

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**A INFLUÊNCIA DA *P. GINGIVALIS* NA DOENÇA DE
ALZHEIMER**

Trabalho submetido por
Laura Escabelado Cerca Mendes Gonçalves
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

setembro de 2023

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**A INFLUÊNCIA DA *P. GINGIVALIS* NA DOENÇA DE
ALZHEIMER**

Trabalho submetido por
Laura Escabelado Cerca Mendes Gonçalves
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho Orientado por
Prof. Doutor Gonçalo Martins Pereira

setembro de 2023

Dedicatória

“Para ser grande, sê inteiro”
- Ricardo Reis, Fernando Pessoa

Agradecimentos

Quero começar por agradecer ao meu orientador, Prof. Doutor Gonçalo Pereira, pela sua diligência e disponibilidade constante, pela sua pedagogia e pela motivação não só na realização da tese como para o futuro.

Agradeço ao Instituto Universitário Egas Moniz.

Agradeço a alguns dos professores que de algum modo marcaram o meu percurso com a sua pedagogia e foram relevantes para a minha aprendizagem.

Agradeço à minha irmã e madrinha, que me guiou ao longo de todo o curso e me prestou enorme auxílio na elaboração da tese.

Agradeço à minha dupla, companheira de todas as horas e melhor amiga, Beatriz Pavão, por ter tornado este cinco anos tão agradáveis e todas as vicissitudes mais fáceis de ultrapassar, devido à nossa crescente amizade.

Agradeço à minha amiga, Nádia Magalhães, por toda a ajuda profissional e emocional, pelos jantares depois da clínica, mas mais importante pela amizade e bom senso que trouxe a minha vida.

Agradeço às minhas caras colegas, Ana Clara Pimenta e Catarina Freire, pelo suporte emocional e desabafos constantes na clínica.

Agradeço ao meu namorado, Mário, pela compreensão face a todas as minhas ausências e pelo apoio e suporte emocional.

Agradeço aos meus animais por serem paz de espírito e amor em todos os momentos.

Agradeço aos meus tios, Fernanda Gonçalves e Fernando Oliveira, por terem tornado a minha estadia em Lisboa mais agradável e por serem um “lar” longe de casa.

Agradeço ao meu pai, Carlos Gonçalves, por me proporcionar a oportunidade de estudar e viver em Lisboa.

Por último, porque o melhor fica para o fim, quero agradecer à minha mãe, a quem devo tudo o que sou e alcancei. Pelo amor e companhia, mas também pela disciplina e crescimento pessoal. “Se eu vi mais além foi porque estava aos ombros de gigantes”, no meu caso aos ombros da gigante Anabela Cerca.

Resumo

A *Porphyromonas gingivalis* é uma bactéria anaeróbia patogénica e oportunista, sendo uma das principais bactérias presentes na doença periodontal, mas com capacidade de proliferação sistémica. É uma bactéria com a capacidade de proliferar e invadir os tecidos periodontais, mas também de modular a resposta imunitária relativamente à inflamação local ou sistémica.

A doença periodontal é uma patologia multifatorial, com diversos fatores de risco, como por exemplo o consumo de tabaco e fatores genéticos. que afeta o periodonto, isto é, todas as estruturas ao redor do dente, que lhe conferem suporte como a gengiva, o osso alveolar e o ligamento periodontal. Dentro do grupo das bactérias periodontopatogénicas destaca-se o papel da *P. gingivalis*.

Por outro lado, a doença de Alzheimer é a forma de demência degenerativa mais comum, de carácter progressivo que pode conduzir à morte. As suas causas são ainda desconhecidas, mas acredita-se que os fatores genéticos, a par de fatores ambientais, tenham um papel fundamental. Dentro dos fatores ambientais, há evidência de uma ligação entre a bactéria *P. gingivalis* e a doença de Alzheimer por diversas vias fisiopatológicas. Assim, tendo a *P. gingivalis* influência na doença de Alzheimer, é atualmente seguro afirmar que a doença periodontal também terá relação com esta doença neurodegenerativa.

Apesar de haver evidência científica que corrobora a influência da *P. gingivalis* na doença de Alzheimer, é mandatório que sejam elaborados mais estudos e recolhidos mais dados para compreender os mecanismos de ligação entre ambas.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer; *P. gingivalis*; Periodontite; Inflamação; Envelhecimento

Abstract

Porphyromonas gingivalis is a pathogenic and opportunistic anaerobic bacterium, being one of the main bacteria present in periodontal disease, but with the capacity for systemic proliferation. It is a bacterium with the ability to proliferate and invade periodontal tissues but also to modulate the immune response to local or systemic inflammation.

Periodontal disease is a multifactorial pathology, with several risk factors, such as tobacco consumption and genetic factors. which affects the periodontium, that is, all the structures around the tooth, which provide it with support, such as the gums, the alveolar bone and the periodontal ligament. Within the group of periodontopathogenic bacteria, the role of *P. gingivalis* stands out.

On the other hand, Alzheimer's disease is the most common form of degenerative dementia, which is progressive and can lead to death. Its causes are still unknown, but it is believed that genetic factors, along with environmental factors, play a fundamental role. Within environmental factors, there is evidence of a link between the bacteria *P. gingivalis* and Alzheimer's disease through several pathophysiological pathways. Therefore, with *P. gingivalis* influencing Alzheimer's disease, it is now safe to say that periodontal disease will also be related to this neurodegenerative disease.

Although there is scientific evidence that corroborates the influence of *P. gingivalis* on Alzheimer's disease, it is mandatory that more studies be carried out and more data collected to understand the mechanisms linking the two.

Keywords: Alzheimer's disease; *P. gingivalis*; Periodontitis; Inflammation; Aging

Índice Geral

I	Introdução	11
II	Desenvolvimento	13
2.1	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	13
2.1.1	Características Gerais	13
2.1.2	Epidemiologia.....	14
2.1.3	Produção de componentes e mecanismo de propagação	14
2.1.4	Interação com as células epiteliais da mucosa oral	14
2.1.5	<i>P. gingivalis</i> : envolvimento em patologias sistêmicas.....	15
2.2	Doença Periodontal.....	19
2.2.1	Definição	19
2.2.2	Epidemiologia.....	21
2.2.3	Diagnóstico.....	21
2.2.4	Etiopatogenia e fisiopatologia	22
2.2.5	A influência sistêmica da doença periodontal	25
2.2.6	Tratamento.....	26
2.3	Doença de Alzheimer	26
2.3.1	Definição	26
2.3.2	Diagnóstico.....	27
2.3.3	Etiopatogenia e fisiopatologia	27
2.3.4	Tratamento.....	28
2.4	A associação da <i>P. gingivalis</i> e Doença de Alzheimer.....	28
2.4.1	Associação entre a Doença Periodontal e a Doença de Alzheimer	28
2.4.2	A <i>P. gingivalis</i> como fator de desenvolvimento da Doença de Alzheimer e a sua contribuição na neurodegeneração.....	30
2.4.3	Neuroinflamação e consequências no sistema nervoso central	36
2.4.4	Leptomeninges: Possível via de comunicação entre as bactérias periodontais e a microglia residente no cérebro	37
III	Conclusão	43
IV	Referências Bibliográficas	47

Lista de figuras

Figura 1 - A natureza multifatorial da doença periodontal [Adaptado de (Kwon et al., 2021)].....	20
Figura 2 - Classificação da Doença Periodontal [Adaptado de (Kwon et al., 2021)]	22
Figura 3 - Processo da mielopoiese na medula óssea e o seu papel noutra condições inflamatórias sistémicas [Adaptado de (Hajishengallis & Chavakis, 2021)]	24
Figura 4 - Representação dos emaranhados da proteína Tau e das placas de amiloide [Adaptado de (Phipps, 2015)].....	26
Figura 5 - Mecanismos de ligação entre as doenças periodontal e de Alzheimer [Adaptado de (Wu & Nakanishi, 2014)]	29
Figura 6 - A periodontite como um factor de risco para o início/progressão da doença de Alzheimer [Adaptado de (Ryder, 2022)].....	31
Figura 7 - Representação macroscópica da bactéria <i>P. gingivalis</i> [Adaptado de (Zhang et al., 2021)]	33
Figura 8 - Ação intraneuronal das gingipains [Adaptado de (Hajishengallis & Chavakis, 2021)].....	33
Figura 9 - Representação da proteína Tau saudável e na doença de Alzheimer [Adaptado de (Barbier et al., 2019)].....	36
Figura 10 - Diferenças entre a microglia saudável e a microglia senescente [Adaptado de (Leng & Edison, 2021)]	39
Figura 11 - Efeitos neuroprotetores e neurotóxicos da microglia [Adaptado de (Kim et al., 2023)]	40

Lista de Siglas e Acrónimos

- **APP** – Proteína Percursora Amilóide;
- **A β** – Beta Amilóide;
- **CGA** – Cromogranina A;
- **IL-1 β** – Interleucina 1 Beta;
- **LPS** – Lipopolissacarídeos;
- ***P. gingivalis*** – *Porphyromonas gingivalis*;
- **SNC** – Sistema Nervoso Central.

I Introdução

A *P. gingivalis* é uma bactéria gram negativa, anaeróbia, que se destaca pelos seus fatores de virulência, responsáveis pelas técnicas de patogenicidade e sobrevivência no organismo. Estes fatores de virulência dividem-se em componentes secretores, como as vesículas, e em componentes estruturais, como as fimbrias e os lipopolissacarídeos (Mei et al., 2020).

A *P. gingivalis* é indissociável da doença periodontal. A doença periodontal é uma condição inflamatória oral de origem infecciosa, afetando diretamente o periodonto (com as suas respetivas estruturas: gengivas, ligamento periodontal, cimento, osso alveolar), sendo identificada como uma fonte de mediadores inflamatórios na circulação sanguínea. Não sendo impedida, nem por fatores genéticos nem por atuação médica, esta vai desencadear a destruição progressiva destas estruturas e com o tempo pode levar a perdas dentárias. As principais bactérias implicadas são: *P. gingivalis*, *Tanerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, e *Treponema denticola*; e são todas gram negativas. A resposta do hospedeiro às bactérias é, em grande parte, condicionada pelo polimorfismo genético, particularmente com os genes que codeiam para a interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). Não só o microbioma oral tem um papel fundamental na resposta do hospedeiro, mas também os hábitos de vida tal como o stress ou o consumo tabágico tem a sua influência no desenvolvimento da doença periodontal (Cerajewska et al., 2015).

A *P. gingivalis* além de ser uma bactéria fulcral na periodontite, tem inclusive sido associada a outras patologias inflamatórias, tais como a aterosclerose e a doença de Alzheimer (Olsen et al., 2016).

A doença de Alzheimer é a principal causa de demência e, rapidamente se está a tornar uma das doenças mais onerosas e de maior morbilidade e mortalidade deste século (Scheltens et al., 2021). Um importante fator na doença de Alzheimer é a neuroinflamação, que inclui vários eventos inflamatórios do sistema nervoso central (SNC) em condições patológicas (Jungbauer et al., 2022).

A doença de Alzheimer é a forma mais comum de demência. O diagnóstico de demência é complexo e apenas pode ser confirmado quando pelo menos dois dos seguintes campos cognitivos – memória, linguagem, personalidade, capacidade de execução, competência visioespacial e comportamento – se demonstram afetados (Anízio et al., 2011).

Estudos recentes sugerem que a colonização cerebral pelo agente patogénico periodontal *P. gingivalis* pode estabelecer uma ligação entre essas duas condições inflamatórias e degenerativas, a periodontite e a doença de Alzheimer (Ryder, 2020).

Na tentativa de explicar a relação entre a doença de Alzheimer e a periodontite, e consequentemente a *P. gingivalis*, caímos num dilema de causalidade. Com base nessa mesma questão podemos formular três hipóteses (Ryder, 2020):

- 1) A periodontite precipita ou agrava a doença de Alzheimer;
- 2) A doença de Alzheimer pode potenciar a Periodontite devido às condições de higiene oral reduzidas destes pacientes;
- 3) Ambas as doenças derivam de um mesmo fator comum.

Para nos ser possível estabelecer uma conexão definitiva entre a periodontite e doença extra-oral, como a doença de Alzheimer, estamos dependentes da satisfação de três critérios: O primeiro critério é a associação, ou seja, é necessário demonstrar que a periodontite ocorre simultaneamente com a segunda condição. O segundo depende da criação de um mecanismo biológico plausível pelo qual a periodontite possa iniciar ou promover a condição associada – Os mecanismos biológicos que poderiam fortalecer essa conexão incluiriam estudos sobre a translocação de bactérias da placa dentária para a corrente sanguínea, tendo os mesmos efeitos diretos em outros sistemas de órgãos, tal como mudanças locais e sistêmicas na resposta do hospedeiro a essas bactérias. Terceiro, e mais difícil de satisfazer, seria demonstrar que o tratamento da periodontite em si, ou terapias direcionadas contra patógenos microbianos periodontais específicos, de alguma forma modifica ou ameniza a segunda condição. Satisfazer este terceiro critério requer ensaios clínicos controlados randomizados bem projetados e adequadamente alimentados para comparar os efeitos de terapias-alvo com controlos placebo combinados (Ryder, 2020).

De forma a rever estas patologias e o seu dilema de causalidade é realizada a presente revisão de literatura.

II Desenvolvimento

2.1 *Porphyromonas gingivalis*

2.1.1 Características Gerais

A *Porphyromonas gingivalis* é uma das bactérias envolvidas na formação do biofilme da placa bacteriana, e desempenha um papel importante na progressão da doença periodontal (Fiorillo et al., 2019). É considerada como o agente patogénico chave na periodontite, no entanto uma pequena percentagem da população saudável também pode apresentar *P. gingivalis*, ainda que em pequenas quantidades (Dominy et al., 2019). Produz uma pletora de fatores de virulência que causam destruição do tecido periodontal, direta ou indiretamente, modulando a resposta inflamatória do hospedeiro (How et al., 2016).

Frequentemente encontrada na forma de cocos ou bastonete, é a segunda bactéria periodontal mais estudada, depois da *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Fiorillo et al., 2019).

É uma bactéria Gram-negativa anaeróbia assacarolítica, ou seja, é uma bactéria incapaz de transformar a sacarose em ácido láctico, obtendo, por isso, a sua energia através de ácidos aminas e péptidos (Dominy et al., 2019).

Pertence ao grupo dos Bacteróides de pigmentação negra (Fiorillo et al., 2019). Na cavidade oral existem diversas bactérias cromogénicas que podem provocar uma pigmentação nos dentes. Esta categoria de bactérias inclui: a *Prevotella denticola*, a *Bacteroides oralis*, a *Porphyromonas gingivalis*, a *Porphyromonas asaccharolytica* e a *Prevotella intermedia* (causadoras da pigmentação preta mencionada acima); Além destas, temos inúmeras bactérias que podemos identificar na microbiota oral provocadores de colorações/pigmentações, tais como: a *Prevotella melaninogenica* (pigmentação escura); a *Fusobacterium nucleatum* (pigmentação verde); a *Selenomonas sputigena* (pigmentação cinza-amarelado) e a *Actinomyces denticolens* (pigmentação rosa). Devido à grande complexidade da microbiota presente na superfície dentária e no sulco gengival, o efeito desses microrganismos na pigmentação é ainda um tema pouco claro, no entanto, é um facto que estas bactérias têm a capacidade de formar colónias pigmentadas na presença de certos substratos, como o sangue (Anjos, 2020).

As bactérias deste grupo formam colónias de tonalidade castanho-escura em placas de ágar-sangue. Este grupo foi quase imediatamente associado à doença periodontal. Dentro desta família de bactérias temos espécies assacarolíticas, como a *P.*

gingivalis, espécies intermediárias e espécies altamente sacarolíticas, tal como a *Prevotella melaninogenica* (Fiorillo et al., 2019)

As últimas décadas de extensa pesquisa sobre *P. gingivalis* produziram várias linhas de evidências sobre a contribuição deste anaeróbio para a progressão da Doença Periodontal. Descobertas importantes para aumentar nossa compreensão sobre as características de virulência e interação celular entre a *P. gingivalis* e o hospedeiro, elucidando possíveis abordagens terapêuticas para controlar a progressão da doença periodontal (How et al., 2016).

2.1.2 Epidemiologia

2.1.3 Produção de componentes e mecanismo de propagação

A *P. gingivalis* é, também, produtora de inúmeros componentes: collagenase, várias proteases, hemolisinas, endotoxinas, ácidos gordos, amônia, sulfeto de hidrogénio, indol e outros. Além disso, esta bactéria tem a capacidade de inibir o processo de migração polimorfonuclear através da barreira endotelial (Fiorillo et al., 2019).

Este processo refere-se à migração celular desempenhada pelos leucócitos polimorfonucleares que representa um papel essencial nos processos inflamatórios do corpo humano. Os neutrófilos, os leucócitos mais abundantes no sangue periférico e um tipo de leucócito polimorfonuclear (PMN), são as primeiras células a serem ativadas durante a inflamação e eventualmente migram para o local de infeção (Khachatryan et al., 2022).

Na presença da *P. gingivalis* este processo é inibido, perpetuando a inflamação (Fiorillo et al., 2019).

2.1.4 Interação com as células epiteliais da mucosa oral

Esta espécie encontra-se na microbiota oral de pacientes com doença periodontal. A *P. gingivalis* é capaz de afetar células epiteliais da mucosa gengival e células endoteliais. Após a escovagem dentária e, após a formação da glicoproteína do esmalte dentário, um biofilme bacteriano começa a ganhar forma sobre o mesmo. Dentro dos primeiros colonizadores certamente poderemos encontrar a família dos *Streptococcus*: o *Streptococcus oralis* e o *Streptococcus mitis*; *Streptococcus gordonii* e *Streptococcus oralis*; e *Streptococcus sanguis*. Posteriormente a esta colonização inicial, decorre um complexo processo de agregação bacteriana até ao *Fusobacterium nucleatum*, que

confere finalmente, diretamente ou através do *Treponema denticola*, a adesão da *P. gingivalis*. Dito isto, podemos afirmar que a *P. gingivalis* é um colonizador tardio neste biofilme bacteriano, como a *Actinomyces actinomycetemcomitans* ou o intermediário *Prevotella spp.*. Deve, também, ser salientado que as causas da doença periodontal podem ser múltiplas, não dependendo, por isso, unicamente desta bactéria (Fiorillo et al., 2019).

2.1.5 *P. gingivalis*: envolvimento em patologias sistêmicas

A *P. gingivalis* tem ligações com diferentes patologias sistêmicas, incluindo artrite reumatóide, patologias cardiovasculares e neurodegenerativas, entre outras. Pela lógica, ao conseguirmos compreender os mecanismos de difusão/ação dessa bactéria, seria possível prevenir diversas patologias, nas quais ela demonstra ter envolvimento. Deste modo, o médico-dentista deveria ser colocado no centro da prevenção das seguintes doenças (Fiorillo et al., 2019):

- **Neurologia**

A *P. gingivalis* foi identificada em exames histológicos de tecido cerebral de pacientes portadores da doença de Alzheimer (Dominy et al., 2019). Também foram reconhecidas proteases tóxicas, chamadas *gingipains*. As *gingipains* são neurotóxicas e tem uma ligação direta com a *P. gingivalis*, uma vez que a sua inibição reduz a carga bacteriana da *P. gingivalis*. Os inibidores de pequenas moléculas podem inibir as *gingipains* e, deste modo, bloquear a produção de A β 1-42 (componente das placas amilóides) pela *P. gingivalis*. A inibição de *P. gingivalis* pode reduzir a neurotoxicidade, logo, esse inibidor pode ser valioso para a prevenção e tratamento da colonização cerebral (Fiorillo et al., 2019).

A doença periodontal e a inflamação sistêmica crônica podem estar correlacionadas com neuroinflamação e doença de Alzheimer. Desta forma a periodontite pode estar correlacionada com a doença de Alzheimer e outras doenças neurodegenerativas (Wu et al., 2013).

- **Cardiologia**

A doença periodontal pode exercer influência na tríade da patogénese da aterosclerose, precisamente por ser causada por agentes patogénicos de alto risco para doenças arteriais, posto isto a comunidade médico-dentária deve gerir e controlar a doença Periodontal reduzindo assim a doença cardiovascular que é uma causa de morbilidade e mortalidade na população em geral (Bale et al., 2017).

É seguro afirmar que encontramos uma importante relação entre a doença periodontal e a doença cardiovascular, uma vez que todos os componentes da primeira, tais como as toxinas bacterianas, o fator de virulência e a alteração imunológica do sistema podem vir a desenvolver a doença cardiovascular. Ou seja, uma das formas de prevenção da doença cardiovascular e outras doenças cardíacas, poderia incluir a prevenção da doença periodontal e os seus respectivos produtos (Chistiakov et al., 2016). Dito isto, a terapia periodontal pode ser um dos primeiros passos na terapia da doença cardiovascular, não descartando tantos outros fatores de risco para a mesma. Posto isto, o médico-dentista também deveria estar na primeira linha de tratamento e prevenção de doença cardiovascular (Lo et al., 2015).

As bactérias periodontais podem disseminar-se através do tecido vascular sistêmico e tornarem-se uma das causas para a aterosclerose, no entanto, nenhuma bactéria foi encontrada em placas de ateromas. Uma vez mais, a prevenção da doença periodontal e da inflamação crônica periodontal que dela provém, pode ser um passo terapêutico para o impedimento do avanço da aterosclerose (Reyes et al., 2013). A doença periodontal e, mais especificamente, a infecção causada por *P. gingivalis* podem conduzir à progressão da aterosclerose. Existe uma clara ligação entre estas duas patologias, logo o tratamento periodontal pode ser benéfico para a condição sistêmica (Huck et al., 2011).

A bacteremia – presença de bactérias na corrente sanguínea - é frequente em pacientes periodontais e é, também, a base do desenvolvimento da aterotrombose, termo usado para salientar a estreita ligação entre a aterosclerose e a trombose (Loscalzo et al., 2008). De acordo com um estudo de McNicol & Israels (2010) foi reconhecida a capacidade das bactérias de ativar plaquetas, como tal é possível afirmar, que as bactérias orais desempenham um papel fulcral na doença sistêmica (Inaba & Amano, 2010).

A *P. gingivalis* tem a capacidade de induzir um estado de inflamação crônica e mantê-lo em zonas afastadas da infecção oral (Hayashi et al., 2010).

Num estudo recente relativo a doença cardiovascular e doença periodontal, foi demonstrado que níveis elevados de determinados agentes patogénicos periodontais, - nomeadamente os cinco seguintes: *Actinomyces actinomicetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Treponema denticola* – concomitantemente com altos níveis de colonização de *A. actinomicetemcomitans* foram significativamente associados com a doença cardiovascular. Demonstrou-se ainda que as células endoteliais podem ser danificadas pela capacidade de adesão, invasão e proliferação da *P. gingivalis* nas mesmas, havendo a possibilidade deste acontecimento

interferir na função fisiológica da vasodilatação devido à degeneração provocada tanto nas células endoteliais quanto nas células musculares lisas (Fiorillo et al., 2019).

- **Reumatologia**

Existe uma correlação entre algumas doenças sistêmicas imunológicas e a doença periodontal, sendo que a causa desta relação serão os anticorpos bacterianos da doença periodontal circulantes – um deles, a *P. gingivalis* - que conduzem à inflamação sistêmica (Scher et al., 2014).

Num outro estudo foi demonstrada uma vasta lista de alterações sistêmicas provocadas pela microbiota oral e infecções periodontais. Dessa lista constam condições como: resultados adversos da gravidez, artrite reumatóide, doença inflamatória intestinal e outras patologias que podem ser promovidas pela *P. gingivalis*, mas também por *Streptococcus mutans*, *Campylobacter rectus* ou *Fusobacterium nucleatum*. *P. gingivalis* é uma das bactérias propensas extra-orais. Analisar e quantificar os níveis de agentes patogênicos extra-orais pode ser uma boa contribuição para prever o potencial da doença (Han & Wang, 2013).

O fator reumatóide e o anticorpo anti-peptídeo citrulinado são encontrados em pessoas portadoras de artrite reumatoide, no entanto também foram identificados na doença periodontal. A *P. gingivalis* desempenha uma função na citrulinação deste anticorpo. (Detert et al., 2010)

- **Diabetes Mellitus**

Os pacientes afetados pela doença periodontal apresentam também outras condições inflamatórias sistêmicas como por exemplo doença cardiovascular, artrite reumatóide ou resistência à insulina, elemento central na fisiopatologia da diabetes mellitus tipo 2. Por exemplo, IL-1, IL-6 e TNF-alfa, componentes ligados à progressão da doença periodontal estão também associados à resistência à insulina. O tratamento periodontal, mais uma vez, pode ser essencial para a prevenção da inflamação sistêmica (El-Shinnawi & Soory, 2013).

- **Oncologia**

Foi analisada a possibilidade de uma correlação entre inflamação crônica oral e o desenvolvimento de cancro oral (Gholizadeh et al., 2016).

A *P. gingivalis* e outras espécies de bactérias que estão presentes na doença periodontal podem ser um fator etiológico para determinados tipos de cancro. Um estudo que analisou 405 casos de cancro do pâncreas e 416 casos-controlo descobriu que, nos resultados dos testes laboratoriais, os anticorpos de *P. gingivalis* encontravam-se em

maiores quantidades em pacientes portadores de neoplasia pancreática do que em indivíduos saudáveis do grupo controle, o que sugeria que a microbiota oral, em específico a dos doentes periodontais, pode ser considerada um potencial biomarcador de doenças. Foi ainda referida uma associação estatisticamente significativa entre o carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço e a doença periodontal, indicando que esta última fosse considerada um fator de risco independente, com implicações práticas na prevenção, diagnóstico precoce e tratamento. Compreender esta interação hospedeiro-bactéria e os seus respetivos mecanismos de causa-efeito abriu caminho para uma nova visão mais ampla do papel da microbiota nas condições de saúde e doença, fornecendo novas abordagens terapêuticas na prática clínica (Fiorillo et al., 2019).

- **Biologia e Imunologia**

Diversos estudos demonstraram que os vírus e as bactérias estão associados na doença periodontal (Cervino et al., 2019), logo, a doença periodontal e a infeção viral podem desenvolver doenças sistémicas. A *P. gingivalis* e uma interação viral podem ser avaliadas no sentido de fornecer uma nova estratégia para o tratamento do paciente (Tiantian & Xin, 2016).

A *P. gingivalis* é uma das bactérias responsáveis pela periodontite. Os seus produtos, em forma de vesículas, podem ser a chave para entender os mecanismos de comunicação e difusão da *P. gingivalis* e respetivas implicações sistémicas (Xie, 2015). Sabendo que a *P. gingivalis* é uma das responsáveis pela doença periodontal, se conhecermos todos os fatores de virulência envolvidos na mesma iremos fornecer um potencial alvo antigénio para uma vacina periodontal (Grover et al., 2014).

Outros estudos revelaram que algumas bactérias periodontais podem levar à manutenção, à latência e à reativação do Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH-1). A doença periodontal pode acelerar a síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) em pacientes infetados. A prevenção da doença periodontal, mais uma vez, pode retardar uma patologia sistémica e melhorar as consequências dessas doenças (Imai & Ochiai, 2011).

Assim como, a prevenção do estado de bacteremia do organismo pode bloquear alguns mecanismos imunológicos do hospedeiro (Michaud, 2013).

Sendo a doença periodontal tão crucial no desenvolvimento e aparecimento de outras patologias sistémicas, só demonstra o quão importante é o papel do médico-dentista no diagnóstico, tratamento e prevenção, não só da doença periodontal, mas também de tantas outras patologias (Fiorillo et al., 2019).

2.2 Doença Periodontal

2.2.1 Definição

A doença periodontal consiste numa alteração da homeostase microbiana da cavidade oral do hospedeiro (Darveau, 2010).

Posto isto, antes de entrarmos na definição de doença periodontal, iremos definir o conceito de saúde periodontal, o estado onde existe homeostase. A saúde periodontal não consiste apenas na ausência de doença. Há diversos fatores que têm de ser satisfeitos para que possamos considerar que existe saúde periodontal, tais como: o nível de inserção, a existência ou não de perda óssea e/ou mobilidade, a presença ou não de inflamação, a profundidade de sondagem e/ou recessões, entre outros. No entanto, se basearmos a definição de saúde periodontal na ausência de perda óssea, na ausência de inflamação e na presença de medidas normais no nível de inserção e na profundidade de sondagem, teremos uma definição muito restrita e que não se enquadra na realidade, uma vez que, se aplicarmos esta definição à população em geral, o resultado será uma prevalência extremamente alta, porque a maioria da população não apresenta a ausência simultânea de sinais e sintomas, apesar de apresentarem um funcionamento normal e sem dor. Assim, a saúde periodontal não tem uma definição estática, pode variar de pessoa para pessoa e de idade para idade. Deste modo, a definição de bem-estar mais aceite está assente em quatro principais pilares:

- Dentição Funcional;
- Dentição sem dores quando em função;
- Estabilidade da inserção dentária no periodonto;
- Bem-estar psicológico e social do indivíduo.

Esta definição, assente nos quatro pilares referidos, torna-se assim mais ampla e dinâmica (Mariotti & Hefti, 2015).

Entrando agora no cerne do tópico, as doenças periodontais são infeções complexas, multifatoriais e polimicrobianas caracterizadas pela destruição dos tecidos de suporte dos dentes. Representam um grupo de infeções inflamatórias orais iniciadas por agentes patogénicos que existem como biofilmes complexos na superfície do dente. O periodonto pode variar de saudável para uma leve e reversível inflamação da gengiva, quando a inflamação é localizada nos tecidos gengivais (gengivite), podendo ainda chegar a estadios mais graves, quando a inflamação alcança níveis mais profundos provocando

destruição crónica dos tecidos conjuntivos, formação de bolsa periodontal e, finalmente, perda de dentes (periodontite) (Kamer et al., 2008; How et al., 2016).

A placa subgengival humana abriga mais de 500 espécies bacterianas (How et al., 2016), pertencentes às bactérias comensais da cavidade oral que representam uma função protetora da mesma, ajudando na prevenção de doenças. Contudo, na placa bactéria pode ser encontrado o “complexo vermelho” composto por três espécies bacterianas: a *P. gingivalis*, a *Tannerella forsythia* e a *Treponema denticola*, responsáveis por afetar os mecanismos de defesa do hospedeiro. Apesar de indispensáveis, não são suficientes para se instalar a doença periodontal, uma vez que é uma doença complexa dependente de vários fatores (Darveau, 2010). No entanto estudos consideráveis demonstram que a *P. gingivalis* é o principal agente etiológico que contribui para a periodontite (How et al., 2016).

No entanto, como dito anteriormente, as causas da doença periodontal podem ser múltiplas, não dependendo, por isso, unicamente desta bactéria (Fiorillo et al., 2019) (figura 1).

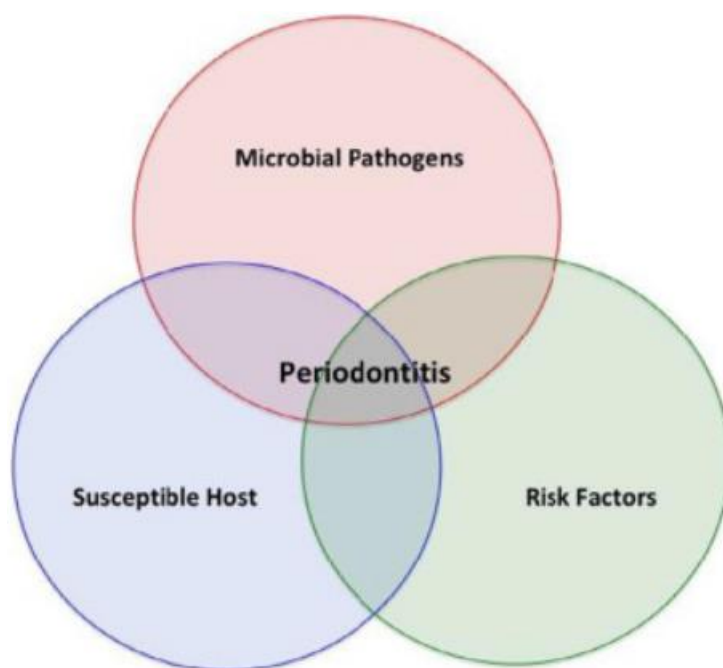


Figura 1 - A natureza multifatorial da doença periodontal
[Adaptado de (Kwon et al., 2021)]

2.2.2 Epidemiologia

A idade, o nível de educação, o consumo de tabaco e a diabetes mellitus foram identificados como potenciais fatores de risco na periodontite (Botelho et al., 2019).

Segundo a Organização Mundial da Saúde, a doença periodontal afeta 10 a 15% da população adulta em todo o mundo (How et al., 2016).

A doença periodontal é, sem dúvida, um dos maiores problemas de saúde pública mundial. No geral, a periodontite em estágios mais avançados afeta 5% a 20% da população mundial, enquanto a periodontite em estágios menos severos afeta a maioria da população adulta (Peres et al., 2019).

O aumento da placa bacteriana e a inflamação do tecido gengival estão fortemente ligados independentemente da idade, género ou raça. Mais de 82% dos adolescentes americanos apresentam gengivite e sinais de sangramento gengival. Nas restantes partes do mundo as prevalências são semelhantes ou superiores (Albandar & Rams, 2002).

Em Portugal, mais concretamente na região metropolitana de Lisboa, a prevalência de periodontite é 59,9%, sendo 22,2% estágios moderados da doença e 24% estágios severos. Os estudos revelaram ainda que havia uma maior incidência da doença em adultos na região mais a sul da área metropolitana de Lisboa (Botelho et al., 2019).

2.2.3 Diagnóstico

Um bom e cuidadoso diagnóstico, associado à redução dos fatores de risco e eliminação das causas, é fundamental para uma prevenção e tratamento bem-sucedidos.

Antes de avançarmos para o diagnóstico periodontal devemos ter acesso ao historial médico do paciente, nomeadamente em termos de doenças passadas e de fatores de risco, como o tabaco. No fim de avaliada a saúde de um modo global, iniciamos o diagnóstico periodontal que engloba vários parâmetros, tais como: existência ou não de recessões gengivais, profundidade de sondagem e se existe ou não sangramento na mesma, se existem ou não mobilidades dentárias e/ou lesões de furca, a presença de placa dentária e tártaro e a presença ou não de defeitos mucogengivais. Além deste diagnóstico clínico e visual, é ainda necessário, para um diagnóstico completo, um diagnóstico radiográfico, que nos permite avaliar o osso alveolar e a existência de perdas ósseas.

Consoante os resultados obtidos nos critérios mencionados acima, podemos diagnosticar e classificar a o estado periodontal do nosso paciente (Kwon et al., 2021) (Figura 2).

Estágio periodontal		Estágio I	Estágio II	Estágio III	Estágio IV
Gravidade	CAL interdental no local de maior perda	1 a 2 mm	3 a 4mm	≥5mm	≥5mm
	Perda óssea radiográfica	Terço coronal (<15%)	Terço coronal (15% a 33%)	Estendendo-se até o terço médio ou apical da raiz	Estendendo-se até o terço médio ou apical da raiz
	Perda dentária	Sem perda dentária devido à periodontite		Perda dentária devido à periodontite de ≥5 dentes	Perda dentária devido à periodontite de ≥5 dentes
Complexidade	Local	Profundidade máxima de sondagem ≤4 mm. Principalmente perda óssea horizontal	Profundidade máxima de sondagem ≤5 mm. Principalmente perda óssea horizontal	Além da complexidade do estágio II: • Profundidade de sondagem ≥6 mm • Perda óssea vertical ≥3 mm • Envolvimento de furca Classe II ou III • Defeito moderado da crista	Além da complexidade do estágio III: • Necessidade de reabilitação completa devido a: • Disfunção mastigatória • Trauma oclusal secundário (grau de mobilidade dentária ≥2) • Defeito grave da crista • Colapso da mordida, desvio, alargamento • Menos de 20 dentes restantes (10 pares opostos)
	Extensão e distribuição	Adicionar ao cenário como descritor	Para cada estágio, descreva a extensão como localizada (<30% dos dentes envolvidos), generalizada ou padrão molar/incisivo		

Figura 2 - Classificação da Doença Periodontal [Adaptado de (Kwon et al., 2021)]

2.2.4 Etiopatogenia e fisiopatologia

Começando por distinguir e definir patogenia e etiologia. O termo patogenia (ou patogênese) consiste no modo como os agentes patogênicos atacam o nosso organismo e como o nosso sistema imunitário reage, podendo ainda surgir lesões e disfunções nas células e tecidos atacados, conduzindo à doença. Por sua vez, a etiologia é o estudo das causas de uma doença, estando por isso, relacionada com a patogenia, mas não deve ser confundida com a mesma: a patogenia centra-se no processo ou no mecanismo agressor, enquanto a etiologia tem como foco os agentes causais de doença (Funkhouser, 2009).

A patogenia das doenças periodontais é controlada por diferentes fatores do próprio hospedeiro, tais como a resposta imunitária, os fatores anatómicos e os fatores estruturais dos tecidos. A maioria destes fatores é determinada pelo perfil genético do

hospedeiro, podendo ser modificada por fatores ambientais e comportamentais do mesmo (Albandar et al., 2018).

A fisiopatologia consiste na reação do organismo na presença de uma doença, inclusive nas funções fisiológicas ou a alteração das mesmas. Assim, a fisiopatologia da doença periodontal está refletida na forma como o organismo do hospedeiro reage, através de respostas imunitárias e de defesa (Darveau, 2010). As respostas do hospedeiro são condicionadas não só pela base genética, como também pelos hábitos (como fumar ou sofrer de stress) do mesmo (Cerajewska et al., 2015).

O organismo deteta as inflamações sistêmicas na medula óssea através das células estaminais nela presentes. Esta deteção é realizada por meio de recetores *Toll-like* destinados a reconhecer citocinas inflamatórias, para dar início à produção de glóbulos brancos (processo chamado mielopoiese quando se trata de glóbulos brancos granulócitos), especificamente neutrófilos e monócitos, que combatem as infeções/inflamações do organismo. As respostas imunitárias à inflamação na periodontite refletem-se em perda óssea, isto porque a ativação monocítica vai dar origem, indiretamente, aos osteoclastos (células gigantes responsáveis pela reabsorção óssea). Indiretamente porque para se formarem osteoclastos, os seus precursores formados na medula óssea necessitam de sofrer uma diferenciação. A resposta imunitária feita através das células estaminais da medula óssea é da responsabilidade da imunidade treinada – forma de imunidade que combina a imunidade inata com a memória imune de anteriores ataques patogénicos- que é induzida por uma citocina em específico, a Il-1 β . Esta citocina atua diretamente nas células estaminais da medula óssea promovendo alterações no seu metabolismo, levando modificações na diferenciação mielóide e dando início à resposta imune treinada. Esta imunidade é responsável pela produção de monócitos e/ou macrófagos que serão levados até às zonas afetadas por inflamação e/ou lesão, exacerbando os resultados da mesma. No caso da periodontite essa exacerbação resulta numa reabsorção óssea, que incentiva a patologia (Figura 3) (Hajishengallis & Chavakis, 2021).

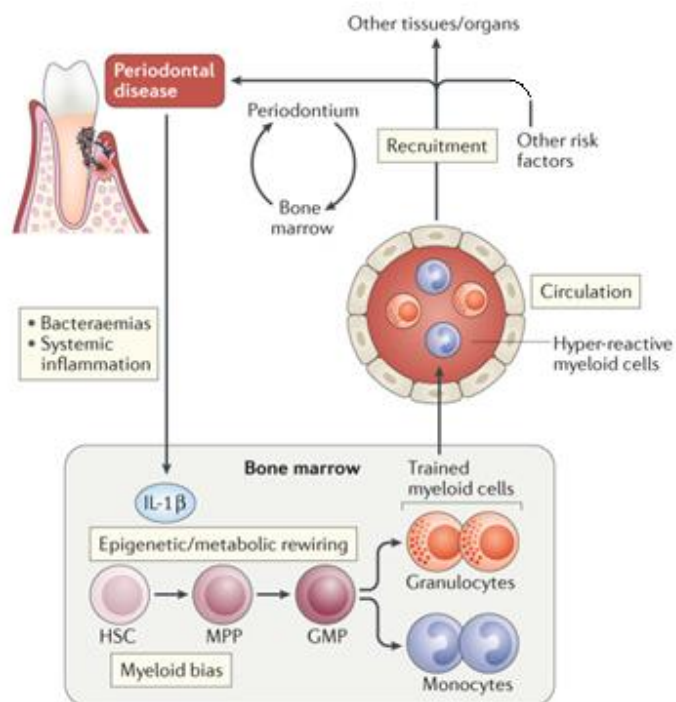


Figura 3 - Processo da mielopoiese na médula óssea e o seu papel noutra condições inflamatórias sistémicas [Adaptado de (Hajishengallis & Chavakis, 2021)]

Posto isto, podemos sugerir que a perda óssea associada à periodontite é mediada pela resposta do organismo, uma vez que o mecanismo defensor do periodonto ocorre através da ativação dos mediadores do sistema imunitário inato, que reduzem a carga microbiana induzindo a morte celular. O fluido crevicular gengival, presente no sulco gengival, engloba, além de outros componentes, citocinas, que podem ser responsáveis por induzir inflamação. Os níveis das citocinas, tal como da inflamação, encontram-se aumentados em zonas “doentes” do periodonto, o que confirma que a alteração da homeostase contribui para o estado de doença (Darveau, 2010).

Apesar da resposta inflamatória do sistema imunitário ter como objetivo controlar e erradicar a infeção, neste caso pela doença periodontal, nos indivíduos suscetíveis esta é ineficaz e descontrolada tendo como resultados danos maiores do organismo, mais especificamente da cavidade oral, uma vez que é esta resposta inflamatória, que além de criar um ambiente favorável em termos de nutrientes para o crescimento de organismos associados à periodontite, também leva à destruição do periodonto, podendo comprometer a mastigação, a estética e a qualidade de vida devido à perda dentária (Hajishengallis & Chavakis, 2021).

2.2.5 A influência sistémica da doença periodontal

As doenças periodontais e outras patologias sistémicas partilham fatores genéticos e ambientais, compreender estas associações será importante para o diagnóstico. Um paciente que possua estas associações poderá sofrer das manifestações de ambas as doenças (Albandar et al., 2018).

Esta influência sistémica associada à doença periodontal, especialmente à periodontite, é possivelmente resultado da disseminação de bactérias periodontais e/ou mediadores inflamatórios para a corrente sanguínea após a extravasação dos mesmos dos tecidos periodontais, principalmente das bolsas que funcionam como uma porta para a circulação. Há, inclusive, estudos que identificaram DNA de bactérias periodontais noutros tecidos além dos gengivais. No entanto, enquanto nos tecidos gengivais, mais especificamente nas bolsas, as bactérias periodontais conseguem desenvolver-se e multiplicar-se, a nível sistémico encontram-se mais suscetíveis à morte celular por fagocitose. Apesar, do seu tempo de vida sistémico poder ser reduzido, as reações que provoca no meio perduram através da libertação de moléculas inflamatórias, que serão abordadas à frente, induzindo precisamente a inflamação (Hajishengallis & Chavakis, 2021).

A periodontite, sendo uma doença com afeção inflamatória, está associada a diversas outras doenças sistémicas e crónicas, tais como: a artrite reumatoide, a aterosclerose, a doença cardiovascular, a doença hepática, a diabetes mellitus tipo 2, doença inflamatória intestinal e a doença de Alzheimer. Enquanto uma patologia causadora de inflamação sistémica, a periodontite representa um importante papel na imunidade treinada da medula óssea (Hajishengallis & Chavakis, 2021).

Apesar da inflamação crónica associada à periodontite ser de baixo grau pode causar ou promover as doenças inflamatórias sistémicas crónicas citadas acima. O que indica que a periodontite é uma produtora significativa de moléculas inflamatórias sistémicas (Pischon et al., 2007; Wu & Nakanishi, 2014). Nesta produção estão incluídos os mediadores pró-inflamatórios, tais como a proteína C reativa, as interleucinas 1 e 6 e o fibrinogénio, que se encontram elevados em pacientes portadores de periodontite, assim como os neutrófilos que se apresentam em maiores quantidades no sangue (Hajishengallis & Chavakis, 2021).

2.2.6 Tratamento

Em primeiro lugar, temos de ter consciência que todo e qualquer tratamento, só terá sucesso se tivermos a cooperação do paciente. Mesmo que apliquemos o melhor tratamento, este falhará se o paciente não estiver comprometido em melhorar a sua higiene oral. Os pacientes devem ser reeducados sobre a importância da higiene oral e como deve ser realizada eficazmente (Kwon et al., 2021).

O tratamento mais eficaz da doença periodontal é, ainda, a remoção física ou cirúrgica da placa bacteriana (Darveau, 2010). Esta remoção consiste, entre outras técnicas, em alisamentos radiculares nas localizações que apresentam profundidades de sondagem superiores a 5mm (Kwon et al., 2021). Se este for bem-sucedido, os marcadores inflamatórios sistêmicos são atenuados (Hajishengallis & Chavakis, 2021).

2.3 Doença de Alzheimer

2.3.1 Definição

A doença de Alzheimer é o tipo de demência mais comum afetando quase 44 milhões de pessoas em todo o mundo, aumentando a sua prevalência com a idade (Silvestre et al., 2017; Hashemiaghdam & Mroczek, 2020). Além de ser uma doença neurodegenerativa progressiva, tem também uma componente neuroinflamatória. Caracteriza-se por, extraneuronalmente, apresentar depósitos de placas de β -amilóide, e, intraneuronalmente, pela acumulação de emaranhados da proteína Tau fragmentada e hiperfosforilada (Figura 4) (Hajishengallis & Chavakis, 2021).

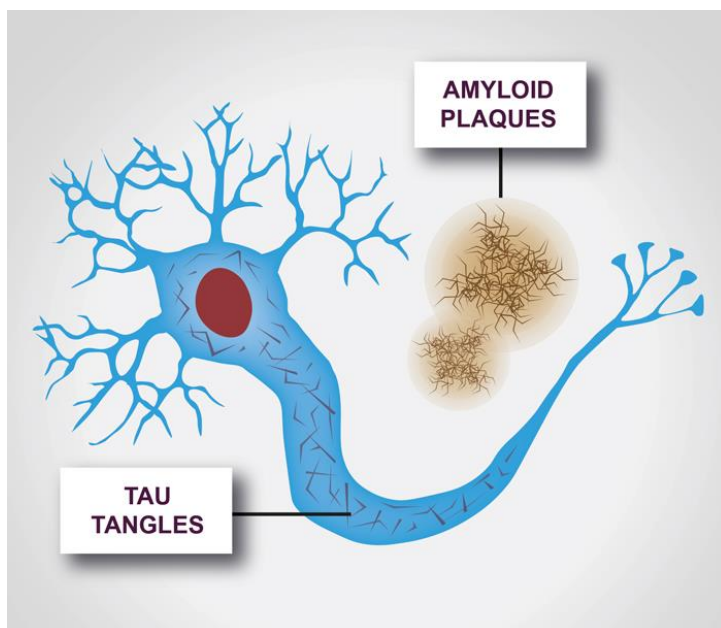


Figura 4 - Representação dos emaranhados da proteína Tau e das placas de amiloide [Adaptado de (Phipps, 2015)]

A demência caracteriza-se pelo comprometimento de várias áreas cognitivas que pode atingir estágios severos o suficiente ao ponto de interferir com as atividades básicas diárias. No caso da doença de Alzheimer, o hipocampo, localizado nos lobos temporais e responsável pela memória, é uma das primeiras áreas a ser afetada (Dominy et al., 2019; Wu & Nakanishi, 2014).

Com a esperança média de vida em constante aumento, a demência apresenta-se agora como a maior preocupação na área da saúde nas populações envelhecidas e com probabilidade da sua prevalência continuar a aumentar. A doença de Alzheimer é a causa mais comum da demência degenerativa (Wu & Nakanishi, 2014).

Sendo a doença neurodegenerativa mais comum estima-se que englobe 60-70% de todos os casos de demência (Leng & Edison, 2021).

2.3.2 Diagnóstico

Sabemos que a doença de Alzheimer começa a desenvolver-se muitos anos antes do seu diagnóstico clínico, mas ainda não há pesquisa suficiente para um diagnóstico antecipado (Silvestre et al., 2017).

A pesquisa diagnóstica necessita ainda de métodos sensíveis que tenham a capacidade de detetar alterações imunológicas antes do início da doença de Alzheimer, para que, deste modo, consigam identificar os pacientes em risco para os mesmos poderem beneficiar de intervenções anti-inflamatórias específicas e personalizadas (Heppner et al., 2015).

Contudo em 2019, um estudo assinalou a *P. gingivalis* como um possível marcador de diagnóstico diferencial. A *P. gingivalis* foi identificada em cérebros e no líquido cefalorraquidiano de indivíduos que tinham um diagnóstico provável de doença de Alzheimer (Dominy et al., 2019).

2.3.3 Etiopatogenia e fisiopatologia

A etiopatogenia da doença de Alzheimer ainda não é compreendida. Contudo, reconhece-se que a neuroinflamação desempenha um papel fundamental na sua patogénese através da ativação da microglia e da secreção de citocinas pró-inflamatórias desencadeando deterioração neurodegenerativa irreversível (Silvestre et al., 2017).

Apesar dos mecanismos moleculares envolvidos na etiologia e patogénese da Doença de Alzheimer não estarem totalmente definidos, a acumulação de β -amilóide ($A\beta$), induzida pela neuroinflamação, e a hiperfosforilação da tau no cérebro são

marcadores patológicos da mesma (Wu & Nakanishi, 2014). A formação e acumulação das placas de β -amilóide ocorre devido à resposta inata do sistema imunitário que ativa inflamossomas na microglia. Após a sua ativação, vão atuar contra os agentes patogénicos, ativando a interleucina 1β , e culminando na morte celular (Dominy et al., 2019).

As ações controladas pelo sistema imunitário contribuem e impulsionam a patogénese da doença de Alzheimer (Heppner et al., 2015).

Já sabemos que, na doença de Alzheimer, temos patente a existência de neuroinflamação, como tal são ativados os inflamossomas – complexos de proteínas que atuam como sistemas de defesa imunitária inata intracelular. Demonstrou-se que a *P. gingivalis* pode ser responsável pela modulação da ação dos inflamossomas (Dominy et al., 2019).

Considerando a genética como um fator de peso na doença de Alzheimer, destacamos o gene da apolipoproteína E, que sendo responsável pelo metabolismo e deposição de β -amilóide, representa um forte contributo para a doença de Alzheimer (Hajishengallis & Chavakis, 2021).

2.3.4 Tratamento

Ao manipular algumas moléculas do sistema imunitário inato foram obtidos resultados de alterações na patologia da doença, o que indica potencial para melhorar a doença através de componentes do sistema imunitário. Assim, o sistema imunitário pode contribuir não só para o diagnóstico, como também para o controlo e tratamento da doença de Alzheimer (Heppner et al., 2015).

2.4 A associação da *P. gingivalis* e Doença de Alzheimer

2.4.1 Associação entre a Doença Periodontal e a Doença de Alzheimer

Tendo em consideração o contributo da periodontite na inflamação sistémica e o potencial papel desta inflamação na neuroinflamação, é razoável considerar a periodontite como um fator de risco para a incidência e progressão da doença de Alzheimer (Figura 5) (Pischon et al., 2007; Wu & Nakanishi, 2014).

Z Wu and H Nakanishi

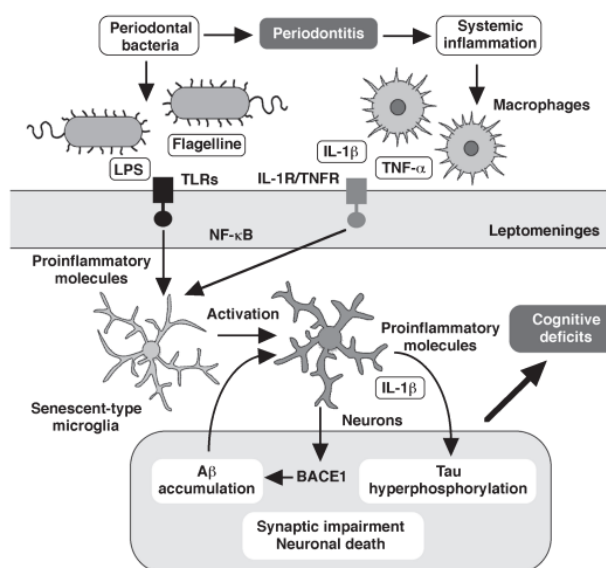


Figura 5 - Mecanismos de ligação entre as doenças periodontal e de Alzheimer [Adaptado de (Wu & Nakanishi, 2014)]

Perante esta clara ligação entre ambas as doenças, só nos resta explicar os mecanismos pelos quais a mesma se processa. O mecanismo mais passível de explicar esta ligação consiste na capacidade dos agentes patogénicos periodontais conseguirem aceder ao cérebro. Esta hipótese é suportada por estudos que envolvem a *P. gingivalis* em particular. Esses estudos identificaram a *P. gingivalis* em cérebros portadores da doença de Alzheimer durante a autópsia dos mesmos, e no líquido cefalorraquidiano de pacientes vivos com probabilidade de ter o mesmo diagnóstico (Wu & Nakanishi, 2014).

A periodontite é uma infeção periférica prevalente e persistente, associada a bactérias anaeróbias gram-negativas (Shaik et al., 2014), carregando consigo um aumento de marcadores inflamatórios séricos, entre eles, a proteína C-reativa (Kamer et al., 2008). Além disto tem ainda a capacidade de apresentar infeções localizadas e sistémicas no hospedeiro, logo podemos então afirmar que os agentes patogénicos relacionados com a doença periodontal conjuntamente com os seus produtos inflamatórios favorecem a inflamação sistémica (Shaik et al., 2014).

Estudos sugerem que a infeção/inflamação periférica pode acometer o estado inflamatório do sistema nervoso central (Kamer et al., 2008), logo sendo a periodontite uma infeção periférica crónica implica haver uma grande componente inflamatória sistémica, o que pode sugerir uma possível ligação com a doença de Alzheimer, uma vez que esta pode ser intensificada pela inflamação sistémica (Wu & Nakanishi, 2014).

Contudo, a periodontite crónica é uma infecção com tratamentos disponíveis, e como tal, apesar de ser um fator de risco para doença de Alzheimer, é um fator facilmente modificável (Kamer et al., 2008).

2.4.2 A *P. gingivalis* como fator de desenvolvimento da Doença de Alzheimer e a sua contribuição na neurodegeneração

Na III Pesquisa Nacional de Exames de Saúde e Nutrição (NHANES-III) com pacientes com mais de 60 anos, através de um corte transversal foi estabelecida uma associação entre um marcador sorológico de agente patogénico comum da periodontite, a *P. gingivalis*, e um baixo desempenho em testes cognitivos (Noble et al., 2009; Wu & Nakanishi, 2014).

Foram feitos estudos de comparação entre participantes que eventualmente foram diagnosticados com a doença de Alzheimer e participantes de controlo sem a doença. Nestes foram examinados os níveis de anticorpos para bactérias periodontais presentes no soro (Sparks et al., 2012), tendo sido descoberto que já existiam níveis elevados de anticorpos contra bactérias periodontais nos indivíduos anos antes do comprometimento cognitivo, sugerindo que a periodontite poderia potencialmente contribuir para o risco de início e/ou progressão da doença de Alzheimer (Wu & Nakanishi, 2014).

Recentemente, a presença de componentes bacterianos no tecido cerebral de indivíduos com e sem demência foi avaliada, juntamente com a presença das três principais bactérias periodontais. São chamadas “Complexo Vermelho” e incluem: a *Treponema denticola*, a *Tannerella forsythia* e a *P. gingivalis* (Pole et al., 2013). Houve evidência significativa da presença de lipopolissacarídeos (LPS), componentes da membrana exterior da *P. gingivalis*, em casos de pacientes portadores da doença de Alzheimer, em estudos post-mortem com um atraso máximo de 12 horas, usando técnicas de imunomarcagem e imunotransferência em tecidos cerebrais de indivíduos com e sem demência. No entanto, não foi detectada nenhuma evidência de lipopolissacarídeos da *P. gingivalis* nos tecidos de controlo de indivíduos sem a doença de Alzheimer, mesmo com um atraso post-mortem de até 43 horas. Este estudo veio confirmar que os lipopolissacarídeos das bactérias periodontais podem alcançar o cérebro portador da doença de Alzheimer durante a vida. Além disso, o facto de um fator de virulência relacionado com uma doença crónica oral conseguir atingir o cérebro humano sugere ainda que a inflamação representa um papel na patologia existente da doença de

Alzheimer (Wu & Nakanishi, 2014). Foi ainda identificada a presença de *Treponema denticola* no gânglio trigeminal, no tronco cerebral, no hipocampo e no córtex de pacientes portadores de doença de Alzheimer usando técnicas moleculares e imunológicas (Riviere et al., 2002). O conjunto de todas as evidências clínicas, mencionadas anteriormente, sugerem que periodontite pode potencialmente ser um fator de risco para o início/progressão da doença de Alzheimer. Contudo, a via exata através da qual a periodontite influencia o sinal inflamatório do sistema no cérebro permanece uma incógnita (Wu & Nakanishi, 2014) (Figura 6).

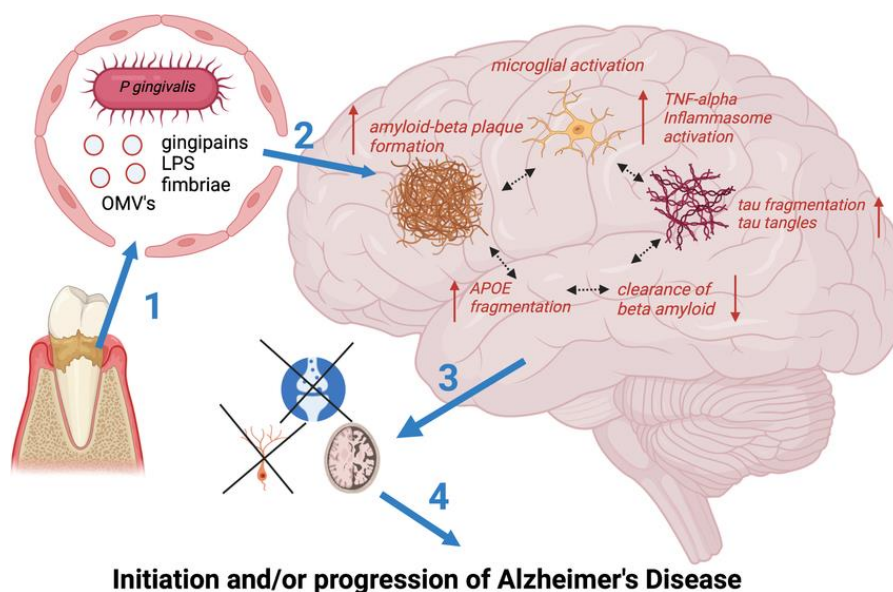


Figura 6 - A periodontite como um factor de risco para o início/progressão da doença de Alzheimer [Adaptado de (Ryder, 2022)]

A *P. gingivalis* para se tornar uma bactéria sistémica precisa de aceder a corrente sanguínea. Este processo pode ocorrer através de vários mecanismos, sendo um deles a fagocitose, no qual nos vamos focar. A *P. gingivalis* apresenta a capacidade de ser fagocitada pelas células especializadas – macrófagos, células dendríticas, etc – e escapar ilesa desse mesmo processo de destruição celular, funcionando como um vírus *Cavallo de Tróia* para o organismo. Deste modo, a *P. gingivalis* consegue disseminar-se na circulação sem estar vulnerável a ataques do sistema imunitário, uma vez que percorre a corrente sanguínea dentro de um fagócito. A bactéria é fagocitada devido aos lipopolissacarídeos presentes na membrana externa. Estes são reconhecidos pelos recetores *toll like*, que vão ativar os macrófagos que as fagocitam. Depois, para evitar ser digerida pelo macrófago como aconteceria no processo normal de fagocitose, a *P. gingivalis* utiliza as suas fimbrias – filamentos presentes nas bactérias - para escapar. Este mecanismo pode fornecer uma explicação satisfatória de como a *P. gingivalis* alcança o

cérebro, porque os fagócitos têm a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (Jongh et al., 2023).

Além da *P. gingivalis*, também *gingipains* foram detetadas no cérebro de pacientes portadores da doença de Alzheimer. Verificou-se ainda que, a inibição da *gingipains* reduziu a carga bacteriana da infecção por *P. gingivalis* (Fiorillo et al., 2019).

Como anteriormente dito, foram encontradas *gingipains* no cérebro portador de doença de Alzheimer, que são proteases neurotóxicas e tem uma associação direta com a *P. gingivalis*, pois se inibirmos as *gingipains* reduzimos também a carga bacteriana da *P. gingivalis*. Isto acontece porque as *gingipains* são essenciais na sobrevivência e patogenicidade da *P. gingivalis*, uma vez que são secretadas e transportadas para a superfície externa da membrana bacteriana, para depois serem libertadas no meio extracelular através de vesículas (Figura 7) e assumirem um papel fulcral na colonização do hospedeiro, modulando as defesas do mesmo (Dominy et al., 2019). Atuam também no gene da apoloproteína E, referido anteriormente, fragmentando-a. Esta fragmentação traduz-se em efeitos neurotóxicos no hospedeiro, o que vem reforçar a hipótese da contribuição da *P. gingivalis* na doença de Alzheimer (Hajishengallis & Chavakis, 2021).

As *gingipains* que tem, ainda, uma ação intraneuronal (Figura 8), podem influenciar a ativação dos inflamossomas neuronais – que podem identificar proteases responsáveis pela virulência bacteriana, ao servirem de substrato para os agentes patogénicos -, resultando na piroptose (morte celular programada devido a infecção com agentes patogénicos) dos neurónios e consequente libertação no meio extracelular da $IL-1\beta$, que é neuro-inflamatória (Dominy et al., 2019).

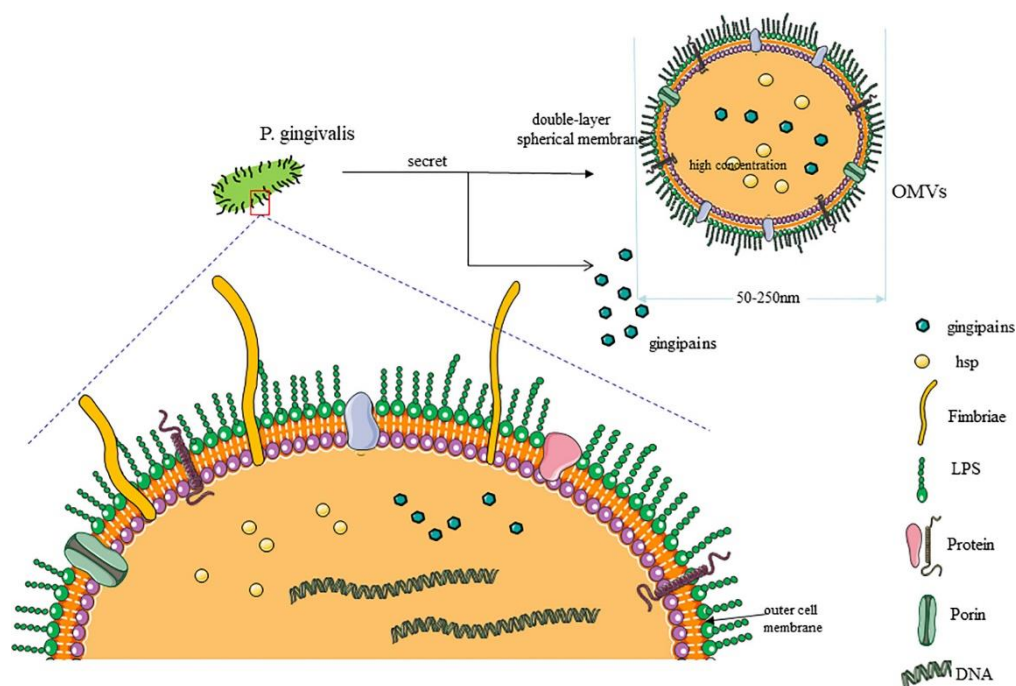


Figura 7 - Representação macroscópica da bactéria *P. gingivalis* [Adaptado de (Zhang et al., 2021)]

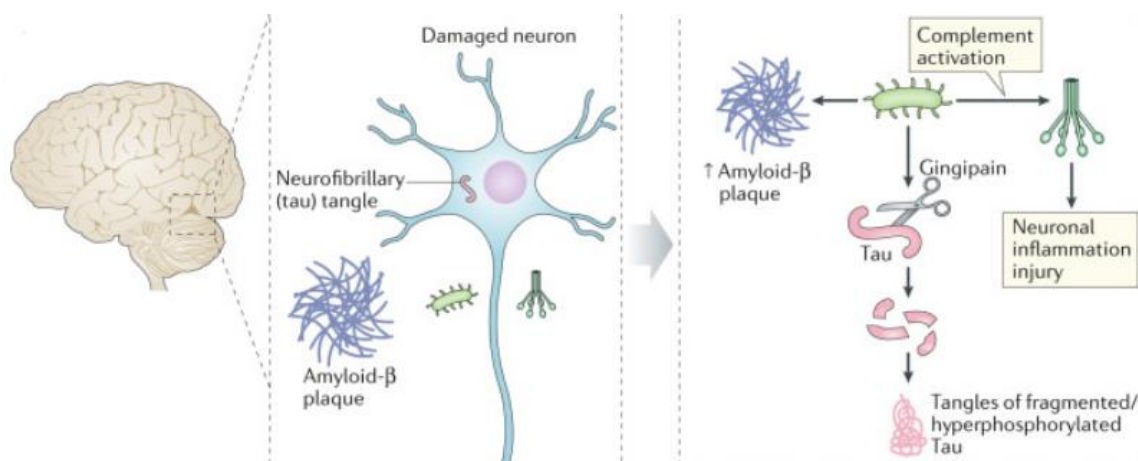


Figura 8 - Ação intraneuronal das gingipains [Adaptado de (Hajishengallis & Chavakis, 2021)]

De modo a bloquear essa neurotoxicidade, foram criados inibidores de pequenas moléculas que tem capacidade de inibir as *gingipains*, levando a uma redução da virulência da *P. gingivalis*, diminuindo a carga bacteriana de uma inflamação cerebral estabelecida provocando, consequentemente, um bloqueio na produção de A β 1-42 (componente das placas amiloides, que se pensa ser especialmente tóxico para o cérebro), reduzindo assim a neuroinflamação (Dominy et al., 2019).

O A β apesar de ser um componente que também potencia a progressão da doença de Alzheimer, pode ainda estar envolvido na destruição da *P. gingivalis*, uma vez que tem efeitos anti-bacterianos contra a mesma: perturba a integridade da membrana celular e pode até causar a morte celular. Possíveis mutações que afetem esta função anti-bacteriana podem permitir uma infecção mais grave pela *P. gingivalis* e, assim, um maior risco de doença. No entanto, se os níveis de A β forem muito elevados também podem ser tóxicos para as células hospedeiras, logo, uma redução dos níveis de A β após o tratamento da infecção pela *P. gingivalis* deve ser benéfica (Dominy et al., 2019).

A inibição de *P. gingivalis* pode reduzir a neurotoxicidade, logo, os inibidores das *gingipains* podem ser uma ferramenta valiosa na prevenção e tratamento da neuroinflamação e neurodegeneração por *P. gingivalis* na doença de Alzheimer, uma vez que são neuroprotetores (Dominy et al., 2019).

Foram realizados estudos usando os lipopolissacarídeos como forma de tratamento, uma vez que estes representam estimuladores patogénicos que estimulam o sistema imunitário inato ativando uma resposta inflamatória local ou sistémica, e verificou-se que houve um aumento da produção da interleucina-1 β , demonstrando o seu papel nas respostas pró-inflamatórias (Yücel et al., 2017). Este tipo de tratamento sistémico com a aplicação de lipopolissacarídeos aumenta, também, a expressão e processamento da Proteína Percursora Amilóide (APP) que é a responsável pela acumulação de A β no córtex parietal lateral, uma vez que a A β é um fragmento de proteína cortado da APP. É ainda provável que, as citocinas pró-inflamatórias estejam associadas ao processo de formação da A β induzida por lipopolissacarídeos, uma vez que estas citocinas também induzem a produção de A β , como é o caso da IL-1 β (Wu & Nakanishi, 2014). Concluindo, o tratamento com LPS iria induzir a neuroinflamação, que por sua vez poderia influenciar o processo das APP's, conduzindo a um aumento do depósito de A β . Estes depósitos encontram-se acompanhados de cromogranina A (CGA) – uma glicoproteína ácida neuro-secretora – que está presente no cérebro portador da Doença de Alzheimer, e foi recentemente provado que também pode ativar a microglia de modo a induzir a produção de IL-1 β (Wu et al., 2013). Os estudos mostram então que o tratamento sistémico com lipopolissacarídeos da *P. gingivalis* estimula a acumulação intracelular de A β e de CGA nos neurónios do hipocampo e provoca a déficits de memória. É, ainda, importante salientar que a IL-1 β secretada das células ativadas da microglia acelera a formação de emaranhados no córtex dos neurónios através da

hiperfosforilação da tau, o que mostra que a microglia ativada também desempenha um papel importante ao nível da tau na doença de Alzheimer (Wu & Nakanishi, 2014).

A Tau é o nome dado às proteínas que ajudam a estabilizar o esqueleto interno das células nervosas, os neurónios. O esqueleto interno corresponde, entre outros componentes, aos microtúbulos, abundantes no SNC e, através dos quais os nutrientes são distribuídos para as outras partes do neurónio (Ávila et al., 2004)(Figura 9).

A proteína Tau é um alvo da *gingipains*, causando a sua proteólise (Figura 9), instalando-se a patologia da Tau que está presente na doença de Alzheimer. Esta patologia pode ser resultado da disseminação transneuronal da *P. gingivalis*, que carrega consigo as *gingipains*, que não só causam a proteólise das proteínas Tau, como também ativam outras proteases humanas que vão atuar sobre a Tau, como por exemplo a pro-caspase, que ao ser clivada pelas *gingipains*, ativa a caspase que vai atuar diretamente na fosforilação da Tau. E assim a patologia da Tau propaga-se pelos neurónios seguindo padrões semelhantes aos processos infecciosos.

As células do nosso corpo procuram sempre a homeostase e o equilíbrio, logo começa a estar presente um aumento da produção da Tau numa tentativa de compensar a proteólise da Tau pelas *gingipains*. Este aumento de produção começa com o intuito de devolver a homeostase aos neurónios afetados pela *P. gingivalis*, no entanto pode culminar em emaranhados de Tau, uma vez que enquanto as *gingipains* estiverem presentes a proteólise permanece também, gerando mais fragmentos de Tau quanto mais produção destes houver (Dominy et al., 2019).

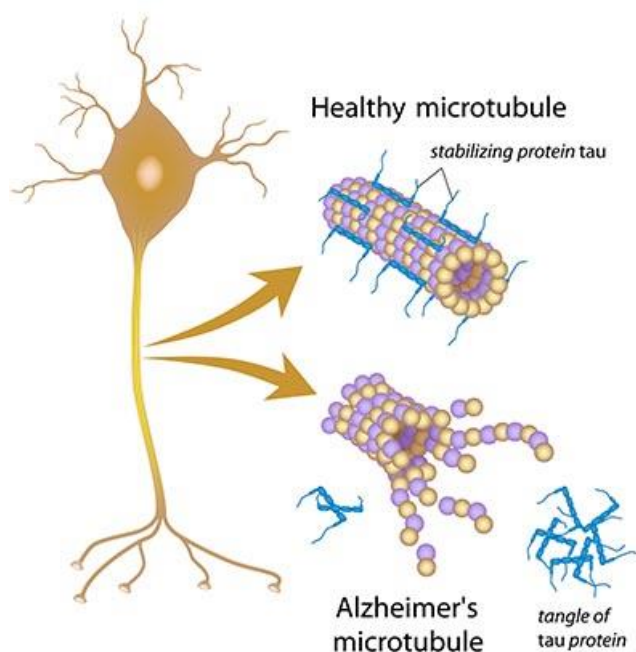


Figura 9 - Representação da proteína Tau saudável e na doença de Alzheimer [Adaptado de (Barbier et al., 2019)]

2.4.3 Neuroinflamação e consequências no sistema nervoso central

Como referido anteriormente, os mecanismos moleculares e celulares responsáveis pela etiologia e patogenia da doença de Alzheimer, não são ainda claros; no entanto, acredita-se que a inflamação no cérebro desempenhe um papel fundamental (Kamer et al., 2008).

Sempre foi claro que existia uma forte componente neuro-inflamatória na doença de Alzheimer, mas só recentemente se comprovou a importância da inflamação no começo e na exacerbação da mesma (Heppner et al., 2015).

A neuroinflamação está fortemente implicada na doença de Alzheimer, desempenhando um papel fulcral na disfunção cognitiva e pode ser potenciada pela inflamação sistêmica (Wu & Nakanishi, 2014).

Antes de aprofundarmos o tema da neuroinflamação é necessário compreender que existem diversos trajetos através dos quais os sinais imunológicos sistêmicos podem alcançar e ser transmitidos ao cérebro (Perry, 2004). Em primeiro lugar, temos a via direta. Esta envolve os órgãos circunventriculares – Neuro-hipófise, Plexo Coriário, Glândula Pineal, Órgão vascular da lâmina terminal, Órgão Subfornicial, Órgão Subcomissural e Área Postrema - zonas especializadas do cérebro nas quais a Barreira Hematoencefálica (BHE) está ausente. Nestes órgãos, os padrões moleculares associados

a agentes patogénicos induzem a produção e a libertação de citocinas pró-inflamatórias através de células semelhantes a macrófagos que funcionam como recetores *Toll-like*, pertencentes à família dos recetores de reconhecimento de padrões. Estas citocinas conseguem penetrar no cérebro através de difusão de volume. Uma segunda via envolve os recetores da IL-1 localizados nos macrófagos perivasculares e nas células endoteliais dos capilares cerebrais. A ativação destes receptores pelas citocinas circulantes despoletam a libertação de citocinas no cérebro. Uma terceira rota consiste numa superabundância de transportadores de citocinas no sistema circulatório, que podem, deste modo, acessar o cérebro através do sistema de transporte de saturação. O quarto, e último, trajeto requer a transmissão de sinais imunológicos sistémicos através do sistema nervoso autónomo, levando a que as citocinas sistémicas estimulem diretamente os nervos aferentes primários, como os nervos vagais, que, por sua vez, irão ativar vias centrais envolvidas no comportamento da doença. Além destes quatro caminhos “clássicos”, foi ainda descoberto que a via leptomeníngea poderia, também, estar envolvida (Wu & Nakanishi, 2014).

2.4.4 Leptomeninges: Possível via de comunicação entre as bactérias periodontais e a microglia residente no cérebro

As leptomeninges, que cobrem a superfície do parênquima cerebral, desempenham o papel de fornecer um limite físico na barreira entre o líquido cefalorraquidiano e o sangue. Esta via é iniciada pelas citocinas que se encontram na circulação, que ativam as células leptomeníngeas, que, por sua vez, iriam induzir a produção e a libertação de citocinas pró-inflamatórias no cérebro (Wu et al., 2005). Concluímos que, as células leptomeníngeas podem transmitir e conduzir sinais das células imunológicas sistémicas até a microglia presente no cérebro (Wu & Nakanishi, 2014).

Além disso temos ainda o fator idade, que influencia fortemente as funções da barreira das leptomeninges através das respostas diferenciais dependentes da idade vindas da microglia durante uma inflamação sistémica crónica (Wu & Nakanishi, 2014).

Já sabemos que as leptomeninges podem transmitir os sinais inflamatórios sistémicos para o cérebro. A adicionar a isso, as suas células ainda são capazes de expressar os receptores de lipopolissacarídeos da *P. gingivalis* - TLR2 e TLR4. Posto isto, foi estudado detalhadamente a possibilidade dos lipopolissacarídeos da *P. gingivalis* poderem ativar as células leptomeníngeas de modo a provocar a libertação de moléculas inflamatórias diretamente no cérebro, o que iria culminar na ativação da microglia

cerebral. Concluiu-se que, as células leptomeníngicas podem transmitir os sinais de inflamação diretamente dos macrófagos periféricos para a microglia como resposta à estimulação dos lipopolissacarídeos da *P. gingivalis*, enquanto secretam mediadores inflamatórios durante a periodontite (Wu & Nakanishi, 2014).

A *P. gingivalis* também tem as suas próprias vias de acesso às leptomeninges e, consequentemente, ao cérebro. Apresenta as mais variadas vias, incluindo (Dominy et al., 2019):

- Infecção direta das células endoteliais protetoras da barreira hematoencefálica, provocando danos nas mesmas;
- Infecção através dos nervos cranianos e consequente disseminação para o cérebro;
- Infecção de monócitos com recrutamento cerebral.

Após usar alguma das anteriores vias, a *P. gingivalis* consegue aceder ao cérebro. A partir destas formas de acesso, suspeita-se que se espalhe lentamente de neurónio em neurónio (Dominy et al., 2019).

Retomando o tópico da neuroinflamação e da indissociável interleucina-1 β : a IL-1 β , muito falada anteriormente, é considerada a molécula chave envolvida da neuroinflamação presente na doença de Alzheimer. Isto porque esta molécula é a responsável pela libertação de vários mediadores inflamatórios através da ativação da microglia, conduzindo a uma neuroinflamação auto-propagada. Deste modo, a microglia ativada promove a progressão da doença de Alzheimer através da secreção de molécula pró-inflamatórias (Wu & Nakanishi, 2014)(Figura 10).

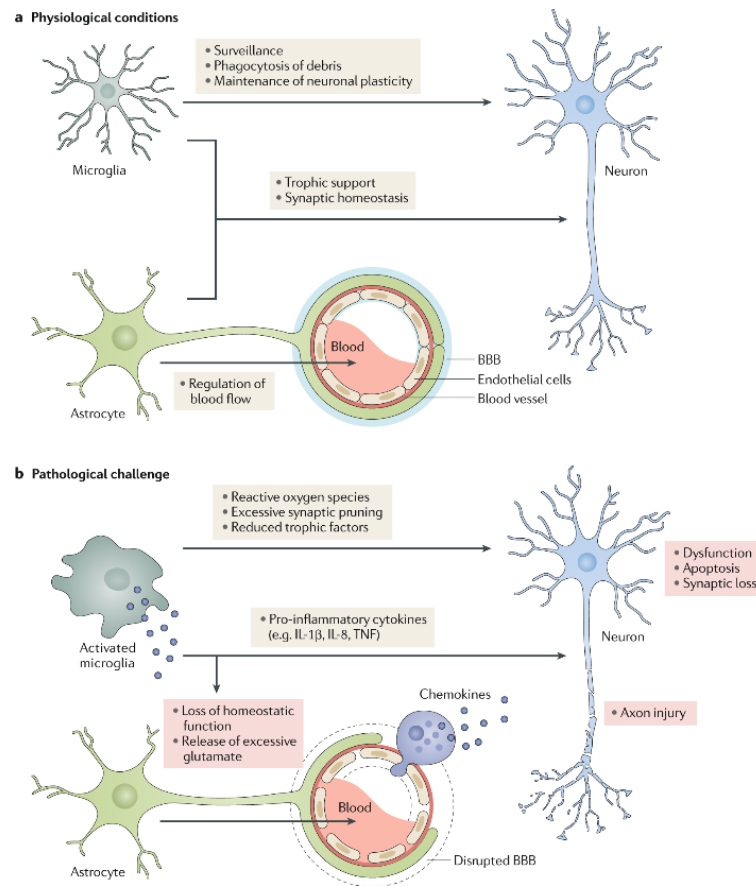


Figura 10 - Diferenças entre a microglia saudável e a microglia senescente [Adaptado de (Leng & Edison, 2021)]

A expressão de IL-1 β foi detetada na barreira de microglia que envolve o cérebro portador da doença de Alzheimer, o que sugere que a IL-1 β libertada pela microglia pode contribuir para a disfunção, promovendo a formação de neurites distróficas e via neurotoxicidade direta (Shaftel, et al., 2008; Wu & Nakanishi, 2014).

A microglia é a principal impulsionadora da neuro-inflamação (Heppner et al., 2015), podendo assumir um papel neuro-protetor ou neuro-tóxico na neurodegeneração (Hashemiaghdam & Mroczek, 2020) (Figura 11).

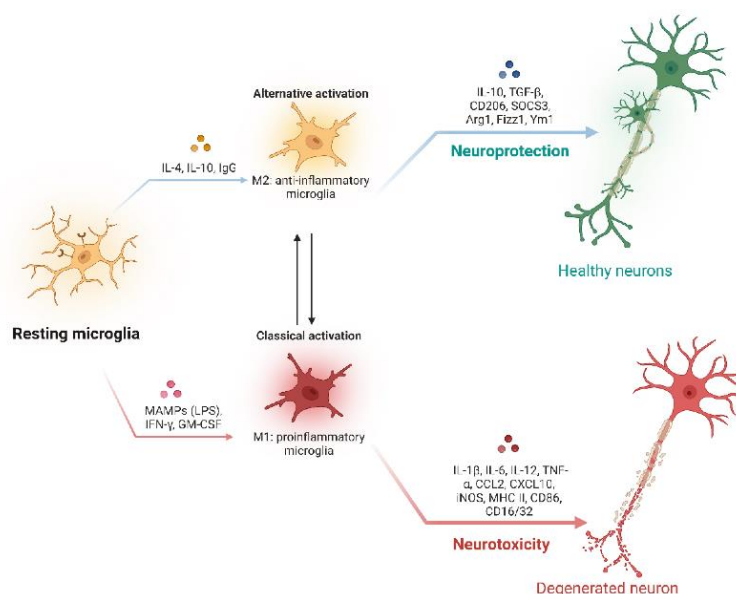


Figura 11 - Efeitos neuroprotetores e neurotóxicos da microglia [Adaptado de (Kim et al., 2023)]

Temos ainda de ter em conta o fator idade, pois a microglia pode tornar-se mais propensa durante o envelhecimento, até mesmo na meia idade. Esta microglia, preparada para um estado de ativação, apresenta respostas exacerbadas a estímulos secundários, o que pode conduzir a uma resposta inflamatória exagerada no cérebro. Começam a apresentar disfunções autofágicas e lisossômicas ligadas à idade, permitindo a dominância de espécies reativas a oxigênio que produzem mitocôndrias mais velhas na microglia. O aumento destas espécies irá provocar uma resposta inflamatória exagerada (Nakanishi & Wu, 2009). O aumento do stress oxidativo e a consequente ativação durante o envelhecimento pode levar ao aparecimento da microglia senescente. O que esclarece como o péptido A β tem a capacidade de induzir a secreção de IL-1 β pela microglia ativada no cérebro envelhecido, mas não consegue no cérebro jovem. Concluindo, estes fatores demonstram que a senescência/envelhecimento é um importante fator causal da doença de Alzheimer (Wu & Nakanishi, 2014).

A inflamação pode, efetivamente, desempenhar um papel significativo na patogénia da doença de Alzheimer devido aos agentes bacterianos específicos que, uma vez que são ativados, podem aumentar a expressão de moléculas pró-inflamatórias que, por sua vez, irão ativar sistemas imunológicos inatos e adaptativos. Em adição ao que foi dito anteriormente, existe ainda uma associação significativa entre a doença de Alzheimer e vários tipos de espiroquetas (Shaik et al., 2014).

A espiroqueta *Treponema pallidum* já tinha provas dadas quanto à sua envolvimento na demência com atrofia associada a paresia completa (Miklossy, 2008;

Ribeira et al., 2004). As características patológicas da forma atrófica são semelhantes às da doença de Alzheimer (Miklossy, 2008).

Não só as espiroquetas, mas as bactérias de um modo geral contêm proteínas amiloides. As próprias bactérias ou os seus produtos dificilmente degradáveis são amiloides. Além disso, são poderosos indutores de citocinas inflamatórias, ativam o complemento – o sistema complemento consiste num conjunto de proteínas ligadas à membrana, sendo uma parte importante do sistema imunitário e desempenhando, também, um papel na inflamação (Lubbers et al., 2017) –, afetam a permeabilidade vascular, produzem óxido nítrico e radicais livres e induzem a apoptose. Todos estes processos estão envolvidos na patogénese da doença de Alzheimer. É, por isso, importante considerar a possibilidade de que as bactérias, incluindo os vários tipos de espiroquetas (altamente prevalentes na população em geral), ou seus produtos persistentes, possam começar uma cascata que culmina na inflamação crónica e na deposição de amiloide na doença de Alzheimer, uma vez que, se assim fosse, estaria disponível terapia antibacteriana e anti-inflamatória adequada para prevenir a demência (Miklossy, 2008).

Existir um estado de infeção crónica pode favorecer uma demência progressiva e lenta, juntamente com uma atrofia cortical e a deposição de amiloide (Shaik et al., 2014). Estes depósitos têm origem em proteínas dobradas de forma anómala. As proteínas consistem em longas cadeias de moléculas dobradas sobre si num formato específico, o que é essencial para permitir o correto funcionamento de cada proteína. Estas proteínas que se dobram de forma incorreta agrupam-se e acumulam-se nos tecidos e órgãos. Este fenómeno pode, por vezes, conduzir à disfunção ou insuficiência desses mesmos tecidos ou órgãos. Estes aglomerados tem o nome de depósitos de amiloide ou fibrilas de amiloide. Não há uma proteína específica causadora deste fenómeno, são diversas as proteínas que tem a possibilidade de serem dobradas de forma anormal e produzir depósitos de amiloide. A única coisa que estas proteínas têm em comum, além de serem dobradas anormalmente, é o facto de serem produzidas pelo nosso corpo, e não provenientes da alimentação. Há dois tipos de proteínas amiloides: aquelas que são apenas variantes com mutações de proteínas normais, e outras que são proteínas normais que simplesmente apresentam uma tendência para se dobrar incorretamente. Estes tipos de proteínas modificadas podem estar presentes em inúmeras doenças sendo produzidas pelas mesmas (Berk, 2021).

III Conclusão

Ao longo desta dissertação tentámos satisfazer os 3 critérios necessários para o dilema de causalidade, apresentados na introdução. Concluímos que, apesar de não ser condição obrigatória, as patologias podem, efetivamente, ocorrer em simultâneo, havendo múltiplos estudos que relatam esta simultaneidade; as bactérias periodontais têm a capacidade de alcançar o tecido cerebral por diversas vias; e ainda analisamos estudos que mostram que o tratamento da periodontite pode trazer melhorias na doença de Alzheimer, mas ainda não o podemos afirmar categoricamente.

Nos estudos de Wu & Nakanishi (2014) foi sugerido que a doença periodontal tinha potencial de desempenhar um papel no início ou até na progressão da doença de Alzheimer, uma vez que anos antes de se diagnosticar a doença de Alzheimer, os pacientes já apresentavam anticorpos para as bactérias periodontais. Isto vem corroborar a primeira hipótese apresentadas na introdução de que a periodontite precipita ou agrava a doença de Alzheimer

Podemos também considerar a periodontite como um fator de risco modificável para a doença de Alzheimer. Seguindo esta linha de raciocínio, o tratamento precoce da periodontite pode representar uma vantagem na prevenção, na gravidade e na progressão da doença de Alzheimer. Essencialmente porque a periodontite é uma grande propulsora da inflamação a nível local e sistémico, e é indiscutível que a inflamação sistémica crónica tem uma forte conexão causal com a neuroinflamação através da libertação sistemática de mediadores pró-inflamatórios, como a IL-1 β , e também porque a microglia cerebral é composta pelas principais células cerebrais responsáveis por responder à inflamação sistémica.

Em testes laboratoriais demonstrou-se que, ao induzir uma inflamação sistémica crónica através de lipopolissacarídeos – componente das bactérias, como a *P. gingivalis* - temos como resultado uma produção prolongada de IL-1 β , observando-se também uma ativação da microglia do cérebro, que, através do sistema imunitário vai manter a inflamação.

A *P. gingivalis*, um agente patogénico fundamental da periodontite, já foi encontrada no cérebro de pacientes portadores da doença de Alzheimer e a justificação para tal pode estar relacionada com as leptomeninges e as suas funções.

As leptomeninges são as duas camadas mais internas que cobrem o cérebro e a medula espinhal – a aracnoide e a pia-máter. Nesta dissertação concluímos que elas serão

provavelmente o principal elo de ligação entre a *P. gingivalis* e a doença de Alzheimer, apesar de ser, ainda, uma hipótese que necessita de mais estudos que a comprovem.

Quando temos um estado de periodontite crónica, temos também presentes macrófagos pró-inflamatórios e componentes bacterianos periodontais, incluindo os lipopolissacarídeos da *P. gingivalis*, que ativam os recetores localizados na superfície das leptomeninges, e estes, por sua vez, ativam a microglia cerebral. Assim inicia a neuroinflamação.

A intensa neuroinflamação estimulada pela microglia senescente pode ser um fator causal para o início e progressão da doença de Alzheimer. Falamos em microglia senescente porque não devemos nunca descartar o fator idade. Os mesmos processos inflamatórios e/ou patológicos podem invadir o cérebro e não dar origem à doença de Alzheimer. A idade aumenta a propensão para a doença de Alzheimer.

Durante o normal envelhecimento do ser humano, a microglia sofre diversas alterações morfológicas e funcionais, que se poderão refletir numa neuroinflamação exagerada como resposta a inflamações sistémicas. Logo, outra forma de prevenir a doença passa por técnicas de rejuvenescer a microglia senescente. Portanto, as abordagens farmacológicas com esta finalidade constituem um caminho promissor para a redução do risco de doença de Alzheimer.

Temos de manter em consciência que a doença de Alzheimer depende de vários fatores, como a genética, a suscetibilidade do indivíduo e a idade, logo não podemos admitir a *P. gingivalis*, por si só, como fator causal da mesma. A bactéria representa um contributo tão grande para a doença de Alzheimer como a presença de inflamação sistémica impulsionada pela *P. gingivalis* e pela doença periodontal. Quando tentamos explicar a causalidade entre a doença de Alzheimer e a bactéria, não podemos descurar nenhum dos fatores, pois funcionam como um conjunto e não como fatores independentes.

Além disso, em pesquisas recentes foi demonstrado que a obesidade e o alto teor de gordura na alimentação também conduziram a um aumento da circulação de mediadores pró-inflamatórios, que iniciaram a neuroinflamação associada à microglia, culminando numa perturbação da função cognitiva. Indicando que a inflamação sistémica existente na condição de obesidade pode levar à neuroinflamação e resultados negativos na cognição.

Apesar de ainda não terem sido estabelecidos fortes fatores de causalidade, foram, de facto, encontrados e identificados agentes patogénicos, como a *P. gingivalis*, no

cérebro portador de doença de Alzheimer. No entanto, podemos excluir a segunda hipótese apresentada na introdução: a doença de Alzheimer pode potencializar a periodontite devido às condições de higiene oral reduzidas nestes pacientes, pois foram identificados antígenos de *gingipains* nos cérebros de indivíduos portadores de doença de Alzheimer, mas que ainda não sofriam de demência ou ainda não tinham o diagnóstico da mesma, o que comprova que a infecção cerebral por *P. gingivalis* não é resultado de uma higiene oral inadequada após o início da demência nem é uma consequência do estágio avançado da doença, mas sim um evento precoce que pode explicar a patologia encontrada em indivíduos de meia-idade antes do declínio cognitivo.

IV Referências Bibliográficas

1. Albandar, J. M., & Rams, T. E. (2002). Global epidemiology of periodontal diseases: an overview. *Periodontology* 2000, 29, 7–10. <https://doi.org/10.1034/J.1600-0757.2002.290101.x> ;
2. Albandar, J.M., Susin, C., Hughes, F.J. (2018). Manifestations of systemic diseases and conditions that affect the periodontal attachment apparatus: Case definitions and diagnostic considerations. *Journal of clinical periodontology*, 45(20), 171–189. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12947>;
3. Anízio, N., Frota, F., Nitrini, R., Pereira Damasceno, B., Forlenza, O., Dias-Tosta, E., da Silva, A. B., Herrera Junior, E., & Magaldi, R. M. (2011). Critérios para o diagnóstico de doença de Alzheimer. *Dement Neuropsychol*, 5(1), 5–10;
4. Anjos, M.T. (2020). *Pigmentação extrínseca – o pigmento negro*. (Dissertação de Mestrado, Universidade do Porto). Repositório Aberto. <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/130092/2/428783.pdf>;
5. Avila, J., Lucas, J. J., Perez, M., & Hernandez, F. (2004). Role of tau protein in both physiological and pathological conditions. *Physiological reviews*, 84(2), 361–384. <https://doi.org/10.1152/physrev.00024.2003>;
6. Bale, B. F., Doneen, A. L., & Vigerust, D. J. (2017). High-risk periodontal pathogens contribute to the pathogenesis of atherosclerosis. *Postgraduate Medical Journal*, 93(1098), 215–220. <https://doi.org/10.1136/POSTGRADMEDJ-2016-134279>;
7. Barbier, P., Zejneli, O., Martinho, M., Lasorsa, A., Belle, V., Smet-Nocca, C., Tsvetkov, P.O., Devred, F., Landrieu, I. (2019). Role of Tau as a Microtubule-Associated Protein: Structural and Functional Aspects. *Frontiers in aging neuroscience*, 11, 204. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00204>;
8. Berk, J. L. (2021). *Amiloidose - Distúrbios hormonais e metabólicos - Manual MSD* <https://www.msmanuals.com/pt-pt/casa/dist%C3%B3rbios-hormonais-e-metab%C3%B3licos/amiloidose/amiloidose>;
9. Botelho, J., Machado, V., Proença, L., Alves, R., Cavacas, M.A., Amaro, L., & Mendes, J.J. (2019). Study of Periodontal Health in Almada-Seixal (SoPHIAS): a cross-sectional study in the Lisbon Metropolitan Area. *Scientific Reports*, 9(1), 15538. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52116-6>;

10. Cerajewska, T. L., Davies, M., & West, N. X. (2015). Periodontitis: a potential risk factor for Alzheimer's disease. *British dental journal*, 218(1), 29–34. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2014.1137>;
11. Cervino, G., Fiorillo, L., Herford, A. S., Romeo, U., Bianchi, A., Crimi, S., D'Amico, C., De Stefano, R., Troiano, G., Santoro, R., Laino, L., Laino, G., & Cicciù, M. (2019). Molecular Biomarkers Related to Oral Carcinoma: Clinical Trial Outcome Evaluation in a Literature Review. *Disease markers*, 2019, 8040361. <https://doi.org/10.1155/2019/8040361>;
12. Cervino, G., Fiorillo, L., Monte, I. P., De Stefano, R., Laino, L., Crimi, S., Bianchi, A., Herford, A. S., Biondi, A., & Cicciù, M. (2019). Advances in Antiplatelet Therapy for Dentofacial Surgery Patients: Focus on Past and Present Strategies. *Materials (Basel, Switzerland)*, 12(9), 1524. <https://doi.org/10.3390/ma12091524>;
13. Chistiakov, D. A., Orekhov, A. N., & Bobryshev, Y. v. (2016). Links between atherosclerotic and periodontal disease. *Experimental and Molecular Pathology*, 100(1), 220–235. <https://doi.org/10.1016/J.YEXMP.2016.01.006>;
14. Darveau, R. P. (2010). Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature Reviews. Microbiology*, 8(7), 481–490. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2337>;
15. Detert, J., Pischon, N., Burmester, G. R., & Buttgereit, F. (2010). The association between rheumatoid arthritis and periodontal disease. *Arthritis research & therapy*, 12(5). <https://doi.org/10.1186/ar3106>;
16. Dominy, S. S., Lynch, C., Ermini, F., Benedyk, M., Marczyk, A., Konradi, A., Nguyen, M., Haditsch, U., Raha, D., Griffin, C., Holsinger, L. J., Arastu-Kapur, S., Kaba, S., Lee, A., Ryder, M. I., Potempa, B., Mydel, P., Hellvard, A., Adamowicz, K., Hasturk, H., ... Potempa, J. (2019). *Porphyromonas gingivalis* in Alzheimer's disease brains: Evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors. *Science advances*, 5(1), eaau3333. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aau3333>;
17. El-Shinnawi, U., & Soory, M. (2013). Associations between periodontitis and systemic inflammatory diseases: response to treatment. *Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery*, 7(3), 169–188. <https://doi.org/10.2174/18715303113139990040>;
18. Fiorillo, L., Cervino, G., Laino, L., D'Amico, C., Mauceri, R., Tozum, T. F., Gaeta, M., & Cicciù, M. (2019). *Porphyromonas gingivalis*, Periodontal and Systemic

- Implications: A Systematic Review. *Dentistry journal*, 7(4), 114. <https://doi.org/10.3390/dj7040114>;
19. Funkhouser W. K. (2009). Pathology: The Clinical Description of Human Disease. *Molecular Pathology*, 197–207. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374419-7.00011-1>;
 20. Gholizadeh, P., Eslami, H., Yousefi, M., Asgharzadeh, M., Aghazadeh, M., & Kafil, H. S. (2016). Role of oral microbiome on oral cancers, a review. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 84, 552–558. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2016.09.082>;
 21. Grover, V., Kapoor, A., Malhotra, R., & Kaur, G. (2014). Porphyromonas gingivalis antigenic determinants--potential targets for the vaccine development against periodontitis. *Infectious Disorders Drug Targets*, 14(1), 1–13. <https://doi.org/10.2174/1871526514666140827100930>;
 22. Hajishengallis G, Chavakis T. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. *Nature Reviews. Immunology*, 21(7), 426–440. doi: 10.1038/s41577-020-00488-6;
 23. Han, Y. W., & Wang, X. (2013). Mobile microbiome: oral bacteria in extra-oral infections and inflammation. *Journal of Dental Research*, 92(6), 485–491. <https://doi.org/10.1177/0022034513487559>;
 24. Hashemiaghdam, A., & Mroczek, M. (2020). Microglia heterogeneity and neurodegeneration: The emerging paradigm of the role of immunity in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroimmunology*, 341. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2020.577185>;
 25. Hayashi, C., Gudino, C. v., Gibson, F. C., & Genco, C. A. (2010). Review: Pathogen-induced inflammation at sites distant from oral infection: bacterial persistence and induction of cell-specific innate immune inflammatory pathways. *Molecular Oral Microbiology*, 25(5), 305–316. <https://doi.org/10.1111/J.2041-1014.2010.00582.x>;
 26. Heppner, F. L., Ransohoff, R. M., & Becher, B. (2015). Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. *Nature Reviews. Neuroscience*, 16(6), 358–372. <https://doi.org/10.1038/nrn3880>;
 27. How, K. Y., Song, K. P., & Chan, K. G. (2016). Porphyromonas gingivalis: An Overview of Periodontopathic Pathogen below the Gum Line. In *Frontiers in microbiology*, 7, 53. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00053>;

28. Huck, O., Saadi-Thiers, K., Tenenbaum, H., Davideau, J. L., Romagna, C., Laurent, Y., Cottin, Y., & Roul, J. G. (2011). Evaluating periodontal risk for patients at risk of or suffering from atherosclerosis: recent biological hypotheses and therapeutic consequences. *Archives of cardiovascular diseases*, 104(5), 352–358. <https://doi.org/10.1016/J.ACVD.2011.02.002>;
29. Imai, K., & Ochiai, K. (2011). Role of histone modification on transcriptional regulation and HIV-1 gene expression: possible mechanisms of periodontal diseases in AIDS progression. *Journal of oral science*, 53(1), 1–13. <https://doi.org/10.2334/josnurd.53.1>;
30. Inaba, H., & Amano, A. (2010). Roles of oral bacteria in cardiovascular diseases--from molecular mechanisms to clinical cases: Implication of periodontal diseases in development of systemic diseases. *Journal of Pharmacological Sciences*, 113(2), 103–109. <https://doi.org/10.1254/jphs.09r23fm>;
31. de Jongh, C. A., de Vries, T. J., Bikker, F. J., Gibbs, S., & Krom, B. P. (2023) Mechanisms of *Porphyromonas gingivalis* to translocate over the oral mucosa and other tissue barriers. *Journal Oral Microbiology*, 15(1), 2205291. doi: 10.1080/20002297.2023.2205291;
32. Jungbauer, G., Stähli, A., Zhu, X., Auber Alberi, L., Sculean, A., & Eick, S. (2022). Periodontal microorganisms and Alzheimer disease – A causative relationship?. *Periodontology 2000*, 89(1), 59–82. <https://doi.org/10.1111/prd.12429>;
33. 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. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2007.08.004>;
34. Kamer, A. R., Dasanayake, A. P., Craig, R. G., Glodzik-Sobanska, L., Bry, M., & de Leon, M. J. (2008). Alzheimer’s Disease and Peripheral Infections: The possible contribution from periodontal infections, model and hypothesis. *Journal of Alzheimer’s disease: JAD*, 13(4), 437–449. <https://doi.org/10.3233/JAD-2008-13408>;
35. Khachaturyan, G., Holle, A. W., Ende, K., Frey, C., Schwederski, H. A., Eiseler, T., Paschke, S., Micoulet, A., Spatz, J. P., & Kemkemer, R. (2022). Temperature-sensitive migration dynamics in neutrophil-differentiated HL-60 cells. *Scientific Reports*, 12(1), 7053. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10858-w>;

36. Kim, S., Sharma, C., Jung, U. J., & Kim, S. R. (2023). Pathophysiological Role of Microglial Activation Induced by Blood-Borne Proteins in Alzheimer's Disease. *Biomedicines*, 11(5), 1383. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11051383>;
37. Kwon, T., Lamster, I. B., & Levin, L. (2021). Current Concepts in the Management of Periodontitis. *International dental journal*, 71(6), 462–476. <https://doi.org/10.1111/idj.12630>;
38. Leng, F., & Edison, P. (2021). Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here?. *Nature reviews. Neurology*, 17(3), 157–172. <https://doi.org/10.1038/s41582-020-00435-y>;
39. Lo Giudice, G., Cutroneo, G., Centofanti, A., Artemisia, A., Bramanti, E., Militi, A., Rizzo, G., Favaloro, A., Irrera, A., Lo Giudice, R., & Cicciù, M. (2015). Dentin Morphology of Root Canal Surface: A Quantitative Evaluation Based on a Scanning Electronic Microscopy Study. *BioMed Research International*, 2015, 164065. <https://doi.org/10.1155/2015/164065>;
40. Loscalzo, J., Fauci, A. S., Kasper, D. L., Hauser, S. L., Longo, D. L., & Jameson, J. L. (2022). Harrison's principles of Internal Medicine (21st ed.). *McGraw Hill*;
41. Lubbers, R., van Essen, M. F., van Kooten, C., & Trouw, L. A. (2017). Production of complement components by cells of the immune system. *Clinical and Experimental Immunology*, 188(2), 183-194. <https://doi.org/10.1111/cei.12952>;
42. Machado, V.A. (2021). Periodontal disease and its risk factors in a Portuguese adult population. (Dissertação de Doutoramento, Universidade do Porto). Repositório Aberto. <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/134936/2/483861.pdf>;
43. Maiorana, C., Beretta, M., Battista Grossi, G., Santoro, F., Scott Herford, A., Nagursky, H., & Cicciù, M. (2011). Histomorphometric evaluation of anorganic bovine bone coverage to reduce autogenous grafts resorption: preliminary results. *The open dentistry journal*, 5, 71–78. <https://doi.org/10.2174/1874210601105010071>;
44. Mariotti, A., Hefti, A. F. (2015). Defining periodontal health. *BMC Oral Health*, 15, 6. <https://doi.org/10.1186/1472-6831-15-S1-S6>;
45. Marques, S. R. (2014). *A periodontite como fator de progressão da doença de Alzheimer*. (Dissertação de Mestrado, Instituto Universitário Egas Moniz). Repositório comum. <http://hdl.handle.net/10400.26/13816>
46. McNicol, A., & Israels, S. J. (2010). Mechanisms of oral bacteria-induced platelet activation. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 88(5), 510–524. <https://doi.org/10.1139/Y10-029>;

47. Mei, F., Xie, M., Huang, X., Long, Y., Lu, X., Wang, X., & Chen, L. (2020). *Porphyromonas gingivalis* and Its Systemic Impact: Current Status. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 9(11), 944. <https://doi.org/10.3390/pathogens9110944>;
48. Michaud, D. S. (2013). Role of bacterial infections in pancreatic cancer. *Carcinogenesis*, 34(10), 2193–2197. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgt249>;
49. Miklossy, J. (2008). Chronic inflammation and amyloidogenesis in Alzheimer's disease -- role of Spirochetes. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 13(4), 381–391. <https://doi.org/10.3233/jad-2008-13404>;
50. Nakanishi, H., & Wu, Z. (2009). Microglia-aging: roles of microglial lysosome- and mitochondria-derived reactive oxygen species in brain aging. *Behavioural Brain Research*, 201(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.02.001>;
51. Noble, J. M., Borrell, L. N., Papapanou, P. N., Elkind, M. S., Scarmeas, N., & Wright, C. B. (2009). Periodontitis is associated with cognitive impairment among older adults: analysis of NHANES-III. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 80(11), 1206–1211. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2009.174029>;
52. Olsen, I., Taubman, M. A., & Singhrao, S. K. (2016). *Porphyromonas gingivalis* suppresses adaptive immunity in periodontitis, atherosclerosis, and Alzheimer's disease. *Journal of oral microbiology*, 8, 33029. <https://doi.org/10.3402/jom.v8.33029>;
53. Peres, M. A., Macpherson, L. M. D., Weyant, R. J., Daly, B., Venturelli, R., Mathur, M. R., Listl, S., Celeste, R. K., Guarnizo-Herreño, C. C., Kearns, C., Benzan, H., Allison, P., & Watt, R. G. (2019). Oral diseases: a global public health challenge. *Lancet (London, England)*, 394(10194), 249–260. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)31146-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)31146-8);
54. Perry, V. H. (2004). The influence of systemic inflammation on inflammation in the brain: Implications for chronic neurodegenerative disease. *Brain, Behavior, and Immunity*, 18(5), 407–413. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2004.01.004>;
55. Phipps, L. (2015). Antangling Tau on the Brain. *Alzheimer's Research Uk*. <https://www.alzheimersresearchuk.org/blog/untangling-tau-in-the-brain/>;
56. Pischon, N., Heng, N., Bernimoulin, J. P., Kleber, B. M., Willich, S. N., & Pischon, T. (2007). Obesity, inflammation, and periodontal disease. *Journal of Dental Research*, 86(5), 400–409. <https://doi.org/10.1177/154405910708600503>;
57. Poole, S., Singhrao, S. K., Kesavalu, L., Curtis, M. A., & Crean, S. J. (2013). Determining the presence of periodontopathic virulence factors in short-term

- postmortem Alzheimer's disease brain tissue. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, 36(4), 665–677. <https://doi.org/10.3233/JAD-121918>;
58. Reyes, L., Herrera, D., Kozarov, E., Roldá, S., & Progulske-Fox, A. (2013). Periodontal bacterial invasion and infection: contribution to atherosclerotic pathology. *Journal of periodontology*, 84(4), 30–50. <https://doi.org/10.1902/jop.2013.1340012>;
59. Ribeiro, S., Ramos, C., Sá, L. (2004). *Avaliação Inicial da Demência*. *Revista Portuguesa de Medicina Geral e Familiar*, 20(5), 569–577. <https://doi.org/10.32385/rpmgf.v20i5.10076>;
60. Riviere, G. R., Riviere, K. H., & Smith, K. S. (2002). Molecular and immunological evidence of oral Treponema in the human brain and their association with Alzheimer's disease. *Oral microbiology and immunology*, 17(2), 113–118. <https://doi.org/10.1046/j.0902-0055.2001.00100.x>;
61. Ryder, M. I. (2020). Porphyromonas gingivalis and Alzheimer disease: Recent findings and potential therapies. *Journal of Periodontology*, 91(S1), S45–S49. <https://doi.org/10.1002/JPER.20-0104>;
62. Ryder, M.I. (2022). The Link Between Periodontitis and Alzheimer's Disease: Reality or Yet Another Association. *Current Oral Health Reports*, 9, 157–166. <https://doi.org/10.1007/s40496-022-00319-8>;
63. Shaftel, S. S., Griffin, W. S., & O'Banion, M. K. (2008). The role of interleukin-1 in neuroinflammation and Alzheimer disease: an evolving perspective. *Journal of neuroinflammation*, 5, 7. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-5-7>;
64. Scheltens, P., De Strooper, B., Kivipelto, M., Holstege, H., Chételat, G., Teunissen, C. E., Cummings, J., & van der Flier, W. M. (2021). Alzheimer's disease. *Lancet (London, England)*, 397(10284), 1577–1590. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32205-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32205-4);
65. Scher, J. U., Bretz, W. A., & Abramson, S. B. (2014). Periodontal disease and subgingival microbiota as contributors for rheumatoid arthritis pathogenesis: modifiable risk factors?. *Current opinion in rheumatology*, 26(4), 424–429. <https://doi.org/10.1097/BOR.0000000000000076>;
66. Shaik, M. M., Ahmad, S., Gan, S. H., Abuzenadah, A. M., Ahmad, E., Tabrez, S., Ahmed, F., & Kamal, M. A. (2014). How do periodontal infections affect the onset and progression of Alzheimer's disease?. *CNS & neurological disorders drug targets*, 13(3), 460–466. <https://doi.org/10.2174/18715273113126660152>;

67. Silvestre, F. J., Lauritano, D., Carinci, F., Silvestre-Rangil, J., Martinez-Herrera, M., & Del Olmo, A. (2017). Neuroinflammation, Alzheimer's disease and periodontal disease: is there an association between the two processes?. *Journal of biological regulators and homeostatic agents*, 31(2), 189–196. PMID: 28691472;
68. Sparks Stein, P., Steffen, M. J., Smith, C., Jicha, G., Ebersole, J. L., Abner, E., & Dawson, D., 3rd (2012). Serum antibodies to periodontal pathogens are a risk factor for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*, 8(3), 196-203. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.04.006>;
69. Tiantian, M., & Xin, L. (2016). *Hua xi kou qiang yi xue za zhi = Huaxi kouqiang yixue zazhi = West China journal of stomatology*, 34(4), 425–428. <https://doi.org/10.7518/hxkq.2016.04.021>;
70. 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. <https://doi.org/10.1254/JPHS.14R11CP>;
71. Wu, Z., Sun, L., Hashioka, S., Yu, S., Schwab, C., Okada, R., Hayashi, Y., McGeer, P. L., & Nakanishi, H. (2013). Differential pathways for interleukin-1 β production activated by chromogranin A and amyloid β in microglia. *Neurobiology of aging*, 34(12), 2715–2725. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.05.018>
72. Wu, Z., Zhang, J., & Nakanishi, H. (2005). Leptomeningeal cells activate microglia and astrocytes to induce IL-10 production by releasing pro-inflammatory cytokines during systemic inflammation. *Journal of neuroimmunology*, 167(1-2), 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2005.06.025>;
73. Yücel, G., Zhao, Z., El-Battrawy, I., Lan, H., Lang, S., Li, X., Buljubasic, F., Zimmermann, W. H., Cyganek, L., Utikal, J., Ravens, U., Wieland, T., Borggrefe, M., Zhou, X. B., & Akin, I. (2017). Lipopolysaccharides induced inflammatory responses and electrophysiological dysfunctions in human-induced pluripotent stem cell derived cardiomyocytes. *Scientific reports*, 7(1), 2935. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03147-4>;
74. Xie H. (2015). Biogenesis and function of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles. *Future microbiology*, 10(9), 1517–1527. <https://doi.org/10.2217/fmb.15.63>;
75. Zhang, J., Xie, M., Huang, X., Chen, G., Yin, Y., Lu, X., Feng, G., Yu, R., & Chen, L. (2021). The Effects of *Porphyromonas gingivalis* on Atherosclerosis-Related Cells. *Frontiers in immunology*, 12, 766560. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.766560>.

Anexos

Anexo 1 - Aprovação de utilização de imagem referente à figura 1 e figura 2



Current Concepts in the Management of Periodontitis
 Author: TaeHyun Kwon, Ira B. Lamster, Liran Levin
 Publication: International Dental Journal
 Publisher: Elsevier
 Date: December 2021
 © 2021 Published by Elsevier Inc. on behalf of FDI World Dental Federation.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-No Derivatives License (CC BY NC ND)

This article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-No Derivatives License (CC BY NC ND). For non-commercial purposes you may copy and distribute the article, use portions or extracts from the article in other works, and text or data mine the article, provided you do not alter or modify the article without permission from Elsevier. You may also create adaptations of the article for your own personal use only, but not distribute these to others. You must give appropriate credit to the original work, together with a link to the formal publication through the relevant DOI, and a link to the Creative Commons user license above. If changes are permitted, you must indicate if any changes are made but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use of the work.

Permission is not required for this non-commercial use. For commercial use please continue to request permission via RightsLink.

[BACK](#) [CLOSE WINDOW](#)

Anexo 2- Aprovação de utilização de imagem referente às figuras 3 e 8

This Agreement between Ms. Laura Cerca ("You") and Springer Nature ("Springer Nature") consists of your license details and the terms and conditions provided by Springer Nature and Copyright Clearance Center.

Your confirmation email will contain your order number for future reference.

License Number 5632741222021 [Printable Details](#)

License date Sep 19, 2023

Licensed Content		Order Details	
Licensed Content Publisher	Springer Nature	Type of Use	Thesis/Dissertation
Licensed Content Publication	Nature Reviews Immunology	Requestor type	academic/university or research institute
Licensed Content Title	Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities	Format	print and electronic
Licensed Content Author	George Hajishengallis et al	Portion	figures/tables/illustrations
Licensed Content Date	Jan 28, 2021	Number of figures/tables/illustrations	2
		Would you like a high resolution image with your order?	no
		Will you be translating?	no
		Circulation/distribution	1 - 29
		Author of this Springer Nature content	no

About Your Work		Additional Data	
Title	Influência da P. Gengivalis na Doença de Alzheimer	Order reference number	150800
Institution name	Instituto Universitário Egas Moniz	Portions	Figure 3 and Figure 5
Expected presentation date	Oct 2023		

Anexo 3 – Aprovação de utilização de imagem referente à figura 6



The Link Between Periodontitis and Alzheimer's Disease: Reality or Yet Another Association

Author: Mark I. Ryder

Publication: Current Oral Health Reports

Publisher: Springer Nature

Date: Sep 23, 2022

Copyright © 2022, The Author(s)

Creative Commons

This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons CC BY](#) license, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

You are not required to obtain permission to reuse this article.

To request permission for a type of use not listed, please contact [Springer Nature](#)

Anexo 4 – Aprovação de utilização de imagem referente à figura 7

Citation: Zhang J, Xie M, Huang X, Chen G, Yin Y, Lu X, Feng G, Yu R and Chen L (2021) The Effects of *Porphyromonas gingivalis* on Atherosclerosis-Related Cells. *Front. Immunol.* 12:766560. doi: 10.3389/fimmu.2021.766560

Received: 29 August 2021; **Accepted:** 30 November 2021;
Published: 23 December 2021.

Edited by:
[Craig Murdoch](#), The University of Sheffield, United Kingdom

Reviewed by:
[Hiroaki Inaba](#), Okayama University, Japan
[Tomomi Hashizume-Takizawa](#), Nihon University, Japan

Copyright © 2021 Zhang, Xie, Huang, Chen, Yin, Lu, Feng, Yu and Chen. This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License \(CC BY\)](#). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Anexo 5 – Aprovação de utilização de imagem referente à figura 10

This Agreement between Ms. Laura Cerca ("You") and Springer Nature ("Springer Nature") consists of your license details and the terms and conditions provided by Springer Nature and Copyright Clearance Center.

Your confirmation email will contain your order number for future reference.

License Number 5632020436258

License date Sep 18, 2023

Licensed Content

Licensed Content Publisher	Springer Nature
Licensed Content Publication	Nature Reviews Neurology
Licensed Content Title	Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here?
Licensed Content Author	Fangda Leng et al
Licensed Content Date	Dec 14, 2020

Order Details

Type of Use	Thesis/Dissertation
Requestor type	academic/university or research institute
Format	print and electronic
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	1
Would you like a high resolution image with your order?	no
Will you be translating?	no
Circulation/distribution	1 - 29
Author of this Springer Nature content	no

About Your Work

Title	Influência da <i>P. Gingivalis</i> na Doença de Alzheimer
Institution name	Instituto Universitário Egas Moniz
Expected presentation date	Oct 2023

Additional Data

Order reference number	150800
Portions	figure 1 Physiological function of glial cells.

Anexo 6 – Aprovação de utilização de imagem referente à figura 11

Pathophysiological Role of Microglial Activation Induced by Blood-Borne Proteins in Alzheimer's Disease

[Sehwan Kim](#)^{1,2,†}, [Chanchal Sharma](#)^{1,3,†}, [Un Ju Jung](#)^{4,†} and [Sang Ryong Kim](#)^{1,2,3,*}

Carmela Matrone, Academic Editor

► [Author information](#) ► [Article notes](#) ▼ [Copyright and License information](#) [PMC Disclaimer](#)

[Copyright](#) © 2023 by the authors.

Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).