress in Neurobiology*, 76(2), 77–98. <https://doi.org/10.1016/J.PNEUROBIO.2005.06.004>
- Bullon, P., Cordero, M. D., Quiles, J. L., Morillo, J. M., Ramirez-Tortosa, M. D. C., & Battino, M. (2011). Mitochondrial dysfunction promoted by Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide as a possible link between cardiovascular disease and periodontitis. *Free Radical Biology and Medicine*, 50(10), 1336–1343. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2011.02.018>
- Calvo-Rodríguez, M., de la Fuente, C., García-Durillo, M., García-Rodríguez, C., Villalobos, C., & Núñez, L. (2017). Aging and amyloid β oligomers enhance TLR4 expression, LPS-induced Ca^{2+} responses, and neuron cell death in cultured rat hippocampal neurons. *Journal of Neuroinflammation*, 14(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/S12974-017-0802-0/FIGURES/8>

- 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. <https://doi.org/10.1016/J.PIRO.2016.07.001>
- Cekici, A., Kantarci, A., Hasturk, H., & van Dyke, T. E. (2014). Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*, 64(1), 57. <https://doi.org/10.1111/PRD.12002>
- Chami, L., Buggia-Prévot, V., Duplan, E., Delprete, D., Chami, M., Peyron, J. F., & Checler, F. (2012). Nuclear factor- κ B regulates β APP and β - and γ -secretases differently at physiological and supraphysiological A β concentrations. *Journal of Biological Chemistry*, 287(29), 24573–24584. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.333054>
- Chen, C. H., Zhou, W., Liu, S., Deng, Y., Cai, F., Tone, M., Tone, Y., Tong, Y., & Song, W. (2012). Increased NF- κ B signalling up-regulates BACE1 expression and its therapeutic potential in Alzheimer's disease. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 15(1), 77–90. <https://doi.org/10.1017/S1461145711000149>
- Chen, C. K., Wu, Y. T., & Chang, Y. C. (2017a). Association between chronic periodontitis and the risk of Alzheimer's disease: a retrospective, population-based, matched-cohort study. *Alzheimer's Research & Therapy*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/S13195-017-0282-6>
- Chen, J. Y., Zhu, Q., Zhang, S., OuYang, D., & Lu, J. H. (2019). Resveratrol in experimental Alzheimer's disease models: A systematic review of preclinical studies. *Pharmacological Research*, 150, 104476. <https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2019.104476>
- Chen, R., Wang, Z., Zhi, Z., Tian, J., Zhao, Y., & Sun, J. (2021). Targeting the TLR4/NF- κ B pathway in β -amyloid-stimulated microglial cells: A possible mechanism that oxysophoridine exerts anti-oxidative and anti-inflammatory effects in an in vitro model of Alzheimer's disease. *Brain Research Bulletin*, 175, 150–157. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRESBULL.2021.07.019>

- del Prete, D., Checler, F., & Chami, M. (2014). Ryanodine receptors: physiological function and deregulation in Alzheimer disease. *Molecular Neurodegeneration*, *9*(1), 21. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-9-21>
- Díaz-Zúñiga, J., More, J., Melgar-Rodríguez, S., Jiménez-Unión, M., Villalobos-Orchard, F., Muñoz-Manríquez, C., Monasterio, G., Valdés, J. L., Vernal, R., & Paula-Lima, A. (2020). Alzheimer's Disease-Like Pathology Triggered by *Porphyromonas gingivalis* in Wild Type Rats Is Serotype Dependent. *Frontiers in Immunology*, *11*. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.588036>
- Díaz-Zúñiga, J., Muñoz, Y., Melgar-Rodríguez, S., More, J., Bruna, B., Lobos, P., Monasterio, G., Vernal, R., & Paula-Lima, A. (2019). Serotype b of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* triggers pro-inflammatory responses and amyloid beta secretion in hippocampal cells: a novel link between periodontitis and Alzheimer's disease? *Journal of Oral Microbiology*, *11*(1). <https://doi.org/10.1080/20002297.2019.1586423>
- Dioguardi, M., Crincoli, V., Laino, L., Alovisi, M., Sovereto, D., Mastrangelo, F., Io Russo, L., & Io Muzio, L. (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). <https://doi.org/10.3390/JCM9020495>
- Djordjevic, J., Thomson, E., Chowdhury, S. R., Snow, W. M., Perez, C., Wong, T. P., Fernyhough, P., & Albeni, B. C. (2017). Brain region- and sex-specific alterations in mitochondrial function and NF- κ B signaling in the TgCRND8 mouse model of Alzheimer's disease. *Neuroscience*, *361*, 81–92. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2017.08.006>
- Doens, D., & Fernández, P. L. (2014). Microglia receptors and their implications in the response to amyloid β for Alzheimer's disease pathogenesis. *Journal of Neuroinflammation*, *11*. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-11-48>
- Dorrington, M. G., & Fraser, I. D. C. (2019). NF- κ B signaling in macrophages: Dynamics, crosstalk, and signal integration. *Frontiers in Immunology*, *10*(APR), 705. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.00705/BIBTEX>

- Dresselhaus, E. C., & Meffert, M. K. (2019). Cellular Specificity of NF- κ B Function in the Nervous System. *Frontiers in Immunology*, 10(MAY). <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.01043>
- Eichhoff, G., Brawek, B., & Garaschuk, O. (2011). Microglial calcium signal acts as a rapid sensor of single neuron damage in vivo. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1813(5), 1014–1024. <https://doi.org/10.1016/J.BBAMCR.2010.10.018>
- García, F., Lobos, P., Ponce, A., Cataldo, K., Meza, D., Farías, P., Estay, C., Oyarzun-Ampuero, F., Herrera-Molina, R., Paula-Lima, A., Ardiles, Á. O., Hidalgo, C., Adasme, T., & Muñoz, P. (2020). Astaxanthin Counteracts Excitotoxicity and Reduces the Ensuing Increases in Calcium Levels and Mitochondrial Reactive Oxygen Species Generation. *Marine Drugs*, 18(6). <https://doi.org/10.3390/MD18060335>
- Glass, C. K., Saijo, K., Winner, B., Marchetto, M. C., & Gage, F. H. (2010). Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell*, 140(6), 918–934. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2010.02.016>
- Gu, J., Li, Z., Chen, H., Xu, X., Li, Y., & Gui, Y. (2021). Neuroprotective Effect of Trans-Resveratrol in Mild to Moderate Alzheimer Disease: A Randomized, Double-Blind Trial. *Neurology and Therapy*, 10(2), 905. <https://doi.org/10.1007/S40120-021-00271-2>
- Gu, Y., & Han, X. (2020). Toll-Like Receptor Signaling and Immune Regulatory Lymphocytes in Periodontal Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9). <https://doi.org/10.3390/IJMS21093329>
- Haas, C., Hung, A. Y., Citron, M., Teplow, D. B., & Selkoe, D. J. (1995). beta-Amyloid, protein processing and Alzheimer's disease. *Arzneimittel-Forschung*, 45(3A), 398–402. <https://europepmc.org/article/med/7763333>
- Hayashi, K., Hasegawa, Y., Takemoto, Y., Cao, C., Takeya, H., Komohara, Y., Mukasa, A., & Kim-Mitsuyama, S. (2019). Continuous intracerebroventricular injection of Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide induces systemic organ dysfunction in a mouse model of Alzheimer's disease. *Experimental Gerontology*, 120, 1–5. <https://doi.org/10.1016/J.EXGER.2019.02.007>

- Hickman, S., Izzy, S., Sen, P., Morsett, L., & el Khoury, J. (2018). Microglia in neurodegeneration. *Nature Neuroscience*, 21(10), 1359. <https://doi.org/10.1038/S41593-018-0242-X>
- Hooijmans, C. R., Rovers, M. M., de Vries, R. B. M., Leenaars, M., Ritskes-Hoitinga, M., & Langendam, M. W. (2014). SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC Medical Research Methodology*, 14(1), 43. <https://doi.org/10.1186/1471-2288-14-43>
- How, K. Y., Song, K. P., & Chan, K. G. (2016). Porphyromonas gingivalis: An Overview of Periodontopathic Pathogen below the Gum Line. *Frontiers in Microbiology*, 7(FEB), 53. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.00053>
- Hu, Y., Li, H., Zhang, J., Zhang, X., Xia, X., Qiu, C., Liao, Y., Chen, H., Song, Z., & Zhou, W. (2020). Periodontitis Induced by P. gingivalis-LPS Is Associated With Neuroinflammation and Learning and Memory Impairment in Sprague-Dawley Rats. *Frontiers in Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/FNINS.2020.00658/FULL>
- Ide, M., Harris, M., Stevens, A., Sussams, R., Hopkins, V., Culliford, D., Fuller, J., Ibbett, P., Raybould, R., Thomas, R., Puenter, U., Teeling, J., Perry, V. H., & Holmes, C. (2016a). Periodontitis and Cognitive Decline in Alzheimer's Disease. *PloS One*, 11(3). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0151081>
- Jha, N. K., Jha, S. K., Kar, R., Nand, P., Swati, K., & Goswami, V. K. (2019). Nuclear factor-kappa β as a therapeutic target for Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 150(2), 113–137. <https://doi.org/10.1111/JNC.14687>
- Jodeiri Farshbaf, M., & Kiani-Esfahani, A. (2018). Succinate dehydrogenase: Prospect for neurodegenerative diseases. *Mitochondrion*, 42, 77–83. <https://doi.org/10.1016/J.MITO.2017.12.002>
- Jones, S. V., & Kounatidis, I. (2017). Nuclear Factor-Kappa B and Alzheimer Disease, Unifying Genetic and Environmental Risk Factors from Cell to Humans. *Frontiers in Immunology*, 8(DEC). <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2017.01805>
- Konkel, J. E., O'Boyle, C., & Krishnan, S. (2019). Distal Consequences of Oral Inflammation. *Frontiers in immunology*, 10, 1403. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01403>

- Kwon, H. S., & Koh, S. H. (2020). Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: the roles of microglia and astrocytes. *Translational Neurodegeneration* 2020 9:1, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/S40035-020-00221-2>
- Kwon, T., Lamster, I. B., & Levin, L. (2021). Current Concepts in the Management of Periodontitis. *International dental journal*, 71(6), 462–476. <https://doi.org/10.1111/idj.12630>
- Lamont, R. J., Koo, H., & Hajishengallis, G. (2018). The oral microbiota: dynamic communities and host interactions HHS Public Access. *Nat Rev Microbiol*, 16(12), 745–759. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0089-x>
- Lee, J. W., Lee, Y. K., Yuk, D. Y., Choi, D. Y., Ban, S. B., Oh, K. W., & Hong, J. T. (2008). Neuro-inflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment through enhancement of beta-amyloid generation. *Journal of neuroinflammation*, 5, 37. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-5-37>
- Li, A., Du, M., Chen, Y., Marks, L. A. M., Visser, A., Xu, S., & Tjakkes, G. H. E. (2022). Periodontitis and cognitive impairment in older adults: The mediating role of mitochondrial dysfunction. *Journal of Periodontology*, 93(9), 1302–1313. <https://doi.org/10.1002/JPER.21-0620>
- Liccardo, D., Marzano, F., Carraturo, F., Guida, M., Femminella, G. D., Bencivenga, L., Agrimi, J., Addonizio, A., Melino, I., Valletta, A., Rengo, C., Ferrara, N., Rengo, G., & Cannavo, A. (2020). Potential Bidirectional Relationship Between Periodontitis and Alzheimer's Disease. *Frontiers in Physiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2020.00683>
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S. C. (2017). NF-κB signaling in inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2, 17023. <https://doi.org/10.1038/SIGTRANS.2017.23>
- Liu, Y. C. G., Lerner, U. H., & Teng, Y. T. A. (2010). Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontology 2000*, 52(1), 163–206. <https://doi.org/10.1111/J.1600-0757.2009.00321.X>
- Meraz-Ríos, M. A., Toral-Rios, D., Franco-Bocanegra, D., Villeda-Hernández, J., & Campos-Peña, V. (2013). Inflammatory process in Alzheimer's Disease. *Frontiers in integrative neuroscience*, 7, 59. <https://doi.org/10.3389/fnint.2013.00059>

- Mills, E. L., Kelly, B., Logan, A., Costa, A. S. H., Varma, M., Bryant, C. E., Toulomousis, P., Däbritz, J. H. M., Gottlieb, E., Latorre, I., Corr, S. C., McManus, G., Ryan, D., Jacobs, H. T., Szibor, M., Xavier, R. J., Braun, T., Frezza, C., Murphy, M. P., & O'Neill, L. A. (2016). Repurposing mitochondria from ATP production to ROS generation drives a pro-inflammatory phenotype in macrophages that depends on succinate oxidation by complex II. *Cell*, 167(2), 457. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2016.08.064>
- Mirzaei, N., Davis, N., Chau, T. W., & Sastre, M. (2022). Astrocyte Reactivity in Alzheimer's Disease: Therapeutic Opportunities to Promote Repair. *Current Alzheimer research*, 19(1), 1–15. <https://doi.org/10.2174/1567205018666211029164106>
- Mitchell, J. P., & Carmody, R. J. (2018). NF- κ B and the Transcriptional Control of Inflammation. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 335, 41–84. <https://doi.org/10.1016/BS.IRCMB.2017.07.007>
- Mitchell, S., Vargas, J., & Hoffmann, A. (2016). Signaling via the NF κ B system. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Systems Biology and Medicine*, 8(3), 227–241. <https://doi.org/10.1002/WSBM.1331>
- Moreno Correa, S., & Contreras Rengifo, A. (2013). Mecanismos moleculares implicados en la destrucción ósea en la periodontitis: Revisión de la literatura. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral*, 6(3), 142–147. <https://doi.org/10.4067/S0719-01072013000300009>
- Morgan, M. J., & Liu, Z. G. (2011). Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling. *Cell Research*, 21(1), 103. <https://doi.org/10.1038/CR.2010.178>
- Muñoz, P., Ardiles, Á. O., Pérez-Espinosa, B., Núñez-Espinosa, C., Paula-Lima, A., González-Billault, C., & Espinosa-Parrilla, Y. (2020). Redox modifications in synaptic components as biomarkers of cognitive status, in brain aging and disease. *Mechanisms of Ageing and Development*, 189, 111250. <https://doi.org/10.1016/J.MAD.2020.111250>
- Muñoz, Y., Paula-Lima, A. C., & Núñez, M. T. (2018). Reactive oxygen species released from astrocytes treated with amyloid beta oligomers elicit neuronal calcium signals

- that decrease phospho-Ser727-STAT3 nuclear content. *Free Radical Biology and Medicine*, 117, 132–144. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2018.01.006>
- Oeckinghaus, A., & Ghosh, S. (2009). The NF- κ B Family of Transcription Factors and Its Regulation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 1(4). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A000034>
- Osorio, C., Cavalla, F., Paula-Lima, A., Díaz-Araya, G., Vernal, R., Ahumada, P., Gamonal, J., & Hernández, M. (2015). H₂O₂ activates matrix metalloproteinases through the nuclear factor kappa B pathway and Ca²⁺ signals in human periodontal fibroblasts. *Journal of Periodontal Research*, 50(6), 798–806. <https://doi.org/10.1111/JRE.12267>
- Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., Shamseer, L., Tetzlaff, J. M., Akl, E. A., Brennan, S. E., Chou, R., Glanville, J., Grimshaw, J. M., Hróbjartsson, A., Lalu, M. M., Li, T., Loder, E. W., Mayo-Wilson, E., McDonald, S., ... Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*, 372. <https://doi.org/10.1136/BMJ.N71>
- Pan, W., Wang, Q., & Chen, Q. (n.d.). *The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis*. <https://doi.org/10.1038/s41368-019-0064-z>
- Papapanou, P. N., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D. H., Flemmig, T. F., Garcia, R., Giannobile, W. v., Graziani, F., Greenwell, H., Herrera, D., Kao, R. T., Kebschull, M., Kinane, D. F., Kirkwood, K. L., Kocher, T., Kornman, K. S., Kumar, P. S., ... Tonetti, M. S. (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, S173–S182. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0721>
- Paula-Lima, A. C., Adasme, T., Sanmartín, C., Sebollela, A., Hetz, C., Carrasco, M. A., Ferreira, S. T., & Hidalgo, C. (2011). Amyloid β -Peptide Oligomers Stimulate RyR-Mediated Ca²⁺ Release Inducing Mitochondrial Fragmentation in Hippocampal Neurons and Prevent RyR-Mediated Dendritic Spine Remodeling Produced by BDNF. *https://Home.Liebertpub.Com/Ars*, 14(7), 1209–1223. <https://doi.org/10.1089/ARS.2010.3287>

- Peres, M. A., Macpherson, L. M. D., Weyant, R. J., Daly, B., Venturelli, R., Mathur, M. R., Listl, S., Celeste, R. K., Guarnizo-Herreño, C. C., Kearns, C., Benzián, H., Allison, P., & Watt, R. G. (2019). Oral diseases: a global public health challenge. *The Lancet*, *394*(10194), 249–260. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)31146-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)31146-8)
- Qiao, A., Li, J., Hu, Y., Wang, J., & Zhao, Z. (2021). Reduction BACE1 expression via suppressing NF-κB mediated signaling by Tamibarotene in a mouse model of Alzheimer's disease. *IBRO Neuroscience Reports*, *10*, 153–160. <https://doi.org/10.1016/J.IBNEUR.2021.02.004>
- Qiu, C., Yuan, Z., He, Z., Chen, H., Liao, Y., Li, S., Zhou, W., & Song, Z. (2021). Lipopolysaccharide Preparation Derived From *Porphyromonas gingivalis* Induces a Weaker Immuno-Inflammatory Response in BV-2 Microglial Cells Than *Escherichia coli* by Differentially Activating TLR2/4-Mediated NF-κB/STAT3 Signaling Pathways. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *11*, 606986. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2021.606986/FULL>
- Rahman, M. H., Akter, R., Bhattacharya, T., Abdel-Daim, M. M., Alkahtani, S., Arafah, M. W., Al-Johani, N. S., Alhoshani, N. M., Alkeraishan, N., Alhenaky, A., Abd-Elkader, O. H., El-Seedi, H. R., Kaushik, D., & Mittal, V. (2020). Resveratrol and Neuroprotection: Impact and Its Therapeutic Potential in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Pharmacology*, *11*. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2020.619024>
- Riquelme, D., Alvarez, A., Leal, N., Adasme, T., Espinoza, I., Valdés, J. A., Troncoso, N., Hartel, S., Hidalgo, J., Hidalgo, C., & Carrasco, M. A. (2011). High-Frequency Field Stimulation of Primary Neurons Enhances Ryanodine Receptor-Mediated Ca²⁺ Release and Generates Hydrogen Peroxide, Which Jointly Stimulate NF-κB Activity. *https://Home.Liebertpub.Com/Ars*, *14*(7), 1245–1259. <https://doi.org/10.1089/ARS.2010.3238>
- Sama, D. M., & Norris, C. M. (2013). Calcium dysregulation and neuroinflammation: Discrete and integrated mechanisms for age-related synaptic dysfunction. *Ageing Research Reviews*, *12*(4), 982–995. <https://doi.org/10.1016/J.ARR.2013.05.008>
- Sanmartín, C. D., Veloso, P., Adasme, T., Lobos, P., Bruna, B., Galaz, J., García, A., Hartel, S., Hidalgo, C., & Paula-Lima, A. C. (2017). RyR2-mediated Ca²⁺ release and mitochondrial ROS generation partake in the synaptic dysfunction caused by

- amyloid β peptide oligomers. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10, 115. <https://doi.org/10.3389/FNMOL.2017.00115/BIBTEX>
- Sansores-España, D., Carrillo-Avila, A., Melgar-Rodriguez, S., Díaz-Zuñiga, J., & Martínez-Aguilar, V. (2021). Periodontitis and Alzheimer's disease. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 26(1), e43–e48. <https://doi.org/10.4317/MEDORAL.23940>
- Shabab, T., Khanabdali, R., Moghadamtousi, S. Z., Kadir, H. A., & Mohan, G. (2016). Neuroinflammation pathways: a general review. *Http://Dx.Doi.Org/10.1080/00207454.2016.1212854*, 127(7), 624–633. <https://doi.org/10.1080/00207454.2016.1212854>
- Singh Rao, S. K., Harding, A., Poole, S., Kesavalu, L., & Crean, S. J. (2015). Porphyromonas gingivalis Periodontal Infection and Its Putative Links with Alzheimer's Disease. *Mediators of Inflammation*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/137357>
- Snow, W. M., & Albeni, B. C. (2016). Neuronal Gene Targets of NF- κ B and Their Dysregulation in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 9(NOV2016), 118. <https://doi.org/10.3389/FNMOL.2016.00118>
- Sparks Stein, P., Steffen, M. J., Smith, C., Jicha, G., Ebersole, J. L., Abner, E., & Dawson, D. (2012). Serum antibodies to periodontal pathogens are a risk factor for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 8(3), 196. <https://doi.org/10.1016/J.JALZ.2011.04.006>
- Sukumaran, P., da Conceicao, V. N., Sun, Y., Ahamad, N., Saraiva, L. R., Selvaraj, S., & Singh, B. B. (2021). Calcium Signaling Regulates Autophagy and Apoptosis. *Cells*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/CELLS10082125>
- Sun, S. C. (2011). Non-canonical NF- κ B signaling pathway. *Cell Research*, 21(1), 71. <https://doi.org/10.1038/CR.2010.177>
- Tang, Y., & Le, W. (2015). Differential Roles of M1 and M2 Microglia in Neurodegenerative Diseases. *Molecular Neurobiology* 2015 53:2, 53(2), 1181–1194. <https://doi.org/10.1007/S12035-014-9070-5>
- Teixeira, F. B., Saito, M. T., Matheus, F. C., Prediger, R. D., Yamada, E. S., Maia, C. S. F., & Lima, R. R. (2017a). Periodontitis and alzheimer's disease: A possible

- comorbidity between oral chronic inflammatory condition and neuroinflammation. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 9(OCT), 327. <https://doi.org/10.3389/FNAGI.2017.00327/BIBTEX>
- Teixeira, F. B., Saito, M. T., Matheus, F. C., Prediger, R. D., Yamada, E. S., Maia, C. S. F., & Lima, R. R. (2017b). Periodontitis and Alzheimer's Disease: A Possible Comorbidity between Oral Chronic Inflammatory Condition and Neuroinflammation. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 9(OCT). <https://doi.org/10.3389/FNAGI.2017.00327>
- Tönnies, E., & Trushina, E. (2017). Oxidative Stress, Synaptic Dysfunction, and Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 57(4), 1105. <https://doi.org/10.3233/JAD-161088>
- Tran, V. T. A., Kang, Y. J., Kim, H. K., Kim, H. R., & Cho, H. (2021). Oral Pathogenic Bacteria-Inducing Neurodegenerative Microgliosis in Human Neural Cell Platform. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13). <https://doi.org/10.3390/IJMS22136925>
- Tsukasaki, M. (2021). RANKL and osteoimmunology in periodontitis. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 39(1), 82–90. <https://doi.org/10.1007/S00774-020-01165-3/FIGURES/3>
- Wang, X., Wang, W., Li, L., Perry, G., Lee, H. gon, & Zhu, X. (2014). Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Alzheimer's Disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1842(8), 1240. <https://doi.org/10.1016/J.BBADIS.2013.10.015>
- Webers, A., Heneka, M. T., & Gleeson, P. A. (2020). The role of innate immune responses and neuroinflammation in amyloid accumulation and progression of Alzheimer's disease. *Immunology and Cell Biology*, 98(1), 28–41. <https://doi.org/10.1111/IMCB.12301>
- Weitzmann, M. N. (2017). Bone and the Immune System. <https://doi.org/10.1177/0192623317735316>, 45(7), 911–924. <https://doi.org/10.1177/0192623317735316>
- Wells, G. y cols; (2014). *Ottawa Hospital Research Institute*. https://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp

- Wu, Z., Ni, J., Liu, Y., Teeling, J. L., Takayama, F., Collicutt, A., Ibbett, P., & Nakanishi, H. (2017). Cathepsin B plays a critical role in inducing Alzheimer's disease-like phenotypes following chronic systemic exposure to lipopolysaccharide from *Porphyromonas gingivalis* in mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, *65*, 350–361. <https://doi.org/10.1016/J.BBI.2017.06.002>
- Yu, H., Lin, L., Zhang, Z., Zhang, H., & Hu, H. (2020). Targeting NF- κ B pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, *5*(1). <https://doi.org/10.1038/S41392-020-00312-6>
- Zhang, J., Yu, C., Zhang, X., Chen, H., Dong, J., Lu, W., Song, Z., & Zhou, W. (2018). *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide induces cognitive dysfunction, mediated by neuronal inflammation via activation of the TLR4 signaling pathway in C57BL/6 mice. *Journal of Neuroinflammation*, *15*(1). <https://doi.org/10.1186/S12974-017-1052-X>
- Zhao, J., Bi, W., Xiao, S., Lan, X., Cheng, X., Zhang, J., Lu, D., Wei, W., Wang, Y., Li, H., Fu, Y., & Zhu, L. (2019a). Neuroinflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment in mice. *Scientific Reports* *2019* *9*:1, *9*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42286-8>