RELACIÓN ENTRE POLIMORFISMOS DE LOS GENES IL-10, IL-17 Y RECEPTOR NALP-3 CON LA ENFERMEDAD PERIODONTAL EN PACIENTES CON Y SIN ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.

VALENTINA ÁLVAREZ MEJÍA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MANIZALES

FACULTAD DE SALUD

ESPECIALIZACIÓN EN PERIODONCIA

MANIZALES

2018

RELACIÓN ENTRE POLIMORFISMOS DE LOS GENES IL-10, IL-17 Y RECEPTOR NALP-3 CON LA ENFERMEDAD PERIODONTAL EN PACIENTES CON Y SIN ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.

VALENTINA ÁLVAREZ MEJÍA

Proyecto de grado para optar al título de Especialista en Periodoncia

Directora de Tesis

PAULA TATIANA CHACÓN ARBOLEDA.

Co-director de Tesis

CARLOS ANDRÉS NARANJO GALVEZ.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MANIZALES

FACULTAD DE SALUD

ESPECIALIZACIÓN EN PERIODONCIA

MANIZALES

2018

DEDICATORIA

Primeramente a Dios quién ha sido mi estandarte y valuarte durante toda mi vida, merecedor de todos mis esfuerzos, a quien le pertence toda gloria, honra y honor. A mi esposo por el amor, comprensión, apoyo y ánimo que me ha brindado para alcanzar nuevas metas, tanto profesionales como personales y por haber estado conmigo en aquellos momentos en que el estudio y el trabajo ocuparon mi tiempo y esfuerzo. A mis padres y a mi hermano por el apoyo incondicional, amor y sabiduría que me han aportaron durante toda mi carrera. A mis profesores por su excelente labor y calidad humana. A mis compañeros por los momentos que vivimos, porque aprendimos a luchar y caminar juntos.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la Clínica de la Memoria de Manizales por los pacientes, al Grupo INSAO y al de Neuroaprendizaje por creer en el proyecto, a los tutores la Dra. Paula Tatiana Chacón A. y al Dr. Carlos Andrés Naranjo G por su apoyo y confianza en el trabajo y su capacidad para guiar mis ideas en el desarrollo de esta tesis, y a los pacientes por ser parte fundamental de este proyecto.

RESUMEN

La Enfermedad Periodontal se ha relacionado con diversas enfermedades sistémicas como la diabetes, enfermedades cardiovasculares, bajo peso al nacer, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, neumonía, artritis reumatoide y actualmente se ha vinculado con Enfermedad de Alzheimer; pero a pesar de que se conocen varias hipótesis sobre esta relación hace falta evidencia científica que explique la verdadera relación entre ambas patologías bajo la hipótesis inflamatoria. Este artículo pretende evaluar polimorfismos en región promotora de los genes de respuesta inflamatoria como la IL-10, IL-17, y el receptor NALP-3 en pacientes con Enfermedad de Alzheimer y población sana, planteando que la Periodontitis es un factor de riesgo que contribuye al establecimiento y a la progresión de la Enfermedad de Alzheimer; y que existe una susceptibilidad genética para el desarrollo de éstas enfermedades. A partir de esto se propone el tratamiento periodontal, como parte del manejo integral preventivo de la Enfermedad de Alzheimer y la aplicación de protocolos y guías de manejo del paciente con Enfermedad de Alzheimer o con riesgo a padecerla; además de la contribución al conocimiento científico actual de la patogenia de estas enfermedades.

Objetivo: Relacionar la presencia de polimorfismos en los genes de citocinas y receptores de respuesta inmune IL-10, IL-17 y NALP-3 con la severidad de la Enfermedad Periodontal en pacientes con y sin Enfermedad de Alzheimer.

Metodología: Para caracterizar clínicamente los pacientes objeto del estudio en términos clínicos periodontales se realizó la evaluación del estado de salud periodontal para establecer el grado de severidad y extensión de la Enfermedad Periodontal para cada paciente. Para identificar los polimorfismos de genes relacionados con la Enfermedad Periodontal en la población objeto de estudio, se realizó el siguiente procedimiento: i. Extracción de una muestra de sangre periférica, ii. Extracción de ADN, iii. Amplificación del ADN por RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real), iv.

Genotipificación de los polimorfismos asociados a los genes de interés mediante sondas Taqman (Applied Biosystem), v. Análisis mediante el software Allelic discrimination (Applied Biosystems). vi. Comparación de la distribución de genotipos en la población estudiada para los diferentes SNP de los genes de interés. Para relacionar los polimorfismos genéticos de los genes de interés con las características clínicas periodontales en la población objeto de estudio se realizó un: i. Análisis estadístico descriptivo para determinar el comportamiento de las variables de los polimorfismos genéticos y los índices periodontales (índice de placa bacteriana, profundidad al sondaje, nivel de inserción clínica). ii. Evaluación de asociaciones entre variables usando análisis bivariado y multivariado con modelo de regresión logística, controlados por edad y género utilizando el programa IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 24.

Resultados: Los pacientes con el genotipo G/A de la IL-10 (rs1800896) presentaron más riesgo de presentar Enfermedad Periodontal comparado con los pacientes con el genotipo A/A (p=0.096). Se encontraron diferencias en el marcador de la IL-17 (rs7747909) entre ambos grupos de pacientes, en donde los pacientes con Enfermedad de Alzheimer mostraron una mayor presencia del genotipo G/A comparado con los pacientes sin EA que presentan el genotipo A/A, para este mismo marcador (P=0,002). La presencia de genotipos del marcador genético en el gen de la IL-17 (rs7747909) es estadísticamente diferente entre pacientes con y sin historia de periodontitis (P=0,744). La presencia del genotipo A/A se encuentra en pacientes con historia de periodontitis. Existe una tendencia en el marcador genético IL-17 (rs7747909) tanto para la Enfermedad de Alzheimer como para la Periodontitis. La presencia del genotipo C/C en el marcador genético NALP-3 (rs2066844) aumenta el riesgo de presentar Enfermedad Periodontal en relación al genotipo T/C (p=0.025).

Conclusiones: Los pacientes con EA y genotipo G/A de la IL-10 (rs1800896) presentaron más riesgo de presentar Enfermedad Periodontal, además, los pacientes con Enfermedad de Alzheimer mostraron una mayor presencia del genotipo G/A del marcador IL-17 (rs7747909) comparado con los pacientes sin EA. La presencia de genotipos del marcador

genético en el gen de la IL-17 (rs7747909) es estadísticamente diferente entre pacientes con y sin historia de periodontitis. La presencia del genotipo A/A se encuentra en pacientes con historia de periodontitis. La presencia del genotipo C/C en el marcador genético NALP-3 (rs2066844) aumentó el riesgo de presentar Enfermedad Periodontal en relación al genotipo T/C (p=0.025) en pacientes con EA.

Palabras Claves: Enfermedad de Alzheimer, Periodontitis Crónica, Citocinas, Genes

ABSTRACT

Periodontal disease has been linked to various systemic diseases such as diabetes, cardiovascular disease, low birthweight, chronic obstructive pulmonary disease, pneumonia, rheumatoid arthritis and is currently linked to Alzheimer's disease; But although several hypotheses are known about this relationship, there is a need for scientific evidence explaining the true relationship between the two pathologies under the inflammatory hypothesis. This article aims to evaluate polymorphisms in the promoter region of inflammatory response genes such as IL-10, IL-17, and receptor NALP-3 in patients with Alzheimer's disease and healthy population, posing that periodontitis is a risk factor that contributes to the establishment and progression of Alzheimer's disease; And that there is a genetic susceptibility to the development of these diseases. From this is proposed periodontal treatment, as part of the comprehensive preventive management of Alzheimer's disease and the application of protocols and guidelines for managing the patient with Alzheimer's disease or at risk to suffer it; In addition to the contribution to the current scientific knowledge of the pathogenesis of these diseases.

Objective: To relate the presence of polymorphisms in the genes of cytokines and receptors of immune response IL-10, IL-17 and NALP-3 with the severity of Periodontal disease in patients with and without Alzheimer's disease.

Methodology: In order to characterize clinically the patients studied in periodontal clinical terms, the evaluation of periodontal health status was carried out to establish the degree of severity and extent of periodontal disease for each patient. To identify the polymorphisms of genes related to Periodontal disease in the population under study, the following procedure was performed: I. Extraction of a peripheral blood sample, II. DNA extraction, III. DNA amplification by RT-PCR (polymerase chain reaction in real time), IV. Genotyping of the polymorphisms associated with the genes of interest through Taqman probes (applied Biosystem), V. Analysis using the Software Allelic discrimination (applied Biosystems). VI. Comparison of the distribution of genotypes in the population studied for the different SNP of the genes of interest. In order to relate the genetic polymorphisms of the genes of interest

to the periodontal clinical characteristics in the population under study, a: I. Descriptive statistical analysis was carried out to determine the behavior of the variables of the Genetic polymorphisms and periodontal index. II. Evaluation of associations between variables using bivariate and multivariate analysis with logistic regression model, controlled by age and gender using the IBM SPSS (statistical Package for the Social Sciences) version 24 program.

Results: Patients with the genotype G/A of IL-10 (rs1800896) presented more risk of presenting Periodontal disease compared with patients with genotype A/A (P = 0.096). Differences were found in the marker of IL-17 (rs7747909) between both groups of patients, where patients with Alzheimer's disease showed a greater presence of genotype G/A compared to patients without EA presenting the genotype A/A, for this same marker (P = 0,002). The presence of genetic marker genotypes in the IL-17 gene (RS7747909) is statistically different among patients with and without history of periodontitis (P = 0,744). The presence of genotype A/A is found in patients with history of periodontitis. There is a trend in the genetic marker IL-17 (rs7747909) for both Alzheimer's disease and periodontitis. The presence of genotype C/C in the genetic marker NALP-3 (rs2066844) increases the risk of presenting Periodontal disease in relation to the genotype T/C (p = 0.025).

Conclusion: Patients with EA and genotype G/A of IL-10 (rs1800896) had more risk of presenting Periodontal disease, in addition, patients with Alzheimer's disease showed a greater presence of the genotype G/A of the marker IL-17 (rs7747909) compared with the Patients without EA. The presence of genetic marker genotypes in the IL-17 gene (RS7747909) is statistically different among patients with and without history of periodontitis. The presence of genotype A/A is found in patients with history of periodontitis. The presence of genotype C/C in the genetic marker NALP-3 (rs2066844) increased the risk of presenting Periodontal disease in relation to the genotype T/C (p = 0.025) in patients with EA.

Keywords: Alzheimer Disease, Chronic Periodontitis, Cytokines, Genes, Polymorphism, Single Nucleotide

CONTENIDO

1. PRESENTACIÓN 15

2. ANTECEDENTES 17

3. ÁREA PROBLEMÁTICA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN 18

4. JUSTIFICACIÓN 19

5. REFERENTE TEÓRICO 20

6. OBJETIVOS 30

6.1. OBJETIVO GENERAL 30

6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 30

7. METODOLOGÍA 31

8. RESULTADOS 35

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS 55

10. CONCLUSIONES 62

11. RECOMENDACIONES 63

12. ANEXOS 64

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características demográficas 38
Tabla 2. Estado de salud periodontal. 41
Tabla 3. Estado periodontal, uso de prótesis y consumo de alcohol y tabaco con relación al sexo 42
Tabla 4. Estado periodontal con relación al género 44
Tabla 5. Presencia de genotipos en diferentes marcadores genéticos para pacientes con y sin Enfermedad de Alzheimer 46
Tabla 6. Presencia de genotipos en diferentes marcadores genéticos según el nivel de severidad de la Enfermedad Periodontal 48
Tabla 7. Presencia de genotipos en diferentes marcadores genéticos según la historia de Periodontitis 50
Tabla 8. Prueba de Hosmer y Lemeshow 52
Tabla 9. Estimación del modelo de regresión logística para la presencia/ausencia de Enfermedad Periodontal a través el método de selección Forward 53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Severidad de la Enfermedad Periodontal en función de los grupos de pacientes estudiados 37
Figura 2. Uso de prótesis dental en función de los grupos de pacientes estudiados 39
Figura 3. Historia de Enfermedad Periodontal en función de los grupos de pacientes estudiados 40
Figura 4. Consumo de alcohol en función del género 43
Figura 5. Presencia del marcador genético IL-17 (rs7747909) en pacientes con y sin EA ... 45
Figura 6. Presencia del marcador genético IL-17 (rs7747909) según la historia de Periodontitis 50

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado. 64
Anexo 2. Periodontograma. 66
.

1. PRESENTACIÓN

Durante los últimos 20 años se han estudiado los procesos infecciosos de la cavidad oral que inician durante la juventud y su relación con la Enfermedad de Alzheimer (EA) durante la adultez y la vejez (Kondo)[1]. La evidencia sugiere que la Enfermedad de Alzheimer, podría iniciarse o exacerbarse debido a la presencia de agentes infecciosos y respuestas inflamatorias y oxidativas, afectando el cerebro continuo y gradualmente a través de los años. Se ha planteado que ciertos virus y bacterias pueden afectar el tejido cerebral humano, aumentando el riesgo de sufrir Enfermedad de Alzheimer. (Honjo)[2].

Se plantea que la inflamación sistémica crónica empeora el proceso inflamatorio a nivel cerebral, lo cual puede explicarse por el aumento de mediadores inflamatorios, como las citocinas (IL) IL-1, IL-6 y el factor de necrosis tumoral-α (TNF-α) a nivel plasmático (Gaur)[3]. En el estudio publicado por Lim y cols. en 2015 se reporta que la exposición temprana y de larga data a agentes infecciosos predispone al desarrollo de la enfermedad a una edad adulta. (Lim)[4]

La Periodontitis se relaciona con la Enfermedad de Alzheimer, debido a que es una infección crónica periférica que genera una respuesta inflamatoria sistémica. Las células leptomeningeales envían señales inflamatorias sistémicas a la microglía residente del cerebro iniciando la neuroinflamación, se cree que este tipo de microglía responde de manera exagerada a la inflamación sistémica (Wu)[5]. El péptido amiloide promueve la activación de la microglía y los astrocitos en la Enfermedad de Alzheimer y este proceso estimula la producción de citocinas como la IL-1α[6], IL-10[7], IL-6[8], TNF-α[9], las proteínas APO J[10], CR1[11], PCR[12], y la ciclooxigenasa 2 (COX-2)[13]. Toral en 2015 concluyó que polimorfismos en estos genes juegan un papel importante en el desarrollo de la Enfermedad de Alzheimer, pero que se requiere mayores estudios para confirmar. De igual manera se ha encontrado que el acúmulo de la placa beta amiloide es una característica típica de la enfermedad de Alzheimer. (McGeer)[14] Kamer y colaboradores, en 2015, demostraron que

la inflamación e infección periférica son suficientes para producir acumulación de beta amiloide cerebral en humanos. (Kamer)[15]

Se han propuesto varias teorías en cuanto a la relación entre la Enfermedad periodontal y la Enfermedad de Alzheimer, entre ellas: a. Invasión directa de patógenos periodontales y/o sus factores de virulencia en el tejido cerebral, b. Exposición crónica de patógenos periodontales y sus exotoxinas que pueden modificar los mediadores inflamatorios sistémicos, c. La periodontitis y la Enfermedad de Alzheimer pueden compartir una causa común debido a la expresión de fenotipos hiper inflamatorios y el rol de los polimorfismos, incluyendo la apoliproteína (APOE) alfa 4 como un genotipo que induce inflamación e infección (Gaur) [16]

El objetivo del proyecto fue relacionar la presencia de polimorfismos en los genes de citocinas y receptores de respuesta inmune IL-10, IL-17 y NALP-3 con la severidad de la Enfermedad periodontal en pacientes con y sin Enfermedad de Alzheimer. Para el cumplimiento de éste objetivo, se realizó una valoración clínica periodontal que permitió evaluar el estado de salud periodontal y a su vez establecer el grado de severidad y extensión de la patología periodontal para cada paciente; se realizó igualmente una toma de muestra de sangre periférica para la obtención de su ADN para el proceso de genotipificación en los genes de interés. Para determinar esta relación se realizó un análisis de las pruebas estadísticas a nivel descriptivo e inferencial con el software SPSS (versión 24).

2. ANTECEDENTES

Las diferentes formas de demencia, incluida la Enfermedad de Alzheimer, constituyen uno de los mayores problemas de salud pública en el mundo debido a la prevalencia actual (46 millones de personas[17]), al número de pacientes que se calculan para los años venideros y a los costos que ello representa. Afecta a más de 35 millones de personas en todo el mundo, una cifra que se duplicará para 2030 y se triplicará para 2050, hasta los 115 millones de personas afectadas, estando las civilizaciones occidentales y los países en desarrollo en especial riesgo (Ferri)[18]. Latinoamérica es una de las regiones que se verán más afectadas y los casos aumentarán desde los más de 7,8 millones de personas desde la actualidad hasta más de 27 millones en 2050 (de Sánchez)[19].En Colombia se ha determinado una prevalencia de demencia del 1.8 al 3.4% en pacientes mayores a 65 años, siendo las regiones de mayor prevalencia la región suroccidental y la oriental. Las proyecciones presentadas de demencia en mayores de 60 años y el crecimiento poblacional esperado según el DANE (Departamento Administrativo Nacional de Estadística) en Colombia son cifras de alto impacto para los sistemas de salud (Prada)[20].

A nivel mundial las Enfermedades Periodontales, afectan a un 15% a 20% de los adultos de edad media (35-44 años), latinoamérica presenta una prevalencia del 90% de gingivitis o periodontitis y el 30% corresponde a periodontitis crónica. De igual manera, la Cuarta Encuesta de Salud Bucal (ENSAB IV) realizada en Colombia, reportó que para todas las formas de Enfermedad Periodontal (Gingivitis y Periodontitis) existe una prevalencia mayor a 70%; de esta población, los adultos mayores a 65 años, presentan 95% de prevalencia de la misma, en donde, 17.7% de los casos corresponden a periodontitis de moderada a severa (Peñaloza)[21].

3. ÁREA PROBLEMÁTICA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

Recientes estudios (Poole)[22] (McManus)[23] (Singhrao)[24] (Olsen)[25] (Liu Y. W.)[26] han demostrado una relación positiva entre la presencia de Periodontitis, específicamente los factores de virulencia de la bacterias periodontopáticas con la producción de Beta amiloide (βA), principal elemento diagnóstico relacionado con la Enfermedad de Alzheimer (EA).

La EA es una afección cerebral progresiva que afecta a las regiones del cerebro que controlan la memoria y las funciones cognitivas, destruyendo gradualmente la memoria de la persona y su capacidad para aprender, razonar, comunicarse, y llevar a cabo las actividades diarias, llevando consigo un aumento en los costos socioeconómicos cada vez mayor (Korolev)[27].

La inflamación contribuye significativamente en la patogénesis de la EA por la generación y secreción de mediadores proinflamatorios que interactúan con la neurodegeneración en múltiples niveles y que conllevan a la muerte neuronal. Con dicha activación hay liberación de una variedad de citocinas y factores de crecimiento, permitiendo así, una comunicación regulada de la célula activada con otras células inactivadas, con células cerebrales y del sistema inmune. Actualmente existen evidencias que hay una serie de señales innatas que estarían involucradas en la activación de la microglia. (Brosseron F. K.-5.)[28] (Heneka)[29] (McGeer)[30] (Tuppo)[31]. Teniendo en cuenta que la literatura científica ha demostrado la asociación de ciertos polimorfismos genéticos en genes de citocinas y receptores de respuesta inmune en la enfermedad periodontal y la EA, surgió la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la relación entre la presencia de polimorfismos en los genes de respuesta inmune IL-10 (rs1800896, rs1800872), IL-17 (rs10484879, rs7747909, rs2275913) y NALP-3 (rs2027432, rs2066844, rs10754558) con la severidad de la Enfermedad Periodontal en pacientes con y sin Enfermedad de Alzheimer?

4. JUSTIFICACIÓN

La Enfermedad Periodontal se ha relacionado con diversas enfermedades sistémicas como la diabetes, enfermedades cardiovasculares, bajo peso al nacer, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, neumonía, artritis reumatoide y actualmente se ha vinculado con Enfermedad de Alzheimer; pero a pesar de que se conocen varias hipótesis sobre esta relación hace falta evidencia científica que explique la verdadera relación entre ambas patologías bajo la hipótesis inflamatoria. Este trabajo evaluó polimorfismos en región promotora de los genes de respuesta inflamatoria como la IL-10, IL-17, y el receptor NALP-3 en pacientes con y sin Enfermedad de Alzheimer, planteando que la Periodontitis es un factor de riesgo que contribuye al establecimiento y a la progresión de la Enfermedad de Alzheimer. Con estos resultados se espera proponer el tratamiento periodontal, como parte del manejo integral preventivo de la Enfermedad de Alzheimer y la aplicación de protocolos y guías de manejo del paciente con Enfermedad de Alzheimer o con riesgo a padecerla; además de la contribución al conocimiento científico actual de la patogenia de estas enfermedades.

5. REFERENTE TEÓRICO

Durante los últimos 20 años se han estudiado los procesos infecciosos de la cavidad oral que inician durante la juventud y su relación con la Enfermedad de Alzheimer (EA) durante la adultez y la vejez (Kondo)[32]. La evidencia sugiere que la Enfermedad de Alzheimer, podría iniciarse o exacerbarse debido a la presencia de agentes infecciosos y respuestas inflamatorias y oxidativas, afectando el cerebro continuo y gradualmente a través de los años. En el estudio publicado por Lim y cols. en 2015 se reporta que la exposición temprana y de larga data a agentes infecciosos predispone al desarrollo de la enfermedad a una edad adulta (Lim)[33]. Se plantea que la inflamación sistémica crónica empeora el proceso inflamatorio a nivel cerebral, lo cual puede explicarse por el aumento de mediadores inflamatorios, como las citocinas IL-1, IL-6 y el factor de necrosis tumoral-α (TNF-α) a nivel plasmático (Gaur).[34]

El término demencia es utilizado con el fin de describir un síndrome en el cual se evidencian alteraciones en diferentes dominios cognoscitivos, los cuales afectan la funcionalidad de los individuos en varios ámbitos de su vida cotidiana, sin que se presente deterioro de su nivel de conciencia. Esta demencia fue descrita por primera vez en 1906, cuando el Doctor Alois Alzheimer reveló las características clínicas y anatomopatológicas de su paciente Auguste D, quién a la edad de 51 años desarrolló un trastorno afaso-apráxico, agnósico y amnésico, muriendo posteriormente a la edad de 56 años con una demencia severa. Han pasado 105 años desde las primeras descripciones de este trastorno y solo hasta ahora la ciencia se ha aproximado a un mejor conocimiento de esta enfermedad (Valls-Pedret)[35].

Por otra parte, es importante mencionar que se ha establecido recientemente una actualización de los criterios de la EA, en los cuales se establece la existencia de tres estadios de la enfermedad: preclínico, déficit cognoscitivo mínimo y demencia tipo

Alzheimer. Teniendo en cuenta que definimos la demencia como un síndrome, y éste a su vez se define como un conjunto de signos y síntomas, es importante mencionar que existen cuatro elementos característicos que enmarcan este cuadro. 1) La demencia afecta la cognición (memoria, atención, funciones ejecutivas, etc.), 2) Es un proceso en el cual se va presentando un deterioro global. 3) Los síntomas representan un deterioro en la funcionalidad, 4) El deterioro cognitivo se presenta en ausencia de delirio (Ibor)[36] (Lage)[37].

Las diferentes formas de demencia, incluida la Enfermedad de Alzheimer, constituyen uno de los mayores problemas de salud pública en el mundo debido a la prevalencia actual (46 millones de personas[38]), al número de pacientes que se calculan para los años venideros y a los costos que ello representa. Afecta a más de 35 millones de personas en todo el mundo, una cifra que se duplicará para 2030 y se triplicará para 2050, hasta los 115 millones de personas afectadas estando las civilizaciones occidentales y los países en desarrollo en especial riesgo (Ferri)[39].. Latinoamérica es una de las regiones que se verán más afectadas y los casos aumentarán desde los más de 7,8 millones de personas desde la actualidad hasta más de 27 millones en 2050 (de Sánchez)[40]. En Colombia se ha determinado una prevalencia de demencia del 1.8 al 3.4% en pacientes mayores a 65 años, siendo las regiones de mayor prevalencia la región suroccidental y la oriental. Las proyecciones presentadas de demencia en mayores de 60 años y el crecimiento poblacional esperado según el DANE (Departamento Administrativo Nacional de Estadística) en Colombia son cifras de alto impacto para los sistemas de salud (Prada)[41].

Entre los factores de riesgo de la EA se encuentra la vulnerabilidad y/o susceptibilidad genética, debido entre otros, a polimorfismos en genes de citocinas y receptores asociados a procesos inflamatorios con el desarrollo de la EA, cuyo evento patogénico central involucraría una disfunción glial. La asociación de la neuroinflamación con la EA está avalada por estudios neuropatológicos y epidemiológicos, y se plantea que, la inflamación favorece al procesamiento defectuoso del beta-amiloide (Aβ) y de la proteína precursora

del amiloide (APP), favoreciendo la agregación del Aβ, potenciada en condiciones pro-inflamatorias. (George)[42] (Corner)[43].

La periodontitis es una enfermedad infecciosa en la que la respuesta inmunológica desregulada del hospedero susceptible desencadena la destrucción progresiva e irreversible de los tejidos de soporte dentarios, es el resultado de la compleja interacción entre las bacterias, la respuesta inmune del hospedero y los mecanismos de homeostasis de los tejidos de soporte. Además, la susceptibilidad a la periodontitis se encuentra influenciada por determinantes genéticos y ambientales que generan un fenotipo individual de riesgo (Kornman K. S.)[44] (Cekici)[45] (Hajishengallis G. D.)[46] (Graves D. T.)[47].

Gracias a los avances tecnológicos en genética, bioquímica y en otras disciplinas se ha generado un acercamiento a los mecanismos etiopatogénicos implicados en esta enfermedad, de allí el interés de enmarcar la investigación relacionada con la Enfermedad Periodontal, término referido a dos entidades comunes que afectan los tejidos periodontales. La primera es la gingivitis, forma más leve manifestada como una respuesta inflamatoria de la encía, en la cual se mantiene el tejido conectivo de inserción en su nivel original. Esta entidad se considera una respuesta inmune a la presencia de biopelícula dental, pero modificada por factores sociales y de comportamiento, y rasgos genéticos y epigenéticos, todos ellos modulados y controlados por las respuestas inmunes e inflamatorias del hospedero. La segunda es la periodontitis considerada como una respuesta inmune individual en la cual existe un cambio en el contenido de la microbiota oral, que se manifiesta con la pérdida progresiva de inserción clínica, este término hace referencia a las fibras de tejido conectivo gingivales que se insertan al cemento radicular, pérdida de hueso alveolar, presencia de bolsas periodontales, edema del tejido conectivo gingival, agrandamiento o recesión gingival, sangrado al sondaje, aumento en la movilidad y pérdida dental. Histopatológicamente se encuentra migración del epitelio de unión, pérdida de fibras colágenas, presencia de numerosos leucocitos polimorfonucleares en el epitelio de unión y un denso infiltrado inflamatorio celular con plasmocitos, linfocitos y macrófagos. No existe una edad particular de aparición de la misma, pero es claro que la periodontitis

puede considerarse en edades entre 40 y 50 años, afectando aproximadamente, en su forma leve, del 40 al 60% de los adultos occidentales (Chen)[48] (Oliver)[49]. La periodontitis severa (caracterizada por pérdida de inserción clínica mayor o igual a 5mm) afecta al menos de 8 a 15% de la población adulta. (Preshaw)[50] (Pihlstrom)[51] (Armitage)[52] (Kinane)[53] (Flemmig)[54] (Berezow)[55] (Liu Y. C.)[56].

A nivel mundial las Enfermedades Periodontales, afectan a un 15% a 20% de los adultos de edad media (35-44 años), latinoamérica presenta una prevalencia del 90% de gingivitis o periodontitis y el 30% corresponde a periodontitis crónica. De igual manera, la Cuarta Encuesta de Salud Bucal (ENSAB IV) realizada en Colombia, reportó que para todas las formas de Enfermedad Periodontal (Gingivitis y Periodontitis) existe una prevalencia mayor a 70%; de esta población, los adultos mayores a 65 años, presentan 95% de prevalencia de la misma, en donde, 17.7% de los casos corresponden a periodontitis de moderada a severa (Peñaloza)[57].

El proceso inflamatorio inicial dentro del tejido periodontal se considera más que un proceso patológico, un mecanismo de defensa fisiológico contra el reto microbiano, el cual, al no ser eliminado mecánicamente para retornar a la homeostasis tisular, resulta en un exceso de inflamación y se considera un fracaso en las vías de resolución de la misma. La persistencia de la biopelícula alrededor del tejido periodontal resulta en una evidente invasión leucocitaria, inflamación crónica y destrucción posterior de la matriz extracelular y del hueso alveolar. (Van Dyke)[58] (Van Dyke T. E)[59]

Los procesos inflamatorios crónicos se manifiestan con la presencia no solamente en el sitio afectado sino en el torrente circulatorio de citocinas y quimiocinas (citocinas quimiotácticas), las cuales regulan la respuesta inmune durante todas las etapas del proceso inflamatorio. Dichas proteínas son producidas por células propias del periodonto como las células epiteliales, fibroblastos y por los fagocitos del proceso inflamatorio (neutrófilos y

macrófagos) durante la fase inicial y por los linfocitos durante la etapa establecida y avanzada de la lesión periodontal (Ara)[60].

Después del reconocimiento y presentación de los antígenos periodontopáticos, citocinas como el Factor de Necrosis tumoral alfa (TNF-α), la interleuquina-1β y la interleucina-6, son las primeras en aparecer en el proceso de patogénesis periodontal y son responsables de la migración celular inflamatoria, degradación de la matriz extracelular y de la osteoclastogénesis. Por lo tanto se acepta que la interrupción del balance entre la actividad osteoblástica y osteoclástica característica de la periodontitis, es iniciada por la presencia de bacterias y sus productos y por la presencia de citocinas inflamatorias como resultado de este estímulo (Garlet) [61].

A pesar que la evidencia acerca del rol bacteriano en la progresión de la Enfermedad Periodontal, la carga bacteriana parece no ser suficiente para explicar la severidad y la progresión variable en personas diferentes. Existe evidencia fuerte que demuestra que algunos factores permiten amplificar los procesos inflamatorios y aumentan la severidad de la enfermedad periodontal. Investigaciones a lo largo de 20 años, han reportado que las características de la Enfermedad Periodontal pueden explicarse a través de factores genéticos, manifestados por medio de marcadores; estos estudios han demostrado que las variaciones genéticas en dichos marcadores (polimorfismos) son comunes, y representan un mecanismo por el cual los individuos manifiestan, variaciones clínicas. Dado que ciertas citocinas regulan procesos inflamatorios, se han estudiado las relaciones entre las variaciones genéticas, la producción de citocinas y la severidad de la Periodontitis (Axelsson)[62] (Hugoson)[63] (Larsson)[64]. Las citocinas se encuentran involucradas en procesos inflamatorios que llevan a la destrucción tisular y a la presentación de formas clínicas de periodontitis. Maney, & Owens en 2015, reportaron polimorfismos genéticos en varias citocinas en diferentes grupos poblacionales tanto en Periodontitis crónica como en agresiva (Maney)[65].

Las personas con Enfermedad Periodontal presentan aumento en el riesgo de desarrollar enfermedades sistémicas y padecer efectos adversos sobre diferentes órganos a través de los procesos inflamatorios producto de la bacteremia asociada con procedimientos periodontales e incluso con el cepillado y el uso de la seda dental. El compromiso sistémico más reportado son las alteraciones cardiovasculares entre las cuales se encuentran endocarditis bacteriana, infarto del miocardio, cardiopatía isquémica, trombosis, aterosclerosis e insuficiencia coronaria (El Kholy)[66]. Con relación a patologías pulmonares se encuentran neumonía bacteriana, bronquitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y abscesos pulmonares como asociadas con pacientes periodontalmente comprometidos (Bansal)[67]. La periodontitis se constituye en un factor de riesgo para desarrollar diabetes Mellitus y se tiene evidencia que la glucemia se controla después del tratamiento periodontal. También puede ocasionar trastornos como colitis ulcerativa y necrosis hepática. De igual manera, se plantea como factor de riesgo del infarto cerebral y los tromboembolismos pulmonares (Wu Y.)[68]. Igualmente la evidencia sugiere que la enfermedad periodontal aumenta siete veces más el riesgo de las maternas a desarrollar parto pretérmino y bebés de bajo peso (Ide)[69] (Garcia)[70] (Peña Sisto)[71].

La periodontitis se relaciona con la enfermedad de Alzheimer, debido a que es una infección crónica periférica que genera una respuesta inflamatoria sistémica. Las células leptomeningeales envían señales inflamatorias sistémicas a la microglía residente del cerebro iniciando la neuroinflamación, se cree que este tipo de microglía responde de manera exagerada a la inflamación sistémica (Wu)[72].

A nivel cerebral, las citocinas más notables son el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF-α), interleucina-1-beta (IL-1β), interleucina-17 (IL-17) e interleucina-6 (IL-6), la familia de interferón- gamma (IFN-γ) y el factor de crecimiento transformante- beta (TGF-β). Todos ellos actúan en contexto para modular los procesos inflamatorios que afectan la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE) (Cacquevel)[73] (Mrak)[74] (Gaur)[75]. Después del reconocimiento y presentación de los antígenos periodontopáticos, citocinas como el Factor de Necrosis tumoral alfa (TNF-α), la interleucina- 1β y la interleucina-6,

son las primeras en aparecer en el proceso de patogénesis periodontal (Garlet)[76] y son responsables de la migración celular inflamatoria, degradación de la matriz extracelular y de la osteoclastogénesis (Graves)[77]. Por lo tanto se acepta que la interrupción del balance entre la actividad osteoblástica y osteoclástica característica de la periodontitis, es iniciada por la presencia de bacterias y sus productos y por la presencia de citocinas inflamatorias como resultado de este estímulo (Loesche)[78].

Se han propuesto varias teorías en cuanto a la relación entre la Enfermedad Periodontal y la Enfermedad de Alzheimer, entre ellas: a. Invasión directa de patógenos periodontales y/o sus factores de virulencia en el tejido cerebral, b. Exposición crónica de patógenos periodontales y sus exotoxinas que pueden modificar los mediadores inflamatorios sistémicos, c. La periodontitis y la Enfermedad de Alzheimer pueden compartir una causa común debido a la expresión de fenotipos hiper inflamatorios y el rol de los polimorfismos, incluyendo la apoliproteína (APOE) alfa 4 como un genotipo que induce Inflamación e infección (Gaur) [79].

Otros estudios reportan mecanismos subyacentes para una potencial relación bidireccional entre periodontopatías y Enfermedad de Alzheimer, al sugerir como mecanismo, la diseminación metastásica de bacterias gramnegativas por vía neuronal o bacteremia, o el daño de tejido cerebral por mediadores químicos periodontales (Loesche)[80].

La interleucina-10 es una citocina pleiotrópica que inhibe la inmunidad mediada por células mientras estimula la inmunidad humoral, además inhibe la síntesis de citocinas como IFN-γ, IL-2 y TNF-α. Parece que la IL-10 neutraliza la inflamación, reduciendo su duración y magnitud. En un modelo en ratón se demostró que la deficiencia de IL-10 induce el desarrollo de enfermedad inflamatoria crónica (Kaur)[81].

En enfermedad periodontal, la IL-10 desempeña un papel importante en la supresión de las respuestas inmunes inhibiendo la capacidad de los macrófagos para presentar antígenos (de

Waal Malefyt)[82] (Fiorentino)[83]. La IL-10 interfiere directamente en la producción de IFN-γ e IL-17 por las células Th-17 (Jovanovic)[84] (Naundorf)[85]. La IL-10 juega un rol protector en la destrucción del tejido ya que regula las metaloproteinasas de la matriz (MMP) y el RANKL, induciendo el factor inhibidor de las MMP (Concejero)[86] (Claudino)[87] (Garlet G.)[88]. Está ampliamente expresada en tejidos periodontales inflamados, aparentemente limitando la severidad de la enfermedad (Garlet G.)[89] (Lappin)[90]. El mRNA de IL-10 ha sido detectado en lóbulos frontales y parietales del cerebro normal por su rol en la homeostasis neuronal y la supervivencia celular mediante la interacción de receptores específicos de la superficie celular (Strle)[91], además disminuye la respuesta inflamatoria porque reduce la síntesis de citocinas proinflamatorias como la IL-1 y TNF-α, suprimiendo la expresión del receptor de citocinas e inhibiendo el receptor de activación en el cerebro (Ledeboer)[92]. Se ha demostrado que el Aβ no estimula la producción de IL-10 por células gliales in vitro, pero la pre-exposición de las células gliales a la IL-10 inhibe el Aβ, o los LPS inducen la producción de citocinas inflamatorias, como consecuencia las células gliales y las citocinas contribuyen en la progresión de la neurodegeneración en pacientes con Enfermedad de Alzheimer (Mrak)[93]. Estos hallazgos sugieren que la IL-10 y sus polimorfismos genéticos pueden incrementar el riesgo de desarrollar Enfermedad de Alzheimer de inicio tardío (Di Bona)[94] Se ha estimado que del 50 – 80% de las diferencias en la producción de IL-10 pueden ser explicadas por factores genéticos (Reichert)[95].

La Interleucina-17, descubierta en 1993, es una citocina proinflamatoria que presenta 6 ligandos (IL-17 A-F); la IL-17A ejerce varias funciones biológicas, las cuales pueden estar involucradas en la patogénesis de un amplio rango de desórdenes inflamatorios, así como condiciones infecciosas (Iwakura)[96]. Parece ser que la IL-17 estimula la producción de citocinas que específicamente atraen neutrófilos al sitio de la inflamación (IL-8, CXCL6 (proteína quimiotáctica granulocítica-2)), o estimula la granulopoyesis en la médula ósea (IL-6, G-CSF (factor estimulador de colonias de granulocitos) GM-CSF (factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos)). Adicionalmente, la IL-17 induce la producción de IL-1β y TNF-α en macrófagos (Witowski)[97]. Se ha asociado la IL-17 con el incremento

de la expresión del receptor activador del RANKL (ligando de receptor activador del factor nuclear kappa beta), el principal factor estimulador de la diferenciación y activación de los osteoclastos (Van Bezooijen)[98].

Bajo condiciones experimentales, parece que la IL-17 tiene una importante función protectora ya que la deleción genética de los receptores de la IL-17 evita la pérdida ósea periodontal estimulada por *P. gingivalis* in vivo, esto puede deberse al papel de la IL-17 en la estimulación de quimiocinas que inducen el reclutamiento de neutrófilos. Sin embargo, los seres humanos con periodontitis tienen niveles aumentados de células Th17 y ARNm de IL-17, en comparación con tejidos sanos, pero no demuestran que la IL-17 contribuya al proceso destructivo (Graves D. T.) [99]. Estudios clínicos han reportado incremento de los niveles de IL-17 asociados con la periodontitis crónica y se han encontrado concentraciones elevadas en tejidos adyacentes a la destrucción ósea (Ohyama)[100] (Takahashi)[101]. El impacto directo de la IL-17 en el recambio óseo en artritis reumatoide ha sido claramente demostrado (Arroyo-Villa)[102] (Baek)[103] (Park)[104] (Queiroz-Junior)[105] (Sato)[106], lo que sugiere la naturaleza osteoclástica de esta citocina.

El gen *NLRP 3* está localizado en el cromosoma 1q44, y su organización genómica presenta 9 exones, destacando por su tamaño el exón 3 y se expresa fundamentalmente en monocitos, neutrófilos y condrocitos. La criopirina pertenece a la familia de los receptores citosólicos de tipo Nod (NLR, del inglés *Nod-like receptor*), involucrados en la respuesta inmune innata, a semejanza de lo que ocurre con los receptores de tipo Toll (TLR, del inglés *Toll-like receptors*) (Creagh)[107].Componente del inflamasoma es un complejo multiprotéico formado por la caspasa 1, PYCARD, una NALP y en ocasiones una caspasa 5 u 11, promueve la maduración de las citoquinas de la inflamación interleucina 1-β e interleucina 18. El inflamasoma es responsable de la activación de los procesos inflamatorios, y se ha demostrado que induce la piroptosis celular, un proceso de muerte celular programada que se produce con mayor frecuencia tras la infección con patógenos intracelulares y es probable que forme parte de la respuesta antimicrobiana.

La inmunidad innata y la respuesta inflamatoria juegan un rol importante en la patogénesis

de la enfermedad de Alzheimer. Recientemente la información ha vinculado la activación del inflamosoma NLRP3 a la patogénesis de la EA. Considerando la importancia del rol del NLRP3 en los procesos inflamatorios y en la EA, se hipotetiza que las variaciones en el gen del NLRP-3 se consideran factores de riesgo para la a enfermedad de Alzheimer (Tan)[108].

Con respecto a la Enfermedad Periodontal se demostró una expresión mejorada del complejo inflamasoma NALP3. Esta ruta de señalización de citocinas puede, por lo tanto, ser crucial en el control regulador de respuestas inflamatorias en Enfermedades Periodontales (Bostanci)[109].

6. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVO GENERAL

Relacionar la presencia de polimorfismos en los genes de citocinas y receptores de respuesta inmune IL-10, IL-17 y NALP-3 con la severidad de la Enfermedad Periodontal en pacientes con y sin Enfermedad de Alzheimer.

6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar clínicamente los pacientes objeto del estudio en términos clínicos periodontales
2. Identificar polimorfismos en región promotora de los genes IL-10 (rs1800896, rs1800872), IL-17 (rs10484879, rs7747909, rs2275913) y NALP3 (rs2027432, rs2066844, rs10754558) relacionados con enfermedad periodontal en la población objeto de estudio
3. Relacionar los polimorfismos genéticos de los genes de interés con las características clínicas periodontales en la población objeto de estudio.

7. METODOLOGÍA

Se realizó un estudio descriptivo, con enfoque empírico analítico con información predominantemente cuantitativa. Se incluyeron pacientes con diagnóstico de Enfermedad de Alzheimer comprobado por especialistas de la Clínica de Memoria de Manizales, con un rango de edad entre 65 y 80 años, de ambos sexos. La población fue de 62 pacientes. Los criterios de inclusión de casos con EA fueron los siguientes: edad mayor o igual a 65 años de ambos géneros, consentimiento informado del paciente para participar en el estudio, escolaridad mínima quinto de primaria, diagnóstico de Enfermedad de Alzheimer CDR 1-3, y los criterios de inclusión para personas sin Enfermedad de Alzheimer fueron: edad mayor o igual a 65 años de ambos géneros, consentimiento informado del paciente para participar en el estudio, escolaridad mínima quinto de primaria, ausencia de enfermedad con deterioro cognitivo - enfermedad psiquiátrica confirmado por la Clínica de Memoria, ausencia HTA no controlada o enfermedad neurológica. Se excluyeron pacientes con patología neurológica o psiquiátrica que explique los cambios cognitivos o comportamentales del paciente con EA, abuso de sustancias psicoactivas y alcohol, enfermedades alérgicas, o enfermedades inflamatorias sistémicas o condiciones médicas inestables, estar consumiendo corticosteroides sistémicos por lo menos un mes antes de la toma de la muestra, presencia de dificultades auditivas o visuales.

-Etapas de la investigación

1. Posterior a la aprobación por el comité de bioética de la UAM (Acta. 048 de julio 8 de 2015) y al diligenciamiento del consentimiento informado por el paciente y el acudiente autorizando o no su participación en el estudio para el registro de los datos sociodemográficos se realizó la evaluación del estado de salud periodontal aplicando el protocolo denominado *Evaluación clínica de enfermedad periodontal de la AAP* (1999) (Armitage)[110], lo que permitió establecer el grado de severidad y extensión de la Enfermedad Periodontal para cada paciente.

Se realizó un examen de boca completa que incluyó el registro del Periodontograma con los hallazgos de sondaje y sangrado al sondaje para establecer el diagnóstico con los siguientes criterios (Armitage G.)[111].

- **Periodontitis crónica leve a moderada**: Definición de caso: inflamación de la encía que se extiende hacia el aparato de inserción caracterizada por pérdida de inserción clínica debida a destrucción del ligamento periodontal y pérdida del hueso de soporte. Hallazgos clínicos: Se pueden presentar los siguientes signos y síntomas: edema, eritema, sangrado al sondaje y/o supuración. Pérdida de un tercio del soporte periodontal. En molares, si existe compromiso de furcaciones, no excede la clase I. Pueden encontrarse bolsas periodontales hasta 6 mm con pérdida de inserción hasta 4 mm. Puede haber evidencia radiográfica de pérdida ósea y movilidad, la cual puede ser localizada o generalizada.

- **Periodontitis crónica severa**: Definición de caso: inflamación de la encía y del aparato de inserción, caracterizada por pérdida de inserción producida por destrucción del ligamento periodontal y del hueso de soporte adyacente. Hallazgos clínicos: Pueden incluir combinación de los siguientes signos y síntomas: edema, eritema, sangrado al sondaje y/o supuración. El soporte periodontal está perdido en más de un tercio del tejido. Hay pérdida de inserción y compromiso de furcación mayor a Clase I, bolsas periodontales de 6 mm con pérdida de inserción mayor o igual a 5 mm. Pérdida ósea moderada a severa. La extensión se evaluó si compromete más del 30 % de los dientes se consideró generalizada, son compromete menos del 30% de los dientes involucrados se consideró localizada.

2. Para identificar los polimorfismos de genes relacionados con la Enfermedad Periodontal en la población objeto de estudio, se realizó el siguiente procedimiento:

i. Extracción de una muestra de sangre periférica
ii. Extracción de ADN con kit comercial siguiendo las instrucciones del fabricante (Kit de Qiagen)

iii. Amplificación del ADN por RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real)

iv. Genotipificación de los polimorfismos asociados a los genes de interés mediante sondas Taqman (Applied Biosystem)

v. Análisis mediante el software Allelic discrimination (Applied Biosystems).

vi. Comparación de la distribución de genotipos en la población estudiada para los diferentes SNP de los genes de interés.

Procedimiento para la Genotipificación:

1. Obtención de muestras de sangre y ADN de los participantes:

- Extracción de 10 mL de sangre periférica en tubos Vacutainer con EDTA
- Aislamiento de ADN de 200 µl de sangre total empleando el kit de extracción DNA de Qiagen, siguiendo las instrucciones del fabricante.

2. Genotipificación:

- Amplificación y detección de los SNP de interés utilizando el equipo StepOne Plus (Applied Biosystems), empleando la técnica de reacción en cadena de polimerasa en tiempo real, cada reacción de RT-PCR se realizó en un volumen de 10 uL con 2 uL de DNA genómico, 1X TaqMan Genotyping Master Mix y 1X Taqman SNP Genotyping Assay Mix, siguiendo el protocolo del fabricante. En cada PCR se utilizaron dos controles positivos y dos controles negativos para cada genotipo. Los experimentos se desarrollaron con las siguientes condiciones: un calentamiento inicial de 60°C durante 30s, desnaturalización a 95ºC durante 10 min, seguido de 40 ciclos de amplificación que consiste en 15 s a 95ºC y 1 min a 60 º C.
- La curva específica fluorescente para cada alelo y la discriminación alélica fueron visualizadas y analizadas mediante el software Allelic discrimination (Applied Biosystems).

3. Para relacionar los polimorfismos genéticos de los genes de interés con las características clínicas periodontales en la población objeto de estudio se realizó un:

- Análisis estadístico descriptivo para determinar el comportamiento de las variables de los polimorfismos genéticos y los índices periodontales (índice de placa bacteriana, profundidad al sondaje, nivel de inserción clínica).
- Evaluación de asociaciones entre variables usando análisis bivariado y multivariado con modelo de regresión logística, controlados por edad y género utilizando el programa IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 24.

Análisis estadístico:

En primera instancia, todos los cuestionarios se digitalizaron en una hoja de cálculo de Excel para ser exportados posteriormente a una base de datos del programa IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 24, obteniendo así, toda la información de los participantes. Luego, se realizaron los análisis estadísticos correspondientes.

Para dar cumplimiento a los objetivos y alcances propuestos, se utilizaron tablas de frecuencia y contingencia, que muestran frecuencias y porcentajes, asimismo se utilizaron gráficos de barras, para el resumen de las variables cualitativas. En cuanto al análisis de las variables cuantitativas, se utilizaron medidas de tendencia central y dispersión, como el mínimo, el máximo, la media y la desviación típica o estándar.

Para el análisis bivariado, se usó la prueba Chi-cuadrado de Pearson, para identificar si factores como el género, estrato, consumo de tabaco y alcohol se encuentran relacionados con la severidad de la enfermedad periodontal y los polimorfismos genéticos. Se utilizó una prueba no paramétrica de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis para comparar la distribución de los datos entre dos o más de dos grupos, respectivamente. Finalmente, se utilizó un modelo de regresión logística con el objetivo de modelar cómo influye en la probabilidad de Enfermedad de Periodontal, la Enfermedad de Alzheimer y la presencia o no de diversos polimorfismos genéticos.

8. RESULTADOS

Los datos obtenidos de los sujetos estudiados se procesaron en una base de datos del programa IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 24, obteniendo así, toda la información de los participantes. Luego, se realizaron los análisis estadísticos correspondientes. Se utilizaron tablas de frecuencia y contingencia, y gráficos de barras, para el resumen de las variables cualitativas. En cuanto al análisis de las variables cuantitativas, se utilizaron medidas de tendencia central y dispersión, como el mínimo, el máximo, la media y la desviación típica o estándar.

En el análisis bivariado, se utilizó la prueba Chi-cuadrado de Pearson, para identificar si factores personales como el género, estrato y consumo de tabaco y alcohol se encuentra relacionados con la severidad de la Enfermedad Periodontal y los polimorfismos genéticos. Se utilizó la prueba no paramétrica de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis para comparar la distribución de los datos entre dos o más de dos grupos, respectivamente.

Finalmente, se utilizó un modelo de regresión logística con el objetivo de modelar cómo influye en la probabilidad de Enfermedad de Periodontal, la Enfermedad de Alzheimer y la presencia o no de diversos polimorfismos genéticos. Este modelo permite identificar los factores de riesgo y los polimorfismos genéticos asociados a la Enfermedad de Periodontal (Silva)[112].

La regresión logística es un instrumento estadístico de análisis multivariado, de uso tanto explicativo como predictivo. La expresión estadística del modelo es:

$$logit = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \cdots + \beta_p X_p$$

En este modelo la variable dependiente fue dicotómica que representó: 0= sin Enfermedad Periodontal y 1= con Enfermedad Periodontal. En todos los casos se utilizó el procedimiento Forward (hacia delante) como método de selección de variables en el modelo, utilizando como criterio la significancia estadística de los coeficientes β de las variables introducidas usando el estadístico W de Wald. Se utilizó 0.10 como probabilidad de entrada para el método por pasos, es decir, que el modelo fue menos estricto para la entrada de una variable en la modelación. La laxitud de esta recomendación se debe a que un criterio tan restrictivo como un $p<0.05$ puede llevarnos a dejar de incluir en el modelo variables con una débil asociación a la variable dependiente en solitario pero que pudieron demostrar ser fuertes predictores de la misma al tomarlas en conjunto con el resto de variables explicativas. De igual forma se entendió que para la significancia estadística de los parámetros se contrastó a través de un nivel de significancia del 10%. Se incluyó además en el modelo, el término de la constante.

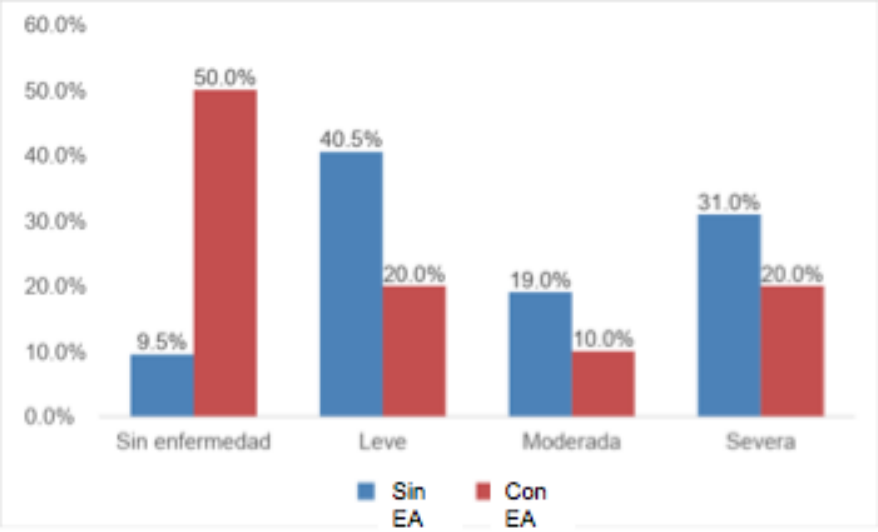
Características demográficas:

En el presente estudio se evaluaron 62 pacientes (20 pacientes con Enfermedad de Alzheimer y 42 pacientes sin Enfermedad de Alzheimer), de los cuales el 32.3% presentaron Enfermedad de Alzheimer y el 67.7% no la presentaron. El 82.3% de los diagnosticados con EA y el 81% de los pacientes sin EA fueron mujeres. El rango de edad estuvo comprendido entre 41 y 98 años, con un promedio de 70.2 +/- 13 años. La edad promedio de los pacientes con EA fue de 84 +/- 8 años y de los pacientes sin EA fue de 64 +/- 9 años, mostrando una diferencia significativa entre ambos grupos, a partir de la prueba no paramétrica Mann-Whitney ($p=0.000$).

En la tabla 1 y en las figuras 1, 2 y 3, se observa que el 50% de los pacientes con EA no presentaron signos clínicos de Enfermedad Periodontal, mientras casi el 90% de los pacientes sin EA presentaron algún nivel de severidad de Enfermedad Periodontal, mostrando de esta manera una diferencia en la severidad periodontal en los dos grupos de pacientes ($p=0.005$). Este hallazgo puede deberse a que el 85% de los pacientes con EA y el

40.5% de los pacientes sin EA presentaron prótesis dental (total o parcial), por tanto, dentro de la muestra seleccionada es más probable que los pacientes con EA tengan prótesis que aquellos sin EA (p=0.001). Se encontró que el 20% de los pacientes con Alzheimer y el 85.7% de los pacientes sin EA tienen historia de Enfermedad Periodontal (p=0.024). Factores como el sexo, consumo de tabaco, consumo de alcohol y estrato socioeconómico, son similares entre los pacientes con EA y pacientes sin EA (p>0.05). El consumo de tabaco es de cerca del 23%, el de alcohol es de 16.1% y el estrato más frecuente es el estrato medio con un 67.75% de participación.

Figura 1. Severidad de la Enfermedad Periodontal en función de los grupos de pacientes estudiados



Fuente: Elaboración propia.

Tabla 1. Características demográficas

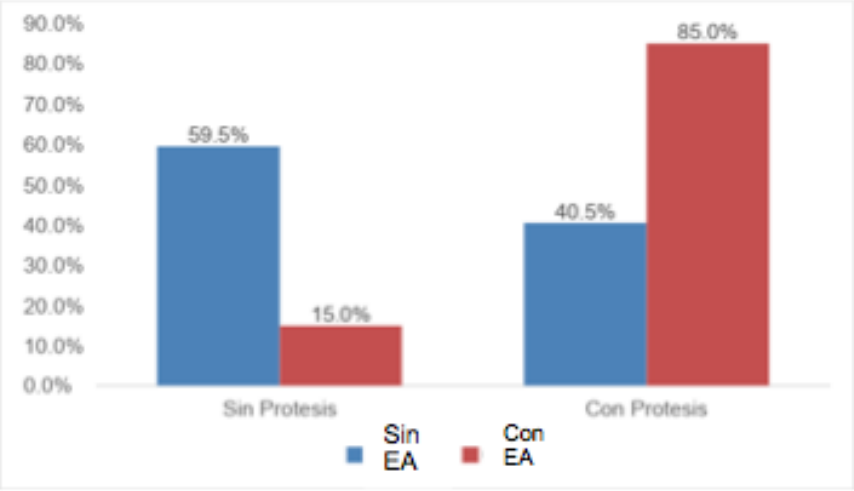
Características		**Sin EA**		**EA**		**Total**		
		N	**%**	**N**	**%**	**n**	**%**	**P***
Sexo	Masculino	8	19,0%	3	15,0%	11	17,7%	0,697
	Femenino	34	81,0%	17	85,0%	51	82,3%	
Diagnóstico Periodontal	Sin enfermedad	4	9,5%	10	50,0%	14	22,6%	0,005
	Leve	17	40,5%	4	20,0%	21	33,9%	
	Moderada	8	19,0%	2	10,0%	10	16,1%	
	Severa	13	31,0%	4	20,0%	17	27,4%	
Prótesis	No	25	59,5%	3	15,0%	28	45,2%	0,001
	Si	17	40,5%	17	85,0%	34	54,8%	
Tipo Prótesis	Total	8	19,0%	16	80,0%	24	38,7%	0,000
	Parcial	10	23,8%	1	5,0%	11	17,7%	
	No Tiene	24	57,1%	3	15,0%	27	43,5%	
Historia de Periodontitis	No	6	14,3%	8	40,0%	14	22,6%	0,024
	Si	36	85,7%	12	60,0%	48	77,4%	

Tabaco	No	32	76,2%	16	80,0%	48	77,4%	0,737
	Si	10	23,8%	4	20,0%	14	22,6%	
Alcohol	No	36	85,7%	16	80,0%	52	83,9%	0,567
	Si	6	14,3%	4	20,0%	10	16,1%	
Estrato socioeconómico	Bajo	5	11,9%	2	10,0%	7	11,3%	0,483
	Medio	30	71,4%	12	60,0%	42	67,7%	
	Alto	7	16,7%	6	30,0%	13	21,0%	

*Prueba Chi-cuadrado

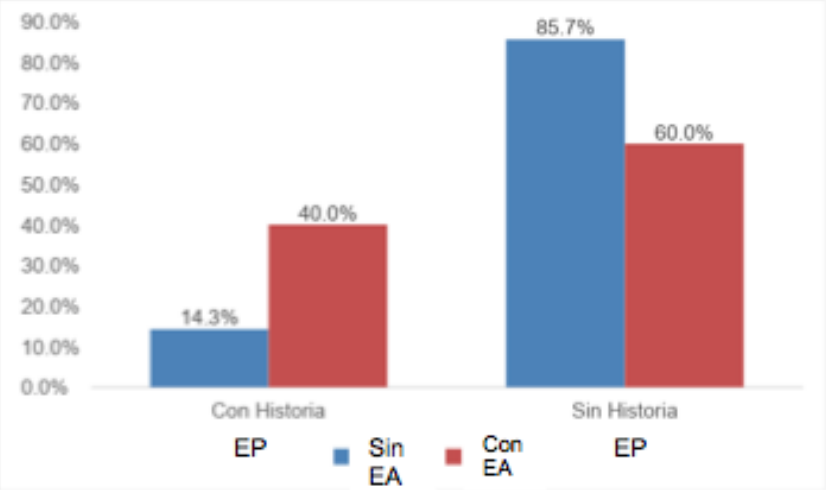
Fuente: Elaboración propia.

Figura 2. Uso de prótesis dental en función de los grupos de pacientes estudiados



Fuente: Elaboración propia.

Figura 3. Historia de Enfermedad Periodontal en función de los grupos de pacientes estudiados



Fuente: Elaboración propia.

La tabla 2 muestra las condiciones periodontales de los sujetos evaluados. Se observó que los pacientes con EA presentaron en promedio 4.7 +/- 6.5 dientes y los pacientes sin EA 20.4 +/- 9.1 dientes en promedio, muchos más dientes presentes que los pacientes con EA (p=0.000), lo que es consecuente con la utilización de prótesis dentales en los pacientes con la EA. También se evidenció que los pacientes con EA presentaron un Índice de Placa Dental de 38.6%, mientras que en los pacientes sin EA, el porcentaje de placa bacteriana fue menor 20.1% (p=0.003). El índice de sangrado, la profundidad de sondaje y el nivel de inserción fueron similares entre ambos grupos de pacientes (p>0.05); el índice de sangrado promedio fue de 19.9 +/- 15.4%, la profundidad del sondaje fue de 2.4 +/- 0.5 mm y el nivel de inserción fue de 2.9 +/- 1.4 mm.

Tabla 2. Estado de salud periodontal.

Indicadores de Salud Oral	**SIN EA**		**EA**		**Total**		
	Media	**SD**	**Media**	**SD**	**Media**	**SD**	**P***
Número de Dientes Presentes	20,4	9,1	4,7	6,5	15,3	11,1	0,000
% Índice de Sangrado	20,0	15,1	19,8	17,3	19,9	15,4	0,977
% Índice de placa	20,1	13,8	38,6	26,1	24,3	18,7	0,003
Profundidad al Sondaje (mm)	2,3	,5	2,4	,6	2,4	,5	0,722
Nivel de inserción (mm)	2,8	1,2	3,4	1,8	2,9	1,4	0,167

*Prueba de Mann-Whitney

Fuente: Elaboración propia.

Al relacionar el sexo de los pacientes con variables como Enfermedad Periodontal, uso de prótesis, y factores ambientales como el consumo de alcohol (figura 4) y tabaco (tabla 3), se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre hombres y mujeres en el

consumo de alcohol, donde los hombres mostraron un mayor consumo (36.4%) comparado con las mujeres (11.8%) (p=0.044). Las otras variables no presentaron diferencias en relación con la característica sexo (p>0.05).

Tabla 3. Estado periodontal, uso de prótesis y consumo de alcohol y tabaco con relación al sexo

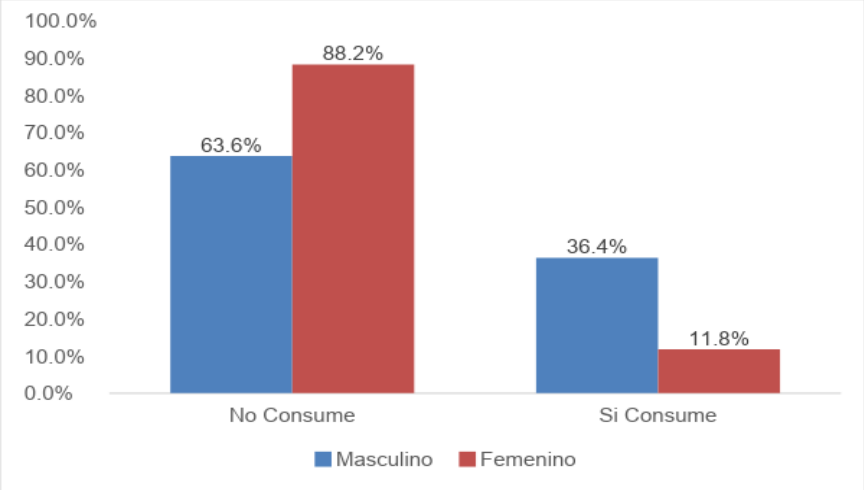
Característica		**Masculino**		**Femenino**		**Total**		
		n	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	**P***
Diagnóstico Periodontal	Sin enfermedad	3	27,3%	11	21,6%	14	22,6%	0,776
	Leve	3	27,3%	18	35,3%	21	33,9%	
	Moderada	1	9,1%	9	17,6%	10	16,1%	
	Severa	4	36,4%	13	25,5%	17	27,4%	
Prótesis	No	6	54,5%	22	43,1%	28	45,2%	0,490
	Si	5	45,5%	29	56,9%	34	54,8%	
Tipo de Prótesis	Total	4	36,4%	20	39,2%	24	38,7%	0,620
	Parcial	1	9,1%	10	19,6%	11	17,7%	
	No Tiene	6	54,5%	21	41,2%	27	43,5%	

Historia de Periodontitis	No	1	9,1%	13	25,5%	14	22,6%	0,238
	Si	10	90,9%	38	74,5%	48	77,4%	
Tabaco	No	7	63,6%	41	80,4%	48	77,4%	0,228
	Si	4	36,4%	10	19,6%	14	22,6%	
Alcohol	No	7	63,6%	45	88,2%	52	83,9%	0,044
	Si	4	36,4%	6	11,8%	10	16,1%	
Estrato	Bajo	2	18,2%	5	9,8%	7	11,3%	0,728
	Medio	7	63,6%	35	68,6%	42	67,7%	
	Alto	2	18,2%	11	21,6%	13	21,0%	

***Prueba Chi-cuadrado**

Fuente: Elaboración propia.

Figura 4. Consumo de alcohol en función del género



Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 4 se observó que, en relación a los índices periodontales, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres, a partir de la prueba de Mann-Whitney (p>0.05). Por lo tanto, se puede determinar para este estudio, que ambos sexos presentaron estados de salud periodontal similares, pero en el sexo masculino existió una tendencia a presentar mayor pérdida en el nivel de inserción comparado con el sexo femenino.

Tabla 4. Estado periodontal con relación al género

Característica	**Masculino**		**Femenino**		**Total**		
	Media	**Desviación estándar**	**Media**	**Desviación estándar**	**Media**	**Desviación estándar**	**P***
Número de Dientes Presentes	15	13	15	11	15	11	0,926
% Índice de Sangrado	15,4%	8,2%	21,0%	16,5%	19,9%	15,4%	0,713
% Índice de placa	19,8%	14,9%	25,3%	19,4%	24,3%	18,7%	0,500
Profundidad al Sondaje (mm)	2,6	,5	2,3	,5	2,4	,5	0,196
Nivel de inserción (mm)	4,1	2,1	2,7	1,0	2,9	1,4	0,077

*Prueba Mann- Whitney

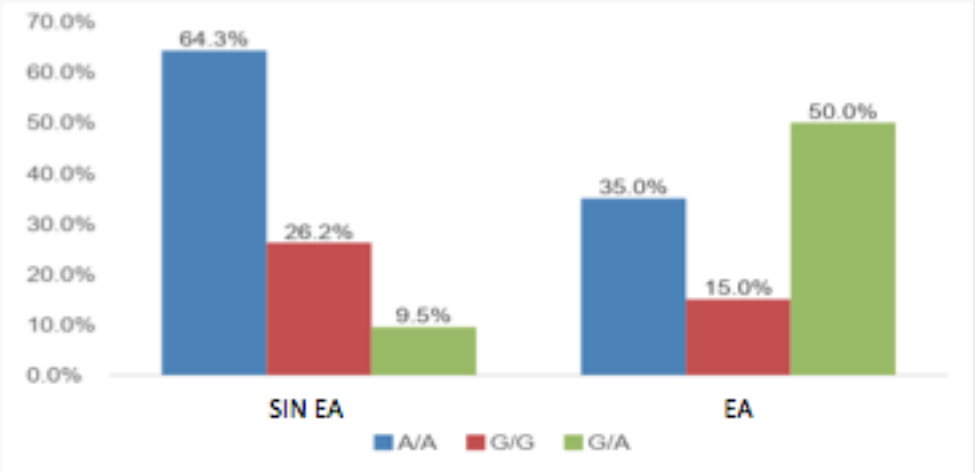
Fuente: Elaboración propia.

Polimorfismos genéticos y Enfermedad Periodontal.

Se describieron los resultados encontrados con relación a la presencia de polimorfismos genéticos en los pacientes con y sin EA incluidos en el estudio. Igualmente se relacionó la presencia de estos polimorfismos genéticos con la severidad de Enfermedad periodontal.

La tabla 5 muestra los polimorfismos genéticos en los genes de interés evaluados en pacientes con EA y pacientes sin EA. Los resultados mostraron diferencias en el marcador del gen de la IL-17 (rs7747909) (figura 5) entre ambos grupos de pacientes, en donde los pacientes con EA presentaron en un 50% un genotipo G/A comparado con los pacientes sin EA (9.5%). Los pacientes sin EA presentaron el genotipo A/A en un 64.3%, comparados con los pacientes con EA en un 35%. En los demás marcadores no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con EA y pacientes sin EA.

Figura 5. Presencia del marcador genético IL-17 (rs7747909) en pacientes con y sin EA



Fuente: Elaboración propia.

Tabla 5. Presencia de genotipos en diferentes marcadores genéticos para pacientes con y sin Enfermedad de Alzheimer

		Sin EA		**EA**		**Total**		
Marcadores		**n**	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	**P***
IL-10 (rs1800896)	C/C	10	23,8%	6	30,0%	16	25,8%	0,832
	C/T	19	45,2%	9	45,0%	28	45,2%	
	T/T	13	31,0%	5	25,0%	18	29,0%	
IL-10 (rs1800872)	T/T	1	2,5%	2	11,1%	3	5,2%	0,240
	A/A	5	12,5%	0	0,0%	5	8,6%	
	G/G	15	37,5%	8	44,4%	23	39,7%	
	G/T	19	47,5%	8	44,4%	27	46,6%	
IL-17 (rs10484879)	T/T	5	12,2%	6	31,6%	11	18,3%	0,079*
	T/G	9	22,0%	6	31,6%	15	25,0%	
	G/G	27	65,9%	7	36,8%	34	56,7%	
L-17 (rs7747909)	A/A	27	64,3%	7	35,0%	34	54,8%	0,002
	G/G	11	26,2%	3	15,0%	14	22,6%	
	G/A	4	9,5%	10	50,0%	14	22,6%	
IL-17	A/A	3	7,3%	0	0,0%	3	4,9%	0,305

(rs2275913)	G/G	22	53,7%	14	70,0%	36	59,0%	
	G/A	16	39,0%	6	30,0%	22	36,1%	
NALP-3 (rs2027432)	A/A	6	14,6%	7	35,0%	13	21,3%	
	G/G	10	24,4%	3	15,0%	13	21,3%	0,178
	G/A	25	61,0%	10	50,0%	35	57,4%	
NALP-3 (rs2066844)	C/C	38	95,0%	17	85,0%	55	91,7%	
	T/T	0	0,0%	2	10,0%	2	3,3%	0,126
	T/C	2	5,0%	1	5,0%	3	5,0%	
NALP-3 (rs10754558)	C/C	17	42,5%	8	44,4%	25	43,1%	
	G/G	2	5,0%	2	11,1%	4	6,9%	0,656
	G/C	21	52,5%	8	44,4%	29	50,0%	

*Prueba Chi-cuadrado

Fuente: Elaboración propia.

Al relacionar la presencia de marcadores genéticos con la severidad de Enfermedad Periodontal entre pacientes con y sin EA (tabla 6), no se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$)

Tabla 6. Presencia de genotipos en diferentes marcadores genéticos según el nivel de severidad de la Enfermedad Periodontal

Marcadores		**Sin enfermedad**		**Leve**		**Moderada**		**Severa**		
		n	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	**P***
IL-10 (rs1800896)	C/C	5	35,7%	7	33,3%	2	20,0%	2	11,8%	0,519
	C/T	4	28,6%	8	38,1%	6	60,0%	10	58,8%	
	T/T	5	35,7%	6	28,6%	2	20,0%	5	29,4%	
IL-10 (rs1800872)	T/T	1	7,1%	2	11,1%	0	0,0%	0	0,0%	0,253
	A/A	0	0,0%	3	16,7%	0	0,0%	2	12,5%	
	G/G	8	57,1%	5	27,8%	6	60,0%	4	25,0%	
	G/T	5	35,7%	8	44,4%	4	40,0%	10	62,5%	
IL-17 (rs10484879)	T/T	2	15,4%	5	25,0%	1	10,0%	3	17,6%	0,836
	T/G	5	38,5%	4	20,0%	2	20,0%	4	23,5%	
	G/G	6	46,2%	11	55,0%	7	70,0%	10	58,8%	
IL-17 (rs7747909)	A/A	6	42,9%	12	57,1%	7	70,0%	9	52,9%	0,744
	G/G	4	28,6%	3	14,3%	2	20,0%	5	29,4%	
	G/A	4	28,6%	6	28,6%	1	10,0%	3	17,6%	
IL-17	A/A	0	0,0%	2	9,5%	0	0,0%	1	6,3%	0,484

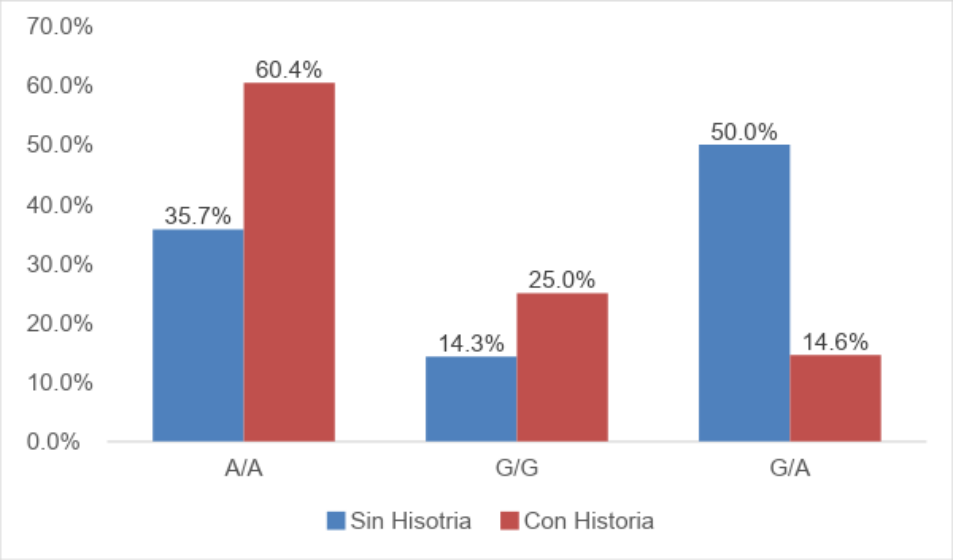
(rs2275913)	G/G	11	78,6%	12	57,1%	6	60,0%	7	43,8%	
	G/A	3	21,4%	7	33,3%	4	40,0%	8	50,0%	
NALP-3 (rs2027432)	A/A	4	28,6%	3	15,0%	2	20,0%	4	23,5%	0,520
	G/G	5	35,7%	5	25,0%	1	10,0%	2	11,8%	
	G/A	5	35,7%	12	60,0%	7	70,0%	11	64,7%	
NALP-3 (rs2066844)	C/C	13	92,9%	17	89,5%	10	100,0 %	15	88,2%	0,909
	T/T	0	0,0%	1	5,3%	0	0,0%	1	5,9%	
	T/C	1	7,1%	1	5,3%	0	0,0%	1	5,9%	
NALP-3 (rs10754558)	C/C	7	50,0%	7	38,9%	7	70,0%	4	25,0%	0,407
	G/G	1	7,1%	1	5,6%	0	0,0%	2	12,5%	
	G/C	6	42,9%	10	55,6%	3	30,0%	10	62,5%	

* Prueba Chi-cuadrado

Fuente: Elaboración propia.

Se encontró una diferencia estadísticamente significativa el ser homocigoto A/A para el rs7747909 del gen de la IL-17 en pacientes con historia de periodontitis y pacientes sin historia de periodontitis, tal como se observa en la tabla 7. En la figura 6 se presenta la relación del marcador rs7747909 del gen de la IL-17 según historia de periodontitis.

Figura 6. Presencia del marcador genético IL-17 (rs7747909) según la historia de Periodontitis



Fuente: Elaboración propia.

Tabla 7. Presencia de genotipos en diferentes marcadores genéticos según la historia de Periodontitis

Marcadores		**Sin historia de periodontitis**		**Con historia de periodontitis**		**Total**		
		n	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	**P***
IL-10 (rs1800896)	C/C	5	35,7%	11	22,9%	16	25,8%	0,593
	C/T	5	35,7%	23	47,9%	28	45,2%	
	T/T	4	28,6%	14	29,2%	18	29,0%	

IL-10 (rs1800872)	T/T	1	8,3%	2	4,3%	3	5,2%	0,555
	A/A	0	0,0%	5	10,9%	5	8,6%	
	G/G	6	50,0%	17	37,0%	23	39,7%	
	G/T	5	41,7%	22	47,8%	27	46,6%	
IL-17 (rs10484879)	T/T	4	30,8%	7	14,9%	11	18,3%	0,274
	T/G	4	30,8%	11	23,4%	15	25,0%	
	G/G	5	38,5%	29	61,7%	34	56,7%	
IL-17 (rs7747909)	A/A	5	35,7%	29	60,4%	34	54,8%	0,020
	G/G	2	14,3%	12	25,0%	14	22,6%	
	G/A	7	50,0%	7	14,6%	14	22,6%	
IL-17 (rs2275913)	A/A	1	7,1%	2	4,3%	3	4,9%	0,420
	G/G	10	71,4%	26	55,3%	36	59,0%	
	G/A	3	21,4%	19	40,4%	22	36,1%	
NALP-3 (rs2027432)	A/A	3	21,4%	10	21,3%	13	21,3%	0,751
	G/G	2	14,3%	11	23,4%	13	21,3%	
	G/A	9	64,3%	26	55,3%	35	57,4%	
NALP-3 (rs2066844)	C/C	11	91,7%	44	91,7%	55	91,7%	0,659
	T/T	0	0,0%	2	4,2%	2	3,3%	
	T/C	1	8,3%	2	4,2%	3	5,0%	

NALP-3 (rs10754558)	C/C	7	58,3%	18	39,1%	25	43,1%	0,356
	G/G	0	0,0%	4	8,7%	4	6,9%	
	G/C	5	41,7%	24	52,2%	29	50,0%	

** Prueba Chi-cuadrado*

Fuente: Elaboración propia.

Factores de riesgo para enfermedad periodontal

En la tabla 8 se muestra una prueba de ajuste global al modelo, que permitió identificar cómo influyen los polimorfismos genéticos en la población con EA con la probabilidad de presentar Enfermedad Periodontal. Ésta es una prueba de ajuste en un modelo de regresión logística, en el que la hipótesis que se contrastó es que no existen diferencias entre las frecuencias de los casos observados y las frecuencias de los casos pronosticados. Puesto que el p-valor es mayor a un nivel de significancia del 5%, no se rechazó la hipótesis de que el modelo tiene un buen ajuste.

Tabla 8. Prueba de Hosmer y Lemeshow

Chi cuadrado	p-valor
0.333	0.846

Fuente: Elaboración propia.

La tabla 9 presenta el parámetro estimado para cada una de las variables dependientes (B), su error estándar (E.T), su significancia con la prueba de Wald y las estimaciones de los odds ratio (Exp B). En éste primer modelo se involucraron la variable EA y la presencia de marcadores genéticos, y se realizó la selección de variables por el método de selección Forward. Se observó que los marcadores genéticos que más se relacionaron con la Enfermedad Periodontal son: La IL-10 (rs1800896) y el NALP3 (rs2066844). Los demás marcadores no se encontraron asociados a la Enfermedad Periodontal.

Tabla 9. Estimación del modelo de regresión logística para la presencia/ausencia de Enfermedad Periodontal a través el método de selección Forward

Variables seleccionadas	B	E.T.	Wald	gl	p	Exp(B)
IL-10 (rs1800896) (Ref: alelo A/G)						
A/A	-,792	,931	,722	1	,395	,453
G/G						
	1,434	,912	2,469	1	,096	4,194
NALP-3 (rs2066844) (Ref: alelo T/C)						
C/C	1,542	,686	5,054	1	,025	4,676

Fuente: Elaboración propia.

Del modelo se puede extraer que los pacientes con el genotipo A/G del gen de la IL-10 (rs1800896) presentaron una tendencia al riesgo de presentar Enfermedad Periodontal comparado con los pacientes con el genotipo G/G (p=0.096). Por último, la presencia del genotipo C/C (p=0.025) en el marcador genético del gen NALP3 (rs2066844) aumentó las probabilidades de presentar Enfermedad Periodontal en relación al genotipo T/C.

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Un número creciente de estudios sugiere la relación entre la Periodontitis y el deterioro cognitivo y la Enfermedad de Alzheimer pero el mecanismo exacto aún no está claro (Gil Montoya)[113] (Kamer)[114] (Ide)[115] (Gaur)[116].

La respuesta inflamatoria crónica que ocurre en la EA es un proceso complejo que involucra células innatas y adaptativas y mediadores inflamatorios como TNFα, IL-1, IL-6, IL-7, IL-10, IL-15 e IL-18 (Hall)[117]. Citocinas como la IL-1, IL-6, IL-10 y el TNF-α están involucrados en la patogénesis de la Periodontitis y son biomarcadores del tratamiento no quirúrgico de la Periodontitis Crónica (Reis)[118] (Taba)[119](Yucel-Lindberg)[120]. Si bien se informa la influencia de los procesos inflamatorios en la patogénesis de la Periodontitis y la EA, este estudio abordó la relación entre la presencia de polimorfismos en los genes de respuesta inmune IL-10, IL-17 y el receptor NALP-3 con la severidad de la Enfermedad Periodontal en pacientes con Enfermedad de Alzheimer.

Los resultados de este estudio mostraron que el 50% de los pacientes con Enfermedad de Alzheimer no tienen Enfermedad Periodontal, mientras casi el 90% de los pacientes sin EA presentaronn algún nivel de severidad de Enfermedad Periodontal (leve, moderada o severa), mostrando de esta manera una diferencia estadísticamente significativa de la severidad en la Enfermedad Periodontal en los dos grupos de pacientes (p=0.005). Sin embargo, el 85% de los pacientes con EA y el 40.5% de los pacientes sin EP tienen prótesis (total o parcial), por tanto, dentro de la muestra seleccionada fue más probable que los pacientes con EA tuvieran prótesis que aquellos sin EA (p=0.001). Ahora, el 85.7% de los pacientes sin EA tuvieron historia de Enfermedad Periodontal y un 20% de los pacientes con EA también presentaron historia de enfermedad periodontal (p=0.024). Con respecto a los indicadores de estado periodontal se observó que los pacientes con EA contaron con 4.7 +/- 6.5 dientes y los pacientes sin EA con 20.4 +/- 9.1 dientes, muchos más dientes presentes que los pacientes con EA (p=0.000), lo que fue consecuente con la utilización de prótesis dentales en los pacientes con la EA. La pérdida de dientes se considera uno de los

factores de riesgo asociados con una mayor incidencia de demencia (Stein)[121] (Gatz)[122]. Un estudio reportado en gemelos monocigóticos sugirió una fuerte asociación entre la pérdida de dientes y la presencia de EA (Stein)[123]. Otro estudio longitudinal, que examina la salud oral y el envejecimiento en novicias, informó que un menor número de dientes aumentaba el riesgo de demencia. La pérdida de dientes puede ocurrir debido a múltiples factores, incluida la periodontitis crónica (Al Shammari)[124]. La periodontitis es el principal factor de riesgo de pérdida de dientes, y la periodontitis de moderada a severa puede complicar aún más el estado de la Enfermedad de Alzheimer y la demencia relacionada (Al Shammari)[125].

Previos estudios demuestran un mayor compromiso periodontal en individuos con EA y también un aumento en la severidad de la enfermedad periodontal con la progresión de la EA. Por lo tanto, las personas con EA tienen un estado periodontal disminuido, y la progresión de la EA afecta severamente el estado periodontal. (Al Shammari)[126]. Dicho hallazgo no pudo ser demostrado en nuestro estudio.

Se evidenció que los pacientes con Enfermedad de Alzheimer presentaron un índice de placa de 38.6%, mientras que en los pacientes sin EA el porcentaje de placa bacteriana fue de 20.1% (p=0.003), esto probablemente se debe a que la EA, que está relacionada con la función cognitiva alterada, tiene implicaciones en las actividades diarias. Los déficits cognitivos y motores se acompañan de una incapacidad gradual para realizar una higiene oral adecuada (Gitto)[127]. La alteración cognitiva, la apatía y la apraxia en las etapas intermedias del trastorno son responsables del desinterés y la incapacidad para ejecutar técnicas de higiene oral adecuadas, permitiendo que los restos de alimentos y la placa permanezcan inalterados en las áreas interproximales y cervicales de la dentición residual[128]. Esto se puede considerar como el principal factor para el deterioro del estado de salud periodontal en individuos con EA. Se ha demostrado que los individuos con EA tienen una higiene oral deficiente. En una encuesta poblacional amplia que incluyó a más de 6000 individuos (NHANES III) con un amplio rango de edad (20-59 y >70 años), se

encontraron asociaciones entre los índices periodontales (sangrado al sondaje y pérdida de inserción> 3 mm) y la función cognitiva (Ship)[129] (Al Shammari)[130].

Al relacionar el sexo de los pacientes con factores ambientales como el consumo de alcohol y tabaco, se encontró una diferencia estadísticamente significativa en el consumo de alcohol, donde los hombres presentaronn un mayor consumo (36.4%) comparado con las mujeres (11.8%) (p=0.044). El consumo de alcohol de manera crónica podría considerarse un indicador de riesgo independiente y modificable para la periodontitis. Se ha demostrado que la ingesta de alcohol de manera abusiva está asociada a un incremento de la severidad en la pérdida de inserción y ésta relación parece ser dosis-dependiente, pudiendo ser un indicador de riesgo moderado de periodontitis. Una ingesta de alcohol de forma persistente se ha asociado de forma positiva con un aumento en los niveles de placa bacteriana y sangrado gingival, lo que podría explicarse en parte por el cuidado oral deficiente que suelen presentar este tipo de pacientes. A pesar de que este déficit de higiene oral suele ser notorio y habitual en los alcohólicos, la relación entre el alcohol y la Enfermedad Periodontal también podría ser explicada por la alteración que crea el alcohol en las defensas del hospedero, en el metabolismo proteico y óseo y en la cicatrización (Ruiz-Magaz) [131]. En nuestro estudio no se encontró una diferencia estadística significativa pero si clínicamente con respecto al cigarrillo, ya que fumar es un factor modificador potencial para la Enfermedad Periodontal (Stabholz)[132], dado que afecta la respuesta inmune del hospedero, a través de la alteración en la función de los neutrófilos, en la producción de anticuerpos, en la actividad de los fibroblastos y los factores vasculares, y en la producción de mediadores inflamatorios (Johnson) [133]. La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (NHANES III), informó que el 41.9% de los pacientes con Periodontitis se atribuían al tabaquismo y el 10.9% al ex fumador. Teniendo en cuenta estos hallazgos, podemos coincidir en que fumar es un factor de riesgo potencial para la periodontitis, y su aumento en la dosis e intensidad podría ser un factor de riesgo para empeorar la salud periodontal (Tomar) [134]. En un estudio publicado por Khan en 2016, se encontró que fumar estaba relacionado significativamente con el sexo masculino (p <0.001) (Khan)[135].

En nuestro estudio, se observó que, en relación a los índices periodontales en el sexo masculino existe una tendencia a presentar mayor pérdida en el nivel de inserción comparado con el sexo femenino, esto puede ser atribuido a diferencias en la función inmune, que pueden ser el resultado de la regulación genética diferencial que aumenta la susceptibilidad de los hombres a la enfermedad periodontal (Shiau) [136]. Una vez que se establecen la Enfermedad Periodontal, los hombres son más propensos a experimentar formas graves en comparación con las mujeres. Esto es probablemente el resultado de factores conductuales y ambientales, como el nivel de higiene oral y el tabaquismo (Haytac)[137].

Está bien documentado que los hombres son más reticentes que las mujeres a acceder a los servicios de salud, ya sea la resistencia a visitar a un médico o la falta consistente de informar síntomas de una enfermedad o enfermedad (Galdas)[138]. Para bien o para mal, cuando se trata de las diferencias sexuales en la Enfermedad Periodontal, la preponderancia de los datos sugiere fuertemente que es el comportamiento de los hombres, no los déficits biológicos, es lo que los pone en mayor riesgo de formas más graves de enfermedad periodontal en comparación con mujeres (Haytac)[139].

La IL-10 está ampliamente expresada en tejidos periodontales inflamados, aparentemente limitando la severidad de la enfermedad (Garlet G. P.-5.)[140] (Garlet G. P.-6.)[141] (Lappin)[142]. Los SNPs en la región promotora del gen de la IL-10 en las posiciones −592, −819 y −1082 están asociados con niveles alterados de IL-10 (Turner)[143] (Reuss)[144] (Larsson L. R.-1.-1.-1.)[145]. Estudios transversales en Suecia (Berglundh)[146] y Turquía (Sumer)[147] mostraron variantes alélicas en SNPs −1082 y −592 asociadas a Periodontitis Crónica severa, mientras que en la población Brasilera (Scarel-Caminaga)[148] se asociaron los SNPs −819 y −592 con Periodontitis Crónica respectivamente, al igual que en Italia la variante en el alelo rs1800872-A (-592) incrementa el riesgo de desarrollar Periodontitis con un OR de 1.38 (95% CI 1.01-1.86) (Scapoli)[149] y en Alemania demostraron que este marcador es funcional en Periodontitis Crónica, siendo asociado con una baja expresión en

los niveles de IL-10 (Reichert)[150]. Con respecto a la Enfermedad de Alzheimer en Italia, el alelo A del gen de la IL-10 en la posición -1082 A/G promueve un mayor riesgo de EA y deterioro cognitivo (Arosio)[151] . En Brasil Moraes y cols. En 2013 encontraron una menor probabilidad (40%) de EA en pacientes con el genotipo A/A en el gen de la IL-10 en la posición -1082 (rs1800896) [152]. En la población escandinava la frecuencia del genotipo C/C (homocigótico) del gen de la IL-10 en las posiciones -592 (rs1800872), -819 (rs1800871) fue significativamente mayor, mientras que las frecuencias en el genotipo C/A del gen de la IL-10 en la posición -592 y el genotipo C/T en el gen de la IL-10 en la posición -819 fueros significativamente menores en el grupo de demencia vascular con Periodontitis Crónica comparado con el grupo que no presentaba Periodontitis (Armingohar)[153]. En nuestro estudio al identificar cómo influyen estos factores en la EA y la presencia de polimorfismos genéticos con la probabilidad de presentar Enfermedad Periodontal se encontró que los pacientes con el genotipo A/G del gen de la IL-10 (rs1800896) presentan más riesgo de presentar una Enfermedad Periodontal comparado con los pacientes con el genotipo G/G.

Estudios clínicos han reportado incremento de los niveles de IL-17 asociados con la Periodontitis Crónica y se han encontrado concentraciones elevadas en tejidos adyacentes a la destrucción ósea (Ohyama)[154] (Takahashi)[155]. En la población Iraní el genotipo C/C del rs10484879 puede contribuir con la patogénesis de la Periimplantitis (PI) y Periodontitis Crónica (PC) (Kadkhodazadeh)[156]. En Brasil, el polimorfismo del gen de la IL-17A rs2275913, el alelo A se asoció a susceptibilidad de Periodontitis Crónica (Zacarias)[157], diferente a este estudio, en el cual el genotipo A/A de la IL-17A (rs2275913) no se asoció a Enfermedad Periodontal (Saraiva)[158]. Con respecto a la Enfermedad de Alzheimer, se requieren estudios que definan certeramente el rol de los polimorfismos en el gen de la IL-17 en el desarrollo de la enfermedad (Siffrin)[159] (Hamdan)[160]. En este estudio se relacionó la presencia de polimorfismos genéticos en pacientes con y sin Enfermedad de Alzheimer y se encontraron diferencias en el marcador IL-17 (rs7747909) entre ambos grupos de pacientes, en donde los pacientes con Enfermedad de Alzheimer mostraron una mayor

presencia del genotipo G/A (50%) comparado con los pacientes sin EA (9.5%). Los pacientes sin EA en su mayoría presentan el genotipo A/A (64.3%), del mismo marcador, que los pacientes con la enfermedad (35%). En los demás marcadores (rs10484879, rs2275913) no se evidenciaron diferencias significativas en la presencia de alelos entre pacientes con EA y pacientes sin EA. La presencia de genotipos en el marcador genético de la IL-17 (rs7747909) es estadísticamente diferente entre pacientes con historia de periodontitis y pacientes sin periodontitis. Aquellos pacientes con historia de Periodontitis, en el marcador genético de la IL-17 (rs7747909), se evidencia mayor presencia del genotipo A/A en pacientes con historia de Periodontitis, lo que se puede corroborar con el estudio de Chaudhari y cols. (2016) en India, el cual concluye que el polimorfismo en el gen de la IL-17 (-197 A/G) está asociado a Periodontitis Crónica y Agresiva localizada y la presencia del alelo A puede ser considerada como un factor de riesgo para el desarrollo de Enfermedad Periodontal (Chaudhari)[161] , pero no de Enfermedad de Alzheimer como lo muestra este estudio.

Evidencia reciente ha vinculado la activación del inflamosoma NLRP3 con la patogénesis de la EA. Considerando la importancia del rol del NLRP-3 en los procesos inflamatorios y en la EA, se hipotetiza que las variaciones en el gen del NLRP3 son factores de riesgo genéticos a la EA. Tres SNPs en el gen del NLRP3 (rs2027432, rs10754558, rs35829419) fueron genotipificados en 1133 pacientes con EA de inicio tardío y 1159 controles sanos en una población China. El polimorfismo rs2027432 se asoció con EA de inicio tardío y el alelo A del polimorfismo rs35829419 (Q705K) parece que ejerce función protectora para el desarrollo de EA de inicio tardío (Tan)[162]. En Enfermedad Periodontal se ha observado que la expresión genética del NALP-3 es significativamente mayor en gingivitis, periodontitis crónica y agresiva generalizada, al compararse con la salud periodontal, esto indica que el aumento en la expresión del inflamosoma está relacionada con la presencia de Enfermedad Periodontal inflamatoria[163]. En el presente estudio al identificar cómo influyen cada uno de estos factores en la EA y la presencia de polimorfismos genéticos en la probabilidad de presentar Enfermedad Periodontal se encontró que la presencia del genotipo C/C (p=0.025)

en el marcador genético NALP-3 (rs2066844) aumenta las probabilidades de presentar Enfermedad Periodontal en relación al genotipo T/C.

Este fue un estudio descriptivo preliminar que tomó en cuenta los hallazgos clínicos como los índices periodontales (porcentaje de placa bacteriana, profundidad al sondaje, nivel de inserción clínica), polimorfismos en genes de IL-10, IL-17, NALP-3 y las variables no controladas, incluyendo el estado socioeconómico, tabaquismo, consumo de alcohol. En el futuro se requieren más estudios longitudinales y multicéntricos para confirmar estos hallazgos y también para encontrar una posible asociación entre la EA y EP.

10. CONCLUSIONES

- Primer estudio en Colombia en relacionar la presencia de polimorfismos en los genes de citocinas y receptores de respuesta inmune IL-10, IL-17 y NALP-3 con la severidad de la Enfermedad Periodontal en pacientes con Enfermedad de Alzheimer.
- Las personas con EA mostraron una mayor pérdida de dientes y uso de prótesis.
- Los pacientes con Enfermedad de Alzheimer presentaron un índice de placa mayor que los pacientes sin EA.
- Los pacientes con EA y el genotipo G/A de la IL-10 (rs1800896) presentaron más riesgo de presentar Enfermedad Periodontal comparado con los pacientes con el genotipo A/A.
- Se encontraron diferencias en el marcador de la IL-17 (rs7747909) entre ambos grupos de pacientes, en donde los pacientes con Enfermedad de Alzheimer mostraron una mayor presencia del genotipo G/A comparado con los pacientes sin EA que presentan el genotipo A/A, para este mismo marcador.
- La presencia de genotipos del marcador genético en el gen de la IL-17 (rs7747909) es estadísticamente diferente entre pacientes con y sin historia de periodontitis. La presencia del genotipo A/A se encontró en pacientes con historia de periodontitis.
- Existió una tendencia en el marcador genético IL-17 (rs7747909) tanto para la Enfermedad de Alzheimer como para la Periodontitis.
- La presencia del genotipo C/C ($p=0.025$) en el marcador genético NALP-3 (rs2066844) aumentó el riesgo de presentar Enfermedad Periodontal en relación al genotipo T/C en pacientes con EA.

11. RECOMENDACIONES

- Los individuos con Enfermedad de Alzheimer requieren atención especial orientada a la salud oral en general, y los individuos y especialmente los cuidadores deben ser educados con respecto a la misma.
- Conocer el estado de salud oral de los adultos mayores para mejorar las políticas públicas de calidad de vida en esa población.

12. ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado.

"Patógenos periodontales y su asociación con los procesos inflamatorios en Enfermedad de Alzheimer (EA)"

OBJETIVO:

Determinar la asociación entre la presencia de patógenos periodontales con procesos inflamatorios en una muestra de pacientes con y sin Enfermedad de Alzheimer.

JUSTIFICACIÓN:

La evaluación neurocognitiva nos permitirá conocer si usted está sano o tiene la Enfermedad de Alzheimer y que tan adelantada está y así podremos clasificarlo en alguno de los dos grupos de estudio que tenemos.

El examen periodontal nos permitirá conocer si usted está sano o presenta algún grado de enfermedad en sus encías.

Con el análisis genético de la muestra de sangre podremos identificar genes de respuesta inmune asociados a inflamación en EA, con el fin de aportar al conocimiento que se tiene de la enfermedad y tener una referencia para futuras investigaciones.

PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO:

Si usted acepta participar, se le tomará una encuesta con algunos datos personales, se le realizará una evaluación neurocognitiva por medio de una serie de pruebas que evalúan diferentes capacidades del cerebro por medio de preguntas y ejercicios simples, posteriormente se realizará un examen del estado de sus encías y por último, se extraerá una muestra de sangre de aproximadamente 10ml, finalmente, haremos un análisis genético de la muestra de sangre para analizar la variación en la expresión de sus genes.

RIESGOS:

El siguiente trabajo supone riesgo bajo para los participantes del estudio al momento de tomar la muestra de sangre.

Sangrado excesivo

Desmayo o sensación de mareo

Inflamación local (flebitis)

Infección local

BENEFICIOS:

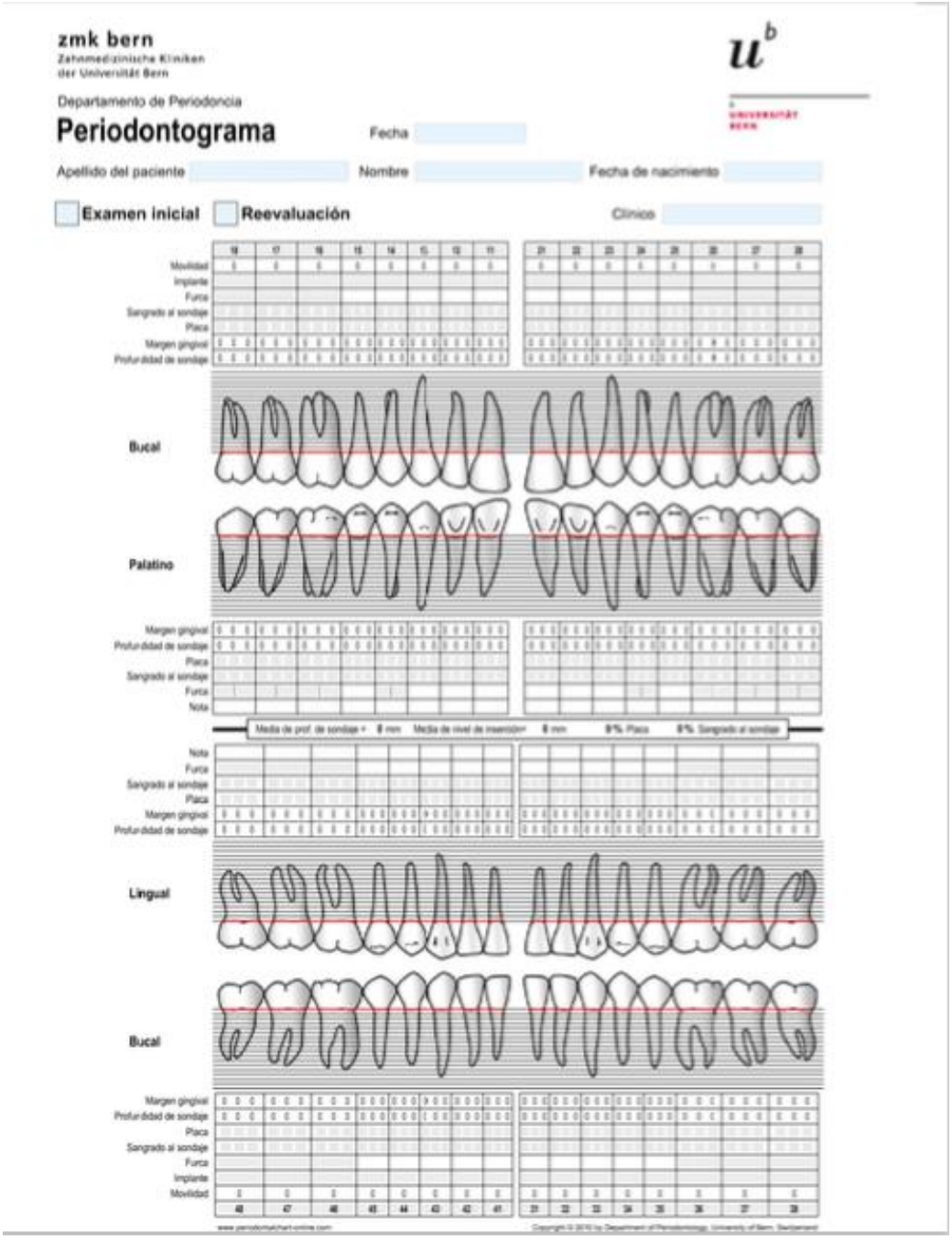
Con su participación, se busca conocer mejor la relación existente entre la Enfermedad Periodontal y la Enfermedad de Alzheimer, ya que es posible que las bacterias que producen inflamación en la encía sean un factor de riesgo para sufrir Enfermedad de Alzheimer.

No se trata de un estudio terapéutico, por lo tanto, no existe compromiso de realizar un tratamiento. Usted no recibirá beneficios económicos por la participación en esta investigación.

AUTORIZACIÓN PARA USO DE LOS DATOS OBTENIDOS EN ESTE ESTUDIO:

Usted autoriza que los datos obtenidos en este estudio puedan ser utilizados en futuras comparaciones con nuevas bases de datos obtenidos en otros estudios; todo dentro de la absoluta confidencialidad y previa Aprobación del Comité de Bioética de investigación de la Universidad Autónoma de Manizales para la realización de dichos estudios.

Anexo 2. Periodontograma.



13. REFERENCIAS

[1] Kondo, K., Niino, M., & Shido, K. (1994). A case-control study of Alzheimer's disease in Japan–significance of life-styles. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, *5*(6), 314-326.

[2] Honjo, K., van Reekum, R., & Verhoeff, N. P. (2009). Alzheimer's disease and infection: do infectious agents contribute to progression of Alzheimer's disease?. *Alzheimer's & Dementia*, *5*(4), 348-360.

[3] Gaur, S., & Agnihotri, R. (2015). Alzheimer's disease and chronic periodontitis: Is there an association?. *Geriatrics & gerontology international*, *15*(4), 391-404.

[4] Lim, S. L., Rodriguez-Ortiz, C. J., & Kitazawa, M. (2015). Infection, systemic inflammation, and Alzheimer's disease. *Microbes and Infection*, *17*(8), 549-556.

[5] Wu, Z., & Nakanishi, H. (2014). Connection between periodontitis and Alzheimer's disease: possible roles of microglia and leptomeningeal cells. *Journal of pharmacological sciences*, *126*(1), 8-13.

[6] Dong, X., Zhang, L., Meng, Q., & Gao, Q. (2017). Association between interleukin-1A, interleukin-1B, and bridging integrator 1 polymorphisms and Alzheimer's disease: A standard and cumulative meta-analysis. *Molecular neurobiology*, *54*(1), 736-747.

[7] Bai, F., Xie, C., Yuan, Y., Shi, Y., & Zhang, Z. (2018). Promoter haplotypes of interleukin-10 gene linked to cortex plasticity in subjects with risk of Alzheimer's disease. *NeuroImage: Clinical*, *17*, 587-595.

[8] Darweesh, S. K., Wolters, F. J., Ikram, M. A., de Wolf, F., Bos, D., & Hofman, A. (2018). Inflammatory markers and the risk of dementia and Alzheimer's disease: A meta-analysis. *Alzheimer's & Dementia*.

[9] Ekert, J. O., Gould, R. L., Reynolds, G., & Howard, R. J. (2018). TNF alpha inhibitors in Alzheimer's disease: A systematic review. *International journal of geriatric psychiatry*, *33*(5), 688-694.

[10] del Valle, E., Navarro, A., Martínez-Pinilla, E., Torices, S., & Tolivia, J. (2016). Apo J and Apo D: Complementary or Antagonistic Roles in Alzheimer's Disease?. *Journal of Alzheimer's Disease*, *53*(2), 639-650.

[11] Kisserli, A., Tabary, T., Cohen, J. H. M., Duret, V., & Mahmoudi, R. (2017). High-resolution Melting PCR for Complement Receptor 1 Length Polymorphism Genotyping: An Innovative Tool for Alzheimer's Disease Gene Susceptibility Assessment. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (125).

[12] Kisserli, A., Tabary, T., Cohen, J. H. M., Duret, V., & Mahmoudi, R. (2017). High-resolution Melting PCR for Complement Receptor 1 Length Polymorphism Genotyping: An Innovative Tool for Alzheimer's Disease Gene Susceptibility Assessment. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (125).

[13] Luo, D., Long, Y., & Chen, G. J. (2015). Cyclooxygenase-2 gene polymorphisms and risk of Alzheimer's disease: A meta-analysis. *Journal of the neurological sciences*, *359*(1), 100-105.

[14] McGeer, P. L., & McGeer, E. G. (2013). The amyloid cascade-inflammatory hypothesis of Alzheimer disease: implications for therapy. *Acta neuropathologica*, *126*(4), 479-497.

[15] Kamer, A. R., Pirraglia, E., Tsui, W., Rusinek, H., Vallabhajosula, S., Mosconi, L., ... & Linker, R. (2015). Periodontal disease associates with higher brain amyloid load in normal elderly. *Neurobiology of aging*, *36*(2), 627-633.

[16] Gaur, S., & Agnihotri, R. (2015). Alzheimer's disease and chronic periodontitis: Is there an association?. *Geriatrics & gerontology international*, *15*(4), 391-404.

[17] Niu, H., Álvarez-Álvarez, I., Guillén-Grima, F., & Aguinaga-Ontoso, I. (2017). Prevalencia e incidencia de la enfermedad de Alzheimer en Europa: metaanálisis. *Neurologia*, *32*(8), 523-532.

[18] Ferri, C. P., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M., ... & Jorm, A. (2006). Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *The lancet*, *366*(9503), 2112-2117.

[19] de Sánchez, C. R., Nariño, D., & Cerón, J. F. M. (2010). Epidemiología y carga de la Enfermedad de Alzheimer. *vol*, *26*, 87-94.

[20] Prada, S. I., Takeuchi, Y., & Ariza, Y. (2014). Monetary cost of treatment for Alzheimer's disease in Colombia. *Acta Neurológica Colombiana*, *30*(4), 247-255.

[21] Peñaloza, R,E., Suárez, E., Palacio Y. (2014). Estudio Nacional en Salud Bucal (ENSAB IV). *Bogotá: Ministerio de Salud y Centro Nacional de Consultoría CNC*.

[22] Poole, S., Singhrao, S. K., Kesavalu, L., Curtis, M. A., & Crean, S. (2013). Determining the presence of periodontopathic virulence factors in short-term postmortem Alzheimer's disease brain tissue. *Journal of Alzheimer's Disease*, *36*(4), 665-677.

[23] McManus, R. M., & Heneka, M. T. (2017). Role of neuroinflammation in neurodegeneration: new insights. *Alzheimer's Research & Therapy*, *9*(1), 14.

[24] Singhrao, S. K., Harding, A., Poole, S., Kesavalu, L., & Crean, S. (2015). Porphyromonas gingivalis periodontal infection and its putative links with Alzheimer's disease. Mediators of inflammation, 2015.

[25] Olsen, I., & Singhrao, S. K. (2015). Can oral infection be a risk factor for Alzheimer's disease?. *Journal of oral microbiology*, *7*.

[26] Liu, Y., Wu, Z., Zhang, X., Ni, J., Yu, W., Zhou, Y., & Nakanishi, H. (2013). Leptomeningeal cells transduce peripheral macrophages inflammatory signal to microglia in reponse to Porphyromonas gingivalis LPS. *Mediators of inflammation*, *2013*.

[27] Korolev, I. O. (2014). Alzheimer's Disease: A Clinical and Basic Science Review.

Medical Student Research Journal, *4*, 24-33.

[28] Brosseron, F., Krauthausen, M., Kummer, M., & Heneka, M. T. (2014). Body fluid cytokine levels in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a comparative overview. Molecular neurobiology, 50(2), 534-544.

[29] Heneka, M. T., Carson, M. J., El Khoury, J., Landreth, G. E., Brosseron, F., Feinstein, D. L., ... & Herrup, K. (2015). Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *The Lancet Neurology*, *14*(4), 388-405.

[30] McGeer, P. L., Itagaki, S., Tago, H., & McGeer, E. G. (1987). Reactive microglia in patients with senile dementia of the Alzheimer type are positive for the histocompatibility glycoprotein HLA-DR. *Neuroscience letters*, *79*(1), 195-200.

[31] Tuppo, E. E., & Arias, H. R. (2005). The role of inflammation in Alzheimer's disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, *37*(2), 289-305.

[32] Kondo, K., Niino, M., & Shido, K. (1994). A case-control study of Alzheimer's disease in Japan–significance of life-styles. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, *5*(6), 314-326.

[33] Lim, S. L., Rodriguez-Ortiz, C. J., & Kitazawa, M. (2015). Infection, systemic inflammation, and Alzheimer's disease. *Microbes and Infection*, *17*(8), 549-556.

[34] Gaur, S., & Agnihotri, R. (2015). Alzheimer's disease and chronic periodontitis: Is there an association?. *Geriatrics & gerontology international*, *15*(4), 391-404.

[35] Valls-Pedret, C., Molinuevo, J. L., & Rami, L. (2010). Diagnóstico precoz de la enfermedad de Alzheimer: fase prodrómica y preclínica. *Rev Neurol*, *51*(8), 471-480.

[36] Ibor, J. J. L., & American Psychiatric Association (Eds.). (2001). *DSM-IV-TR: Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales: texto revisado*. Masson.

[37] Lage, J. M. M., Alvarez, P. M. L., & Alvarez, M. M. L. (2001). Alois Alzheimer, los enfermos Auguste D. y Johann F. y la noción de enfermedad de Alzheimer dentro de la neurociencia germana. In Alzheimer XXI: ciencia y sociedad (pp. 77-86). Masson.

[38] Niu, H., Álvarez-Álvarez, I., Guillén-Grima, F., & Aguinaga-Ontoso, I. (2017). Prevalencia e incidencia de la enfermedad de Alzheimer en Europa: metaanálisis. *Neurologia*, *32*(8), 523-532.

[39] Ferri, C. P., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M., ... & Jorm, A. (2006). Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *The lancet*, *366*(9503), 2112-2117.

[40] de Sánchez, C. R., Nariño, D., & Cerón, J. F. M. (2010). Epidemiología y carga de la Enfermedad de Alzheimer. vol, 26, 87-94.

[41] Prada, S. I., Takeuchi, Y., & Ariza, Y. (2014). Monetary cost of treatment for Alzheimer's disease in Colombia. *Acta Neurológica Colombiana*, *30*(4), 247-255.

[42] George, D. R., Whitehouse, P. J., & Ballenger, J. (2011). The evolving classification of dementia: placing the DSM-V in a meaningful historical and cultural context and pondering the future of "Alzheimer's". *Culture, Medicine, and Psychiatry*, *35*(3), 417-435.

[43] Corner, L., & Bond, J. (2004). Being at risk of dementia: Fears and anxieties of older adults. *Journal of aging studies*, *18*(2), 143-155.

[44] Kornman, K. S., & di Giovine, F. S. (1998). Genetic variations in cytokine expression: a risk factor for severity of adult periodontitis. *Annals of Periodontology*, *3*(1), 327-338.

[45] 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), 57-80.

[46] Hajishengallis, G. (2015). Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nature Reviews Immunology*, *15*(1), 30-44.

[47] Graves, D. T., Oates, T., & Garlet, G. P. (2011). Review of osteoimmunology and the host response in endodontic and periodontal lesions. *Journal of oral microbiology*, *3*

[48] Chen, F. M., Gao, L. N., Tian, B. M., Zhang, X. Y., Zhang, Y. J., Dong, G. Y., ... & Wu, R. X. (2005). Position paper: epidemiology of periodontal diseases. *Journal of periodontology*, *76*(8), 1406-1419.

[49] Oliver, R. C., Brown, L. J., & Löe, H. (1998). Periodontal diseases in the United States population. *Journal of periodontology*, *69*(2), 269-278.

[50] Preshaw, P. M., Alba, A. L., Herrera, D., Jepsen, S., Konstantinidis, A., Makrilakis, K., & Taylor, R. (2012). Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetologia*, *55*(1), 21-31.

[51] Pihlstrom, B. L., Michalowicz, B. S., & Johnson, N. W. (2005). Periodontal diseases. *The Lancet*, *366*(9499), 1809-1820.

[52] Armitage, G. C. (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of periodontology*, *4*(1), 1-6.

[53] Kinane, D. F. (2001). Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*, *25*(1), 8-20

[54] Flemmig, T. F. (1999). Periodontitis. *Annals of Periodontology*, *4*(1), 32-37.

[55] Berezow, A. B., & Darveau, R. P. (2011). Microbial shift and periodontitis. *Periodontology 2000*, *55*(1), 36-47.

[56] 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.

[57] Peñaloza, R,E., Suárez, E., Palacio Y. (2014). Estudio Nacional en Salud Bucal (ENSAB IV). *Bogotá: Ministerio de Salud y Centro Nacional de Consultoría CNC*.

[58] Van Dyke, T. E. (2007). Control of inflammation and periodontitis. Periodontology 2000, 45(1), 158-166.

[59] Van Dyke, T. E., & Serhan, C. N. (2003). Resolution of inflammation: a new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases. Journal of dental research, 82(2), 82-90.

[60] Ara, T., Kurata, K., Hirai, K., Uchihashi, T., Uematsu, T., Imamura, Y., ... & Wang, P. L. (2009). Human gingival fibroblasts are critical in sustaining inflammation in periodontal disease. *Journal of periodontal research*, *44*(1), 21-27.

[61] Garlet, G. P. (2010). Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-

appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *Journal of dental research*, *89*(12), 1349-1363.

[62] Axelsson, P., Paulartder, J., & Lindhe, J. (1998). Relationship between smoking and dental status in 35-, 50-, 65-, and 75-year-old individuals. *Journal of clinical periodontology*, *25*(4), 297-305.

[63] Hugoson, A., Thorstensson, H., Faltt, H., & Kuylenstierna, J. (1989). Periodontal conditions in insulin-dependent diabetics. *Journal of clinical periodontology*, *16*(4), 215-223.

[64] Larsson, L., Castilho, R. M., & Giannobile, W. V. (2015). Epigenetics and its role in periodontal diseases: a state-of-the-art review. *Journal of periodontology*, *86*(4), 556-568.

[65] Maney, P., & Owens, J. L. (2015). Interleukin polymorphisms in aggressive periodontitis: A literature review. Journal of Indian Society of Periodontology, 19(2), 131.

[66] El Kholy, K., Genco, R. J., & Van Dyke, T. E. (2015). Oral infections and cardiovascular disease. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, *26*(6), 315-321.

[67] Bansal, M., Khatri, M., & Taneja, V. (2013). Potential role of periodontal infection in respiratory diseases-a review. Journal of medicine and life, 6(3), 244.

[68] Wu, Y. Y., Xiao, E., & Graves, D. T. (2015). Diabetes mellitus related bone metabolism and periodontal disease. International journal of oral science, 7(2), 63-72.

[69] Ide, M., & Papapanou, P. N. (2013). Epidemiology of association between maternal periodontal disease and adverse pregnancy outcomes–systematic review. *Journal of clinical periodontology*, *40*(s14).

[70] Garcia, R. I., Henshaw, M. M., & Krall, E. A. (2001). Relationship between periodontal disease and systemic health. Periodontology 2000, 25(1), 21-36.

[71] Peña Sisto, M., Peña Sisto, L., Díaz Felizola, Á., Torres Keiruz, D., & Lao Salas, N. (2008). La enfermedad periodontal como riesgo de enfermedades sistémicas. *Revista Cubana de Estomatología*, *45*(1), 0-0.

[72] Wu, Z., & Nakanishi, H. (2014). Connection between periodontitis and Alzheimer's disease: possible roles of microglia and leptomeningeal cells. *Journal of pharmacological sciences*, *126*(1), 8-13.

[73] Cacquevel, M., Lebeurrier, N., Chéenne, S., & Vivien, D. (2004). Cytokines in neuroinflammation and Alzheimer's disease. *Current drug targets*, *5*(6), 529-534.

[74] Mrak, R. E., & Griffin, W. S. T. (2005). Glia and their cytokines in progression of neurodegeneration. *Neurobiology of aging*, *26*(3), 349-354.

[75] Gaur, S., & Agnihotri, R. (2015). Alzheimer's disease and chronic periodontitis: Is there an association?. *Geriatrics & gerontology international*, *15*(4), 391-404.

[76] Garlet, G. P. (2010). Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *Journal of dental research*, *89*(12), 1349-1363.

[77] Graves, D. T., Fine, D., Teng, Y. T. A., Van Dyke, T. E., & Hajishengallis, G. (2008). The use of rodent models to investigate host–bacteria interactions related to periodontal diseases. *Journal of clinical periodontology*, *35*(2), 89-105.

[78] Loesche, W. J., Schork, A., Terpenning, M. S., Chen, Y. M., Kerr, C., & Dominguez, B. L. (1998). The relationship between dental disease and cerebral vascular accident in elderly United States veterans. *Annals of periodontology*, *3*(1), 161-174.

[79] Gaur, S., & Agnihotri, R. (2015). Alzheimer's disease and chronic periodontitis: Is there an association?. *Geriatrics & gerontology international*, *15*(4), 391-404.

[80] Loesche, W. J., Schork, A., Terpenning, M. S., Chen, Y. M., Kerr, C., & Dominguez, B. L. (1998). The relationship between dental disease and cerebral vascular accident in elderly United States veterans. Annals of periodontology, 3(1), 161-174.

[81] Kaur, K., Dhingra, S., Slezak, J., Sharma, A. K., Bajaj, A. and Singal, P. K. (2009). Biology of TN-Fα and IL-10, and their imbalance in heart failure. Heart Failure Reviews, 14: 113-123.

[82] de Waal Malefyt, R., Yssel, H., & de Vries, J. E. (1993). Direct effects of IL-10 on subsets of human CD4+ T cell clones and resting T cells. Specific inhibition of IL-2 production and proliferation. *The Journal of Immunology*, *150*(11), 4754-4765.

[83] Fiorentino, D. F., Zlotnik, A., Vieira, P., Mosmann, T. R., Howard, M., Moore, K. W., & O'Garra, A. (1991). IL-10 acts on the antigen-presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells. *The Journal of Immunology*, *146*(10), 3444-3451.

[84] Jovanovic, D. V., Di Battista, J. A., Martel-Pelletier, J., Jolicoeur, F. C., He, Y., Zhang, M., ... & Pelletier, J. P. (1998). IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL-β and TNF-α, by human macrophages. The Journal of Immunology, 160(7), 3513-3521.

[85] Naundorf, S., Schröder, M., Höflich, C., Suman, N., Volk, H. D., & Grütz, G. (2009). IL-10 interferes directly with TCR-induced IFN-γ but not IL-17 production in memory T cells. European journal of immunology, 39(4), 1066-1077.

[86] Concejero, A. M., & Jawan, B. (2006). Electroporative interleukin-10 gene transfer ameliorates carbon tetrachloride-induced murine liver fibrosis by MMP and TIMP modulation. Acta Pharmacologica Sinica, 27(4), 469-476.

[87] Claudino, M., Trombone, A. P. F., Cardoso, C. R., Ferreira, S. B., Martins, W., Assis, G. F., ... & Garlet, G. P. (2008). The broad effects of the functional IL-10 promoter-592 polymorphism: modulation of IL-10, TIMP-3, and OPG expression and their association with periodontal disease outcome. Journal of Leukocyte Biology, 84(6), 1565-1573.

[88] Garlet, G. P., Martins, W., Fonseca, B. A., Ferreira, B. R., & Silva, J. S. (2004). Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. Journal of clinical periodontology, 31(8), 671-679.

[89] Garlet, G. P., Cardoso, C. R., Campanelli, A. P., Martins, W., & Silva, J. S. (2006). Expression of suppressors of cytokine signaling in diseased periodontal tissues: a stop signal for disease progression?. Journal of periodontal research, 41(6), 580-584.

[90] Lappin, D. F., MacLeod, C. P., Kerr, A., Mitchell, T., & Kinane, D. F. (2001). Anti-inflammatory cytokine IL-10 and T cell cytokine profile in periodontitis granulation tissue. Clinical & Experimental Immunology, 123(2), 294-300.

[91] Strle, K. J., Zhou, H., Shen,W. H. (2001). Interleukin-10 in the brain. Critical Reviews in Immunology, vol. 21, no. 5, : 427–449.

[92] Ledeboer, A., Brevé, J. J., Wierinckx, A., Van Der Jagt, S., Bristow, A. F., Leysen, J. E., ... & Van Dam, A. M. (2002). Expression and regulation of interleukin-10 and interleukin-10 receptor in rat astroglial and microglial cells. *European journal of neuroscience*, *16*(7), 1175-1185.

[93] Mrak, R. E., & Griffin, W. S. T. (2005). Glia and their cytokines in progression of neurodegeneration. *Neurobiology of aging*, *26*(3), 349-354.

[94] Di Bona, D., Rizzo, C., Bonaventura, G., Candore, G. and Caruso, C. (2012). Association between interleukin-10 polymorphisms and Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. Journal of Alzheimer's disease: JAD, 29(4):751-9.

[95] Reichert, S., Machulla, H. K. G., Klapproth, J., Zimmermann, U., Reichert, Y., Gläser, C. H., ... & Schulz, S. (2008). The interleukin-10 promoter haplotype ATA is a putative risk factor for aggressive periodontitis. Journal of periodontal research, 43(1), 40-47.

[96] Iwakura, Y., Ishigame, H., Saijo, S. and Nakae, S. (2011). Functional specialization of interleukin-17 family members. Immunity, 34: 149- 162.

[97] Witowski, J., Książek, K., & Jörres, A. (2004). Interleukin-17: a mediator of inflammatory responses. Cellular and Molecular Life Sciences, 61(5), 567-579.

[98] Van Bezooijen, R. L., Farih-Sips, H., Papapoulos, S. E., & Löwik, C. W. (1999). Interleukin-17: A new bone acting cytokine in vitro. *Journal of Bone and Mineral Research*, *14*(9), 1513-1521.

[99] Graves, D. T., Oates, T., & Garlet, G. P. (2011). Review of osteoimmunology and the host response in endodontic and periodontal lesions. *Journal of oral microbiology, 3*

[100] Ohyama, H., Kato-Kogoe, N., Kuhara, A., Nishimura, F., Nakasho, K., Yamanegi, K., Yamada, N., Hata, M., Yamane, J., Terada, N. (2009). The involvement of IL-23 and the Th17 pathway in periodontitis. J. Dent. Res. 88: 633–638.

[101] Takahashi, K., Azuma, T., Motohira, H., Kinane, D. F., Kitetsu, S. (2005). The potential role of interleukin-17 in the immunopathology of periodontal disease. J. Clin. Periodontol. 32: 369–374.

[102] Arroyo-Villa, I., Bautista-Caro, M. B., Balsa, A., Aguado-Acín, P., Nuno, L., Bonilla-Hernán, M. G., ... & Miranda-Carús, M. E. (2012). Frequency of Th17 CD4+ T cells in early rheumatoid arthritis: a marker of anti-CCP seropositivity. *PLoS One*, *7*(8), e42189.

[103] Baek, S. H., Lee, S. G., Park, Y. E., Kim, G. T., Kim, C. D., & Park, S. Y. (2012). Increased synovial expression of IL-27 by IL-17 in rheumatoid arthritis. *Inflammation Research*, *61*(12), 1339-1345.

[104] Park, J. S., Park, M. K., Lee, S. Y., Oh, H. J., Lim, M. A., Cho, W. T., Kim, E. K., Ju, J. H., Park, Y. W., Park, S. H., Cho, M. L., Kim, H. Y. (2012). TWEAK promotes the production of Interleukin-17 in rheumatoid arthritis. Cytokine 60: 143–149

[105] Queiroz-Junior, C. M., Madeira, M. F., Coelho, F. M., de Oliveira, C. R., Cândido, L. C., Garlet, G. P., Teixeira, M. M., de Souza Dda. G., Silva, T. (2012). Experimental arthritis exacerbates Aggregatibacter actinomycetemcomitans-induced periodontitis in mice. J. Clin. Periodontol. 39: 608–616.

[106] Sato, K., Suematsu, A., Okamoto, K., Yamaguchi, A., Morishita, Y., Kadono, Y., Tanaka, S., Kodama, T., Akira, S., Iwakura, Y., Cua, D. J., Takayanagi, H. (2006). Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. J. Exp. Med. 203: 2673–2682.

[107] Creagh, E. M., & O'Neill, L. A. (2006). TLRs, NLRs and RLRs: a trinity of pathogen sensors that co-operate in innate immunity. *Trends in immunology*, *27*(8), 352-357.

[108] Tan, M. S., Yu, J. T., Jiang, T., Zhu, X. C., Wang, H. F., Zhang, W., ... & Tan, L. (2013). NLRP3 polymorphisms are associated with late-onset Alzheimer's disease in Han Chinese. *Journal of neuroimmunology*, *265*(1), 91-95.

[109] Bostanci, N., Emingil, G., Saygan, B., Turkoglu, O., Atilla, G., Curtis, M. A., & Belibasakis, G. N. (2009). Expression and regulation of the NALP3 inflammasome complex in periodontal diseases. *Clinical & Experimental Immunology*, *157*(3), 415-422

[110] Armitage, G. C. (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of periodontology*, *4*(1), 1-6

[111] Armitage, G. C. (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of periodontology*, *4*(1), 1-6

[112] Ayçaguer, L. C. S. (1994). *Excursión a la regresión logística en ciencias de la salud*. Ediciones Díaz de Santos.

[113] Gil-Montoya, J. A., Sanchez-Lara, I., Carnero-Pardo, C., Fornieles, F., Montes, J., Vilchez, R., ... & Bravo, M. (2015). Is Periodontitis a Risk Factor for Cognitive Impairment and Dementia? A Case-Control Study. *Journal of periodontology*, *86*(2), 244-253.

[114] Kamer, A. R., Craig, R. G., Dasanayake, A. P., Brys, M., Glodzik-Sobanska, L., & de Leon, M. J. (2008). Inflammation and Alzheimer's disease: possible role of periodontal diseases. *Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association*, *4*(4), 242-250.

[115] Ide, M., Harris, M., Stevens, A., Sussams, R., Hopkins, V., Culliford, D., ... & Puenter, U. (2016). Periodontitis and cognitive decline in Alzheimer's disease.

[116] Gaur, S., & Agnihotri, R. (2015). Alzheimer's disease and chronic periodontitis: Is there an association?. *Geriatrics & gerontology international*, *15*(4), 391-404.

[117] Hall, J. R., Wiechmann, A. R., Johnson, L. A., Edwards, M., Barber, R. C., Winter, A. S., ... & O'Bryant, S. E. (2013). Biomarkers of vascular risk, systemic inflammation, and microvascular pathology and neuropsychiatric symptoms in alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, *35*(2), 363-371.

[118] Reis, C., Da Costa, A. V., Guimarães, J. T., Tuna, D., Braga, A. C., Pacheco, J. J., ... & Cardoso, E. M. (2014). Clinical improvement following therapy for periodontitis: Association with a decrease in IL-1 and IL-6. *Experimental and therapeutic medicine*, *8*(1), 323-327.

[119] Taba, M., Kinney, J., Kim, A. S., & Giannobile, W. V. (2005). Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dental Clinics*, *49*(3), 551-571.

[120] Yucel-Lindberg, T., & Båge, T. (2013). Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis. *Expert reviews in molecular medicine*, *15*.

[121] Stein, P. S., Desrosiers, M., Donegan, S. J., Yepes, J. F., & Kryscio, R. J. (2007). Tooth loss, dementia and neuropathology in the Nun study. *The Journal of the American Dental Association*, *138*(10), 1314-1322.

[122] Gatz, M., Mortimer, J. A., Fratiglioni, L., Johansson, B., Berg, S., Reynolds, C. A., & Pedersen, N. L. (2006). Potentially modifiable risk factors for dementia in identical twins. *Alzheimer's & Dementia: the Journal of the Alzheimer's Association*, *2*(2), 110-117.

[123] Stein, P. S., Desrosiers, M., Donegan, S. J., Yepes, J. F., & Kryscio, R. J. (2007). Tooth loss, dementia and neuropathology in the Nun study. *The Journal of the American Dental Association*, *138*(10), 1314-1322.

[124] Al-Shammari, K. F., Al-Khabbaz, A. K., Al-Ansari, J. M., Neiva, R., & Wang, H. L. (2005). Risk indicators for tooth loss due to periodontal disease. *Journal of periodontology*, *76*(11), 1910-1918.

[125] Al-Shammari, K. F., Al-Khabbaz, A. K., Al-Ansari, J. M., Neiva, R., & Wang, H. L. (2005). Risk indicators for tooth loss due to periodontal disease. *Journal of periodontology*, *76*(11), 1910-1918.

[126] Al-Shammari, K. F., Al-Khabbaz, A. K., Al-Ansari, J. M., Neiva, R., & Wang, H. L. (2005). Risk indicators for tooth loss due to periodontal disease. *Journal of periodontology*, *76*(11), 1910-1918.

[127] Gitto, C. A., Moroni, M. J., Terezhalmy, G. T., & Sandu, S. (2001). The patient with Alzheimer's disease. *Quintessence International*, *32*(3).

[128] Hatipoglu, M. G., Kabay, S. C., & Güven, G. (2011). The clinical evaluation of the oral status in Alzheimer-type dementia patients. *Gerodontology*, *28*(4), 302-306.

[129] Ship, J. A., & Puckett, S. A. (1994). Longitudinal study on oral health in subjects with Alzheimer's disease. *Journal of the American Geriatrics Society*, *42*(1), 57-63.

[130] Al-Shammari, K. F., Al-Khabbaz, A. K., Al-Ansari, J. M., Neiva, R., & Wang, H. L. (2005). Risk indicators for tooth loss due to periodontal disease. *Journal of periodontology*, *76*(11), 1910-1918.

[131] Ruiz-Magaz, V., Pascual, A., Violant, D., Bertos, N., & Santos, A. (2009). Efecto del alcohol en los tejidos de la cavidad oral. Relación con la periodontitis y periimplantitis: una revisión de la literatura. *Periodoncia y Osteointegración*, *19*(2), 139-144.

[132] Stabholz, A., Soskolne, W. A., & Shapira, L. (2010). Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontology 2000*, *53*(1), 138-153.

[133] Johnson, G. K., & Guthmiller, J. M. (2007). The impact of cigarette smoking on periodontal disease and treatment. *Periodontology 2000*, *44*(1), 178-194.

[134] Tomar, S. L., & Asma, S. (2000). Smoking-attributable periodontitis in the United States: findings from NHANES III. *Journal of periodontology*, *71*(5), 743-751.

[135] Khan, S., Khalid, T., & Awan, K. H. (2016). Chronic periodontitis and smoking Prevalence and dose-response relationship. *Saudi medical journal*, *37*(8), 889.

[136] Shiau, H. J., & Reynolds, M. A. (2010). Sex differences in destructive periodontal disease: exploring the biologic basis. *Journal of periodontology*, *81*(11), 1505-1517.

[137] Haytac, M. C., Ozcelik, O., & Mariotti, A. (2013). Periodontal disease in men. *Periodontology 2000*, *61*(1), 252-265

[138] Galdas, P. M., Cheater, F., & Marshall, P. (2005). Men and health help-seeking behaviour: literature review. *Journal of advanced nursing*, *49*(6), 616-623.

[139] Haytac, M. C., Ozcelik, O., & Mariotti, A. (2013). Periodontal disease in men. *Periodontology 2000*, *61*(1), 252-265

[140] Garlet, G. P., Cardoso, C. R., Campanelli, A. P., Martins, W., & Silva, J. S. (2006). Expression of suppressors of cytokine signaling in diseased periodontal tissues: a stop signal for disease progression?. Journal of periodontal research, 41(6), 580-584.

[141] Garlet, G. P., Martins, W., Fonseca, B. A., Ferreira, B. R., & Silva, J. S. (2004). Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. Journal of clinical periodontology, 31(8), 671-679.

[142] Lappin, D. F., MacLeod, C. P., Kerr, A., Mitchell, T., & Kinane, D. F. (2001). Anti-inflammatory cytokine IL-10 and T cell cytokine profile in periodontitis granulation tissue. Clinical & Experimental Immunology, 123(2), 294-300.

[143] Turner, D., Williams, D. M., Sankaran, D., Lazarus, M., Sinnott, P. J., & Hutchinson, I. V. (1997). An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. European journal of immunogenetics, 24(1), 1-8.

[144] Reuss, E., Fimmers, R., Kruger, A., Becker, C., Rittner, C., & Höhler, T. (2002). Differential regulation of interleukin-10 production by genetic and environmental factors–a twin study. Genes and immunity, 3(7), 407-413.

[145] Larsson, L., Rymo, L., & Berglundh, T. (2010). Sp1 binds to the G allele of the− 1087

polymorphism in the IL-10 promoter and promotes IL-10 mRNA transcription and protein production. Genes and immunity, 11(2), 181-187.

[146] Berglundh, T., Donati, M., Hahn-Zoric, M., Hanson, L. Å., & Padyukov, L. (2003). Association of the− 1087 IL 10 gene polymorphism with severe chronic periodontitis in Swedish Caucasians. Journal of clinical periodontology, 30(3), 249-254.

[147] Sumer, A. P., Kara, N., Keles, G. C., Gunes, S., Koprulu, H., & Bagci, H. (2007). Association of interleukin-10 gene polymorphisms with severe generalized chronic periodontitis. Journal of periodontology, 78(3), 493-497.

[148] Scarel-Caminaga, R. M., Trevilatto, P. C., Souza, A. P., Brito, R. B., Camargo, L. E., & Line, S. R. (2004). Interleukin 10 gene promoter polymorphisms are associated with chronic periodontitis. Journal of Clinical Periodontology, 31(6), 443-448.

[149] Scapoli, L., Girardi, A., Palmieri, A., Carinci, F., Testori, T., Zuffetti, F., ... & Lauritano, D. (2012). IL6 and IL10 are genetic susceptibility factors of periodontal disease. *Dental research journal*, *9* (Suppl 2),S197.

[150] Reichert, S., Machulla, H. K. G., Klapproth, J., Zimmermann, U., Reichert, Y., Gläser, C. H., ... & Schulz, S. (2008). The interleukin-10 promoter haplotype ATA is a putative risk factor for aggressive periodontitis. *Journal of periodontal research*, *43*(1), 40-47.

[151] Arosio, B., Mastronardi, L., Vergani, C., & Annoni, G. (2010). Interleukin-10 promoter polymorphism in mild cognitive impairment and in its clinical evolution. *International Journal of Alzheimer's Disease*, *2010*.

[152] Moraes, C. F., Benedet, A. L., Souza, V. C., Lins, T. C., Camargos, E. F., Naves, J. O., ... & Nóbrega, O. T. (2013). Cytokine gene polymorphisms and Alzheimer's disease in Brazil. *Neuroimmunomodulation*, *20*(5), 239-246.

[153] Armingohar, Z., Jørgensen, J. J., Kristoffersen, A. K., Schenck, K., & Dembic, Z. (2015). Polymorphisms in the interleukin-10 gene and chronic periodontitis in patients with atherosclerotic and aortic aneurysmal vascular diseases. *Journal of oral microbiology*, *7*(1), 26051.

[154] Ohyama, H., Kato-Kogoe, N., Kuhara, A., Nishimura, F., Nakasho, K., Yamanegi, K., Yamada, N., Hata, M., Yamane, J., Terada, N. (2009). The involvement of IL-23 and the Th17 pathway in periodontitis. J. Dent. Res. 88: 633–638.

[155] Takahashi, K., Azuma, T., Motohira, H., Kinane, D. F., Kitetsu, S. (2005). The potential role of interleukin-17 in the immunopathology of periodontal disease. J. Clin. Periodontol. 32: 369–374.

[156] Kadkhodazadeh, M., Baghani, Z., Ebadian, A. R., Youssefi, N., Mehdizadeh, A. R., & Azimi, N. (2013). IL-17 gene polymorphism is associated with chronic periodontitis and peri-implantitis in Iranian patients: a cross-sectional study. *Immunological investigations*, *42*(2), 156-163.

[157] Zacarias, J. M. V., Sippert, E. Â., Tsuneto, P. Y., Visentainer, J. E. L., & Sell, A. M. (2015). The influence of interleukin 17A and IL17F polymorphisms on chronic periodontitis disease in Brazilian patients. *Mediators of inflammation*, *2015*.

[158] Saraiva, A. M., e Silva, M. R. M. A., Silva, J. D. F. C., da Costa, J. E., Gollob, K. J., Dutra, W. O., & Moreira, P. R. (2013). Evaluation of IL17A expression and of IL17A,

IL17F and IL23R gene polymorphisms in Brazilian individuals with periodontitis. *Human Immunology*, *74*(2), 207-214.

[159] Siffrin, V., Radbruch, H., Glumm, R., Niesner, R., Paterka, M., Herz, J., ... & Laube, G. (2010). In vivo imaging of partially reversible th17 cell-induced neuronal dysfunction in the course of encephalomyelitis. *Immunity*, *33*(3), 424-436.

[160] Hamdan, A. A., Melconian, A. K., Adhia, A. H., & Alhaidary, A. F. The level of IL-1α, IL-10 and IL-17A in Alzheimer's disease patients: Comparative study.

[161] Chaudhari, H. L., Warad, S., Ashok, N., Baroudi, K., & Tarakji, B. (2016). Association of Interleukin-17 polymorphism (-197G/A) in chronic and localized aggressive periodontitis. Brazilian oral research, 30(1).

[162] Tan, M. S., Yu, J. T., Jiang, T., Zhu, X. C., Wang, H. F., Zhang, W., ... & Tan, L. (2013). NLRP3 polymorphisms are associated with late-onset Alzheimer's disease in Han Chinese. *Journal of neuroimmunology*, *265*(1), 91-95.

[163] Bostanci, N., Emingil, G., Saygan, B., Turkoglu, O., Atilla, G., Curtis, M. A., & Belibasakis, G. N. (2009). Expression and regulation of the NALP3 inflammasome complex in periodontal diseases. *Clinical & Experimental Immunology*, *157*(3), 415-422.