



ESCUELA DE DOCTORADO
INTERNACIONAL DE LA USC

PABLO
AMEIJEIRA DÁVILA

Tesis doctoral

ENFERMEDAD PERIODONTAL
COMO FACTOR
CRONIFICADOR DE LA
MIGRAÑA. ESTUDIO CLÍNICO
Y MOLECULAR

Santiago de Compostela, 2024

Programa de doctorado en Ciencias Odontológicas

TESIS DOCTORAL

ENFERMEDAD PERIODONTAL COMO FACTOR CRONIFICADOR DE LA MIGRAÑA. ESTUDIO CLÍNICO Y MOLECULAR.

Autor

Pablo Ameijeira Dávila

Directores: Juan Blanco Carrión

Rogelio Leira Muiño

Yago Leira Feijóo

Tutor/a: Juan Blanco Carrión

FINANCIACIÓN

El presente trabajo fue financiado parcialmente por el Fondo de Investigaciones Sanitaria del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad a través del Instituto de Salud Carlos III (PI15/01578).

CONFLICTO DE INTERÉS

El doctorando declara no tener ningún conflicto de intereses en relación con esta tesis de doctorado.

"La ciencia y la investigación no son más que herramientas; su verdadero propósito es mejorar la vida de quienes nos rodean."

Nikola Tesla

"Estudia el arte de la ciencia y la ciencia del arte; desarrolla tus sentidos, especialmente el aprender a ver. Date cuenta de que todo está conectado con todo lo demás."

Leonardo Da Vinci

AGRADECIMIENTOS

La culminación de esta tesis doctoral no habría sido posible sin el apoyo y la contribución de muchas personas a lo largo de este viaje. Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a todos ellos.

En primer lugar, al director de la tesis, el Profesor Yago Leira, mi más profundo agradecimiento. Su colaboración y apoyo han sido vitales para la culminación de este trabajo. Sin su paciencia, ayuda y orientación, este proyecto no habría sido posible. Yago, tu talento y dedicación son admirables, pero lo que más aprecio es tu calidad humana y el apoyo personal que me has brindado a lo largo de este proceso. Tu compromiso y entusiasmo han sido una fuente constante de inspiración, y te estaré eternamente agradecido por tu amistad y guía. Tu incansable labor investigadora ha abierto nuevas fronteras en nuestra disciplina y eres un faro que ha iluminado mi camino académico. La pasión con la que te entregas a tu trabajo es contagiosa, y tu capacidad para motivar y guiarnos es verdaderamente excepcional. Gracias de corazón Coco!

Quiero también agradecer a mi director de tesis, el Profesor Juan Blanco, por ser un referente en Periodoncia y por haber tenido el privilegio de ser su alumno durante tres años en el Máster. Me siento afortunado de haber aprendido tanto bajo su tutela. Juan, tus enseñanzas han sido invaluable y tu apoyo constante me ha permitido avanzar con seguridad y confianza. Eres el máximo exponente y pionero de la periodoncia gallega, y tu dedicación a la clínica, docencia y a la investigación ha dejado una huella imborrable en todos aquellos que hemos tenido el honor de aprender de ti.

A mi director de tesis el Dr. Rogelio Leira, por darme la oportunidad de ser su doctorando. Su orientación y apoyo en el desarrollo de este proyecto han sido inestimables. Rogelio, tu ética de trabajo, capacidad de comunicación, empatía, liderazgo y excelencia académica me sirven de inspiración y eres un referente en mi formación profesional. Eres un

neurólogo en constante formación e investigación, y tu compromiso con la excelencia en la medicina es verdaderamente inspirador.

Mi más profundo agradecimiento al Dr. Gabriel Villaverde, quien ha sido el que me ha introducido en el maravilloso mundo de la Periodoncia. No solo ha sido un mentor excepcional, sino también ha mostrado una generosidad inmensa al compartir sus conocimientos conmigo de manera desinteresada. Su guía y dedicación han sido invaluable en mi formación. Gabriel, has dejado en mi una marca indeleble en mi carrera y te estaré siempre eternamente agradecido.

También quiero expresar mi gratitud a los coautores de los artículos que forman parte de esta tesis: Clara Domínguez, Esteban López Arias, Paulo Ávila Gómez, María Pérez Mato, Tomás Sobrino, Francisco Campos y Francesco D'Aiuto. Su colaboración y contribuciones han sido esenciales para el desarrollo de este trabajo. Gracias por su esfuerzo, dedicación y profesionalismo.

En el plano personal, a mis padres, Elena y Antonio, quienes me han inculcado desde muy joven la importancia de la formación académica y valores fundamentales como el esfuerzo y la constancia. Su dedicación y ejemplo me han servido de guía y motivación en los momentos más desafiantes. Siempre han estado a mi lado, ofreciendo su amor incondicional y apoyo inquebrantable. A ellos, les debo no solo mi educación, sino también la fortaleza y determinación para alcanzar mis metas.

Quisiera también recordar y agradecer a mis abuelos, cuyas enseñanzas y amor incondicional han sido una fuente constante de inspiración en mi vida. Sus historias, sabiduría y valores han dejado una huella imborrable en mí, y su legado sigue guiándome en cada paso que doy.

A mi hermano Alejandro por ser un ejemplo constante de integridad y perseverancia. Su apoyo y sus palabras de aliento han sido cruciales en mi vida. Su ejemplo ha sido una fuente de inspiración que me ha

motivado a superar cada obstáculo y a seguir adelante con determinación.

A mis amigos y compañeros de confianzas, Julio, Isra y Maxi. Gracias por estar siempre ahí, por las charlas, los consejos y el apoyo incondicional. Vuestra amistad ha sido un pilar fundamental en mi vida, brindándome no solo momentos de alegría, sino también el soporte emocional necesario en los momentos más difíciles. Vuestra lealtad y camaradería son invaluable, y estoy profundamente agradecido por contar con amigos tan excepcionales.

A mi compañera de vida, Lucía, quien ha sido mi roca y mi refugio. Su amor, apoyo y comprensión me han proporcionado la estabilidad emocional y la fuerza necesaria para enfrentar tanto los retos personales como los profesionales. Lucía, tu presencia ha sido fundamental en este proceso, y tu capacidad para mantenerme enfocado y motivado es algo por lo que siempre estaré agradecido.

A mi hijo Mario, de tan solo seis meses, quien se ha convertido en la razón de mi vida. Aunque aún es muy pequeño para entender, su presencia ha llenado mi vida de una alegría y una motivación indescriptibles. Mario, eres el faro que ilumina mi camino y la inspiración detrás de cada esfuerzo. Todo lo que hago, lo hago pensando en tu futuro y en el deseo de ser el mejor ejemplo para ti.

En resumen, cada persona mencionada ha jugado un papel esencial en mi vida y en la realización de esta tesis. A todos ellos, les expreso mi más sincero y profundo agradecimiento.

RESUMEN:

Aunque se ha establecido una asociación entre enfermedad periodontal (EP) y algunas enfermedades neurológicas, existe poca evidencia sobre la relación entre la EP y la migraña crónica (MC). Las formas más avanzadas de periodontitis (P) han demostrado alteraciones moleculares de inflamación, disfunción endotelial e inmunidad innata similares a las observadas en la migraña. Por lo tanto, el objetivo de nuestro trabajo fue investigar si la P se asocia con MC y en caso de estarlo, estudiar los posibles mecanismos que puedan explicar esta asociación. En el presente estudio la P se asoció positivamente con la MC. Se encontró que la periodontitis aumenta los niveles de leptina, procalcitonina, PTX-3, sTWEAK y CGRP en pacientes con MC sugiriendo que la P podría estar involucrada en los procesos de cronificación de la migraña a través de vías como la inflamación sistémica, disfunción endotelial e inflamación neurogénica.

PALABRAS CLAVE: enfermedad periodontal, migraña crónica, inflamación, disfunción endotelial, periodontitis crónica

LISTA DE PUBLICACIONES RELACIONADAS CON ESTA TESIS

1. **Ameijeira P**, Leira Y, Blanco J, Leira R. (2017). Periodontal disease as a potential factor of migraine chronification. *Med Hypotheses*, 102:94–98.
2. **Ameijeira, P.**, Leira, Y., Domínguez, C., Leira, R., & Blanco, J. (2019). Association between periodontitis and chronic migraine: a case–control study. *Odontology*, 107, 90-95.
3. Leira, Y., **Ameijeira, P.**, Domínguez, C., Leira, R., Blanco, J. (2017). The role of leptin as a biomarker in the relationship between periodontitis and chronic migraine. *Journal of Clinical Periodontology*, 44(12), 1208-1214.
4. Leira, Y., **Ameijeira, P.**, Domínguez, C., Leira, R., Blanco, J. (2018). High serum procalcitonin levels in patients with periodontitis and chronic migraine. *Journal of Periodontology*, 89(9), 1069-1074.
5. Leira, Y., **Ameijeira, P.**, Domínguez, C., López-Arias, E., Ávila-Gómez, P., Pérez-Mato, M., Sobrino, T., Campos, F., D’Aiuto, F., Leira, R., Blanco, J., (2020). Severe periodontitis is linked with increased peripheral levels of sTWEAK and PTX3 in chronic migraineurs. *Clinical Oral Investigations*, 24, 597-606.
6. Leira, Y., **Ameijeira, P.**, Domínguez, C., López-Arias, E., Ávila-Gómez, P., Pérez-Mato, M., Sobrino, T., Campos, F., D’Aiuto, F., Leira, R., Blanco, J., (2019). Periodontal inflammation is related to increased serum calcitonin gene-related peptides levels in patients with chronic migraine. *Journal of Periodontology* 90(10),1088-1095.

ÍNDICE

ÍNDICE

ABREVIATURAS	15
INTRODUCCIÓN.....	19
1. Enfermedad periodontal	19
1.1. Definición	19
1.2. Epidemiología.....	21
1.3. Patogénesis	22
1.4. Factores de riesgo	24
1.4.1. Edad	24
1.4.2. Género	24
1.4.3. Tabaco	25
1.4.4. Diabetes	25
1.4.5. Obesidad y síndrome metabólico	26
1.4.6. Osteoporosis, calcio y vitamina D en la dieta.	27
1.4.7. Estrés	28
1.4.8. Genética	28
1.5. Relación de la EP y las enfermedades sistémicas.....	28
1.5.1. Mecanismos Infecciosos.....	29
1.5.2. Mecanismos Inflamatorios	29
1.5.3. Inmunidad	30
2. Migraña.....	31
2.1. Concepto y clasificación.....	31
2.2. Epidemiología, impacto social y económico	33
2.3. Fisiopatología	34

2.3.1 Fases de la migraña.....	35
2.3.1.1 Fase prodrómica	35
2.3.1.2 Fase del aura	36
2.3.1.3 Fase de cefalea.....	37
2.3.1.4 Fase posdrómica	38
2.4 Cronificación	39
2.5 Inflamación y función endotelial en la migraña	40
3. Biomarcadores	42
3.1 Inflamación sistémica	43
3.1.1 Interleucina-6.....	43
3.1.2 Interleucina-10.....	44
3.1.3 Leptina	45
3.1.4 Procalcitonina	46
3.1.5 Proteína C-reactiva	46
3.2 Inflamación neurogénica	47
3.2.1 El péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP)	47
3.3 Disfunción endotelial.....	47
3.3.1 Pentraxina-3.....	47
3.3.2 Tumor necrosis factor-like weak inducer factor (TWEAK)	48
3.4 Biomarcador de sistema inmune.....	49
3.4.1 El sistema del complemento	49
OBJETIVOS GENERALES.....	50
ESTUDIO CLÍNICO	52
1.-Justificación (Artículo 1).....	53
2-Hipótesis.....	55

3-Objetivos	55
3.1 Objetivo primario	55
3.2 Objetivos secundarios.....	55
4.- Material y métodos.....	55
4.1 Diseño de estudio.....	55
4.2 Población de estudio	55
4.2.1 Grupo MC (casos)	55
4.2.2 Grupo Control.....	56
4.3 Examen Periodontal.....	56
4.4 Examen Neurológico	57
4.5. Recolección de suero y pruebas de laboratorio.	57
4.6 Variables de estudio.....	58
4.6.1 Variables clínicas y demográficas	58
4.6.2. Variables periodontales y dentales	58
4.6.3. Variables neurológicas	58
4.6.4. Variables confusoras.....	59
4.6.5. Uso de medicamentos	59
4.6.6. Biomarcadores	59
4.6.6.1. inflamación sistémica	59
4.6.6.2. Disfunción endotelial.....	59
4.6.6.3. Inflamación Neurogénica	60
4.6.6.4 Sistema Inmune (activación del complemento).....	60
4.7 Cálculo del tamaño muestral	60
4.8 Análisis estadístico	60
5.- Resultados	61
5.1 Artículo 2	62
5.2 Artículo 3	65

5.3	Artículo 4	69
5.4	Artículo 5	71
5.5	Artículo 6	75
	DISCUSIÓN	79
	CONCLUSIONES.....	89
	IMPLICACIONES PARA INVESTIGACIÓN FUTURA.....	90
	REFERENCIAS	92
	ARTÍCULOS.....	122
	ARTÍCULO 1	123
	ARTÍCULO 2	130
	ARTÍCULO 3	140
	ARTÍCULO 4.....	149
	ARTÍCULO 5.....	157
	ARTÍCULO 6.....	169
	ANEXO (AUTORIZACIONES).....	178

ABREVIATURAS

AAP: Academia Americana de Periodoncia.
AGE: productos finales de glicosilación avanzada
AINE: antiinflamatorios no esteroideos
ANOVA: análisis de varianza de una vía
ARIC: estudio de riesgo de aterosclerosis en comunidades
BHE: barrera hemato-encefálica
C3: complemento 3
C4: complemento 4
CBF: flujo sanguíneo cerebral
CGRP: péptido relacionado con gen de la calcitonina
CML: células musculares lisas
CRP: proteína C-reactiva
CPE: células progenitoras endoteliales
CV: coeficiente de variación
DAMPs: péptidos moleculares asociados al daño
DCP: Depresión cortical propagada
EC: células endoteliales
ECV: enfermedad cardiovascular
ELISA: inmunoensayo enzimático
EP: enfermedad periodontal
EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica
ET: endotelina
FMD: dilatación mediada por flujo
Fn: *Fusobacterium nucleatum*
GBD: del inglés Global burden of disease
IBMS: del inglés estudio internacional sobre migraña
IC: interval de confianza
ICC: coeficiente de correlación intraclase
IL-1: Interleucina-1
IL-1A: Interleucina-1A
IL-1B: Interleucina-1B
IL-1 β : Interleucina-1 β
IL-6: Interleucina-6
IL-10: Interleucina-10

ICAM-1: moléculas de adhesión intracelular
 ICHD: del inglés Clasificación internacional de cefaleas
 IMC: índice de masa corporal
 IPBC: índice de placa de boca completa
 ISBC: índice de sangrado de boca completa
 LCG: líquido crevicular gingival
 LPS: lipopolisacárido
 MC: migraña crónica
 McA: migraña con aura
 ME: migraña episódica
 MMP: metaloproteinasa de la matriz
 MPSA: supresión magnética de la precisión perceptiva
 MsA: migraña sin aura
 NHANES: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición norteamericana.
 NIC: Nivel de inserción clínico
 NKA: neurokinina A
 NPN: neutrófilos polimorfonucleares
 Onabot A: onabotulinum toxina A
 OPG: osteoprotegerina
 OR: odds ratio
 P.A.: Pablo Ameijeira
 PAG: sustancia gris periacueductal
 PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno
 P: Periodontitis
 PC: Periodontitis crónica
 PCR: reacción en cadena de la polimerasa
 PESA: área de superficie epitelial periodontal
 PET: neuroimagen funcional
 PG: prostaglandina
 Pg: *Porphyromonas gingivalis*
 PGE2: prostaglandina E2
 PISA: área de superficie periodontal inflamada
 proCT: procalcitonina
 PS: profundidad de sondaje
 PTXs: pentraxinas
 PTX3: pentraxina-3

RAGE: receptor productos finales de glicosilación avanzada
RANKL: receptor del activador de factor nuclear del ligando NF- κ B
RFA: reactantes de fase aguda
RG: recesión gingival
R.L.: Rogelio Leira
RM: resonancia magnética
ROS: especies reactivas de oxígeno
RR: riesgo relativo
SAS: sangrado al sondaje
SAA: proteína A amiloide sérica
SNC: sistema nervioso central
SP: sustancia P
STROBE: Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology
STV: sistema trigémino vascular
sTWEAK: del inglés soluble tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis
TLRs: toll-like receptor
TLR-4: toll-like receptor 4
TNF- α : factor de necrosis tumoral α
TPM: Topiramato
TWEAK: del inglés tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis
VCAM-1: molécula de adhesión de células vasculares

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1. Enfermedad periodontal

1.1. Definición

La enfermedad periodontal (EP) es una condición inflamatoria crónica inducida por bacterias que produce la destrucción de los tejidos de soporte del diente (encía, hueso y ligamento periodontal) y en ocasiones puede producir la pérdida dentaria. (Philstrom y cols. 2005). Al inicio, la lesión inflamatoria inducida por la placa bacteriana permanece contenida dentro de la encía y no se extiende más allá de la unión mucogingival. Esta lesión, es reversible al reducir los niveles de biofilm dental. (Murakami y cols. 2018). Cuando la lesión se extiende hacia los tejidos gingivales que rodean los dientes produce la destrucción del tejido conectivo y una pérdida progresiva de hueso alveolar, lo que a largo plazo podría conducir a la pérdida de dientes. (Philstrom y cols. 2005). Tras la infección bacteriana, la respuesta inmunológica será la principal responsable de la susceptibilidad del huesped. (Bartold y Van Dyke 2013).

En 2017, se realiza un Workshop mundial donde se desarrolla una nueva clasificación de enfermedades periodontales identificándose, otras formas de periodontitis menos prevalentes. Basándose, en su fisiopatología se identifican otras formas de EP como son la periodontitis necrotizante y la periodontitis como manifestación directa de enfermedades sistémicas. (Chapple y cols. 2018). (Tabla 1)

ESTADO PERIODONTAL	CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES
Salud periodontal	• Ausencia de inflamación clínicamente detectable. • Puede encontrarse en un periodonto intacto (sin pérdida de inserción clínica) y en un periodonto reducido.
Gingivitis inducida por biofilm dental	• Inflamación gingival sin pérdida de inserción. (reversible) • Asociada unicamente a biofilm dental.
Enfermedades gingivales no inducidas por biofilm dental	• Las lesiones gingivales no asociadas al biofilm se estratificaron en 8 grupos. ✓ Trastornos genéticos/ de desarrollo. ✓ Infecciones específicas. ✓ Condiciones inflamatorias e inmunológicas. ✓ Procesos reactivos. ✓ Neoplasias. ✓ Enfermedades endocrinas, nutricionales y metabólicas. ✓ Lesiones traumáticas. ✓ Pigmentación gingival.

ESTADO PERIODONTAL	CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES
Periodontitis	• Presencia de inflamación que conduce a: 1.- Pérdida de inserción periodontal. 2.- La presencia de bolsas periodontales 3.- Sangrado gingival • Se clasifica: en 4 estadios(según la gravedad): ✓ Inicial, moderada, grave y avanzada. - y 3 grados (según la tasa de progresión): ✓ A,B y C
Periodontitis necrotizante	• Antecedentes de dolor. • Presencia de ulceraciones en el margen gingival y/o depósitos de fibrina en localizaciones con papilas gingivales decapitadas • En algunos casos se produce exposición ósea.
Periodontitis como manifestación de una enfermedad sistémica	• Trastornos sistémicos con impacto sobre la pérdida de tejidos periodontales mediante su actuación sobre la inflamación periodontal: 1.- Trastornos genéticos: ✓ Enfermedades asociados a trastornos inmunológicos(por ejemplo síndrome Papillon-Lefèvre). ✓ Enfermedades que afectan a la mucosa oral y al tejido gingival. (por ejemplo epidermólisis ampollosa). ✓ Enfermedades que afectan al tejido conjuntivo (por ejemplo, Síndrome Ehlers-Danlos) ✓ Trastornos metabólicos y endocrinológicos. (por ejemplo hipofosfatasa) 2.- Enfermedades con inmunodeficiencia adquirida (por ejemplo, infección por HIV). 3.- Enfermedades inflamatorias (por ejemplo, enfermedad inflamatoria intestinal).

Tabla 1. Resumen de la clasificación de las condiciones y EP (Workshop 2017).

El diagnóstico de la EP se realiza mediante el registro de parámetros como el nivel de inserción clínico (NIC) y la profundidad de sondaje (PS). En 2007, los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CCE) en colaboración con la Academia Americana de Periodoncia (AAP) desarrollaron definiciones de casos para periodontitis moderada y severa para su uso en investigación epidemiológica (Page y Eke 2007). Además, el mismo grupo de trabajo publicó en 2012 un documento actualizado, donde presentaron la definición de casos leves de EP (Eke y cols. 2012). (Figura 1). En 2015, expertos americanos y europeos publican un documento de consenso en el que sugieren que las definiciones de caso desarrolladas por el CCE-AAP es la que debe usarse en estudios epidemiológicos periodontales (Holfreter y cols. 2015). Esta clasificación que se basa en medidas lineales (NIC y PS) puede no cuantificar correctamente el área de tejido

periodontal inflamado. Puesto que, la diseminación de la inflamación local al resto del organismo es uno de los mecanismos fisiopatológicos que relacionan a la EP con el resto de patologías sistémicas, la clasificación de la EP debería cuantificar la carga inflamatoria. Por esta razón, se desarrolló una nueva clasificación, para conocer el área de superficie periodontal inflamada (PISA), que no sólo se basa en medidas lineales como NIC y recesión gingival (RG) sino también, en un signo de actividad de la enfermedad periodontal [es decir, sangrado al sondaje (SAS)]. Por lo tanto, PISA refleja el área de la superficie del epitelio de la bolsa periodontal sangrante en milímetros cuadrados (mm²) (Nesse y cols. 2008). Además, este parámetro podría ser una forma eficaz de identificar pacientes con EP activa que se clasificaron según la clasificación CCE-AAP (Leira y cols. 2018).



Figura 1. Esquema de las fases de la Enfermedad Periodontal. Figura de elaboración propia.

1.2. Epidemiología

La EP es un importante problema de salud pública en el mundo. En 2010, la EP grave fue la sexta enfermedad más frecuente afectando al 10,8% de la población mundial. (Kassebaum y cols. 2014). En 2017, se estimó que 796 millones de personas en todo el mundo presentaban EP. En términos de incidencia, 63,5 casos por 100000 personas-año se vieron afectados por esta enfermedad (Kassebaum y cols. 2017). Existe una relación entre el nivel socioeconómico y la prevalencia de enfermedad periodontal. En general, los países más desarrollados económicamente tienen la prevalencia de EP severa más baja. (Kassebaum y cols. 2014). En la encuesta nacional de Salud y Nutrición Norteamericana (NHANES) se registraron 6 localizaciones por diente en todos los dientes excepto terceros molares y se identificó una pérdida de inserción clínica de ≥ 3 mm en el 37,4% de los dientes, una PS de ≥ 4 mm en el 10,6% de los dientes y periodontitis grave en el 8,9% de los adultos estadounidenses. (Eke y cols. 2015). En Europa, se considera que cierta pérdida de inserción periodontal es habitual, y la pérdida de dientes debido a

enfermedad periodontal es poco común. (Sheiham y Netuveli 2002). En 2003, un estudio sueco encontró que en personas de 20 a 80 años de edad el 28% mostró menos de un tercio de pérdida ósea (EP leve), el 11% tenía pérdida ósea alveolar grave y el 44% eran periodontalmente sanos con sangrado al sondaje mínimo. (Hugoson y cols. 2008). Los estudios en Alemania mostraron que la periodontitis, definida como pérdida de inserción clínica de ≥ 3 mm, ocurre en el 95% de los adultos y en el 99,2% de las personas de más de 65 años (Holtfreter y cols. 2010), y la periodontitis severa en el 16,9-48% de los adultos y las personas mayores de 65 años respectivamente. (Zhan y cols. 2014). En España, el estudio epidemiológico más reciente de salud bucodental realizado entre 5130 trabajadores mostró que entre el 40-50% de los adultos sufren algún tipo de EP. El 10,1% de los sujetos tenían bolsas periodontales graves ($PS \geq 6$ mm), y el 28,3% de los sujetos tenían bolsas periodontales moderadas ($PS = 4-5$ mm). (Carasol y cols. 2016) La prevalencia de EP grave ($PS \geq 6$ mm) aumentó hasta el 23,9% en los sujetos mayores de 55 años. Las condiciones periodontales fueron significativamente peores en los trabajadores varones, en los sujetos con nivel socioeconómico bajo, y en los fumadores y ex fumadores.

1.3. Patogénesis

Page y Schroeder establecieron en 1976 las bases de la patogénesis de la EP. Tras la inicial acumulación de placa bacteriana se producía en los primeros 2 a 4 días una vasculitis exudativa aguda que producía una pérdida de colágeno vascular. A esta respuesta la denominaron lesión inicial. Entre los 4 a 10 días, se desarrolla la lesión temprana. Se caracteriza por un infiltrado denso de linfocitos y otras células mononucleares, alteración patológica de fibroblastos y pérdida continua de tejido conectivo. La lesión temprana es seguida por la lesión establecida que se desarrolla dentro de 2 a 3 semanas y se distingue por un predominio de células plasmáticas en ausencia de pérdida ósea significativa. La lesión establecida, puede permanecer estable durante años, o puede convertirse en una lesión destructiva progresiva. En la lesión avanzada, las células plasmáticas continúan predominando, aunque son también características importantes la pérdida del hueso alveolar, ligamento periodontal, y la interrupción de la arquitectura del tejido con fibrosis. Las lesiones iniciales, tempranas y establecidas son etapas secuenciales en la gingivitis y, la lesión avanzada se manifiesta clínicamente como periodontitis. (Page y Schroeder 1976).

En el modelo clásico, el complejo microbiano está compuesta por antígenos, factores de virulencia, y en algunos casos bacterias invasoras. El huésped responde con una respuesta inflamatoria e inmune inmediata que puede influir en el complejo microbiano. La respuesta del huésped se traduce en la producción de citocinas, eicosanoides, productos de activación del complemento y metaloproteinasas de la matriz, que perpetúan la respuesta y median la destrucción del tejido conectivo y del hueso. Estos eventos encadenados están influenciados por factores (genéticos y ambientales) y la suma de ellos representa el cuadro clínico de la EP. La gravedad y la tasa de progresión de la enfermedad influyen en la naturaleza y magnitud del complejo microbiano. (Page y Kornman 1997).

A diferencia del paradigma clásico de una microflora patógena que induce inflamación, (Page y Kornman 1997) ahora reconocemos que la inflamación también contribuye a la estructura y función de la biopelícula bacteriana. (Meyle y Chapple 2015). En el modelo actual de patogénesis de la EP, la transición de salud a gingivitis y, en última instancia, a

la periodontitis, se asocia con la evolución de una biopelícula compatible con salud, a una disbiosis incipiente y luego a una disbiosis franca. Al mismo tiempo, la respuesta inflamatoria del huésped pasa de ser proporcional y resolutive a proporcional / no resolutive y luego a desproporcionada / no resolutive. (Meyle y Chapple 2015).

En el modelo actual (Figura 2), para mantener una encía sana, debe existir una relación simbiótica entre la microbiota y la respuesta del huésped. En consecuencia, el huésped puede proporcionar nutrientes clave a través del líquido crevicular gingival (LCG), y las proteínas y péptidos que liberan los microorganismos provocan una respuesta del huésped proporcional y resolutive (Marsh 2003; Van Dyke 2008). Si el biofilm no se desbrida y continua su acumulación, las condiciones comienzan a favorecer especies bacterianas, como "*Fusobacterium nucleatum*" (Fn), capaces de detectar e influir en su entorno mediante el uso de señales químicas. Tales organismos comienzan a emerger y provocan una respuesta más fuerte del huésped, que, a su vez, puede conducir al desarrollo de inflamación gingival y aumentar el suministro de ciertos nutrientes, que estimulan la proliferación de periodontopatógenos como la "*Porphyromonas gingivalis*" (Pg). (Kolenbrander y cols. 2002). Este proceso se llama "disbiosis incipiente" y en sujetos no susceptibles no progresa más allá de la gingivitis. En pacientes susceptibles, la disbiosis incipiente puede desencadenar una respuesta del huésped inapropiada, y excesiva, en la que se generan citocinas en exceso, especies reactivas de oxígeno (ROS) y metaloproteinasas de la matriz (MMP) y abruma a sus respectivos antagonistas (por ejemplo, antioxidantes e inhibidores de las metaloproteinasas de la matriz en los tejidos) lo que produce la descomposición del tejido periodontal. Se liberan los llamados péptidos moleculares asociados al daño (DAMP) y se mejora la respuesta inflamatoria. Debido a la pobre respuesta de resolución de la inflamación innata, la lesión inflamatoria periodontal se vuelve crónica. Los virus también parecen desempeñar un papel y son capaces de crear una "desregulación" en la naturaleza ordenada de la inmunidad específica. Cuando se establece el estado inflamatorio crónico que se caracteriza por intentos de curación (angiogénesis y fibrosis) que surgen al mismo tiempo que la inflamación, creando un entorno nutricional rico para mantener la disbiosis y, por lo tanto, la biopelícula patógena. La lesión periodontal está dominada por células plasmáticas y neutrófilos polimorfonucleares (NPM). Este último es responsable de la desregulación de los procesos quimiotácticos y microbianos y, como resultado, no puede liberar mediadores lipídicos pro resolución. En esta etapa, es necesaria la intervención para eliminar la biopelícula. De esta manera, las especies microbianas que promueven la salud pueden restablecerse y así producir una reducción de la inflamación. La compleja interacción entre la biopelícula promotora de la salud y las diversas vías de señalización que impulsan la respuesta del huésped parecen restaurar un repertorio inmune inflamatorio equilibrado y bien regulado. Sin embargo, existe una gran variedad con respecto al grado de reducción de biopelícula necesario para lograr la simbiosis. Por un lado, hay pacientes con bajo riesgo de desarrollar EP (pacientes resistentes a la enfermedad). Por otro lado, los pacientes de alto riesgo son aquellos que desarrollan EP inmediatamente, incluso si solo hay una acumulación leve de placa bacteriana pero suficiente para desencadenar una respuesta destructiva del huésped y, posteriormente, daño al tejido periodontal (Meyle y Chapple 2015).

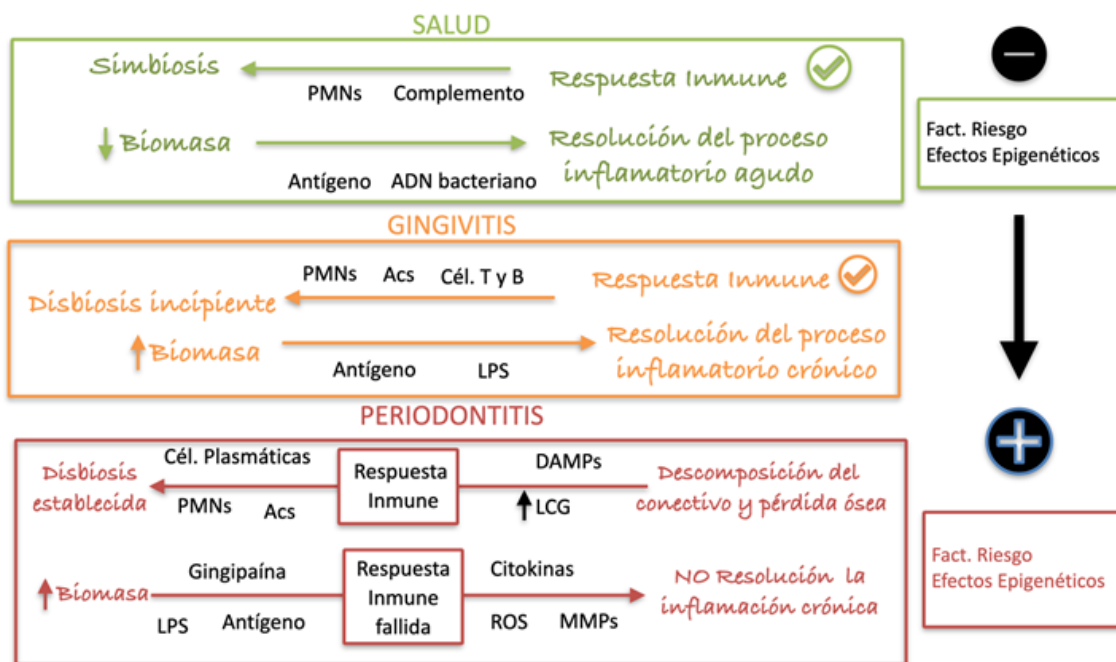


Figura 2. Modelo contemporáneo de interacciones huésped-microbio en la patogénesis de la periodontitis, en el que la respuesta del huésped provoca una disbiosis incipiente (gingivitis). Si la biopelícula no se altera / elimina, se produce una disbiosis franca y se perpetúa una enfermedad inflamatoria crónica no resuelta y destructiva. DAMP, patrones moleculares asociados a daños; LCG, líquido crevicular gingival; LPS, lipopolisacárido; MMP, metaloproteinasas de matriz; PMN, neutrófilos polimorfonucleares. Adaptado de Meyle y Chapelle (2015) y reproducido con autorización de Wiley.

1.4. Factores de riesgo

1.4.1. Edad

La relación entre la edad y la periodontitis es compleja. El concepto de la edad como factor de riesgo de periodontitis ha sido estudiado a lo largo de los años (Papapanou y cols. 1991; Papapanou y Lindhe 1992). La evidencia demostró que la acumulación de placa es más frecuente en personas mayores y, en consecuencia, gingivitis más severas (Abdellatif y Burt 1987). De la misma manera, se encontró una mayor prevalencia y gravedad de la EP con la edad (Burt 1994; Albandar y col. 1999; Dye y cols. 2007). Aunque el supuesto "efecto de la edad" podría representar en gran medida el efecto acumulativo de la exposición prolongada a factores de riesgo reales, también se ha demostrado que existen alteraciones en la inmunidad innata asociadas a la edad (Hajishengallis 2010), las cuales probablemente contribuyan a una patología periodontal más pronunciada en individuos de edad avanzada. Por lo tanto, una mayor susceptibilidad a la periodontitis relacionada con la edad, más que dependiente de la edad, en personas mayores es biológicamente plausible.

1.4.2. Género

No existe una diferencia inherente establecida entre hombres y mujeres en su susceptibilidad a la enfermedad periodontal, aunque varios estudios han demostrado que los hombres muestran peores condiciones periodontales que las mujeres en diferentes poblaciones (Brown y col. 1989; Albandar 2002a; Dye y cols. 2007). Esta mayor prevalencia de EP en hombres puede explicarse por el estilo de vida relacionado con el género. Estudios han demostrado que las mujeres presentan unas mejores prácticas de

higiene bucal (Hugoson y cols. 1998; Christensen y cols. 2003) y/o un mayor uso de atención odontológica (Yu y cols. 2001; Dunlop y cols. 2002). En España, los datos epidemiológicos demostraron que los hombres tenían más bolsas periodontales que las mujeres (43.2% versus 31.6%) (Carasol y cols. 2016).

1.4.3. Tabaco

La plausibilidad biológica de una asociación entre el tabaquismo y la periodontitis se basa en los efectos de las múltiples sustancias relacionadas con el tabaco en la estructura y función celular. Se ha demostrado que fumar afecta a la vasculatura, a las respuestas inmunes humoral y celular, a los procesos de señalización celular y la homeostasis de los tejidos (Kinane y Chestnutt 2000; Palmer y cols. 2005). Fumar produce vasoconstricción periférica (Bergström y Boström 2001; Morozumi y cols. 2004) con menor sangrado gingival lo que se traduce en menor oxígeno en la bolsa periodontal favoreciendo la colonización bacteriana (Genco y Borgnakke 2013; Kumar y cols. 2011), la agregación bacteriana (Bagaitkar y cols. 2011), y una mayor colonización de patógenos periodontales (Haffajee y Socransky 2001; Shchipkova y cols. 2010; Kubota y cols. 2011). Además, la nicotina deteriora la función de los neutrófilos haciéndolos más sensibles a las bacterias (Soder y cols. 1999), inhibiendo la proliferación, quimiotaxis y fijación de fibroblastos del periodonto provocando una peor cicatrización y regeneración periodontal (Cuff y cols. 1989; James y cols. 1999).

Se ha demostrado que fumar está fuertemente asociado con la EP independientemente de la acumulación de placa bacteriana (Grossi y col. 1994, 1995). El peor estado periodontal de los fumadores no se puede atribuir a un peor control de placa bacteriana (Bergström 1989). Fumar se considera un factor de riesgo importante para la EP. Un metaanálisis de 6 estudios en 2361 sujetos mostró que fumar estaba asociado con la presencia de EP, con un odds ratio (OR) de 2,82 [intervalo de confianza (IC) del 95%: 2,36-3,39] (Papapanou 1996). Los estudios que han examinado los efectos del tabaquismo en el resultado de las diferentes modalidades de tratamiento periodontal (terapia no quirúrgica, quirúrgica y regenerativa) han demostrado el efecto negativo del tabaquismo con una peor respuesta de los fumadores con respecto a los exfumadores y los no fumadores. (Kaldahl y cols. 1996; Grossi y cols. 1997; Kinane y Radvar 1997; Tonetti y cols. 1998). De la misma manera, los metaanálisis de los efectos del tabaquismo en el resultado de la terapia periodontal (García 2005; Labriola y cols. 2005; Patel y cols. 2012) muestran que los pacientes que fumaron experimentaron una menor reducción de la PS que los no fumadores. Igualmente, si se abandona el hábito de fumar los pacientes periodontales experimentarán menor progresión de la pérdida ósea alveolar (Bolin y cols. 1993), así como una reducción significativa en la PS (Preshaw y cols. 2005).

1.4.4. Diabetes

La diabetes es un grupo de trastornos metabólicos caracterizados por defectos en la producción de insulina, acción de la insulina, o ambos, que conducen a un metabolismo anormal de la glucosa. La hiperglucemia resultante que caracteriza a los dos tipos principales de diabetes (tipo 1 y tipo 2) está asociada con una serie de complicaciones agudas y crónicas, y puede llegar a afectar a todos los órganos del cuerpo, incluidos los tejidos periodontales. La hiperglucemia que caracteriza a la diabetes impulsa la formación de productos finales de glicosilación avanzada (AGE) y conduce a una mayor expresión y activación de su principal receptor (RAGE). La interacción AGE-RAGE afecta

negativamente el fenotipo y la función celular, lo que aumenta la inflamación, la producción de especies reactivas de oxígeno o el estrés oxidativo y compromete la reparación del tejido. La hiperglucemia también promueve el estrés oxidativo directamente, y tanto la inflamación como el estrés oxidativo pueden contribuir a una mayor formación de AGEs. Estos mecanismos, junto con el impacto de los patógenos periodontales, perpetúan este círculo vicioso de estrés inflamatorio y reparación deteriorada en el periodonto diabético. El resultado de todas estas vías complejas es la destrucción acelerada del tejido periodontal observada en la diabetes. (Taylor y cols. 2013)

Puesto que, la inflamación es una característica central de ambas enfermedades se han estudiado diversos marcadores de inflamación sistémica. Se han encontrado mayores niveles de factor de necrosis tumoral α (TNF- α), interleucina-1 β (IL-1 β) y prostaglandina E2 (PGE2) en pacientes con diabetes con respecto a los no diabéticos con el mismo estado periodontal (Salvi y cols. 1997a, 1997b; Engebretson y cols. 2004). Además, se encontraron marcadores inflamatorios sistémicos elevados en los diabéticos (Dandona y cols. 2004).

La evidencia epidemiológica demuestra que el estado periodontal de los pacientes con diabetes es peor cuanto peor sea el control metabólico. En el estudio a dos años de seguimiento de los Indios Pima diabéticos tipo II, los sujetos diabéticos mal controlados tenían 11 veces más probabilidades (IC 95% 2,5-53,3) de tener una progresión de pérdida ósea mayor que los sujetos no diabéticos. (Taylor y cols. 1998). Además, parece que la diabetes precede a la EP, ya que se observó un riesgo relativo ajustado (RR) de incidencia de EP de 2,6 (IC 95%: 1,0-6,6) en pacientes con diabetes tipo 2 en comparación con los no diabéticos (Nelson y cols. 1990). Además, los estudios demuestran una relación dosis-dependiente entre el control metabólico deficiente y la gravedad, así como la progresión de la periodontitis (Seppälä y cols. 1993; Tervonen y Oliver 1993; Taylor y cols. 1998; Tervonen y Karjalainen 1997). También se ha encontrado mayor EP en sujetos con estado pre-diabético. (Löesche y cols. 2000). Asimismo, los resultados del NHANES mostraron una mayor prevalencia de EP en mujeres con diabetes gestacional. (Novak y cols. 2006). Por otra parte, en un estudio realizado en Finlandia donde los pacientes diabéticos tipo I recibieron terapia periodontal no quirúrgica se encontró que los sujetos con control metabólico deficiente exhibieron un mayor grado de NIC ≥ 3 mm al inicio del estudio y una mayor recurrencia de PS ≥ 4 mm durante el seguimiento. (Tervonen y Karjalainen 1997)

1.4.5. Obesidad y síndrome metabólico

La obesidad implica un estado hiperinflamatorio y un metabolismo lipídico aberrante, así como resistencia a la insulina (Saito y cols. 1998; Nishimura y Murayama 2001). Todo ello, puede producir una destrucción acelerada de los tejidos periodontales. De hecho, en la base de datos NHANES III varios estudios han indicado una asociación positiva entre obesidad [índice de masa corporal (IMC) ≥ 30 kg / m²] y periodontitis. En un estudio en sujetos caucásicos se asoció el IMC, la proporción cintura-cadera, la grasa visceral y la masa libre de grasa con EP después de ajustar por edad, sexo, antecedentes de diabetes, tabaco y estado socioeconómico. (Wood y cols. 2003). En 2011, se publica un metaanálisis de 19 estudios encontrando una asociación estadísticamente significativa entre la periodontitis y obesidad con una OR 1,81 (IC 95%: 1,42-2,30), con el sobrepeso con una OR 1,27 (IC 95%: 1,06-1,51) y con obesidad y sobrepeso combinados con una OR 2,13 (IC 95% 1,40-3,26). (Suvan y cols. 2010). En los individuos obesos, debido a la

producción de numerosas moléculas proinflamatorias del tejido adiposo se observa una respuesta inflamatoria elevada. En otro estudio, los sujetos con sobrepeso y con el índice de resistencia a la insulina en el cuartil superior tenían 1,5 veces más probabilidades de tener periodontitis en comparación con los sujetos con un IMC alto pero un índice bajo de resistencia a la insulina. La obesidad se asocia con altos niveles plasmáticos de TNF α y sus receptores solubles, lo que a su vez puede conducir a un estado hiperinflamatorio que aumenta el riesgo de enfermedad periodontal y también explica en parte la resistencia a la insulina. (Genco y cols. 2005). Las adipocitocinas como la adiponectina o la leptina medidas en suero están elevadas en pacientes con EP (Saito y cols. 2008; Karthikeyan y Pradeep 2007). De hecho, la leptina parece ser un mediador proinflamatorio que interviene en la asociación entre la EP y el infarto agudo de miocardio (Gundala y cols. 2014) o la migraña crónica (Leira y cols. 2017a). En sujetos que presentan el síndrome metabólico (obesidad abdominal, dislipidemia, hipertensión y glucosa plasmática alterada en ayunas) se observa una respuesta inflamatoria sistémica crónica elevada. Puede ser, que la elevada respuesta inflamatoria sistémica observada en individuos obesos aumente la respuesta inmunopatológica destructiva de estos individuos a la microflora periodontal, lo que resulta en una mayor destrucción de los tejidos periodontales. (Genco y Borgnakke 2013). Un estudio mostró que las mujeres que tenían 3 o más componentes del síndrome metabólico tenían un riesgo 2 veces mayor de desarrollar EP (OR = 2,1, IC 95%: 1,2-3,7). Siendo, la obesidad abdominal el factor predominante en la asociación. (Andriankaja y cols. 2010). Otro estudio, en el que se incluyó una muestra representativa a nivel nacional de 7188 sujetos en Corea, encontró una OR ajustada de sufrir periodontitis presentando síndrome metabólico de 1,55 (IC 95%:1,32-1,83) (Kwon y cols. 2011).

1.4.6. Osteoporosis, calcio y vitamina D en la dieta.

Los datos del NHANES III estiman que entre el 13 y el 18%, o entre 4 y 6 millones de mujeres, tienen osteoporosis. En hombres, la prevalencia es menor, entre el 3–6%, o 1–2 millones. (Looker y cols. 1997). El principal factor de riesgo de osteoporosis en las mujeres es la menopausia, que se asocia con una producción reducida de estrógenos que da como resultado un aumento de la reabsorción ósea (Recker y cols. 2004). Además, debido a que la menopausia se asocia con un aumento de la reabsorción ósea, probablemente se vean afectados otros procesos de enfermedad que implican la pérdida ósea, incluida la enfermedad periodontal y la pérdida de dientes. En 2010, se publica una revisión sistemática donde se encontró una asociación entre la osteoporosis sistémica y la presencia de EP en la mayoría de los estudios (18 positivos versus 3 negativos) cuando se basaron en parámetros radiológicos, mientras que cuando la EP se evaluó mediante parámetros clínicos (6 positivos versus 5 negativos) los hallazgos no fueron concluyentes (Martínez-Maestre y cols. 2010). Varios estudios encontraron que la baja ingesta de calcio en la dieta se asociaba con un mayor riesgo y gravedad de la enfermedad periodontal. (Nishida y cols. 2000) (Shimazaki y cols. 2008). Otro estudio, muestran que los suplementos de calcio y vitamina D utilizados para prevenir o tratar la osteoporosis también parecen tener efectos beneficiosos sobre el mantenimiento de los dientes (Krall y cols. 1996). Además, un estudio controlado aleatorizado con seguimiento a 5 años, encontró que los sujetos bajo terapia de mantenimiento que tomaron calcio y vitamina D perdieron menos dientes que los sujetos que no tomaron suplementos. (Miley y cols. 2009).

1.4.7. Estrés

Una revisión sistemática que incluyó 5 estudios mostraron una asociación positiva entre el estado de estrés psicosocial y la EP. (Peruzzo y cols. 2007). Además, en 4 de los 5 estudios se encontró que cuanto más severo es el estrés, mayor es la intensidad de la EP. En otro estudio se demostró que los adultos que estaban bajo presión financiera y exhibían malos comportamientos de afrontamiento tenían un mayor riesgo de periodontitis severa en comparación con los sujetos que demostraron buenos patrones de comportamiento de afrontamiento bajo una tensión financiera similar, o con controles sin ninguna tensión financiera. (Genco y cols. 1999). En una muestra de 1089 adultos en zonas rurales de Japón, el estrés relacionado se asoció positivamente con la pérdida de inserción clínico después del ajuste de factores confusores (Akhter y cols. 2005). Se encontraron hallazgos similares en otro estudio de una población inmigrante de Etiopía, en el que el estrés psicológico se asoció positivamente con mayor número de bolsas periodontales profundas (Vered y cols. 2011). Los mecanismos por los cuales el estrés psicosocial puede afectar el estado periodontal son complejos. Se ha sugerido que una de las vías plausibles puede implicar cambios de comportamiento que conducen al tabaquismo y a una mala higiene bucal que, a su vez, puede afectar la salud periodontal (Genco y cols. 1998). Sin embargo, algunos estudios han comenzado a arrojar luz sobre los mecanismos básicos que pueden explicar el vínculo entre el estrés psicosocial y la periodontitis. En un estudio en humanos, los niveles de cortisol salival (indicativos de estrés psicológico) se asociaron positivamente con la prevalencia y la gravedad de la periodontitis (Hilgert y cols. 2006). Además, el cortisol salival fue un predictor de pérdida de inserción periodontal ≥ 5 mm (Rai y cols. 2011; Rosania y cols. 2009).

1.4.8. Genética

La evidencia de que las predisposiciones genéticas son determinantes del fenotipo de periodontitis se documentó por primera vez en varios estudios clásicos en gemelos (Michalowicz y cols. 1991) y en familias (Boughman y cols. 1992; Marazita y cols. 1994). Se ha demostrado que la agregación familiar de formas agresivas de EP a menudo es alta entre ciertas familias (40-50%) (Meng y cols. 2011). En formas crónicas de EP, el factor genético no está claro y sigue siendo controvertido. (Torres de Heens y cols. 2010).

La asociación de polimorfismos de genes con diferentes formas de periodontitis, se ha estudiado ampliamente. Hay algunos datos interesantes en relación con los polimorfismos de Interleucina-1(IL-1), en los que se encontró que las variaciones genéticas de IL-1A e IL-1B contribuyeron significativamente a la EP crónica (Karimbux y cols. 2012). Sin embargo, una revisión sistemática de estudios longitudinales que examinó el genotipo IL-1 como un predictor de la progresión de la periodontitis o de los resultados del tratamiento periodontal no logró establecer una asociación significativa (Huynh-Ba y cols. 2007).

1.5. Relación de la EP y las enfermedades sistémicas.

Dos enfermedades pueden acontecer de forma simultánea o bien pueden desarrollarse secuencialmente, donde la progresión o exacerbación de una de ellas puede afectar a la otra. Se han definido los criterios para establecer una asociación causal entre dos enfermedades y se conocen como los criterios de Bradford Hill. Estos incluyen asociación epidemiológica, plausibilidad biológica y el impacto de la intervención de una

enfermedad en la otra. Existe gran cantidad de evidencia científica acerca de la asociación de periodontitis con otras enfermedades sistémicas. Se han postulado tres mecanismos como responsables de las asociaciones entre periodontitis y determinadas condiciones sistémicas. (Van Dyke y Van Winkelhoff 2013)

1.5.1. Mecanismos Infecciosos

Las bacterias periodontales y sus factores de virulencia inducen a las células para que produzcan mediadores inflamatorios a nivel gingival. Esto no se limita únicamente a los tejidos periodontales sino que las bacterias y los mediadores inflamatorios pueden pasar a la sangre y diseminarse sistémicamente teniendo un impacto medible en la inflamación sistémica que implica al endotelio y las células inmunológicas. (Reyes y cols. 2013, Schenkein y Loos 2013). La evidencia epidemiológica que relaciona la periodontitis con la progresión de enfermedades sistémicas, se asocia tanto con bacteriemias como con niveles elevados de diversos marcadores de inflamación sistémica. (Loos 2005). La bacteriemia proviene de la alteración de los tejidos periodontales ulcerados tras simples acciones como son el cepillado dental o el acto de comer, diseminándose bacterias enteras, sus productos y toxinas como el lipopolisacárido (LPS) (Kinane y cols. 2005). Las infecciones no orales producidas por patógenos orales fueron descritas por primera vez hace décadas e incluyen, entre otras, endocarditis, infecciones pulmonares y abscesos hepáticos o cerebrales (van Winkelhoff y Slots 1999). Mediante el uso de técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se ha detectado ADN de bacterias periodontales en ateromas carotídeos y en otras localizaciones patológicas distantes de la fuente, confirmando la capacidad de estas células de invadir la barrera endotelial y poner en marcha una respuesta local (Haraszthy y cols. 2000). Se han detectado ciertas bacterias, incluida la “*Porphyromonas gingivalis*”, en los leucocitos circulantes y en las lesiones ateroscleróticas, donde pueden actuar como estímulos pro-aterogénicos. Asimismo, se encontraron otras bacterias periodontales, como “*Fusobacterium nucleatum*”, en la placenta, donde pueden causar resultados adversos en el embarazo. Las bacterias también pueden desencadenar un estado protrombótico, pero diseminarse a ubicaciones lejanas afectando la función de las plaquetas o viajando hacia las células del hospedador (células dendríticas) y activar procesos inflamatorios locales. En algunos casos, crecen en los tejidos produciendo enfermedad, como ocurre en los pulmones (Raghavendran y cols. 2007). También se han descrito casos de conjuntivitis anaerobia causada por tres patógenos periodontales (Van Winkelhoff y cols. 1991)

1.5.2. Mecanismos Inflamatorios

En condiciones de periodontitis, el epitelio subgingival ulcerado e inflamado de la bolsa se muestra vulnerable a las bacterias y proporciona una vía de entrada de las bacterias periodontales, así como de sus compuestos bacterianos como LPS que también pueden diseminarse al torrente sanguíneo. Normalmente, los microorganismos que llegan a la sangre son eliminados en cuestión de segundos por el sistema retículo-endotelial (bacteriemia transitoria) sin síntomas clínicos (Li y cols. 2000). Sin embargo, es plausible que los LPS junto con antígenos bacterianos pueden desencadenar procesos inflamatorios sistémicos significativos. En consecuencia, los glóbulos blancos (p. Ej., NPM) y las células endoteliales (EC) y los hepatocitos pueden producir mediadores proinflamatorios inmunes [citoquinas, quimioquinas, proteína C reactiva (CRP)]. Las citoquinas proinflamatorias circulantes inducen leucocitosis y proteínas de fase aguda [CRP, proteína amiloide A sérica, fibrinógeno, inhibidor del activador del plasminógeno-1,

proteínas del complemento]; todos implicados en las condiciones sistémicas asociadas con periodontitis. Además, las moléculas proinflamatorias producidas localmente (es decir, IL-1 β , TNF- α , IL-6 y PGE2) se vierten en la circulación sistémica y ejercen efectos sobre sistemas de órganos distantes (Moutsopoulos y Madianos 2006). Por ejemplo, pueden afectar el hígado y provocar una respuesta de fase aguda que afectaría a su vez a otros órganos. (Amar y cols. 2003, Elter y cols. 2003). Por lo tanto, la EP provoca un estado inflamatorio sistémico de bajo grado. En este contexto, recientemente se propuso un mecanismo alternativo o adicional que vincula la periodontitis con la inflamación sistémica a través de la ingesta de grandes cantidades de bacterias orales presentes en la saliva hacia el intestino. La ingestión de Pg pueden causar alteraciones en la microbiota intestinal, lo que conduce a un aumento de la permeabilidad epitelial intestinal y la endotoxemia, que causa inflamación sistémica. Aunque independientes, los eventos representados no son mutuamente excluyentes y podrían, en principio, ocurrir simultáneamente. (Hajishengallis, G. 2015). Cuando las citocinas proinflamatorias producidas en la lesión periodontal se vierten en el torrente sanguíneo puede provocar una respuesta de fase aguda que produce una serie de eventos encadenados, como cambios inflamatorios en el endotelio, regulación positiva de las moléculas de adhesión vascular, promoción de la producción de citocinas y, finalmente, inicio y aceleración del desarrollo del ateroma (Schenkein y Loos 2013) Los pacientes periodontales tienen episodios bacteriémicos frecuentes con LPS presente en la circulación sistémica. Además, los datos experimentales demostraron que la infección por Pg podría promover respuestas inflamatorias en órganos distantes de la cavidad oral (es decir, ateroma) (Gibson y cols. 2006; Gibson y Genco 2007).

Por otra parte, cuando hay enfermedad periodontal se produce un estado protombótico (Bizzarro y cols. 2007). El fibrinógeno es un marcador protrombótico indicador de inflamación sistémica considerado como un marcador de riesgo de aterosclerosis cuando se encuentra elevado. Este marcador y sus productos de degradación se pueden encontrar en ateromas que provocan la producción de citocinas. Se ha demostrado que los niveles de fibrinógeno aumentan casi el doble OR 1,88 (95% CI: 1,25-2,83) en pacientes con más de 15 bolsas periodontales (Schwahn y cols. 2004) y, si se trata la EP, se podría observar una reducción significativa en los niveles de fibrinógeno (Hussain Bokhari y cols. 2009).

Otro marcador trombótico, el inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1), implicado en la aterosclerosis se encuentra elevado en pacientes con EP avanzada (Bizzarro y cols. 2007).

Además, la infección puede modificar las propiedades fisiológicas de los lípidos séricos. Con respecto a la EP, el LPS plasmático junto con las respuestas de fase aguda a la diseminación de bacterias sistémicas podría promover una mayor biosíntesis de colesterol en el hígado y se transporta como lípidos séricos capaces de unirse al LPS de las bacterias orales. En base a esto, las infecciones periodontales promueven la dislipidemia e interactúan con los lípidos séricos para potenciar su aterogenicidad (Schenkein y Loos 2013).

1.5.3. Inmunidad

La inflamación periodontal comienza como una respuesta protectora contra la biopelícula bacteriana. En individuos susceptibles, la inflamación periodontal fracasa y

la inflamación crónica se convierte en patología periodontal con un impacto sistémico. La respuesta inflamatoria aguda es un mecanismo de protección, pero el fracaso en la eliminación de las células inflamatorias, especialmente de neutrófilos, caracteriza la lesión patológica crónica. La eliminación rápida y completa de los leucocitos de la lesión es el resultado ideal después de un episodio inflamatorio (Van Dyke 2007). Por consiguiente, una resolución inadecuada y el fracaso en devolver la homeostasis tisular tiene como resultado una destrucción mediada por neutrófilos e inflamación crónica (Van Dyke y Serhan 2003), con destrucción de la matriz extracelular y del hueso, cicatrización y fibrosis (Van Dyke 2008). Es evidente, que los sistemas innato y adaptativo están involucrados de manera coordinada en la respuesta inflamatoria y en los procesos de destrucción tisular, a pesar de que no se comprende por completo el mecanismo en muchas condiciones sistémicas, incluyendo periodontitis, obesidad, diabetes, artritis reumatoide y enfermedades cardiovasculares (Van Dyke 2007).

2. Migraña

2.1. Concepto y clasificación

La migraña es un tipo de cefalea primaria que se define por sus características clínicas, que incluyen episodios recurrentes de cefalea que duran entre 4 y 72 horas. El dolor suele ser unilateral, pulsátil, de intensidad moderada o grave. A menudo se asocia con síntomas vegetativos como náuseas y vómitos, se suelen agravar con la actividad física habitual y generalmente se acompañan de hipersensibilidad a la luz y al ruido. (Headache Classification Committee of the International Headache Society. 2013).

La última versión de la Clasificación Internacional de Cefaleas (IHCD) (Headache Classification Committee of the International Headache Society. 2013) categoriza la migraña según dos criterios básicos: su frecuencia y la presencia o ausencia de déficits neurológicos asociados. Según la frecuencia de los ataques, se distingue entre migraña crónica (MC) (cuando hay 15 o más días de dolor de cabeza al mes por más de tres meses) y migraña episódica (ME) si los ataques son menos frecuentes. Según los síntomas de disfunción neurológica focal, se hace una distinción entre migraña con aura (McA) y migraña sin aura (MsA).

Tabla 2.1 Criterios diagnósticos para ME sin aura según IHCD, 3ra Edición (ICHHD-3)

A. Al menos 5 ataques de migraña que cumplan los criterios B-D
B. Duración del ataque entre 4 y 72 horas (cuando no han sido tratados o el tratamiento no ha tenido éxito)

C. La cefalea presenta al menos dos de las siguientes cuatro características: 1. Localización unilateral 2. Pulsatilidad 3. Intensidad de dolor moderada o grave 4. Agravamiento con la actividad física rutinaria o condicionante para que se limite esa actividad
D. Durante el dolor se asocia, al menos, uno de los siguientes síntomas 1. Náuseas, vómitos o ambos 2. Fotofobia y sonofobia
E. El dolor no se atribuye a otra enfermedad

Tabla 2.2. Criterios diagnósticos para ME con aura según ICHD, 3ra Edición (ICHD-3)

A. Al menos dos crisis que cumplan los criterios B y C.
B. Uno o más de los síntomas de aura siguientes totalmente reversibles: Visuales 1. Sensitivos 2. Lenguaje/habla 3. Motor 4. Troncoencefálicos 5. Retinianos
C. Al menos dos de las siguientes seis características: - Al menos uno de los síntomas del aura se propaga gradualmente durante ≥ 5 minuto - Dos o más síntomas de aura ocurren consecutivamente - Cada síntoma de aura individual dura entre 5 y 60 minutos - Al menos uno de los síntomas del aura es unilateral. - Al menos uno de los síntomas del aura es positivo - El aura va acompañada o seguida de un dolor de cabeza dentro de los 60 minutos.
D. No encaja en ninguna otra categoría de diagnóstico ICHD-3

Tabla 2.3. Criterios diagnósticos para MC según ICHD, 3ra Edición (ICHD-3)

A. Cefalea (tipo migraña o cefalea tensional) ≥ 15 días al mes durante > 3 meses, que cumple los criterios B y C

B. Ocurre en un sujeto que ha tenido al menos cinco ataques que cumplen con los requisitos.	
Criterio diagnóstico para McA o MsA	
C. En ≥ 8 días al mes durante 3 meses, cumpliendo cualquiera de los siguientes:	
1.	Criterios C y D para McA
2.	Criterios B y C de MsA
3.	El paciente piensa que es una migraña y el dolor se alivia con un triptán o un ergótico
D. No encaja en ninguna otra categoría de diagnóstico ICHD-3	

2.2. Epidemiología, impacto social y económico

La migraña aún constituye, hoy en día, una de las enfermedades neurológicas más infradiagnosticadas y menos tratadas (Ferrari 1998). Es el motivo de consulta más frecuente en neurología, no solo por su elevada prevalencia sino también por afectar negativamente a la calidad de vida de quienes la presentan. (Pascual y cols.1995) Las estimaciones de prevalencia son dispares. Un metaanálisis basado en 24 estudios concluyó que, a pesar de las diferencias metodológicas, las estimaciones de prevalencia oscilaban entre 11,2% a 25% en mujeres y 4% a 9,5% en hombres en países occidentales (Stewart WF y cols. 1995). Más recientemente, otro estudio mostró cifras de prevalencia del 18,2% en mujeres y del 6,5% en hombres (Lipton y cols. 2001). Según la Encuesta Global Burden of Disease publicada en 2018 (GBD 2016 Headache Collaborators. 2018), la migraña presenta una prevalencia general del 14,4 %, una prevalencia en mujeres del 18,9 % y en hombres del 9,8 %. La prevalencia acumulada a lo largo de la vida se estima en alrededor del 43 % en mujeres y del 18 % en hombres (Stewart y cols. 2008). Esta diferencia de género disminuye durante la niñez y después de la menopausia. En cuanto a la edad, el grupo poblacional más afectado son las mujeres entre 18 y 44 años, donde la prevalencia es del 23,5% (Burch y cols. 2015). En cuanto a los estudios de incidencia, la mayor incidencia en mujeres se da entre los 14 y 17 años, y en hombres unos años antes, entre los 10 y 11 años (Stewart y cols. 1992).

Con respecto a la MC, que es la forma más incapacitante de migraña (Lanterini-Minet y cols. 2011), la prevalencia en la población general oscila entre el 0,9 y el 5,1%. La prevalencia es de 2,5 a 6,5 veces mayor en mujeres que en hombres (Natoli JL y cols. 2010). Se han realizado diversos estudios socioeconómicos que han intentado estimar el coste sanitario de la migraña crónica. (Bloudek y cols. 2012; Munakaka y cols. 2009; Stokes y cols. 2011) El International Burden of Migraine Study (IBMS) comparó el coste de la migraña crónica y de la migraña episódica en cinco países europeos (Inglaterra, Francia, Alemania, Italia y España). En este estudio encontraron que los pacientes con migraña crónica utilizaban más recursos sanitarios, debido a un mayor número de visitas al hospital, un mayor empleo de fármacos para la migraña y un mayor uso de exploraciones complementarias, que los pacientes con migraña episódica. El coste sanitario medio de los pacientes con migraña crónica era tres veces superior al de los que padecían migraña episódica. La MC se acompaña de varias comorbilidades: trastornos del sueño, fatiga, dolor crónico y otras enfermedades neurológicas, psiquiátricas,

cerebrovasculares, cardiovasculares y gastrointestinales. En relación a los pacientes con ME, las personas con MC tienen el doble de probabilidades de padecer depresión, ansiedad y otras formas de dolor crónico, así como trastorno bipolar, patologías respiratorias [como asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), patologías cardíacas y factores de riesgo vascular (hipertensión y dislipidemia) (Schwedt 2014)]. Los datos presentados hasta ahora muestran la importancia de la migraña en la salud individual y en los sistemas de atención médica. El impacto de la migraña deriva de su prevalencia, de su incidencia y del perfil demográfico de los individuos que la padecen, lo que condiciona un mayor impacto social y laboral. Las consecuencias personales y comunitarias son aún mayores para MC.

2.3. Fisiopatología

La migraña es un trastorno multifactorial que afecta a la excitabilidad cerebral y a la regulación sensorial y se manifiesta como dolor de cabeza, aunque en ocasiones se acompaña de determinados fenómenos neurológicos. No se conocen por completo los mecanismos fisiopatológicos que inician y perpetúan un ataque de migraña. Se acepta que la susceptibilidad genética individual, junto con diversos factores epigenéticos, conduce a la activación de una serie de mecanismos que desencadenan los ataques. Estos mecanismos implicados son diversos; involucran algunos núcleos hipotalámicos, el fenómeno de la depresión cortical propagada (DCP), la inflamación estéril, la activación del sistema trigémino-vascular (STV) y el papel regulador de los núcleos del tronco encefálico en la transmisión del dolor. La heterogeneidad clínica de la migraña y la diversidad de tratamientos disponibles son prueba de la variedad de mecanismos implicados en su origen. No es fácil llegar a una teoría unitaria de la migraña que incluya todos los diferentes aspectos afectados en este trastorno. La investigación sobre un posible generador de dolor es extensa, aunque aún no se podido esclarecer si alguna de las estructuras implicadas en la fisiopatología de la migraña juega un papel más destacado o causal, o si, por el contrario, la activación de todos estos elementos son consecuencia de la presencia del dolor (De Simone y cols. 2013).

Se han descrito clásicamente dos teorías acerca de la patogénesis de la migraña: la teoría vasogénica y la teoría neurogénica. Ambas teorías por separado no lograron justificar todos los fenómenos que suceden en las crisis de migraña, por lo que las teorías más recientes tratan de unificar ambas.

En 1660, Thomas Willis describió por primera vez la importancia de los factores vasculares en la patogénesis de la migraña. Más tarde, en el siglo XX Wolf propuso que el fenómeno del aura se debía a una vasoconstricción transitoria de las arterias intracraneales y que el dolor aparecía por una vasodilatación de rebote en los vasos cerebrales y meníngeos. (Graham y Wolff 1938). En los últimos años los estudios han confirmado que la vasodilatación no es necesaria para que se produzcan las crisis de migraña por lo que se descartó esta teoría.

La teoría neurogénica se basa en que los acontecimientos neuronales producen alteraciones en el flujo sanguíneo cerebral concepto denominado depresión cortical propagada (DCP) y descrito por Lashley y Leão (Lashley 1941). En 1944, Leao observa este fenómeno en estudios de experimentación animal y postula que constituye el fundamento del aura migrañosa (Dalesio 1985). (Figura 3)

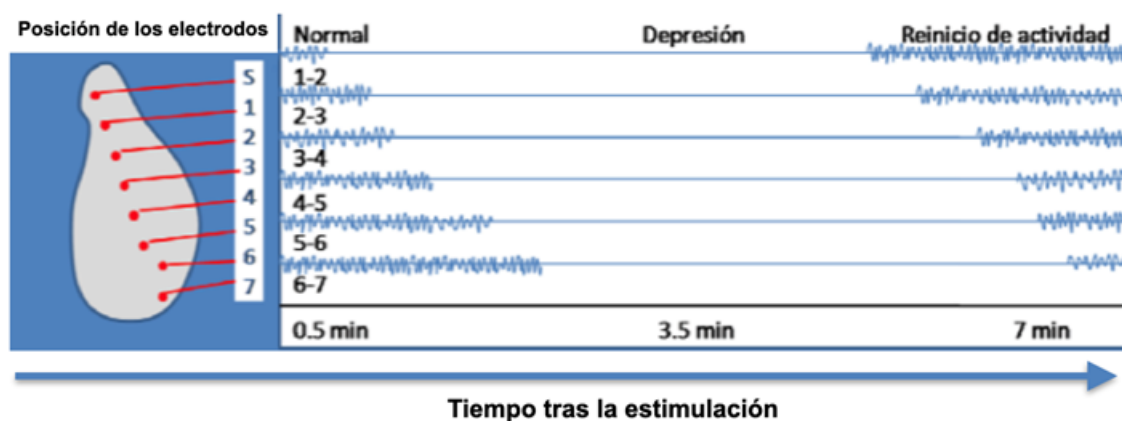


Figura 3. Depresión Cortical Propagada (Figura modificada de Rodríguez Osorio, 2010 y reproducido con autorización).

Durante un ataque de migraña se produce una fase de hiperperfusión de breve duración seguida de otra relativamente prolongada de hipoperfusión (con una reducción del flujo sanguíneo cerebral regional del 20-30%) que se corresponde con la DCP. Es el reflejo de una onda de despolarización neuronal y glial que continúa con una supresión de la actividad neuronal, de mayor duración.

Estudios de imágenes revelaron que existía una vasodilatación inicial al inicio del aura visual que progresaba a lo largo del córtex occipital a una velocidad de 3.5 ± 1.1 mm/min. (Sanchez del Río y cols. 1999) Esta vasodilatación se seguía de una hipoperfusión. La teoría neurogénica sólo serviría para explicar fenómenos subyacentes a la migraña con aura ya que en la migraña sin aura no se han demostrado alteraciones del flujo sanguíneo cerebral regional.

Puesto que ambas teorías no sirven para justificar todos los fenómenos que suceden en una crisis de migraña, surgen los primeros intentos de unificar ambas teorías. Se sugiere entonces que la migraña tendría como desencadenante inicial un fenómeno de origen neuronal, aunque el dolor secundario de características migrañosas tendría su origen en los vasos sanguíneos extracerebrales, preferentemente meníngeos.

2.3.1 Fases de la migraña

Los mecanismos implicados en la fisiopatología de la migraña deberían ser capaces de explicar las diferentes fases de la migraña: fase prodrómica, fase de cefalea, aura y fase posdrómica.

2.3.1.1 Fase prodrómica

El ataque de migraña se inicia con la fase prodrómica, antes denominada fase premonitoria, descrita por primera vez en 1980 por (Blau 1980). Los síntomas prodrómicos ocurren horas o días antes del aura en la migraña con aura y antes de la cefalea en migraña sin aura. Su inicio y duración, sin embargo, no están claramente definidos y no existen biomarcadores que la diferencien adecuadamente. El ICHD sugiere

que los síntomas prodrómicos pueden comenzar horas o uno o dos días antes que los otros síntomas de un ataque de migraña, con una duración de hasta 48 horas. Los cambios funcionales observados en los estudios de imágenes por resonancia magnética (RM) realizados prospectivamente durante todo el ciclo de la migraña respaldan este período de tiempo (Schulte y May 2016; Schulte y cols. 2020).

La fase prodrómica comienza en el sistema nervioso central (SNC). En particular, un estudio de RM de ataques desencadenados y espontáneos mostró activación en las regiones posterior y lateral del hipotálamo y el segmento ventral del mesencéfalo adyacente en la etapa más temprana de la fase prodrómica (Schulte y May 2016). La activación de estas regiones y sus conexiones centrales con el sistema límbico podría explicar por qué la migraña se desencadena comúnmente por alteraciones en la homeostasis (es decir, cambios en los ciclos de sueño y vigilia, comidas perdidas) y también algunos de los síntomas durante la fase premonitoria, es decir. bostezos, poliuria, antojos de alimentos.

Estos cambios a nivel supratentorial pueden ser los eventos iniciadores de alteraciones posteriores que ocurren a nivel del tronco encefálico (Cady y cols. 2002). La sustancia gris periacueductal (PAG) y la protuberancia dorsal, en la región del locus coeruleus noradrenérgico y del núcleo del rafe dorsal serotoninérgico, también muestran activación selectiva durante la fase prodrómica (Cady y cols. 2002). Estas regiones son clave para modular la intensidad de los estímulos sensoriales (es decir, luz, sonido), el flujo sanguíneo cerebral, la nocicepción y la excitabilidad de las neuronas corticales y subcorticales y las células gliales.

Un 70,0% de los pacientes que padecen McA o MsA experimentan síntomas prodrómicos, pero no en todos los ataques (Giffin y cols. 2003). Las alteraciones del estado de ánimo, los dolores musculares, los antojos de alimentos, los cambios cognitivos, la retención de líquidos y los bostezos son los más comunes. La identificación de los síntomas prodrómicos podría permitir enfoques conductuales y de tratamiento que podrían mitigar o prevenir la fase de dolor de cabeza de la migraña.

2.3.1.2 Fase del aura

Ocurre en el 30% de los pacientes con migraña. Un aura implica síntomas neurológicos focales y reversibles que a menudo preceden a la cefalea. Rara vez puede aparecer después del inicio del dolor. Estos síntomas pueden ser muy variados y suelen durar entre 5 y 60 minutos. El aura visual ocurre en aproximadamente el 90% de los pacientes con McA, mientras que las parestesias son el segundo síntoma más común. Pueden presentarse disfunción del lenguaje o síntomas de disfunción del tronco encefálico, aunque menos frecuentes. En un subtipo raro de migraña, la migraña hemipléjica, se produce un déficit motor.

Se cree que la DCP es la causa fisiológica subyacente de la fase de aura de la migraña (Pietrobon y Moskowitz 2013). La DCP es una despolarización extrema de las membranas de las células gliales y neuronales que provoca la interrupción de los gradientes iónicos, un aumento de las concentraciones de potasio extracelular, la liberación de glutamato y un aumento transitorio seguido de una disminución del flujo sanguíneo cerebral (Schain y cols. 2017; Zhang y cols. 2011; Burstein y cols. 2012; Ayata y Lauritzen 2015; Nosedá y Burstein 2013).

2.3.1.3 Fase de cefalea

Los tres elementos que intervienen en la fisiopatología del dolor son: los núcleos del tronco cerebral (núcleo caudal del trigémino, sustancia gris periacueductal), la corteza cerebral y los vasos meníngeos y su inervación por el trigémino (sistema trigeminovascular).

El sistema trigeminovascular está constituido por los vasos meníngeos (duramadre y piales) y las fibras sensitivas procedentes de la primera rama del nervio trigémino (fibras A-delta y fibras C) que rodean a dichos vasos. También forman parte de este sistema las primeras raíces cervicales, cuyas aferencias nociceptivas terminan en el núcleo caudal del trigémino. Las terminaciones nerviosas sensitivas perivasculares y los núcleos trigeminales constituyen el brazo aferente del sistema trigeminovascular, mientras que las fibras parasimpáticas del nervio facial constituyen su brazo eferente. Se han demostrado conexiones entre los núcleos del tronco cerebral y las terminaciones nerviosas sensitivas trigeminales. (Bovento y cols. 1991)

Una posible razón para la aparición del dolor podría ser la siguiente: los núcleos del tronco encefálico en personas con predisposición genética reaccionan de forma anormal a ciertos estímulos (como cambios en el sueño, el estrés, etc.). Esta actividad anormal sensibiliza tanto la corteza cerebral como otros núcleos del tronco encefálico (vestibulares, reflejo nauseoso, etc.), especialmente el núcleo del trigémino. La hipersensibilidad de la corteza favorece la depresión cortical propagada (DCP), que activa las terminaciones del sistema trigeminovascular alrededor de los vasos de la duramadre, liberando péptidos vasoactivos como el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), la neuroquinina A (NKA), la sustancia P (SP) y la endotelina (ET). Estos péptidos provocan una inflamación meníngea estéril.

Los cambios en la meninge incluyen vasodilatación arterial, extravasación de proteínas, agregación plaquetaria, activación de macrófagos locales y liberación de serotonina, causando dolor. La inflamación estéril de la duramadre sensibiliza las fibras nerviosas sensitivas a estímulos que antes eran inocuos, como las pulsaciones de los vasos sanguíneos o los cambios en la presión venosa, resultando en un aumento de la mecanosensibilidad y la hiperalgesia (conocido como sensibilización periférica). Los procesos que sensibilizan los receptores periféricos y la información nociceptiva se transmiten a los núcleos trigeminales y luego al tálamo y a la corteza cerebral, donde se percibe el dolor. Una posible explicación de la aparición del dolor podría ser la siguiente: los núcleos del tronco cerebral en personas genéticamente predispuestas reaccionan de manera anormal ante ciertos estímulos (cambios de sueño, estrés, etc.). A su vez esta actividad anormal sensibiliza tanto a la corteza cerebral como a otros núcleos del tronco (vestibulares, reflejo nauseoso, etc.), y en especial al núcleo del trigémino. La hipersensibilidad de la corteza favorecería la DCP que activa a las terminaciones del sistema trigeminovascular que rodean a los vasos de la duramadre, liberando péptidos vasoactivos como el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), la neurokinina A (NKA), la sustancia P (SP) y la endotelina (ET), que inducen una inflamación meníngea aséptica. Estos péptidos inducen cambios a nivel meníngeo consistentes en vasodilatación arterial, extravasación de proteínas, agregación plaquetaria, activación de macrófagos locales y liberación de serotonina, que provocan la

aparición del dolor. La inflamación estéril de la duramadre provoca la sensibilización de fibras nerviosas sensitivas a determinados estímulos que previamente resultaban inócuos, como las pulsaciones de los vasos sanguíneos o cambios en la presión venosa, y que ahora determinan un aumento de la mecanosensibilidad y una hiperalgesia (mecanismo conocido como sensibilización periférica). Los procesos que sensibilizan a los receptores periféricos y la información nociceptiva se transmite a los núcleos trigeminales y de ahí al tálamo y al córtex cerebral, donde se percibe la sensación dolorosa (figura 4) (Rebeck y cols. 1994)

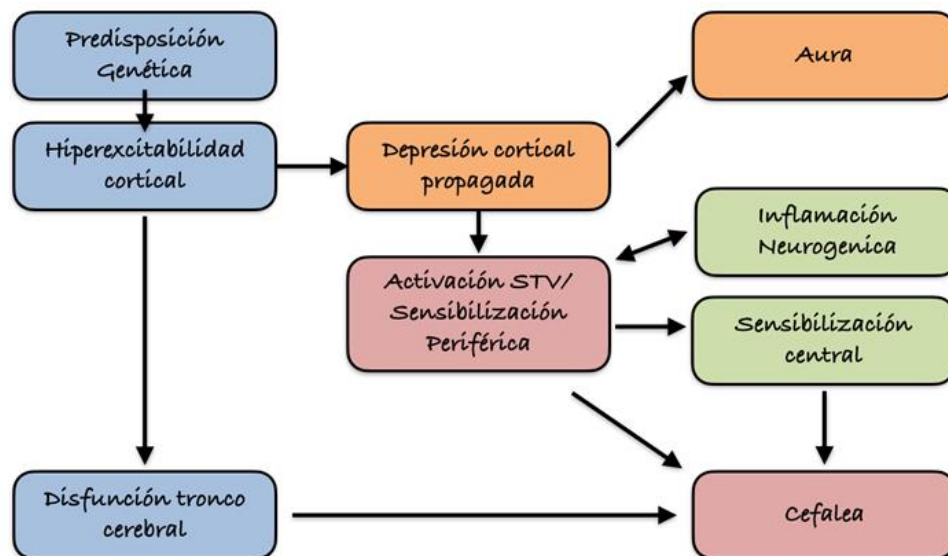


Figura 4. Esquema de la fisiopatología de la migraña. (Figura modificada de López Ferreiro, 2015 y reproducido con autorización).

2.3.1.4 Fase posdrómica

Esta fase se define desde que el dolor de cabeza se resuelve hasta que el individuo se recupera por completo. Ocurre en aproximadamente el 80 % de las personas con migraña y, por lo general, dura menos de 12 horas, pero puede persistir durante más de 24 horas en aproximadamente el 12 % de los pacientes. Los síntomas más comunes durante esta fase incluyen astenia, fatiga, somnolencia, dificultad para concentrarse, fotofobia, irritabilidad y náuseas (Giffin y cols. 2016)

Estos síntomas son más persistentes en pacientes con MC debido a la ausencia de intervalos sin dolor. Aunque la migraña a menudo se describe como un trastorno paroxístico con ataques discretos separados por intervalos sin dolor y sin síntomas, un número considerable de personas con migraña pueden tener ataques muy frecuentes y síntomas interictales en ausencia de dolor. Las personas con MC tienen más probabilidad de tener estos síntomas de manera más persistente (Lampl y cols. 2016).

2.4 Cronificación

La cronificación de la migraña ha sido ampliamente estudiada, en un intento de determinar los factores clínicos y sociodemográficos asociados al proceso (Schwedt 2014). Existe un mayor riesgo de cronificación asociado al sexo femenino, así como la presencia de comorbilidades como obesidad, síndrome de apnea-hipopnea del sueño, insomnio, enfermedades psiquiátricas, otro tipo de dolor crónico y antecedente de traumatismo craneoencefálico o cervical. De la misma manera, el abuso de medicamentos como el abuso de cafeína parecen conducir a una mayor tendencia a volverse crónicos. El abuso de medicamentos es un trastorno común entre los pacientes con MC; el uso inapropiado de barbitúricos y opioides se asocia con el mayor riesgo, seguido por el abuso de triptanes (Lipton y cols. 2013). En cuanto a las características de la cefalea, la frecuencia de las crisis y la presencia de alodinia son predictores de riesgo. La ocurrencia de eventos vitales importantes como el divorcio, el matrimonio o el cambio de trabajo, así como el bajo nivel socioeconómico también pueden contribuir a la cronificación del trastorno. CM no es un estado permanente sino que fluctúa, y muchos pacientes regresan o hacen una transición desde el estado de EM. Los estudios muestran que menos dolores de cabeza, la ausencia de alodinia, la adherencia al tratamiento preventivo, el cese del abuso de medicamentos sintomáticos y el ejercicio físico se asocian con una mayor probabilidad de volver al estado de ME (Manack y cols. 2011).

Hasta la fecha, los mecanismos fisiopatológicos que subyacen a la cronificación de la migraña no se conocen por completo. El procesamiento del dolor, la sensibilización periférica y central, la hiperexcitabilidad cortical y la inflamación neurogénica son elementos clave en el proceso. Tanto los datos clínicos como los experimentales sugieren que la cronificación puede ser una consecuencia del desarrollo de hiperexcitabilidad a lo largo de las vías de transmisión del dolor. En este proceso, se activarían las vías que facilitan la transmisión del dolor, mientras que se suprimirían las vías inhibitorias. Según esta hipótesis, los dolores de cabeza repetidos producen una disfunción progresiva de las redes neuronales implicadas en la regulación de la señal de transmisión nociceptiva. Esta modulación anormal del dolor conduce a un aumento progresivo de la frecuencia y duración de los episodios de cefalea (Cortelli y Pierangeli 2003).

Los estudios de neuroimagen han demostrado que existen diferencias estructurales y funcionales en áreas del tronco encefálico y las vías de transmisión del dolor medial y lateral en sujetos con MC. Mediante técnicas de morfometría basadas en vóxeles se ha encontrado una reducción de sustancia gris y blanca en zonas de la red del dolor junto con un aumento del volumen de los núcleos del tronco encefálico (concretamente del PAG) (Chiapparini y cols. 2010). La presencia de hierro, marcador estructural de actividad inflamatoria, en PAG es uno de los cambios estructurales presentes en la red nociceptiva de sujetos con MC (Dominguez C y cols. 2019; Welch y cols. 2001). Los depósitos de hierro resultantes de episodios repetidos de inflamación, pero no se desconoce si también pueden contribuir a la cronificación del proceso inflamatorio. El tronco encefálico rostral se activa durante el ataque de migraña (PAG, núcleos del rafe y locus coeruleus) y los cambios en estas áreas también pueden provocar cambios en la percepción del dolor (Aurora y cols. 2011). Además de las modificaciones estructurales, los estudios de neuroimagen funcional muestran diferencias en regiones del tronco encefálico de pacientes con MC que se correlacionan con la presencia de alodinia, una sensibilización central que afecta a las neuronas del trigémino de segundo orden (Schwedt y cols 2014).

Los cambios estructurales y funcionales también a las estructuras supratentoriales de los pacientes con MC. Se ha observado un mayor número de lesiones de sustancia blanca (Kruit y cols. 2010), así como reducción del volumen de sustancia gris y alteraciones evidentes número en secuencia T2 en el cíngulo anterior, ínsula bilateral, y el prefrontal, motor/pre - motor, y corteza parietal derecha (Kim y cols. 2008).

Un estudio de neuroimagen funcional (PET) sugiere que la capacidad inhibidora de la corteza cerebral se reduce en la MC (Aurora y cols. 2007). El trabajo realizado con estimulación magnética transcraneal muestra diferencias importantes entre EM y MC en términos de hiperexcitabilidad cortical. La técnica supresión magnética de la precisión perceptiva (MPSA) revela un continuo de excitabilidad cortical en pacientes con migraña, en el que los sujetos con MC tienen mayor excitabilidad cortical que aquellos con ME, y estos últimos a su vez tienen mayor excitabilidad cortical que los controles sanos. Esta hiperexcitabilidad cortical podría deberse a la ausencia de inhibición intracortical (Aurora y cols. 2005). La frecuencia del dolor y el nivel de hiperexcitabilidad cortical se asocian con cambios en varias áreas del cerebro involucradas en la discriminación sensorial, afectiva y el procesamiento cognitivo del dolor (Schwedt TJ y cols. 2013), como lo muestran algunos estudios que sugieren cambios en el lóbulo frontal en pacientes con MC (Mongini y cols. 2005). La neuroinflamación también contribuye a la persistencia y cronificación del dolor, así como al desarrollo de condiciones comórbidas, como la fibromialgia (Xanthos y Sandkuhler 2014). Los episodios repetidos de inflamación aguda o la presencia de un estado prolongado de inflamación sutil producen cambios en el sistema nervioso central y periférico. La inflamación implica la activación de las células gliales y la infiltración de las estructuras nerviosas por leucocitos, con una mayor producción de mediadores inflamatorios, así como cambios en el endotelio vascular que facilitan la infiltración de leucocitos. La expresión aumentada de citocinas resultante de la activación de neuronas y células gliales del STV también contribuye a la cronificación.

En resumen, en la migraña y su cronificación concurren fenómenos neuronales, vasculares e inflamatorios. La fisiopatología del trastorno es muy compleja y no la comprendemos del todo, pero está claro que en él no solo participan las neuronas, sino también las células endoteliales y el sistema inmunitario compuesto por células gliales y las moléculas de la cascada inflamatoria.

2.5 Inflamación y función endotelial en la migraña

La relación entre STV e inflamación fue propuesta hace 40 años por Moskowitz (Moskowitz y cols. 1979). Cuando se activa el STV, las terminaciones nerviosas liberan neuropéptidos vasoactivos (principalmente péptido intestinal vasoactivo (VIP) y CGRP) en las terminales parasimpáticas perivasculares. Estos neuropéptidos producen vasodilatación de los vasos, aumento del flujo sanguíneo, extravasación de plasma y desgranulación de células plasmáticas en la duramadre. La inflamación local, a su vez, activa los nociceptores meníngeos (Levy y cols. 2007) en un proceso de retroalimentación positiva. Esta reacción inflamatoria estéril se conoce como "inflamación neurogénica" (Pietrobon y Moskowitz 2013).

Los nociceptores pueden permanecer persistentemente activados después del contacto con mediadores inflamatorios, promoviendo la sensibilización central de las neuronas trigeminales e hipotalámicas. Se ha demostrado experimentalmente que la estimulación

del ganglio del trigémino desencadena mecanismos de inflamación neurogénica y que este efecto se bloquea con la administración de ergóticos y triptanos (Buzzi y cols. 1995). Hay una falta de datos clínicos a gran escala para respaldar la teoría de la neuroinflamación en humanos, pero un estudio de un solo paciente demostró una mayor permeabilidad vascular durante un ataque de migraña (Knotkova y Pappagallo 2007). Además, la hipótesis de la neuroinflamación está respaldada por evidencia indirecta, como la presencia de mediadores inflamatorios en la sangre venosa cefálica de pacientes con migraña o la reducción del dolor de cabeza después del tratamiento con corticoides y antiinflamatorios no esteroideos (Sarchielli y cols. 2006).

Los mastocitos son agentes importantes en la neuroinflamación. En la duramadre humana y de otros mamíferos, hay poblaciones significativas de mastocitos, que se concentran principalmente alrededor de las terminales aferentes del trigémino, las que expresan la SP y el CGRP (Strassman y cols. 2004). La activación del ganglio del trigémino produce cambios morfológicos en estas poblaciones de mastocitos y la liberación de SP y CGRP conduce a su desgranulación (Eftekhar y cols. 2013), liberando histamina, serotonina, TNF- α y proteasas (Mekori y Metcalfe 2000). La liberación de sustancias contenidas en los mastocitos duros produce también la activación de la mayoría de los nociceptores meníngeos y las neuronas nociceptivas del núcleo caudal del trigémino, contribuyendo al ciclo de retroalimentación del dolor (Levy y cols. 2007).

Se desconocen los desencadenantes de estos procesos neuroinflamatorios. Los estudios en modelos animales han demostrado cómo un solo evento de DCP conduce a la vasodilatación persistente de los vasos duros y la extravasación de proteínas plasmáticas (Belay y cols. 2002), además de la degranulación de los mastocitos (Karatas y cols. 2013), por lo que se cree que la DCP puede ser el desencadenante inicial. Esta cadena de eventos depende de la integridad del nervio trigémino e involucra la activación del ganglio esfenopalatino, incluyendo al sistema parasimpático en el mecanismo. Es posible que los sujetos predispuestos a la migraña tengan un mayor número de mastocitos duros, quizás como consecuencia de variaciones hormonales (Boes y Levy 2012), o que sus mastocitos se activen más fácilmente. Por otro lado, la DCP puede activar los nociceptores meníngeos muy brevemente cuando pasa por su campo receptivo; esta breve activación podría promover la cascada neuroinflamatoria, que posteriormente produciría una activación tardía pero persistente de estos mismos receptores (Levy 2012).

El endotelio vascular es un órgano indispensable en la regulación del tono y la homeostasis del sistema circulatorio. Es un epitelio plano simple constituido por células endoteliales que recubre el interior del árbol vascular: arterias, venas, vasos linfáticos, capilares y cavidades cardíacas. Las células endoteliales descansan sobre una membrana basal, y ésta a su vez, sobre tejido conjuntivo. El endotelio cubre una superficie de aproximadamente 5000 m² y en conjunto pesa unos 3 kg de peso. Constituye una barrera semipermeable entre la luz del vaso y el resto de la pared vascular y su morfología aplanada reduce la turbulencia del flujo sanguíneo. (Chesterman 1988). Su localización estratégica le permite detectar precozmente cambios en diferentes factores hemodinámicos (presión, fuerzas de cizallamiento) y señales extracelulares (sustancias vasoactivas), que generan una cascada de señales intracelulares que promueven la activación de genes y liberación de sustancias biológicamente activas autocrinas y paracrinas. La liberación equilibrada de estas sustancias lo convierte en el regulador más importante de la homeostasis vascular (Verma y cols. 2003).

Además de comportarse como una barrera semipermeable, presenta otras funciones, como el mantenimiento del tono vascular, la angiogénesis, la regulación de adhesión leucocitaria y plaquetaria, la regulación de la trombosis y fibrinólisis y la mediación de la inflamación (Maseri 1997). La pérdida de estas funciones es lo que conocemos como disfunción endotelial (Drexler 1997).

La disfunción endotelial consiste en una alteración de la estructura y/o función del endotelio por una agresión vascular continuada. La exposición a diversos factores de riesgo vascular, tanto los clásicos (hipertensión arterial, diabetes mellitus, dislipemia, tabaquismo, edad, etc.) como otros más recientemente descritos (hiperhomocisteinemia, estrés oxidativo, infecciones, inflamación sistémica, déficit de estrógenos, factores locales, predisposición genética, etc.), precipita la disfunción endotelial, caracterizada por vasoespasmo, vasoconstricción, alteración de los mecanismos de coagulación y fibrinólisis, e incremento de la proliferación vascular, generándose una respuesta inflamatoria que se cronifica y acaba produciendo ateromatosis, trombosis y, finalmente, un evento vascular (Libby y cols. 2006). La disfunción endotelial constituye el origen del proceso aterosclerótico, y puede detectarse de forma precoz y tratarse, ya que es un proceso reversible (Blanco y cols. 2005).

3. Biomarcadores

Un biomarcador es una característica biológica que se mide como indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos o respuestas a una exposición o intervención (Robb y cols. 2016). Esta definición abarca intervenciones terapéuticas y puede derivarse de características moleculares, histológicas, radiográficas o fisiológicas. (Califf 2018).

Los biomarcadores son fundamentales para la estructura de la ciencia del descubrimiento, el desarrollo de productos médicos y la atención médica para el individuo y la población. No hay biomarcadores validados en EP y la migraña. El diagnóstico se basa en los criterios clínicos que no capturan completamente la heterogeneidad de la enfermedad, incluidos los factores genéticos y neurobiológicos subyacentes. Además, en la migraña el seguimiento de la enfermedad se basa en diarios de dolor de cabeza y el tratamiento preventivo se basa en un enfoque de prueba y error. El pronóstico se basa en los factores de riesgo clínicos de cronificación.

La falta de biomarcadores en EP y migraña tiene varias implicaciones. Por un lado, nos da una idea de la complejidad y dinamismo que implican estas enfermedades. Por otro lado, implica una falta de reconocimiento tanto por parte de la sociedad como de la comunidad médica y científica, debido a su carácter “invisible”. Además, en la migraña debido a la subjetividad que implica realizar un diagnóstico basado en la historia del paciente (barrera del idioma, sesgo de memoria...) puede estar infradiagnosticada e infratratada. (Dodick y cols. 2016; Lipton y cols. 2013).

Durante los últimos años se han realizado estudio para identificar biomarcadores fiables con diferentes propósitos, como diagnóstico, seguimiento de la actividad de la enfermedad y/o determinación de la respuesta a un tratamiento específico (Ferroni y cols.

2019). Un biomarcador sería de gran utilidad en el diagnóstico, con alta sensibilidad y especificidad, en el seguimiento de una enfermedad que es cíclica y crónica, en la cuantificación de la progresión y su gravedad, para predecir el resultado de una intervención terapéutica, o para elegir a los mejores candidatos para determinados tratamientos o para ser incluidos en ensayos clínicos (Durham y Papapetropoulos 2013). Seguimos en una etapa temprana en la combinación de datos de las diversas tecnologías ómicas (genómica, proteómica, metabolómica, transcriptómica, etc.) y la vinculación de estos datos con la información clínica del paciente para optimizar nuestra búsqueda de biomarcadores específicos de enfermedades vinculados a fenotipos clínicos. (Micheel y cols. 2012). El desarrollo de biomarcadores genéticos, moleculares o de imagen, o una combinación de ellos, constituyen las bases de una nueva era para la medicina de precisión (Frederiksen 2019; Lipton y cols. 2014). La comprensión de los mecanismos subyacentes a la expresión de la enfermedad podría ayudar con un diagnóstico más preciso de la enfermedad, el fenotipo de la población de pacientes para identificar aquellos que pueden responder mejor al tratamiento en particular, proporcionar indicaciones de pronóstico con respecto a la progresión de la enfermedad, demostrar que un fármaco está siendo efectivo o predecir la respuesta al tratamiento.

3.1 Inflamación sistémica

3.1.1 Interleucina-6

La IL-6 es una citocina pluripotente con una masa molecular de 26 kDa, que contiene 185 aminoácidos y una estructura de haces de cuatro hélices, que se deriva principalmente de los macrófagos. Esta citoquina actúa a través de su receptor soluble (sIL-6R) o de su receptor celular (IL-6R) (Jones y cols. 2001). El papel principal de la IL-6 es ser una citoquina proinflamatoria considerando que puede amplificar las respuestas inflamatorias. Otras funciones de esta citocina incluyen la inducción de autoinmunidad, la diferenciación de células B y neuronales, la inducción de Reactantes de fase aguda (RFA) [p. ej., PCR, proteína A amiloide sérica (SAA), haptoglobina o fibrinógeno] en hepatocitos y la inducción del activador del receptor del ligando NF- κ B (RANKL) que activará los osteoclastos y la resorción ósea (Hirano y cols. 1988; Ridker y cols. 1997; Guo y cols. 2011). Además de células proinflamatorias como linfocitos, macrófagos, monocitos y neutrófilos, existen otras células no proinflamatorias (fibroblastos, miocitos, osteoblastos y ECs también responsables de la producción de IL-6 (Matsuki y cols.1992). La IL-6 es uno de los principales inductores de los reactantes de fase aguda y juega un papel en la transición de inflamación aguda a crónica. (Peterlin y cols. 2013).

Algunas citoquinas recientemente se ha demostrado que tienen funciones mediadoras del dolor, además de sus conocidas funciones inmunológicas. Por ejemplo, IL-6 induce hiperalgesia y ratones con deficiencia de IL-6 muestran reducción de la mecanoalodinia e hiperalgesia. Aunque los mecanismos que llevan al dolor de cabeza característico de la migraña no se comprenden completamente, se ha informado vasodilatación e inflamación neurovascular central desencadenada durante los ataques de migraña en humanos. Por ejemplo, la administración de TNF e IL-6, ya sea de forma central o periférica, causa hiperalgesia. Por lo tanto, las citoquinas se consideran mediadores del dolor en la inflamación neurovascular, como la implicada en el dolor de migraña (Nelson y cols. 2010).

En el estudio de Koçer y cols. 2010 vieron que los niveles promedio de IL-6 en los pacientes con migraña que tomaban topiramato (TPM) y en los pacientes que no lo hacían fueron de $67,06 \pm 92,09$ pg/mL y $44,09 \pm 59,19$ pg/mL, respectivamente ($p > 0,05$). Los niveles de IL-6 fueron más altos en los pacientes que tomaban TPM. El nivel de IL-6 en los controles fue de $8,60 \pm 7,36$ pg/mL, lo cual fue significativamente más bajo que el grupo de pacientes que usaban TPM ($p = 0,001$). Sus resultados muestran que, aunque IL-6 podría estar involucrada en la inducción del dolor o en los mecanismos inflamatorios de los ataques de migraña, el nivel sérico de IL-6 no se redujo en los pacientes con migraña que recibían terapia con TPM. En conclusión, encontraron niveles altos de IL-6 en pacientes con migraña tanto con como sin terapia de TPM, lo cual sugiere que niveles elevados de IL-6 durante los períodos sin dolor podrían ser un factor condicionante que hace a los pacientes más vulnerables a los ataques de dolor en la migraña crónica. Estos datos están en consonancia con otros estudios realizados durante la fase interictal que muestran como los pacientes con migraña presentan un mayor nivel de IL-6 (Tietjen y Khubchandani 2015; Fidan y cols. 2006; Uzar y cols. 2011; Koçer y cols. 2010) y se correlacionan con la frecuencia de las crisis, el índice de masa corporal y los niveles de PCR. (Tietjen y Khubchandani 2015) Un estudio realizado durante el período ictal demostró un aumento de IL-6 en vena yugular durante las dos primeras horas tras el inicio de la crisis. (Sarchielli y cols. 2006)

En la EP, la IL-6 parece jugar un papel en la modulación de la respuesta a las bacterias periodontales, lo que lleva a una inflamación tanto local como sistémica. Una respuesta excesiva de IL-6 puede contribuir al desarrollo de una lesión inflamatoria crónica, que puede provocar la degradación del tejido periodontal y la pérdida de hueso alveolar a través de la actividad de las MMP y los osteoclastos, la activación de las células T y la amplificación de la cascada inflamatoria (Nibali y cols. 2012). Se ha demostrado que los niveles de IL-6 estaban elevados tanto localmente (es decir, LCG y saliva) como sistémicamente (es decir, suero) en pacientes con EP (Geivelis y cols. 1993; Costa y cols. 2010; Shimada y cols. 2010). Además, el tratamiento periodontal parece reducir los niveles séricos de IL-6 a largo plazo en pacientes periodontales graves (D'Aiuto y cols. 2004; Shimada y cols. 2010).

3.1.2 Interleucina-10

La IL-10 es una citocina antiinflamatoria que actúa inhibiendo la síntesis de otras citocinas pro-inflamatorias como IL-1beta, IL-6 y TNF-alfa. La IL-10 modula la expresión de citocinas, mediadores solubles y moléculas de la superficie celular por parte de las células de origen mieloide, con consecuencias importantes para su capacidad de activar y mantener las respuestas inmunitarias e inflamatorias (Moore y cols. 2001). El efecto de la IL-10 sobre la producción de citoquinas y la función de los macrófagos humanos es generalmente similar al de los monocitos, pero menos pronunciado (Wilkes y cols. 1995; Armstrong y cols. 1996; Thomassen y cols. 1996; Nicod y cols. 1995). Los efectos inhibitorios de la IL-10 sobre la producción de IL-1 y TNF son cruciales para sus actividades antiinflamatorias, porque estas citocinas a menudo tienen actividades sinérgicas en las vías y procesos inflamatorios, y amplifican estas respuestas al inducir mediadores secundarios como las quimiocinas y las prostaglandinas (PG). Niiró y cols. 1994, 1995; Mertz y cols. 1994). Además, la IL-10 regula a la baja la expresión de TLR-4, que es el receptor de transducción de señales para el LPS bacteriano (Muzio y cols. 2000).

La IL-10 baja o ausente conduce a varios cambios en la expresión génica que, en última instancia, dan como resultado una remodelación vascular nociva y una relajación vascular alterada en respuesta a mediadores fisiológicos, lo que exacerbaría el daño cerebral secundario después de una lesión cerebral aguda (García y cols. 2017). En consecuencia, los pacientes con ictus lacunar y deterioro neurológico tenían niveles de IL-10 en plasma significativamente más bajos que aquellos sin empeoramiento (Vila y cols. 2003). Un estudio realizado en el período interictal detectó niveles disminuidos de IL-10 en pacientes con migraña con respecto al grupo control (Perini y cols. 2005), mientras que en otro estudio no se encontraron diferencias significativas (Fidan y cols. 2006). Otros dos estudios objetivaron mayores niveles de IL-10 durante las crisis que en el período intercrítico. (Perini y cols. 2005; Munno y cols. 2001)

Debido a sus propiedades antiinflamatorias, la IL-10 también juega un papel importante en la EP (Sasaki y cols. 2004). El bloqueo de la EP puede acelerar la reabsorción ósea alveolar y disminuir la formación ósea (Zhang y cols. 2014). De hecho, se ha demostrado que la IL-10 aumenta la expresión de osteoprotegerina (OPG) pero disminuye la expresión de RANKL (Liu y cols. 2006). Además, la IL-10 puede inhibir las citoquinas proinflamatorias que están involucradas en la proliferación de osteoclastos, inhibiendo así la resorción ósea (Boyle y cols. 2003). Por otro lado, la IL-10 tiene la capacidad de promover la diferenciación de osteoblastos eventualmente a través de la regulación a la baja de citoquinas proinflamatorias (Dresner-Pollak y cols. 2004).

3.1.3 Leptina

La leptina es una hormona/citocina derivada de los adipocitos que se expresa durante la inflamación y la infección. De hecho, la leptina parece formar parte de la respuesta inmune frente a infecciones o lesiones, dado que potencia la producción de citoquinas proinflamatorias (La Cava y Matarese, 2004).

Recientemente, un estudio experimental en animales mostró que la administración crónica de leptina provocó cambios en la excitabilidad cortical y aumentó significativamente la aparición de DCP, lo que sugiere que la leptina puede desempeñar un papel en la patogénesis de la migraña (Kitamura y cols. 2015). Los resultados de los estudios que evalúan los niveles de leptina sérica en pacientes con migraña son controvertidos (Dearborn y cols., 2014; Guldiken y cols. 2008; Pisanu y cols. 2016). Un estudio encontró niveles de leptina significativamente más bajos en pacientes con EM en comparación con controles sanos. Pisanu y cols. (2016) mostró que las personas con migraña tenían niveles significativamente más altos de leptina que los controles. Además, se encontró que la leptina estaba asociada con la presencia de migraña, concluyendo que este biomarcador podría desempeñar un papel en la patogénesis de la migraña. Recientemente, otro estudio demostró que los niveles elevados de leptina están implicados no solo en la fisiopatología de la migraña sino también en el proceso de cronificación de esta enfermedad a través de la inflamación sistémica (Domínguez y cols. 2017). De manera similar, un estudio realizado en pacientes con MC también mostró niveles de leptina sérica significativamente mayores en comparación con los controles, después de ajustar por IMC, edad y sexo femenino (Rubino y cols. 2016).

Además, la concentración de leptina sérica aumenta progresivamente desde la salud hasta la EP; en consecuencia, los sujetos que padecen EP tienen niveles séricos de leptina

más altos en comparación con individuos periodontalmente sanos (Karthikeyan y Pradeep, 2007).

3.1.4 Procalcitonina

La procalcitonina (proCT) es un péptido de 116 aminoácidos que se encuentra como precursor de la hormona reguladora del calcio, la calcitonina. (Schneider y Lam 2007). En pacientes con sepsis e inflamación sistémica, los niveles de proCT en sangre suelen estar elevados, lo que se ha correlacionado con la gravedad de la enfermedad y la mortalidad a largo plazo. (Liappis y cols. 2011) Aunque la proteína C-reactiva de alta sensibilidad (hs-CRP) es un marcador comúnmente utilizado para medir la inflamación sistémica en pacientes con infecciones, un reciente metaanálisis ha demostrado que la proCT puede ser un método más útil de monitorización (Simon y cols. 2004). Además, se ha observado que durante los ataques de migraña, los niveles de proCT en suero aumentan (Turan y cols. 2011), lo que sugiere que este marcador de fase aguda puede estar implicado en la patogenia de la migraña, ya que se considera que el dolor de migraña está relacionado con una inflamación estéril (Waeber y Moskowitz 2005)

La infección periodontal también se ha asociado con niveles elevados de proCT en sangre, y estos niveles pueden verse influenciados por la gravedad de la enfermedad periodontal. (Basim y cols. 2008)

3.1.5 Proteína C-reactiva

La proteína C-reactiva (PCR) es un reactante de fase aguda que pertenece a la superfamilia de las pentraxinas. Es liberada por el hígado y tejido adiposo fundamentalmente en respuesta al estrés (Mortensen 2001) y está implicada en la activación del sistema de complemento y en la expresión de metaloproteasas de matriz del endotelio (Du Clos 2000). Además, promueve la producción de citocinas inflamatorias y se ha sugerido que también pueden estar implicadas en la disfunción vascular. (Vermeire y cols. 2004). Podemos encontrar niveles elevados de este reactante de fase aguda en varias patologías, entre ellas las enfermedades cardiovasculares. (Ridker y cols. 2000; Pearson y cols. 2003; Di Napoli y cols. 2001)

Los resultados de los niveles de PCR en pacientes con migraña son dispares. En cuatro estudios encontraron una relación entre niveles elevados de la PCR y migraña. (Vanmolkot y de Hoon 2007; Tietjen y cols. 2009; Güzel y cols. 2013; Hamed y cols. 2010). En un estudio la PCR estaba elevada en pacientes migrañosos, particularmente en mujeres con migraña con aura y se observó una correlación entre los niveles de PCR, la frecuencia y la duración del aura. (Tietjen y cols. 2012). Otro estudio realizado sobre una gran población demostró que la PCR se elevaba en niños y adolescentes con cefalea. (Nelson y cols. 2010) y en ancianos. (Kurth y cols. 2008) Por el contrario, tres estudios realizados con pequeños tamaños muestrales no encontraron relación entre migraña y la PCR (Peterlin y cols. 2013; Guldiken y cols. 2011; Guldiken y cols. 2008) aunque el tamaño de la muestra pudo ser un factor limitante.

Por otra parte, varios estudios han demostrado que los pacientes con enfermedad periodontal tienen niveles elevados de mediadores inflamatorios como PCR, IL-1, IL-6 y TNF- α) en comparación con individuos sanos (Paraskevas y cols. 2008; Schenkein y Loos. 2013).

Los RFA, como la CRP y la pentraxina 3 (PTX3), que se encuentran en niveles elevados en pacientes con enfermedad periodontal, pueden activar el complemento a través de la vía clásica. Esto resulta en una mayor activación local del complemento y en la producción de productos del complemento (como C3 y C4) en los tejidos periodontales, lo cual intensifica la respuesta inflamatoria local. Algunos de estos marcadores inflamatorios producidos localmente pueden diseminarse en la circulación sanguínea y tener efectos sistémicos en órganos a distancia, contribuyendo así a la carga general de inflamación en el cuerpo (Damgaard y cols. 2015).

3.2 Inflamación neurogénica

3.2.1 El péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP)

El CGRP es un elemento clave en la fisiopatología de la migraña. (Lassen y cols. 2002) Este neuropéptido vasoactivo expresado en los sistemas nerviosos central y periférico modula la información nociceptiva y media la inflamación neurogénica a través de la activación del STV. (Arulmani y cols. 2004). De hecho, el CGRP se libera induciendo vasodilatación alrededor de los vasos cerebrales que conduce al dolor de la migraña clínicamente visto como pulsátil. (Lassen y cols. 2002) Se ha sugerido que la activación repetida del STV podría producir la cronificación de la migraña debido a la sensibilización del dolor central. (Ramón y cols. 2017). Los niveles de CGRP aumentan en sangre de la vena yugular externa (Goadsby y cols. 1990) durante los ataques de migraña (ictal) y en sangre periférica, tanto en la fase ictal como en la interictal de la migraña. (Rodríguez-Orsorio y cols. 2012) En particular, se ha demostrado que los migrañosos crónicos tienen niveles circulantes interictales elevados de CGRP (Cernuda-Morollón y cols. 2013).

La periodontitis, se asocia con inflamación sistémica y cambios vasculares (Amar y cols. 2003). Los estudios experimentales demostraron que el lipopolisacárido, que es una endotoxina de bacterias Gram-negativas como las relacionadas con la periodontitis, es capaz de liberar CGRP y este proceso está mediado por citoquinas proinflamatorias. (Hua y cols. 1996; Cuesta y cols. 2002) Por lo tanto, además de su papel en la inflamación neurogénica, CGRP puede estar también involucrado en la respuesta inmune después de un estímulo infeccioso (Holzmann 2013).

3.3 Disfunción endotelial

3.3.1 Pentraxina-3

Las pentraxinas (PTXs) pertenecen a la superfamilia de RFA, que se dividen en PTX cortas y largas. Los constituyentes cortos incluyen CRP y SAA, que se sintetizan en el hígado principalmente tras la estimulación con IL-6. Por el contrario, la PTX3 de larga duración es producida por neutrófilos, fibroblastos, células dendríticas, macrófagos, células epiteliales y EC, en respuesta a señales proinflamatorias como productos bacterianos, TNF- α e IL-1 β y por la participación de los receptores toll-like (TLRs). (Mantovani y cols. 2008; Vilahur y Badimon, 2015). De hecho, los niveles plasmáticos de PTX3 están asociados con disfunción del endotelio vascular, aterosclerosis,

inflamación o y alcanzan el pico mucho antes que la CRP (Norata y cols. 2010; Peri y cols. 2000).

La evidencia sugiere que la enfermedad cardiovascular (ECV) (Fornai y cols. 2016), la enfermedad renal crónica (Sjöberg y cols. 2016) o un mayor riesgo de mortalidad después de un accidente cerebrovascular isquémico (Ryu y cols. 2012) están relacionados con niveles de PTX3 más altos. Diferentes estudios han demostrado niveles plasmáticos más altos de PTX3 en pacientes con migraña durante los ataques en comparación con los períodos interictales (Gokdemir y cols. 2020) o controles sanos (Ceylan y cols. 2016), así como niveles plasmáticos más altos en pacientes con MC en forma interictal (Domínguez y cols. 2020). Además, se ha demostrado que la PTX3 podría ser un predictor de buena respuesta al tratamiento con onabotulinumtoxin A (OnabotA), que se utiliza ampliamente para tratar la migraña crónica (Domínguez y cols. 2018).

Con respecto a la EP, se ha planteado la hipótesis de que las concentraciones de PTX3 medidas en LCG o suero podrían ser una molécula de diagnóstico valiosa para la destrucción del tejido periodontal (Kathariya y cols. 2013). En las vasculitis de pequeños vasos, la PTX3 parece ser un indicador de la actividad de la enfermedad, considerando que las células endoteliales de las lesiones cutáneas activas mostraron una mayor producción de PTX3 (Fazzini y cols. 2001). Además, existe evidencia clínica que sugiere que la PTX3 plasmática es un predictor más potente de disfunción endotelial en comparación con la CRP (Yasunaga y cols. 2014). Un estudio realizado en pacientes con Periodontitis Crónica (PC) ha demostrado una correlación positiva entre parámetros clínicos periodontales como NIC (una medida de exposición prolongada a la EP) y PS (un indicador de la EP actual) y los niveles de PTX3 en general (Pradeep y cols. 2011) y sitio de infección específico (Pradeep y cols. 2011; Fujita y cols. 2012). Además, los datos clínicos transversales mostraron que en sujetos diagnosticados con periodontitis, las concentraciones de PTX3 en GCF fueron significativamente elevadas en los sitios afectados periodontalmente en comparación con los sitios sin EP (Fujita y cols. 2012). Con respecto a las muestras de saliva de los niveles de PTX3, solo se pudieron observar diferencias significativas a nivel de subgrupo, es decir, el subgrupo de EP agresivo generalizado, cuando se realizaron comparaciones con controles (Gümüş y cols. 2014).

3.3.2 Tumor necrosis factor-like weak inducer factor (TWEAK)

El (TWEAK) es un miembro de la superfamilia de citoquinas TNF que se sintetiza como una proteína transmembrana de tipo II a partir de la cual se puede liberar un factor de ligando soluble de 17 kDa con actividad biológica [TWEAK soluble (sTWEAK)] (Chicheportiche y cols. 1997). TWEAK se expresa en varios tejidos (es decir, corazón, pulmón y cerebro) (Wiley y Winkles 2003) y células [es decir, EC y células musculares lisas (CML)]. sTWEAK induce diferentes respuestas celulares, como la proliferación celular, la migración, la diferenciación y la angiogénesis (Lynch y cols. 1999; Donohue y cols. 2003; Desplat-Jégo y cols. 2002; Tran y cols. 2003). Además, participa en la expresión de mediadores proinflamatorios y moléculas de adhesión en EC y astrocitos (Harada y cols. 2002; Saas y cols. 2000). La actividad de TWEAK está mediada principalmente a través de la unión al factor de crecimiento de fibroblastos inducible 14 (Fn14), que es un miembro de 14 kDa de la familia de receptores TNF (Wiley y cols. 2001) y se expresa en fibroblastos, EC, células epiteliales y células tumorales de origen no linfóide.

En pacientes con accidente cerebrovascular isquémico de pequeño vaso se vincularon los niveles sistémicos elevados de PTX3 y (sTWEAK) con la EP (Leira y cols. 2019). En la migraña, se ha planteado la hipótesis de que algunos mediadores inflamatorios liberados durante los ataques de migraña podrían tener un efecto en la activación y sensibilización de los nociceptores periféricos (Waeber y Moskowitz, 2005). De hecho, varios estudios mostraron una respuesta hiperinflamatoria durante la migraña con niveles elevados de CRP, interleucinas, TNF- α o PTX3 en la circulación sistémica de estos pacientes (Vanmolkot y Hoon, 2007; Perini y cols. 2005; Martami y cols. 2018; Ceylan y cols. 2016).

3.4 Biomarcador de sistema inmune

3.4.1 El sistema del complemento

Son un conjunto de más de 20 proteínas que circulan por la sangre y los fluidos tisulares. Muchas de estas proteínas están normalmente inactivas, pero en respuesta al reconocimiento de componentes moleculares en los microorganismos, pueden activarse secuencialmente a través de una cascada enzimática (la activación de una proteína favorece la fragmentación y activación de la siguiente proteína de la ruta). El complemento puede ser activado a través de tres rutas distintas, causando la activación de C3, su fragmentación en un fragmento grande, C3b que actúa como opsonina, y otro pequeño, C3a (una anafilotoxina) que promueve inflamación. C3 activado puede promover la vía lítica, que es capaz de dañar las membranas plasmáticas de las células y algunas bacterias. C5a, producida en este proceso, atrae macrófagos, neutrófilos y algunos mastocitos.

C3a y C5a pueden iniciar una respuesta inflamatoria local similar a la que ocurre en la EP, y varias proteínas del complemento también son capaces de activar células endoteliales y fagocíticas (Damgaard y cols. 2015).

Aunque algunas series de casos observaron que la activación del complemento a través de la vía clásica podría ocurrir en pacientes con migraña que mostraban una disminución de C4 y C5 al inicio del dolor de cabeza, así como una degradación de C3 antes del ataque de migraña (Lord y cols. 1977a; Lord y cols. 1977b), otros datos clínicos demostraron que es posible que los factores del complemento no estén implicados en la fisiopatología de la migraña (Behan y cols. 1981; Kemper y cols. 2001).

OBJETIVOS GENERALES

OBJETIVOS GENERALES

- Investigar la relación entre la Periodontitis y la MC.
- Conocer los mecanismos responsables de esta asociación.

ESTUDIO CLÍNICO

ESTUDIO CLÍNICO

1.-Justificación (Artículo 1)

La EP se encuentra entre las diez enfermedades más prevalentes que afectan a los seres humanos. Un creciente cuerpo de evidencia sugiere que la EP no solo tiene efectos locales (es decir, la encía) sino que también es capaz de producir efectos secundarios sistémicos en órganos distantes (Loos 2005). De hecho, se especula que el epitelio de la bolsa subgingival inflamado y ulcerado forma una puerta de entrada fácil para las bacterias periodontales. Se ha informado bacteriemia en la EP después de un examen oral (Daly y cols. 2001) y procedimientos dentales (Heimdahl y cols. 1990) y, curiosamente, se han identificado periodontopatógenos en placas ateromatosas (Haraszthy y cols. 2000). Además, los componentes bacterianos como LPS también pueden diseminarse a la circulación sanguínea (Geerts y cols. 2002). Estos LPS junto con los antígenos bacterianos pueden desencadenar importantes procesos inflamatorios sistémicos. En consecuencia, los glóbulos blancos y las proteínas de fase aguda de las CE y los hepatocitos pueden producir mediadores proinflamatorios. Además, las moléculas proinflamatorias producidas localmente pueden pasar a la circulación sistémica y ejercer efectos sobre sistemas de órganos distantes (Moutsopoulos y Madianos 2006).

La principal complicación de la migraña es la cronicidad del proceso, ahora reconocida como migraña crónica. Aunque los mecanismos patogénicos que pueden influir en la fisiopatología de la migraña y su posible cronicidad no se comprenden completamente, estudios previos han demostrado en pacientes con migraña alteraciones moleculares de inflamación sistémica, inflamación neurogénica, disfunción endotelial, inmunidad innata, disfunción de las proteasas de matriz y barrera hematoencefálica. Formas avanzadas de periodontitis han demostrado alteraciones moleculares de inflamación, disfunción endotelial, disfunción de las proteasas de matriz e inmunidad innata, similares a las observadas en la migraña.

En base a esto, varias vías fisiopatológicas podrían explicar la posible asociación entre la EP y la migraña. Además, ambas enfermedades comparten algunas condiciones sistémicas, como hipertensión, hipercolesterolemia, resistencia a la insulina y enfermedades ateroscleróticas vasculares. Cuando ocurre la cronicidad de la migraña, aumenta la discapacidad y disminuye la respuesta al tratamiento. En este sentido, se recomienda identificar y eliminar factores de riesgo modificables, como obesidad, depresión, bajo nivel educativo y eventos estresantes de la vida, en pacientes diagnosticados con migraña crónica. Proponemos que la enfermedad periodontal pueda ser un factor que contribuya a la cronicidad de la migraña.

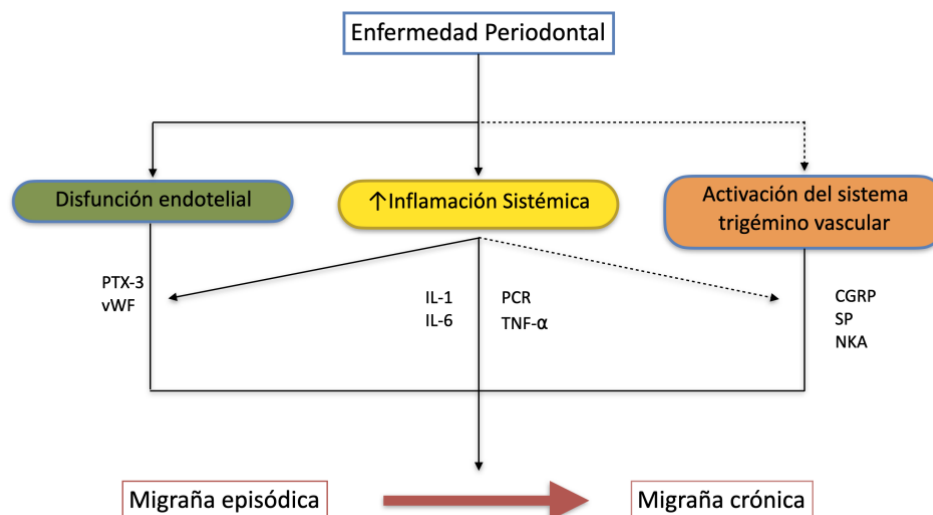


Figura 5. Mecanismo por el cual la periodontitis podría estar involucrada en el proceso de cronificación de la migraña. Figura de elaboración propia.

Esta hipótesis se basa en el hecho de que la inflamación periodontal, que ocurre en los tejidos gingivales, libera un gran número de mediadores inflamatorios que podrían estar involucrados en el desarrollo de los ataques de migraña y, como resultado, facilitar la cronicidad de la migraña. Es probable que durante la inflamación periodontal, causada por la interacción entre los periodontopatógenos (por ejemplo, “*Porphyromonas gingivalis*”, “*Tannerella forsythia*” o “*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*”) y la respuesta del huésped, se produzcan localmente citocinas y reactantes de fase aguda (por ejemplo, IL-1, TNF- α , CRP e IL-6) que se diseminan sistémicamente debido a la endotoxemia.

Este estado inflamatorio crónico de baja intensidad podría ser responsable de la sobreexpresión de biomarcadores neurogénicos (por ejemplo, CGRP, SP, NKA) durante el estado interictal de los pacientes con migraña crónica. Por otro lado, la infección periodontal podría promover directamente la activación del sistema trigeminovascular, que está involucrado en el proceso de cronicidad de la migraña (Ameijeira y cols. 2017)

Hasta la fecha, se sabe poco sobre la relación entre la EP y la MC. Se requiere investigación epidemiológica y molecular para confirmar esta relación.

2-Hipótesis

Nuestra hipótesis es que la Periodontitis es más común en pacientes con MC y está asociada con la presencia de MC independientemente de los factores de riesgo conocidos. Cuando la Periodontitis está presente en pacientes con MC, puede producirse una respuesta inflamatoria sistémica, disfunción endotelial y aumento de la inflamación neurogénica expresada por niveles séricos más altos de biomarcadores proinflamatorios, de disfunción endotelial y de inflamación neurogénica que podrían estar involucrados en el desarrollo de los ataques de migraña y, como resultado, facilitar la cronicidad de la migraña.(Artículo 1)

3-Objetivos

3.1 Objetivo primario

- El principal objetivo de este trabajo es investigar la asociación entre la periodontitis y sus parámetros clínicos y la presencia de MC. (Artículo 2)

3.2 Objetivos secundarios

- Analizar los posibles mecanismos fisiopatológicos a través de los cuales la periodontitis podría contribuir a la cronificación de la migraña (es decir, inflamación sistémica, inflamación neurogénica y disfunción endotelial). (Artículos 3, 4, 5 y 6)

4.- Material y métodos

4.1 Diseño de estudio

Se realizó un estudio de casos y controles en la Unidad de Periodoncia de la Universidad de Santiago de Compostela en colaboración con la Unidad de Cefaleas del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela siguiendo las pautas STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology) (Von Elm y cols. 2008).

Esta investigación fue realizada de acuerdo con la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (2008) y aprobada por el Comité de Ética del Servizo Galego de Saúde (ID: 2016/079).

Se obtuvo el consentimiento informado de cada paciente o de sus familiares después de una explicación completa de los procedimientos.

4.2 Población de estudio

4.2.1 Grupo MC (casos)

Se solicitó la participación a los pacientes que acudieron a la Unidad de Cefalea del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela desde noviembre de 2015 hasta octubre de 2016. Los casos se incluyeron en el estudio si cumplían los siguientes criterios de inclusión: diagnóstico de MC basado en los criterios de la 3.^a edición de la Clasificación Internacional de Trastornos por Cefalea (Headache Classification Committee of the International Headache Society 2013); edad entre 18 y 80 años; al menos 15 dientes (excluyendo terceros molares); y consentimiento informado por escrito.

Los criterios de exclusión fueron: pacientes que habían recibido tratamiento periodontal en los 12 meses anteriores; antibióticos sistémicos y/o terapia inmunosupresora dentro de los 3 meses anteriores a la evaluación periodontal; Enfermedades infecciosas; afecciones inflamatorias crónicas; enfermedades sistémicas graves y embarazo o lactancia.

4.2.2 Grupo Control

El grupo control estuvo formado por sujetos sin MC y libres de cualquier trastorno neurológico, emparejados por edad y sexo con los casos. Los individuos del grupo control fueron examinados y entrevistados en paralelo con el reclutamiento de pacientes. Los controles se identificaron entre amigos (n = 26) o familiares (n = 59) de los pacientes con MC, así como trabajadores del hospital (n = 6). Los criterios de exclusión fueron los mismos que para el grupo de casos.

4.3 Examen Periodontal

El examen periodontal fue realizado por dos expertos periodoncistas Pablo Ameijeira y Yago Leira (P.A. y Y.L.). La calibración se completó antes del inicio del estudio en la Unidad de Periodoncia; Facultad de Odontología (Universidad de Santiago de Compostela) utilizando 10 pacientes ajenos al estudio que padecían PC moderada o grave. La fiabilidad intraexaminador y la fiabilidad interexaminador se evaluaron mediante el coeficiente de correlación intraclase (ICC). Los valores de ICC intraexaminador fueron 0,89 (PS) y 0,82 (NIC) para Y.L., y 0,86 (PS) y 0,83 (NIC) para P.A. Los valores entre examinadores fueron 0,90 (PS) y 0,81 (NIC). Por lo tanto, el grado de correlación fue satisfactorio en las mediciones. Se realizó un examen periodontal de boca completa en todos los participantes. Las siguientes variables se registraron en todos los dientes (excepto los terceros molares): profundidad de sondaje (PS), nivel de inserción clínica (NIC), recesión gingival, índice de placa boca completa (FMPS) e índice de sangrado de boca completa (FMBS) (Ainamo y Bay 1975). Las mediciones se registraron en seis sitios por diente (mesio-bucal, disto-bucal, medio-bucal, mesio-lingual, disto-lingual y medio-lingual), excepto para FMPS (cuatro sitios/diente), utilizando una sonda periodontal calibrada de la Universidad de Carolina del Norte (UNC 15; Hu-Friedy, Chicago, IL, EE. UU.). La presencia de PC se definió de acuerdo con el consenso CDC-AAP para estudios epidemiológicos (Holtfreter y cols. 2015). Por lo tanto, PC leve se definió como ≥ 2 sitios interproximales con $\text{NIC} \geq 3$ mm y ≥ 2 sitios interproximales con $\text{PS} \geq 4$ mm (no en el mismo diente) o 1 sitio con $\text{PS} \geq 5$ mm. La PC moderada se definió como ≥ 2 sitios interproximales con $\text{NIC} \geq 4$ mm (no en el mismo diente) o ≥ 2 sitios interproximales con $\text{PS} \geq 5$ mm, tampoco en el mismo diente. La PC grave se definió como la presencia de ≥ 2 sitios interproximales con $\text{NIC} \geq 6$ mm (no en el mismo diente) y ≥ 1 sitio interproximal con $\text{PS} \geq 5$ mm (Eke y cols. 2012). La PC total fue la suma de la PC leve, moderada y

grave. Además, calculamos una medida de la actividad de la periodontitis, el área de superficie periodontal inflamada (PISA), que refleja el área de superficie del epitelio de la bolsa sangrante en mm². (Nesse y cols. 2008) PISA se calculó de la siguiente manera: 1) Con el nivel medio de inserción clínica y RG obtuvimos el área de superficie epitelial periodontal (PESA) para cada diente (Hujoel y cols. 2001) 2) El valor de PESA multiplicado por el número de sitios con resultados SAS en el PISA para un diente específico; y 3) PISA de boca completa se calcula para cada participante (en mm²) por la suma de los PISA para cada diente.

4.4 Examen Neurológico

El estudio neurológico fue realizado por un neurólogo senior Rogelio Leira (R.L.). Se utilizó la definición de migraña crónica de la 3.^a edición de la clasificación de los trastornos por cefalea de la International. Los pacientes fueron diagnosticados con migraña crónica si tenían cefalea ≥ 15 días al mes durante >3 meses. Se registraron datos como el tiempo de evolución de la migraña crónica (en meses), intensidad del dolor de cabeza medida con una escala visual análoga, número de días con dolores de cabeza por mes, duración de los ataques de migraña (en horas), presencia de aura y alodinia. También se registraron los medicamentos preventivos y sintomáticos para la migraña, así como el abuso de analgésicos

4.5. Recolección de suero y pruebas de laboratorio.

Las muestras de laboratorio se obtuvieron en ayunas por la mañana en un ambiente sin dolor (al menos 12 horas desde el último episodio de migraña). Los participantes no habían consumido medicación antiinflamatoria ni analgésica en las 72 horas previas. En resumen, se obtuvieron 2 ml de sangre venosa de la fosa antecubital mediante venopunción con una aguja de calibre 20 y una jeringa de 2 ml. Las muestras de sangre se dejaron coagular a temperatura ambiente y después de 1 hora, se separó el suero de la sangre mediante centrifugación (15 minutos a 3000 g) y se extrajeron alícuotas de 0,5 ml de suero, que se transfirieron inmediatamente. Cada alícuota se almacenó a -80°C hasta el momento del análisis. Los niveles séricos de proteína C reactiva de alta sensibilidad (CRP- hs) se midieron mediante un inmunodiagnóstico utilizando el sistema IMMULITE® 2000 (Siemens Healthcare Diagnostics, Malvern, Pensilvania, EE. UU.); la sensibilidad mínima del ensayo fue de 0,02 mg/dL. Las muestras se analizaron para los niveles de leptina, IL-6, IL-10, CGRP mediante un inmunoensayo enzimático (ELISA) con enzimas ligadas (DGR Instruments GmbH, Marburg, Alemania), siguiendo las instrucciones del fabricante. La sensibilidad mínima del ensayo ELISA para interleucina (IL)-6 fue de 1,6 pg/mL, con un coeficiente de variación (CV) intra e interensayo del 5,0% y 6,8%, respectivamente. La sensibilidad mínima del ensayo del kit ELISA para IL-10 fue de 2,0 pg/mL, con un CV intra e interensayo del 4,1% y 6,2%, respectivamente. La sensibilidad mínima del ensayo del kit ELISA para CGRP fue de 5,3 pg/mL, con un CV intra e interensayo del 5,9% y 7,4%, respectivamente. Los niveles séricos de ProCT se midieron mediante kit ELISA con una sensibilidad mínima del ensayo de 0,02 ng/mL. Las determinaciones se llevaron a cabo en el Laboratorio de Investigación en Neurociencias Clínicas, cuyos investigadores desconocían los resultados de laboratorio hasta que se completó el estudio. La sensibilidad mínima del ensayo de un kit PTX3 ELISA (Rockland anticuerpos y ensayos, Limerik PA, EE. UU.) fue de 40 pg/ml con un

coeficiente de variación (CV) intra e interensayo de <8 % y <10 %, respectivamente. La sensibilidad mínima del ensayo de un kit sTWEAK ELISA (Thermo Scientific, Massachusetts, EE. UU.) fue de 10 pg/ml con un CV intra e interensayo de < 6 % y < 7 %, respectivamente. Los niveles séricos de los complementos C3 y C4 se midieron con cartuchos de reactivos C3 y C4 Flex® utilizando el sistema Dimension Vista® (Siemens, Healthcare GmbH, Marburg, Alemania), sensibilidad mínima del ensayo de 4,00 mg/dL y 1,50 mg/dL, respectivamente. Las determinaciones se realizaron en un laboratorio independiente que desconocía los datos clínicos. Los investigadores clínicos desconocían los resultados de laboratorio hasta que finalizó el estudio.

4.6 Variables de estudio

4.6.1 Variables clínicas y demográficas

- Edad
- Género
- Nivel educativo: bajo (< escuela secundaria), medio (secundaria terminada), y alta (estudios universitarios)
- IMC: La estatura corporal de pie se midió con los hombros en posición relajada y los brazos colgando libremente, utilizando un estadiómetro comercial. Así, se calculó el IMC como el peso dividido por el cuadrado de la altura (kg/m²)

4.6.2. Variables periodontales y dentales

- Índice de placa de boca completa (IPBC) (%)
- Índice de sangrado de boca completa (ISBC) (%)
- PS media (mm)
- RG medio (mm)
- NIC media (mm)
- Media PISA (mm²)
- Número de sitios con PS $\geq$ 4 mm
- Número de sitios con PS $\geq$ 6 mm
- Número de sitios con NIC $\geq$ 3 mm
- Número de sitios con NIC $\geq$ 5 mm
- Número de dientes presentes
- Prevalencia y gravedad de la EP
- Última visita dental: en los últimos 12 meses o con menos frecuencia
- Frecuencia de cepillado de dientes: < o $\geq$ 2 veces/día
- Uso de dispositivos de cuidado interdental
- Bruxismo

4.6.3. Variables neurológicas

- Migraña crónica :
 - tiempo de evolución (en meses)

- intensidad del dolor de cabeza
- número de días con dolores de cabeza por mes
- duración de los ataques de migraña (en horas)
- presencia de aura
- presencia de alodinia

4.6.4. Variables confusoras

- Antecedentes de hipertensión
- Antecedentes de diabetes mellitus
- Antecedentes de hipercolesterolemia
- Antecedentes de depresión
- Antecedentes de asma
- Antecedentes de estrés
- Antecedentes de fibromialgia
- Hábito de fumar: nunca, exfumador o actual
- Consumo de alcohol: considerando “grandes bebedores” a los que beben ≥ 60 g/día

4.6.5. Uso de medicamentos

- Botox
- Triptanes
- Antihipertensivos
- AINES
- Betabloqueantes
- Neuromoduladores
- Antidepresivos
- Ergóticos
- Antagonistas del calcio
- Corticoides
- Opiáceos

4.6.6. Biomarcadores

4.6.6.1. inflamación sistémica

- Niveles séricos de proteína C reactiva (CRP) (mg/L)
- Niveles séricos de Leptina (pg/mL)
- Niveles séricos de IL-6 (pg/mL)
- Niveles séricos de IL-10 (pg/mL)
- Niveles séricos de Procalcitonina (pg/mL)

4.6.6.2. Disfunción endotelial

- Niveles séricos de PTX3 (pg/mL)
- Niveles séricos de sTWEAK (pg/mL)

4.6.6.3. Inflamación Neurogénica

- Niveles séricos de CGRP (pg/mL)

4.6.6.4 Sistema Inmune (activación del complemento)

- Niveles séricos de Complemento C3
- Niveles séricos de Complemento C4

4.7 Cálculo del tamaño muestral

Se calculó un tamaño de muestra de 180 sujetos (90 casos y 90 controles, 1:1 caso:control, 90% de potencia y error $\alpha = 0,05$), teniendo en cuenta la prevalencia esperada de PC entre pacientes con MC (57,6%) en comparación con aquellos sin CM (36,2%) (Leira y cols. 2017)

4.8 Análisis estadístico

Todos los análisis de datos se realizaron con el software IBM SPSS Statistics 20.0 para Mac (SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU.). Las variables continuas con distribución normal analizadas con la prueba de Kolmogorov-Smirnov se informaron como media $\pm$ desviación estándar, mientras que las variables continuas sin distribución normal se expresaron como mediana [rangointercuartílico] y se compararon con la prueba H de Kruskal-Wallis. Las variables categóricas se reportaron como porcentajes y se compararon mediante la prueba la prueba X^2 . Se aplicó un análisis de regresión logística para probar las asociaciones entre P y MC, ajustando los posibles factores de confusión involucrados en el proceso de cronificación de la migraña.

Se utilizó la prueba t independiente y el análisis de varianza de una vía (ANOVA) para comparar los valores medios entre los grupos. Además, se utilizaron pruebas post hoc de Bonferroni para comparaciones múltiples entre grupos. Se utilizó un análisis de regresión lineal multivariable para probar las asociaciones entre la PC y los niveles de leptina, proCT ajustando los posibles factores de confusión que podrían estar implicados en la cronificación de la migraña.

Los análisis de correlación paramétrica entre PISA y biomarcadores significativos (sTWEAK y PTX3) entre pacientes con MC se realizaron utilizando el coeficiente de correlación de Pearson. Se realizaron modelos lineales generalizados para probar las asociaciones entre la gravedad de la EP y los biomarcadores sTWEAK y PTX3. También se crearon modelos de regresión lineal para evaluar la relación entre medidas continuas de EP y los biomarcadores (sTWEAK y PTX3). Todos los modelos se ajustaron según posibles factores de confusión (es decir, edad, sexo, obesidad, depresión, bajo nivel educativo y tabaquismo).

En el artículo 6, las variables con distribución no normal se compararon aplicando la prueba U de Mann-Whitney. Los análisis de correlación no paramétricos entre PISA y CGRP entre pacientes con migraña crónica se realizaron utilizando el coeficiente de correlación de rangos de Spearman. Se realizó un análisis de regresión lineal para probar asociaciones entre periodontitis, niveles de PISA y CGRP. De manera similar, también evaluamos el vínculo entre diferentes grados de periodontitis y CGRP utilizando un modelo lineal generalizado. Todos los modelos se ajustaron según posibles factores de

confusión (es decir, edad, sexo, obesidad, depresión y bajo nivel educativo). Todas las pruebas se realizaron a un nivel de significación de $\alpha = 0,05$.

5.- Resultados

Artículo 2

Ameijeira, P., Leira, Y., Domínguez, C., Leira, R., & Blanco, J. (2019). Association between periodontitis and chronic migraine: a case-control study. *Odontology*, 107, 90-95.

Artículo 3

Leira, Y., Ameijeira, P., Domínguez, C., Leira, R., & Blanco, J. (2017). The role of leptin as a biomarker in the relationship between periodontitis and chronic migraine. *Journal of Clinical Periodontology*, 44(12), 1208-1214.

Artículo 4

Leira, Y., Ameijeira, P., Domínguez, C., Leira, R., & Blanco, J. (2018). High serum procalcitonin levels in patients with periodontitis and chronic migraine. *Journal of Periodontology*, 89(9), 1069-1074.

Artículo 5

Leira, Y., Ameijeira, P., Domínguez, C., López-Arias, E., Ávila-Gómez, P., Pérez-Mato, M., ... & Blanco, J. (2020). Severe periodontitis is linked with increased peripheral levels of sTWEAK and PTX3 in chronic migraineurs. *Clinical Oral Investigations*, 24, 597-606.

Artículo 6

Leira, Y., Ameijeira, P., Domínguez, C., López-Arias, E., Ávila-Gómez, P., Pérez-Mato, M., ... & Blanco, J. (2019). Periodontal inflammation is related to increased serum calcitonin gene-related peptide levels in patients with chronic migraine. *Journal of periodontology*, 90(10), 1088-1095.

5.1 Artículo 2

El objetivo general del estudio fue examinar si la periodontitis (P) es un indicador de riesgo de migraña crónica (MC).

Los resultados muestran que existen diferencias significativas entre los casos de MC y el grupo de control en diversas variables. En primer lugar, los pacientes con MC presentaron una mayor prevalencia de depresión, un IMC más alto, una mayor prevalencia de obesidad y un nivel educativo más bajo en comparación con los controles. Además, todas las variables clínicas periodontales, como PS promedio, el número de sitios/boca con $PS \geq 6$ mm, la recesión gingival, el NIC promedio y el número de sitios/boca con $NIC \geq 5$ mm, fueron significativamente más altas en los pacientes con MC en comparación con los controles (ver tabla 1).

En relación a la hipótesis planteada, se observa que la periodontitis está asociada significativamente con la presencia de migraña crónica. Los pacientes con MC mostraron una mayor prevalencia de periodontitis en comparación con los controles. Además, la gravedad de la periodontitis, en términos de cantidad de sitios con profundidad de sondaje y nivel de inserción clínica más severos, también fue mayor en los pacientes con MC en comparación con los controles.

Tabla 1. Características basales

VARIABLES	MC casos (n=102)	Control (n=91)	Valor-p
Edad (años)	47,0±10,2	46,9±9,0	NS
Mujer, n (%)	100 (98,0)	89 (97,8)	NS
IPBC	38,2±22,2	21,0±4,2	<0,0001
ISBC	52,3±26,8	22,1±7,1	<0,0001
Medidas de PS			
PS Promedio	3,1±0,5	2,4±0,5	<0,0001
Número de sitios/boca $PS \geq 6$ mm	10,4±15,9	1,6±4,1	<0,0001
Recesión gingival	0,5±0,4	0,2±0,1	<0,0001
Medidas de NIC			
NIC Promedio	3,6±0,8	2,7±0,5	<0,0001
Número de sitios/boca $NIC \geq 5$ mm	30,7±27,5	7,7±11,0	<0,0001
Número de dientes	24,5±3,1	26,1±1,5	<0,0001
IMC	27,5±4,7	24,7±4,4	<0,0001
Hipertensión arterial, n (%)	12 (11,8)	7 (7,7)	NS
Diabetes, n (%)	1 (1,0)	2 (2,2)	NS
Hipercolesterolemia, n (%)	14 (13,7)	9 (9,9)	NS

Depresión, n (%)	42 (41,2)	8 (8,8)	<0,0001
Asma, n (%)	13 (12,7)	11 (12,1)	NS
Estrés, n (%)	22 (21,6)	16 (17,6)	NS
Bruxismo, n (%)	12 (11,8)	10 (11,0)	NS
Obesidad total del cuerpo, n (%)*	32 (31,4)	4 (4,4)	<0,0001
Fibromialgia, n (%)	12 (11,8)	4 (4,4)	NS
Bajo nivel educativo, n (%)	49 (48,0)	27 (29,7)	0,002
Consumo de tabaco, n (%)	17 (16,7)	16 (17,6)	NS
hs-CRP (mg/L)	3,2±5,6	2,3±5,6	NS

MC: migraña crónica; IPBC: índice de placa de toda la boca; ISBC: índice de sangrado de boca completa; PS: profundidad de sondaje; NIC: nivel de inserción clínica; IMC: índice de masa corporal; hs-CRP: proteína C-reactiva de alta sensibilidad. *IMC ≥ 30 . NS: no significativo. Los resultados significativos se informan en negrita.

La frecuencia de periodontitis fue aproximadamente el doble en el grupo de pacientes con migraña crónica en comparación con el grupo sin migraña crónica (58,8% frente a 30,8%, $p < 0,0001$, fig. 2). En términos de la severidad de la periodontitis crónica, se observó una mayor prevalencia de periodontitis avanzada en los pacientes con migraña crónica en comparación con los controles (33,9% frente a 10,7%, $p = 0,02$, fig. 2).

Figura 1. Prevalencia de periodontitis entre los casos y los controles

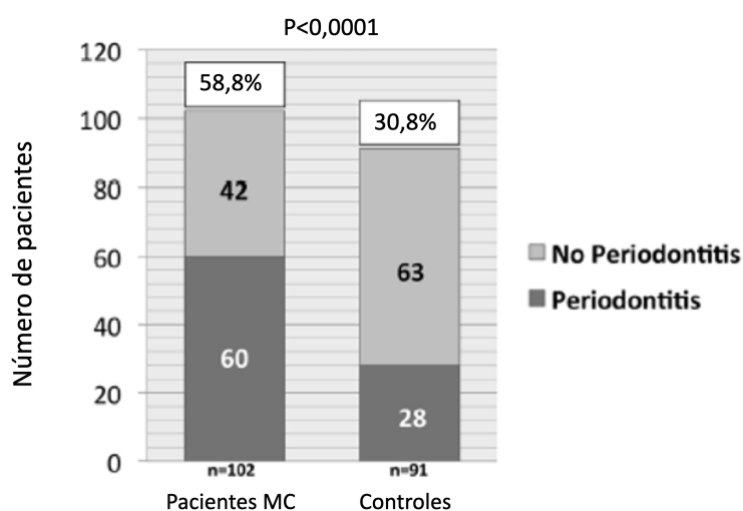
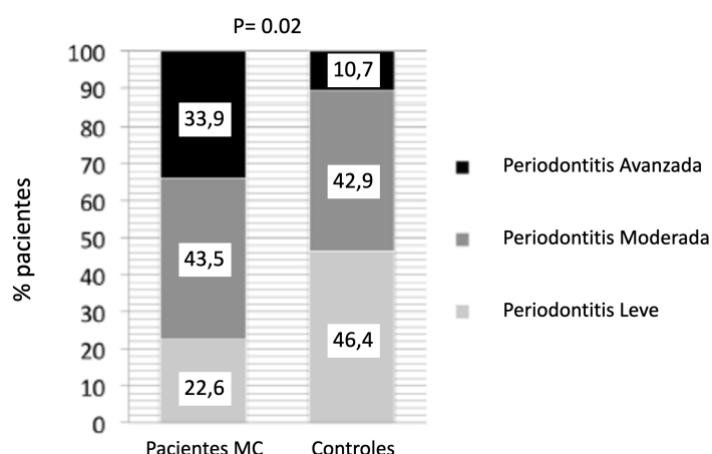


Figura 2. Porcentaje de pacientes según la gravedad de la periodontitis entre los casos y los controles



El análisis de regresión logística ajustado por factores demográficos y de confusión mostró que la periodontitis, la depresión y la obesidad están significativamente asociadas con la presencia de MC. Esto respalda parcialmente la hipótesis planteada, ya que indica que la periodontitis podría ser un factor de riesgo importante en el desarrollo de la migraña crónica.(tabla 2).

Los resultados sugieren que existe una asociación entre la periodontitis y la migraña crónica, y que la inflamación crónica de baja intensidad y los mediadores inflamatorios podrían desempeñar un papel en la cronicidad de la migraña.

Tabla 1. Análisis de regresión logística

	OR	95% IC	Valor- p
Modelo I			
Edad	1,0	0,9-1,0	NS
Sexo femenino	1,1	0,1-8,9	NS
Periodontitis	3,2	1,7-5,9	<0,0001
Modelo II			
Edad	1,0	0,9-1,0	NS
Sexo femenino	1,2	0,1-11,8	NS
Periodontitis	2,4	1,2-4,6	0,006
Depresión	6,7	2,7-16,1	<0,0001
Modelo III			
Edad	1,0	0,9-1,0	NS
Sexo femenino	1,6	0,1-15,8	NS
Periodontitis	2,4	1,2-4,7	0,011
Depresión	5,2	2,0-13,0	<0,0001
Obesidad	8,1	2,5-26,2	<0,0001
Modelo IV			
Edad	1,0	0,9-1,0	NS

Sexo femenino	1,7	0,1-16,4	NS
Periodontitis	2,4	1,2-4,7	0,012
Depresión	5,4	2,1-13,7	<0,0001
Obesidad	7,1	2,1-23,3	0.001
Bajo nivel educativo	1,9	0,9-3,9	NS
Variable dependiente: Migraña crónica (1 = sí, 0 = no)			

NS: no significativo.

Los resultados significativos se informan en negrita.

5.2 Artículo 3

El objetivo de este estudio fue evaluar la prevalencia de periodontitis (P) y su contribución a los niveles séricos de leptina en la migraña crónica (MC). El cálculo del tamaño muestral se basó en un estudio transversal previo realizado por nuestro grupo (Domínguez y cols. 2017), y se determinó que se requerían 92 casos y 58 controles para detectar una diferencia en los niveles de leptina sérica de 12,1 ng/ml entre los pacientes con migraña crónica y los controles sanos, asumiendo un riesgo $\alpha = 0,05$ y un riesgo $\beta = 0,15$.

Los resultados muestran una asociación significativa entre la presencia de periodontitis y la migraña crónica. La prevalencia de periodontitis fue significativamente mayor en los casos de migraña crónica en comparación con los sujetos sin migraña crónica (57,6% frente a 36,2%, $p = 0,01$). Además, se observó que los pacientes con migraña crónica tenían niveles promedio de leptina sérica significativamente más altos que los controles (16,4 ng/ml frente a 7,2 ng/ml, $p < 0,0001$) (tabla 3).

Tabla 2. Comparaciones de datos demográficos, clínicos y periodontales

VARIABLES	MC casos (n=92)	Control (n=58)	Valor p
Edad (años)	46,3±10,3	43,0±11,2	0,70
Mujer, n (%)	90 (97,8)	55 (94,8)	0,319
IMC	28,2±5,7	23,8±5,3	<0,0001
IPBC	36,2±25,7	26,8±20,5	0,021
ISBC	39,8±28,9	20,5±7,5	<0,0001
Medidas de PS			

PS promedio	3,0±0,7	2,5±0,8	0,002
Número de sitios/boca PS ≥6 mm	9,2±16,0	1,8±3,4	0,001
Medidas NIC			
NIC promedio	3,3±0,8	2,8±0,9	0,001
Proporción de sitios/boca NIC ≥5 mm	22,9±30,4	8,0±9,4	<0,0001
Número de dientes	24,2±4,0	26,2±1,7	0,001
Bajo nivel educativo, n (%)	46 (50,0)	11 (19,0)	<0,0001

MC: migraña crónica; IMC: índice de masa corporal; IPBC: Índice de placa de boca completa; ISBC: índice de sangrado de boca completa ; PS: profundidad de sondaje; NIC: nivel de inserción clínica. Los resultados significativos se informan en negrita.

Se encontró que la prevalencia de periodontitis fue significativamente mayor en los casos de migraña crónica en comparación con los sujetos sin migraña crónica (57,6% frente a 36,2%, $p = 0,01$, fig. 3). Además, como era de esperar, los pacientes con migraña crónica presentaron niveles promedio de leptina sérica significativamente más altos que los controles (16,4 ng/ml frente a 7,2 ng/ml, $p < 0,0001$). La figura 4 muestra que la presencia de periodontitis se asoció con niveles medios más elevados de leptina tanto en los casos como en los controles.

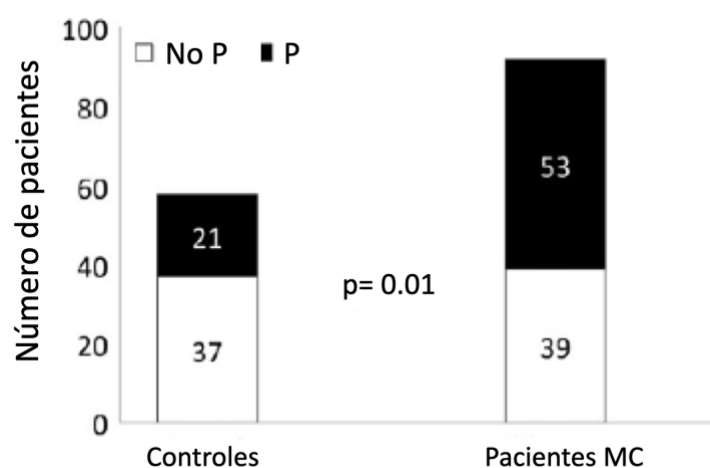
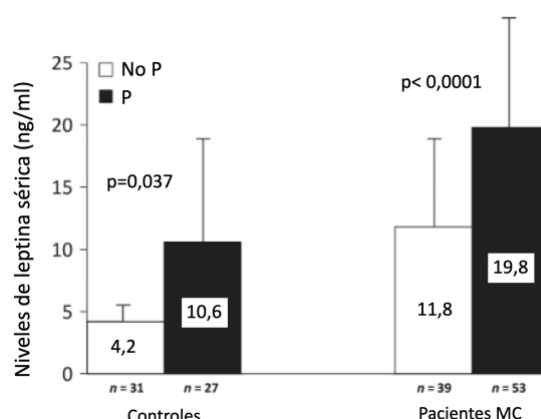


Figura 3. Prevalencia de periodontitis

Figura 4. Niveles de leptina sérica según la presencia o ausencia de periodontitis



Además, los resultados también revelan diferencias significativas en características demográficas y clínicas entre los casos de migraña crónica con y sin periodontitis. Por ejemplo, se encontró que los pacientes con periodontitis tenían un índice de masa corporal (IMC) significativamente más alto y una mayor proporción de bajo nivel educativo en comparación con aquellos sin periodontitis (Tabla 4).

Tabla 3. Características de los casos de MC según el estado periodontal.

VARIABLES	No P (n=39)	P (n=53)	Valor p
Edad (años)	42,7±10,8	49,0±9,0	0,04
Mujer, n (%)	39 (100)	51 (96,2)	0,220
IMC	25,7±4,7	30,1±5,7	<0,0001
Bajo nivel educativo, n (%)	18 (46,2)	28 (52,8)	0,610
Tiempo de evolución de la migraña crónica en meses	24,5±13,1	27,0±14,7	0,394
Intensidad del dolor de cabeza (EVA)	8,2±1,3	8,4±1,3	0,526
Ataques de migraña por meses	18,4±6,2	19,2±5,2	0,510

MC: migraña crónica; IMC: índice de masa corporal; EVA: Escala Visual Analógica. Los resultados significativos se informan en negrita.

El análisis de regresión lineal multivariable realizado en los 92 pacientes con MC mostró que los niveles medios de leptina sérica se asociaron significativa y positivamente con una mayor PS media y NIC media ($R^2 = 0,392$, $R^2 = 0,426$, $p < 0,0001$; Tabla 5). Cuando se examinó la exposición a la P como una variable categórica, el análisis de regresión lineal multivariable nuevamente indicó que la P en pacientes con MC se asoció con concentraciones séricas de leptina significativamente más altas ($R^2 = 0,270$, $p = 0,013$; Tabla 5).

Tabla 5. Modelos de regresión multivariable para los niveles de Leptina en pacientes con MC.

	<i>B</i>	<i>DE</i>	<i>CP</i>	<i>Valor p</i>
Modelo I (R²=0.392)				
Edad	-0,104	0,097	-0,115	0,286
Sexo Femenino	-1,976	6,113	-0,035	0,747
IMC	0,438	0,174	0,263	0,013
Nivel educativo Bajo	-1,996	1,273	-0,167	0,121
PS Media	6,480	1,298	0,474	<0,0001
Modelo II (R²=0.426)				
Edad	-0,143	0,095	-0,159	0,139
Sexo Femenino	-2,721	5,948	-0,049	0,649
IMC	0,348	0,173	0,212	0,048
Nivel educativo Bajo	-1,919	1,236	-0,165	0,124
NIC Medio	6,758	1,205	0,518	<0,0001
Model III (R²=0.270)				
Edad	-0.054	0.106	-0.054	0.616
Sexo Femenino	0.373	6.696	0.006	0.956
IMC	0.578	0.190	0.312	0.003
Nivel educativo Bajo	-1.958	1.399	-0.149	0.165
Periodontitis	5.573	2.196	0.264	0.013

B: parámetro estimado ; *DE*: desviación estándar; *PC*: correlación parcial; *IMC*: Índice de masa corporal ; *PS*: Profundidad de sondaje; *NIC*: Nivel de inserción clínico. Resultados significativos están resaltados en negrita.

Estos hallazgos respaldan la hipótesis planteada de que la inflamación periodontal, caracterizada por la liberación de mediadores inflamatorios, podría estar involucrada en el desarrollo y la cronicidad de la migraña. Se sugiere que la interacción entre los periodontopatógenos y la respuesta del huésped desencadena una respuesta inflamatoria sistémica, lo que podría llevar a la sobreexpresión de biomarcadores neurogénicos y la activación del sistema trigeminovascular, ambos implicados en la cronicidad de la migraña.

5.3 Artículo 4

El objetivo del estudio fue determinar si la presencia de P se asoció con niveles más altos de proCT en pacientes con MC.

Los pacientes con MC que tenían P tenían una mayor prevalencia de hipercolesterolemia, así como un mayor IMC que los pacientes sin P con o sin MC. Los participantes con MC tenían con mayor frecuencia antecedentes de depresión y un nivel educativo más bajo que aquellos sin MC. No se observaron diferencias significativas entre los grupos en cuanto a sexo, características de la MC (es decir, tiempo de evolución de la MC, intensidad del dolor de cabeza, número de días con dolor de cabeza por mes y presencia de aura) y otras covariables (Tabla 5). En cuanto a los niveles de hs-CRP, los pacientes con P tenían niveles significativamente más altos de esta proteína de fase aguda en comparación con los individuos sistémica y periodontalmente sanos.

Tabla 4. Características basales

VARIABLES	Salud sistémica y periodontal. (n=37)	P (n=19)	MC (n=34)	CM+P (n=48)
Edad (años)	43,3±9,9	48,0±10,9	43,7±10,7	50,0±8,4 ^{a,b}
Mujer, n (%)	34 (91,9)	19 (100)	34 (100)	46 (95,8)
FMPS	18,6±13,1	38,3±28,7 ^{a,b}	12,1±10,0	52,6±21,0 ^{a,b,c}
FMBS	8,7±5,7	24,0±7,4 ^{a,b}	11,6±8,2	59,8±22,6 ^{a,b,c}
Medidas de PS				
PS Promedio	2,2±0,5	3,0±0,9 ^{a,b}	2,4±0,4	3,5±0,7 ^{a,b,c}
Número de sitios/boca PS ≥6 mm	0,8±1,4	9,8±5,5 ^{a,b}	0,1±0,5	17,8±17,2 ^{a,b,c}
Medidas de NIC				
NIC Promedio	2,4±0,6	3,4±1,2 ^{a,b}	2,7±0,5	4,0±0,8 ^{a,b,c}
Número de sitios/boca NIC ≥5 mm	1,9±2,3	18,3±7,3 ^{a,b}	1,6±2,8	47,4±52,3 ^{a,b,c}
Número de dientes	26,5±1,4	23,6±2,5 ^{a,b}	26,2±2,4	22,3±4,4 ^{a,b}
IMC	21,7±2,7	26,8±6,3 ^a	26,1±4,9 ^a	31,1±5,4 ^{a,b,c}
Hipertensión Arterial, n (%)	1 (2,7)	1 (5,3)	3 (8,8)	9 (18,8)
Diabetes, n (%)	0 (0,0)	2 (10,5)	1 (2,9)	1 (2,1)
Hipercolesterolemia, n (%) ^d	2 (5,4)	3 (15,8)	2 (5,9)	12 (25,0)
Depresión, n (%) ^d	3 (8,1)	3 (15,8)	12 (35,3)	24 (50,0)
Asma, n (%)	3 (8,1)	4 (21,1)	5 (14,7)	6 (12,5)
Fibromialgia, n (%)	1 (2,7)	1 (5,3)	3 (8,8)	7 (14,6)
Bajo nivel educativo, n (%) ^d	6 (16,2)	4 (21,1)	17 (50,0)	26 (54,2)

Consumo de tabaco, n (%)	5 (13,5)	5 (26,3)	4 (11,8)	8 (16,7)
hs-CRP (mg/L)	1,3±2,5	5,2±8,5	2,7±3,5	3,1±6,2
Tiempo de evolución de MC en meses			25.5±13.3	27.9±14.6
Intensidad dolor de cabeza (VAS)			8,2±1,4	8,4±1,4
Días con dolor de cabeza por mes			18,7±6,6	19,1±5,3
Aura, n (%)			19 (55,9)	30 (62,5)

^ap<0.05 ANOVA con prueba Bonferroni post-hoc en comparación con el control

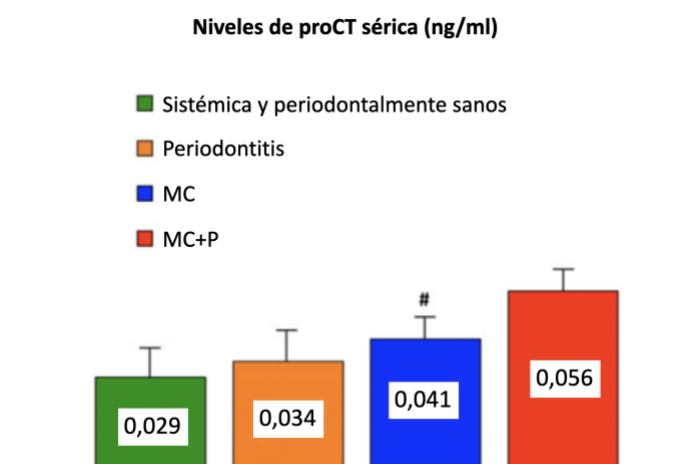
^bp<0.05 ANOVA con prueba Bonferroni post-hoc en comparación con la MC

^cp<0.05 ANOVA con prueba Bonferroni post-hoc en comparación con la P.

^dp<0.05 Prueba de chi-cuadrado de Pearson.

Como se esperaba, el grupo MC+P mostró niveles de proCT significativamente más altos que los otros grupos ($p < 0,001$). Las concentraciones de proCT en pacientes con MC y periodontalmente sanos fueron significativamente más elevadas en comparación con aquellos sistémica y periodontalmente sanos ($p < 0,001$). Los niveles séricos de proCT del grupo P no difirieron de los del grupo MC o de los individuos sistémica y periodontalmente sanos (Figura 5).

Figura 5. Distribución de los niveles séricos de proCT entre diferentes grupos * $p < 0,001$ frente a sanos sistémica y periodontalmente, CM, y grupos P; # $p < 0.001$ versus sistémica y periodontalmente saludable.



El análisis de regresión lineal múltiple realizado en los 82 pacientes con MC mostró que los niveles medios de proCT en suero se asociaron significativa y positivamente con una mayor PS media y NIC media ($R^2 = 0,252$, $R^2 = 0,284$, $p < 0,001$; Tabla 6).

Cuando se examinó la exposición a la P como una variable categórica, el análisis de regresión lineal múltiple indicó nuevamente que la P en pacientes con MC se asoció con concentraciones séricas de proCT significativamente más altas ($R^2 = 0,293$, $p < 0,001$; Tabla 6).

Tabla 5. Modelos de regresión múltiple para los niveles de procalcitonina en pacientes con migraña crónica.

	B	ES	CP	Valor-p
Modelo I (R²=0.252)				
Edad	0,000	0,000	-0,163	0,062
Sexo femenino	0,005	0,007	0,070	0,425
IMC	0,001	0,000	0,189	0,030
Hipercolesterolemia	0,005	0,004	0,103	0,240
Depresión	0,002	0,003	0,067	0,063
Bajo nivel educativo	-0,005	0,002	-0,249	0,400
PS Promedio	0,006	0,002	0,301	<0,001
Modelo II (R²=0.284)				
Edad	0,000	0,000	-0,188	0,310
Sexo femenino	0,005	0,006	0,072	0,409
IMC	0,000	0,000	0,169	0,053
Hipercolesterolemia	0,003	0,004	0,069	0,433
Depresión	0,002	0,003	0,065	0,458
Bajo nivel educativo	-0,005	0,002	-0,257	0,300
NIC Promedio	0,006	0,001	0,359	<0,001
Modelo III (R²=0.293)				
Edad	0,000	0,000	-0,140	0,111
Sexo femenino	0,007	0,006	0,096	0,272
IMC	0,000	0,000	0,103	0,242
Hipercolesterolemia	0,003	0,004	0,068	0,441
Depresión	0,003	0,003	0,090	0,303
Bajo nivel educativo	-0,005	0,002	-0,256	0,302
Periodontitis	0,013	0,003	0,375	<0,001

B: estimación de parámetros; SE: error estándar; CP: correlación parcial.
Los resultados significativos se informan en negrita.

5.4 Artículo 5

El objetivo de este análisis transversal fue investigar la posible asociación de la P con la inflamación sistémica vascular y la activación del complemento en pacientes con MC.

Las características iniciales de 94 pacientes con CM según la gravedad de la P se muestran en la Tabla 7. En general, los pacientes periodontales tenían con mayor frecuencia antecedentes de hipertensión, hipercolesterolemia, bruxismo, estrés, asma, fibromialgia, obesidad y menor nivel educativo. Sin embargo, sólo la prevalencia de la depresión alcanzó significación estadística (68,4% frente a 28,2%, $p =$

0,036). Del mismo modo, observamos diferencias en cuanto a variables neurológicas entre los grupos con P y los pacientes sin P, aunque no fueron estadísticamente significativas. Con respecto al tratamiento de la migraña, los pacientes con P tendieron a tomar más medicamentos, aunque sólo el consumo de opioides fue significativamente diferente entre los grupos ($p = 0,024$). Como se esperaba, los valores de PISA aumentaron de la salud periodontal a la enfermedad ($p < 0,0001$). De hecho, los pacientes con P avanzada mostraron valores PISA significativamente más altos que aquellos sin P ($958,9 \pm 457,3 \text{ mm}^2$ frente a $390,2 \pm 332,8 \text{ mm}^2$, $p < 0,0001$).

Tabla 6. Características basales de 94 pacientes con MC.

Variables	Muestra completa	No P (N=39)	P Leve (N=14)	P Moderada (N=22)	P Avanz. (N=19)	Valor p
Edad (años)	47,1±10,5	45,1±11,1	47,0±10,5	49,1±11,0	48,3±8,8	0,600
Mujeres, %	92 (97,9)	38 (97,4)	14 (100)	22 (100)	18 (94,7)	0,634
IMC (kg/m ²)	27,4 [24,1-31,2]	26,1 [23,4-30,4]	26,1 [21,8-29,9]	29,3 [24,6-33,4]	29,7 [25,5-31,2]	0,187
Hipertensión, n (%)	12 (12,8)	3 (7,7)	1 (7,1)	4 (18,2)	4 (21,1)	0,384
Diabetes mellitus, n (%)	1 (1,1)	1 (2,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,700
Hipercolesterolemia, n (%)	14 (14,9)	3 (7,7)	1 (7,1)	4 (18,2)	6 (31,6)	0,085
Bruxismo, n (%)	11 (11,7)	5 (12,8)	1 (7,1)	2 (9,1)	3 (15,8)	0,854
Depresión, n (%)	39 (41,5)	11 (28,2)	6 (42,9)	13 (40,9)	13 (68,4)	0,036
Fumadores actuales, n (%)	14 (14,9)	4 (10,3)	1 (7,1)	3 (13,6)	6 (31,6)	0,137
Estrés, n (%)	21 (22,3)	6 (15,4)	4 (28,6)	3 (13,6)	8 (42,1)	0,084
Asma, n (%)	13 (13,8)	5 (12,8)	3 (21,4)	2 (9,1)	3 (15,8)	0,756
Fibromialgia, n (%)	12 (12,8)	4 (10,3)	1 (7,1)	3 (13,6)	4 (21,1)	0,614
Obesidad, n (%) ^a	32 (34,0)	11 (28,2)	3 (21,4)	10 (45,5)	8 (42,1)	0,333
Bajo nivel educativo, n (%)	47 (50,0)	17 (43,6)	5 (35,7)	13 (59,1)	12 (63,2)	0,281
PISA (mm ²)	550,9±404,0	390,2±332,8	473,1±276,2	533,1±304,8	958,9±457,3*	<0,0001
Tiempo evolución CM en meses	25,8±13,9	25,6±14,3	20,2±14,8	26,1±14,0	30,0±11,7	0,271
Intensidad de dolor de cabeza	8,0 [7,0,10,0]	8,0 [7,0,9,0]	8,5 [8,0,10,0]	8,0 [6,7,10,0]	8,0 [8,0,10,0]	0,263
Número de días con dolor de cabeza por mes	18,8±5,7	18,7±5,3	19,1±8,0	17,6±5,3	20,2±4,9	0,551
Aura, n (%)	7 (7,4)	1 (2,6)	3 (21,4)	1 (4,5)	2 (10,5)	0,334
Alodinia, n (%)	58 (63,7)	22 (59,5)	8 (61,5)	15 (68,2)	13 (68,4)	0,876
Duración del ataque de migraña						0,273
< 12 h	7 (7,4)	2 (5,1)	3 (21,4)	0 (0,0)	2 (10,5)	
12-24 h	18 (19,1)	9 (23,1)	1 (7,1)	4 (18,2)	4 (21,1)	
>24 h	69 (73,4)	28 (71,8)	10 (71,4)	18 (81,8)	13 (68,4)	
Abuso Analgésicos, n (%)	20 (21,3)	6 (15,4)	3 (21,4)	4 (18,2)	7 (36,8)	0,298
TTo. preventivo, n (%)						
Topiramato	28 (30,1)	11 (28,2)	2 (14,3)	5 (23,8)	10 (52,6)	0,082
Betabloqueantes	38 (40,4)	14 (35,9)	9 (64,3)	8 (36,4)	7 (36,8)	0,273
Amitriptilina	37 (39,4)	18 (46,2)	6 (27,3)	7 (36,8)	18 (46,2)	0,527
Flunarizina	15 (16,0)	5 (12,8)	4 (28,6)	3 (13,6)	3 (15,8)	0,565

OnabotA	66 (70.2)	28 (71.8)	9 (64.3)	15 (68.2)	14 (73.7)	0.933
TTo. agudo migraña, n (%)						
Triptanos	68 (72.3)	26 (66.7)	9 (64.3)	17 (77.3)	16 (84.2)	0.442
NSAIDs	84 (89.4)	35 (89.7)	13 (92.9)	19 (86.4)	17 (89.5)	0.941
Opioides	17 (18.1)	5 (12.8)	2 (14.3)	2 (9.1)	8 (42.1)	0.024

P: Periodontitis; IMC: índice de masa corporal; MC: migraña crónica; PISA: área de superficie inflamada periodontal; OnabotA: onabotulinumtoxina A; NSAIDs: fármacos antiinflamatorios no esteroideos.^aIMC $\geq$ 30 kg/m². *p < 0.0001 en comparación con la ausencia de P.

Comparaciones de los niveles de biomarcadores entre grupos.

Los niveles circulantes de PTX3 y sTWEAK estuvieron significativamente elevados en pacientes con periodontitis avanzada en comparación con aquellos sin P (2475,3 $\pm$ 1646,8 pg/mL vs. 516,6 $\pm$ 1193,8 pg/mL, p < 0,0001 y 672,4 $\pm$ 118,2 pg/mL vs. 485,7 $\pm$ 112,2 pg/mL, p < 0,0001; respectivamente). No se observaron diferencias significativas entre los grupos con respecto a hs-CRP, C3 y C4 (Tabla 8).

Tabla 7. Parámetros bioquímicos de 94 pacientes con MC.

Variables	Muestra completa	No EP (n=39)	P. Leve (n=14)	P. Moderada (n=22)	P Avanzada (n=19)	Valor p
PTX3 (pg/mL)	1063,5 $\pm$ 1551,0	516,6 $\pm$ 1193,8	769,4 $\pm$ 1220,9	1000,9 $\pm$ 1551,5	2475,3 $\pm$ 1646,8*	<0,0001
sTWEAK (pg/mL)	537,0 $\pm$ 138,1	485,7 $\pm$ 112,2	521,7 $\pm$ 114,6	520,8 $\pm$ 140,5	672,4 $\pm$ 118,2*	<0,0001
hs-CRP (mg/dL)	0,3 $\pm$ 0,5	0,2 $\pm$ 0,3	0,3 $\pm$ 0,6	0,3 $\pm$ 0,4	0,4 $\pm$ 0,9	0,501
C3 (mg/dL)	116,0 [103,7-133,5]	118,0 [100,0-128,0]	127,5 [108,7-136,7]	117,0 [100,5-135,2]	112,0 [103,0-142,9]	0,790
C4 (mg/dL)	25,6 $\pm$ 8,1	25,2 $\pm$ 9,0	22,9 $\pm$ 5,8	26,4 $\pm$ 7,6	28,1 $\pm$ 7,7	0,227

P: Periodontitis ; PTX3: pentraxina 3; sTWEAK: soluble tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis; hs-CRP: proteína C-reactiva; C3: complemento 3 ; C4: complemento 4.

*p < 0.0001 comparado sin P.

Asociación entre la P y sus parámetros clínicos y mayores niveles de biomarcadores.

Después de ajustar por todos los factores de confusión relevantes, la P avanzada se asoció de forma independiente con mayores niveles séricos de PTX3 (β = 1997,6; IC del 95%: 1219,2-2776,0, p < 0,0001) y sTWEAK (β = 187,1; IC del 95%: 118,2-256,0, p < 0,0001) en nuestra cohorte de pacientes con MC (Tabla 9).

De manera similar, las medidas continuas de P como PS y NIC también se asociaron significativamente con ambos biomarcadores (Tabla 4). De hecho, PISA mostró una correlación positiva tanto con PTX3 (r = 0,475, p < 0,0001; Fig. 6a) como con sTWEAK (r = 0,386, p < 0,0001; Fig. 6b). No se encontraron asociaciones significativas de la P y sus parámetros clínicos con hs-CRP, C3 y C4 (Tabla 9 y Tabla 10).

Tabla 9. Asociación de P con niveles elevados de marcadores inflamatorios en pacientes con MC.

Modelos ajustados para edad, sexo, obesidad, depresión, bajo nivel educacional y consumo de tabaco.

Variable Dependiente	Severidad de P	β (95% CI)	Valor p
PTX3 (pg/mL)	No P		
	P Leve	113,5 (-700,2-927,2)	0,784
	P Moderada	484,3 (-216,7-1185,3)	0,176
	P Severa	1997,6 (1219,2-2776,0)	<0,0001
sTWEAK (pg/mL)	No P		
	EP Leve	33,1 (-38,8-105,2)	0,367
	EP Moderada	30,1 (-31,8-92,2)	0,340
	EP Severa	187,1 (118,2-256,0)	<0,0001
hs-CRP (mg/dL)	No P		
	EP Leve	0,1 (-0,2-0,4)	0,480
	EP Moderada	0,1 (-0,1-0,4)	0,460
	EP Severa	0,1 (-0,1-0,5)	0,263
C3 (mg/dL)	No P		
	EP Leve	5,8 (-6,6-18,2)	0,361
	EP Moderada	-3,6 (-14,4-7,0)	0,501
	EP Severa	-1,9 (-13,8-9,9)	0,746
C4 (mg/dL)	No P		
	EP Leve	-2,8 (-7,4-1,7)	0,231
	EP Moderada	0,2 (-3,6-4,2)	0,892
	EP Severa	1,9 (-2,4-6,3)	0,392

Tabla 10. Asociaciones de parámetros clínicos periodontales relevantes con niveles elevados de marcadores inflamatorios en pacientes con MC. Modelos ajustados para edad, sexo, obesidad, depresión, bajo nivel educacional y consumo de tabaco.

Variable dependiente	Parámetros clínicos Periodontales	β (95% CI)	Valor p
PTX3 (pg/mL)	PS	799,0 (136,0-1462,0)	0,019
	NIC	485,2 (15,9-954,3)	0,043
sTWEAK (pg/mL)	PS	82,1 (23,4-140,9)	0,007
	NIC	66,0 (25,3-106,6)	0,002
hs-CRP (mg/dL)	PS	0,1 (-0,1-0,3)	0,431
	NIC	0,1 (-0,0-0,2)	0,195
C3 (mg/dL)	PS	-1,1 (-10,4-8,2)	0,810
	NIC	-0,0 (-6,6-6,4)	0,982
C4 (mg/dL)	PS	-0,0 (-3,5-3,3)	0,963
	NIC	0,1 (-2,2-2,6)	0,877

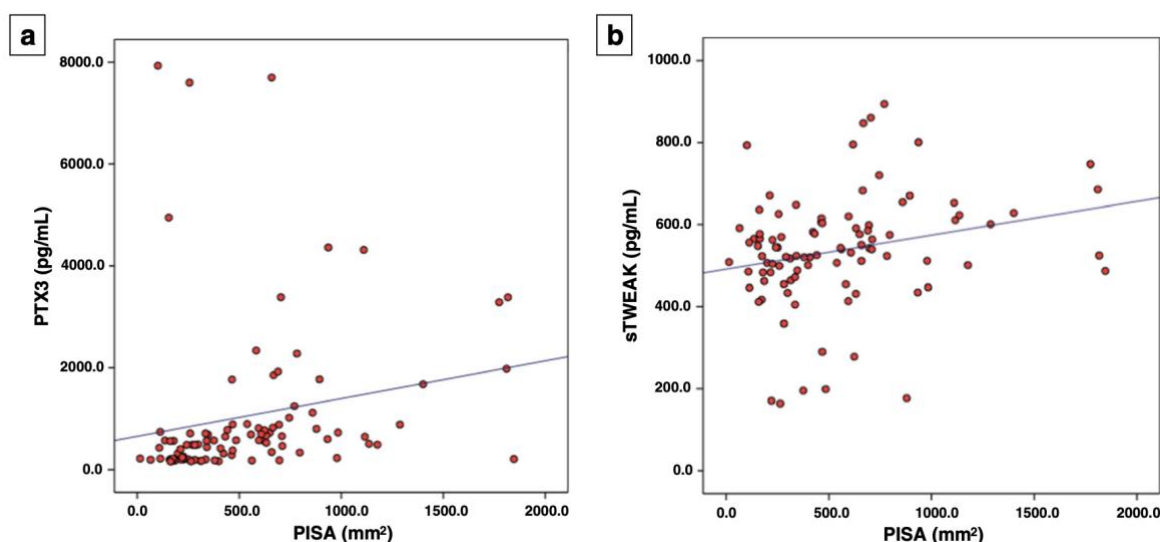


Figura 6, Correlación entre niveles séricos de PISA (mm²) y A) PTX3 (pg/mL); B) niveles séricos de sTWEAK (pg/mL).

5.5 Artículo 6

El objetivo del estudio fue investigar si existe un vínculo entre la periodontitis y los niveles periféricos de CGRP en una cohorte de pacientes con migraña crónica.

Los pacientes con migraña crónica tenían con mayor frecuencia antecedentes de depresión (41,2% versus 9,1%, $p < 0,0001$), nivel educativo más bajo (48,0% versus 26,0%, $p = 0,003$) y obesidad (31,4% versus 5,2%, $p < 0,0001$),) que los controles (Tabla 11).

La prevalencia de periodontitis fue mayor en los pacientes con migraña crónica en comparación con el grupo de control (58,5% versus 33,8%, $p = 0,001$). De hecho, las medidas continuas de la extensión y gravedad de la periodontitis también fueron significativamente mayores en la migraña crónica que en los controles, como el promedio de bolsas periodontales con PS ≥ 6 mm ($10,4 \pm 15,9$ versus $1,6 \pm 4,1$, $p < 0,0001$) y NIC ≥ 5 mm ($30,7 \pm 27,5$ versus $8,1 \pm 10,0$, $P < 0,0001$) (Tabla 11). Además, los niveles elevados de periodontitis activa medidos por el método PISA estuvieron más presentes en el grupo de migraña crónica 436,9 (244,2, 698,7) mm² versus 43,2 (19,9, 204,4) mm² ($P < 0,0001$) (Fig. 6). Las características relacionadas con la migraña se muestran en la Tabla 12.

Tabla 11. Características basales y condiciones periodontales.

VARIABLES	Migraña Crónica (n=102)	Controles (n=77)	Valor p
Hipertensión, n (%)	12 (11,8%)	5 (6,5%)	0,234
Diabetes mellitus, n (%)	1 (1,0%)	2 (2,6%)	0,404
Hipercolesterolemia, n (%)	14 (13,7%)	8 (10,4%)	0,501
Bruxismo, n (%)	12 (11,8%)	9 (11,7%)	0,987

Depresión, n (%)	42 (41,2%)	7 (9,1%)	<0,0001
Fumadores actuales, n (%)	17 (16,7%)	11 (14,3%)	0,664
Estrés, n (%)	22 (21,6%)	12 (15,6%)	0,312
Fibromialgia, n (%)	12 (11,8%)	4 (5,2%)	0,127
Obesidad, n (%) ^a	32 (31,4%)	4 (5,2%)	<0,0001
Bajo nivel educativo, n (%)	49 (48,0%)	20 (26,0%)	0,003
IPBC (%)	38,2±22,2	20,9±2,8	<0,0001
ISBC (%)	52,3±26,8	22,1±6,9	<0,0001
Severidad de periodontitis, n (%)			<0,0001
Leve	14 (13,7%)	13 (16,9%)	
Moderada	26 (25,5%)	12 (15,6%)	
Avanzada	21 (20,6%)	1 (1,3%)	
Medidas de PS			
PS Promedio (mm)	3,1±0,5	2,4±0,4	<0,0001
Número de sitios/boca PS ≥6 mm	10,4±15,9	1,6±4,1	<0,0001
Rec (mm)	0,5±0,4	0,2±0,1	<0,0001
Medidas de NIC			
NIC Promedio (mm)	3,6±0,8	2,7±0,5	<0,0001
Número de sitios/boca NIC ≥5 mm	30,7±27,5	8,1±10,0	<0,0001
Número actuales de dientes	24,5±3,1	26,0±1,5	<0,0001

^aIMC ≥ 30 kg/m².

Tabla 12. Resumen de la información sobre la migraña y el tratamiento entre los pacientes con migraña crónica (N=102).

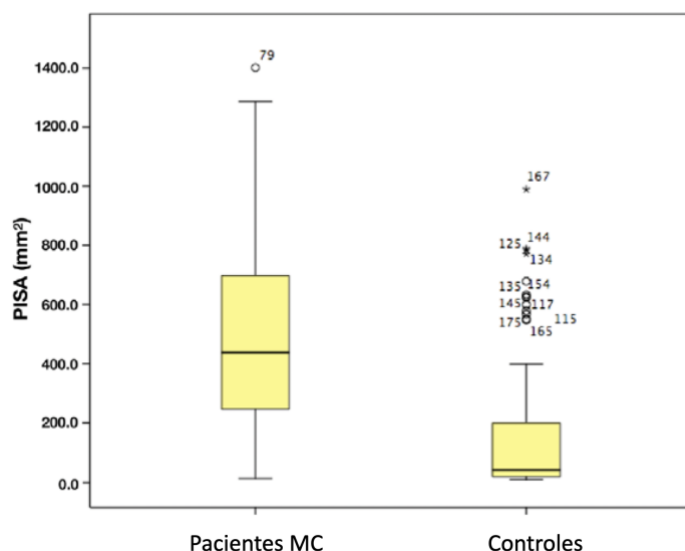
VARIABLES	
Tiempo de evolución de migraña crónica (meses)	25,8±13,8
Intensidad de la migraña	8,2±1,4
Número de días de cefalea/mes	18,8±5,7
Aura, n (%)	41 (40,2%)
Alodinia, n (%)	58 (63,7%)
Duración del ataque de migraña	
< 12 h	7 (6,9%)
12-24 h	20 (19,6%)
>24 h	75 (73,5%)
Abuso de analgésicos, n (%)	20 (21,3%)
Tto, Preventivo en los últimos 3 meses, n (%)	
Topiramato	28 (27,7%)
β-bloqueantes	39 (38,2%)
Amitriptilina	41 (40,2%)
Flunarizina	18 (17,6%)
Onabotulinumtoxicina A	70 (68,6%)
Antihipertensivos	16 (15,7%)
Tratamiento de la migraña aguda, n (%)	
Triptanos	73 (71,6%)
AINEs	88 (86,3%)
Opioides	17 (16,7%)
Ergóticos	102 (100%)

Los niveles circulantes de IL-6 y CGRP estaban significativamente elevados en la migraña crónica en comparación con los controles ($12,8 \pm 8,6$ versus $5,7 \pm 5,4$ pg/mL, $p < 0,0001$ y $17,9 \pm 6,7$ versus $6,8 \pm 4,2$ pg/mL, $p < 0,0001$; respectivamente). Por el contrario, los pacientes con migraña crónica tenían niveles séricos de IL-10 significativamente más bajos que los individuos sin migraña ($2,4 \pm 1,3$ versus $4,7 \pm 3,4$ pg/mL, $P < 0,0001$).

El análisis de subgrupos según el estado periodontal reveló que entre los pacientes con migraña crónica, aquellos con periodontitis tenían niveles séricos de IL-6 significativamente más altos en comparación con aquellos sin periodontitis. ($15,1 \pm 9,2$ versus $9,6 \pm 6,3$ pg/ml, $P < 0,0001$). Los participantes control con periodontitis también

mostraron niveles elevados de IL-6 en comparación con los controles sin periodontitis ($10,6 \pm 6,5$ versus $3,2 \pm 2,0$ pg/mL, $p < 0,0001$). De manera similar, la Figura 7 muestra que la presencia de periodontitis se relacionó con un aumento del CGRP tanto en pacientes con migraña crónica como en controles. Las concentraciones de IL-10, por el contrario, aumentaron significativamente en los controles sin periodontitis ($5,3 \pm 3,9$ pg/ml) que en aquellos con periodontitis ($3,6 \pm 1,7$ pg/ml, $p = 0,030$), así como en comparación con pacientes con migraña crónica, ambos con ($2,0 \pm 1,0$ pg/mL, $p < 0,001$) y sin periodontitis ($2,8 \pm 1,5$ pg/mL, $p < 0,001$).

Figura 7. Valores PISA en pacientes con y sin migraña crónica.



La periodontitis como variable categórica se asoció de forma independiente con mayores niveles séricos de CGRP en pacientes con migraña crónica, después de ajustar por edad, sexo, depresión, obesidad y bajo nivel educativo ($\beta = 4,354$ IC del 95%: 1,685-7,024, $p < 0,0001$). Cuando se analizó la gravedad de la periodontitis, la periodontitis leve ($\beta = 4,662$; IC del 95 %: 0,929–8,395, $p = 0,014$) y la periodontitis grave ($\beta = 7,366$; IC del 95 %: 3,990 a 10,743, $p < 0,0001$) se asociaron con el CGRP. Por el contrario, no se encontró asociación significativa con periodontitis moderada ($\beta = 1,848$; IC del 95%: $-1,182$ a $4,878$, $p = 0,232$).

PISA también se asoció significativamente con CGRP independientemente de los mismos factores de confusión ($\beta = 0,003$; IC del 95 %: 0,001 a 0,006, $P = 0,031$). De hecho, PISA se correlacionó positivamente con los niveles séricos de CGRP ($r = 0,236$; $p = 0,017$) e IL-6 ($r = 0,262$; $P = 0,008$) (Figs. 9A y 9B). Se encontró una correlación negativa con las concentraciones de PISA e IL-10 en suero ($r = -0,225$; $p = 0,023$). IL-6 y CGRP también se correlacionaron ($r = 0,417$; $P < 0,0001$)

Figura 8. Niveles séricos de CGRP de pacientes con y sin migraña crónica según el estado periodontal (expresado como media y DE).

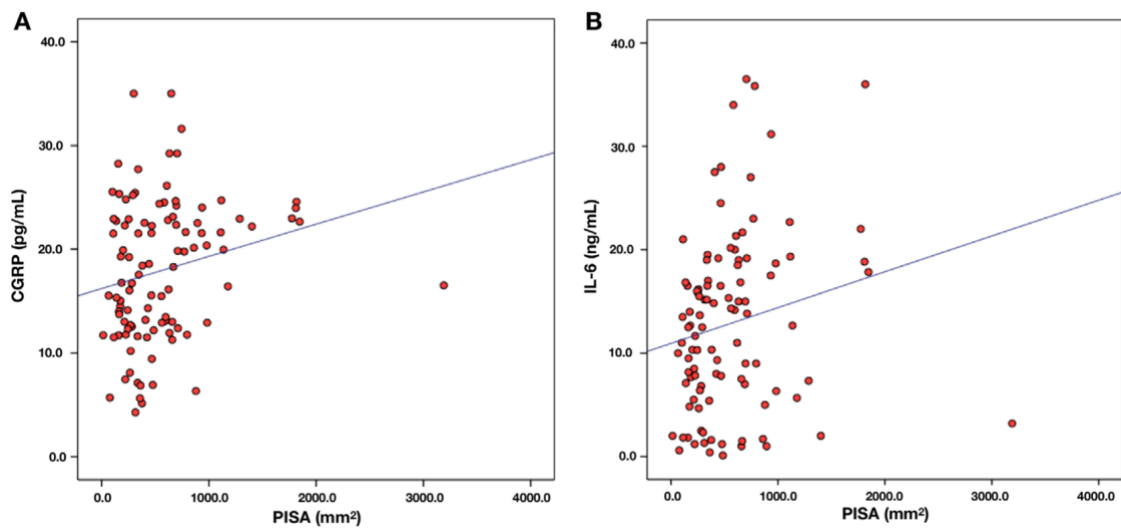
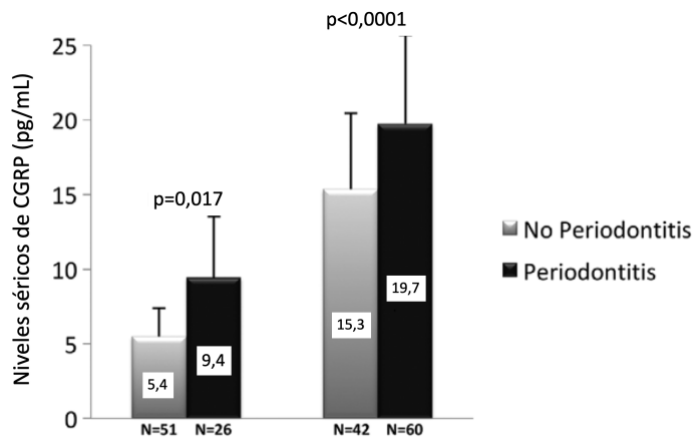


Figura 9. Correlación entre PISA y A) CGRP (pg/mL); B) IL-6 (ng/ml)

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio de casos y controles emparejados por edad y género que investigan la asociación entre P y MC respaldan la hipótesis de que la P es un indicador de riesgo de migraña independiente. Esta asociación se controló para varios posibles factores de confusión, incluidas las características sociodemográficas, los factores del estilo de vida y otros factores de riesgo de MC.

En este trabajo, la prevalencia de P en los individuos con MC fue del 58,8%. De igual forma, en el grupo de casos se encontraron diferencias significativas en cuanto a la prevalencia de depresión, obesidad y menor nivel educativo. De hecho, estos son algunos de los factores más importantes que confieren un mayor riesgo de cronificación de la migraña (May y Schulte 2016). Los pacientes con MC tienen más probabilidades de experimentar comorbilidades psiquiátricas como la depresión (Buse y cols. 2010). La obesidad es otro factor de riesgo para la cronificación de la migraña (Buse y cols. 2010) (Fava y cols. 2014), que se asocia con una mayor prevalencia de migraña (Peterlin y cols. 2010). En nuestro estudio, sin embargo, el análisis de regresión logística mostró que la P permaneció asociada de forma independiente con la MC después del ajuste por los posibles factores de confusión antes mencionados (es decir, depresión y obesidad) que ambas enfermedades podrían compartir. Por otro lado, el sistema sanitario público español solo cubre la extracción de muelas. Como resultado, las personas con un bajo nivel educativo/económico pueden tener menos acceso a los servicios de odontología privados y, por lo tanto, sus condiciones periodontales pueden empeorar. En el presente análisis, aunque la prevalencia de sujetos con bajo nivel educativo fue significativamente mayor en el grupo MC en comparación con los controles, esta variable no mostró un efecto significativo de asociación con la presencia de MC. Por el contrario, la P se asoció estadísticamente con la MC independientemente del bajo nivel educativo. Debemos tener precaución al interpretar nuestros resultados puesto que los migrañosos diagnosticados con P no muestran diferencias estadísticamente en cualquiera de las características de MC (es decir, tiempo de evolución de MC, intensidad del dolor de cabeza y número de ataques de migraña por mes) en comparación con aquellos sin P. Creemos que para demostrar una asociación específica entre P y MC, se deben probar controles compuestos por pacientes con cefalea tensional crónica u otras condiciones de dolor crónico, así como sujetos con ME.

Como señalamos con anterioridad, en nuestro estudio más de la mitad de nuestros pacientes con MC fueron diagnosticados con P. Además, la P cuando estaba presente, emergió como un contribuyente significativo e independiente al aumento de los niveles de leptina sérica. La expresión de leptina se regula durante las reacciones de fase aguda, y los niveles de esta adipocitoquina parecen estar elevados cuando ocurren estímulos inflamatorios e infecciosos como resultado de la acción de los lipopolisacáridos bacterianos y las citoquinas (Grunfeld y cols. 1996). En base a esto, el aumento de las concentraciones de leptina sérica se correlaciona con la cantidad de destrucción del tejido periodontal (Karthikeyan y Pradeep, 2007). En nuestro estudio, encontramos que los indicadores del estado actual y prolongado de P (es decir, PS y NIC, respectivamente) se asociaron positivamente con los niveles de leptina sérica entre pacientes con P y MC. Estos resultados son similares a los de estudios previos, donde se demostraron que los parámetros periodontales clínicos se asociaron con niveles elevados de leptina en suero en pacientes con P (Gundala y cols. 2014; Purwar y cols. 2015). Sin embargo, los datos

de nuestros análisis de regresión multivariable mostraron que el IMC también estaba fuertemente asociado con los niveles de leptina sérica. Por lo tanto, lo que sugiere que un IMC elevado también podría contribuir a un aumento en las concentraciones de leptina sérica.

El fenómeno DCP se considera el sustrato electrofisiológico de la migraña y un desencadenante del dolor de cabeza. Brevemente, la DCP consiste en una depresión transitoria de la actividad electrocorticográfica que dura varios minutos y se propaga lentamente en todas direcciones en la corteza a través de la contigüidad de la materia gris. Además, la DCP también se asocia con cambios característicos del flujo sanguíneo cerebral (CBF, por sus siglas en inglés) (Ayata 2010). Mientras que ocurre un gran aumento en el CBF que dura un par de minutos (es decir, hiperemia), se puede observar una reducción del CBF que persiste durante al menos 1 hora (es decir, oligemia) (Eikermann-Haerter y Ayata, 2010). Recientemente, un estudio en animales mostró que la administración crónica de leptina provocó cambios en la excitabilidad cortical y aumentó significativamente la aparición de DCP, lo que sugiere que la leptina puede desempeñar un papel en la patogénesis de la migraña (Kitamura y cols. 2015). Los resultados de los estudios que evalúan los niveles de leptina sérica en pacientes con migraña son controvertidos (Dearborn y cols. 2014; Guldiken y cols. 2008; Pisanu y cols. 2016). Un estudio encontró niveles de leptina significativamente más bajos en pacientes con ME en comparación con controles sanos. Sin embargo, después de ajustar por el índice de masa corporal, los niveles de leptina no difirieron entre los grupos (Guldiken y cols., 2008). Los resultados del Estudio de riesgo de aterosclerosis en comunidades (ARIC) también demostraron que los niveles de leptina eran similares en pacientes con migraña y controles (Dearborn y cols. 2014). Sin embargo, los autores no mencionaron si los pacientes padecían EM o MC. Por el contrario, Pisanu y cols. en 2016 mostró que las personas con migraña tenían niveles significativamente más altos de leptina que los controles. Además, se encontró que la leptina estaba asociada con la presencia de migraña, concluyendo que este biomarcador podría desempeñar un papel en la patogénesis de la migraña. Recientemente, nuestro grupo demostró que los niveles elevados de leptina están implicados no solo en la fisiopatología de la migraña sino también en el proceso de cronificación de esta enfermedad a través de la inflamación sistémica (Domínguez y cols. 2017). De manera similar, un estudio realizado en pacientes con MC también mostró niveles de leptina sérica significativamente mayores en comparación con los controles, después de ajustar por IMC, edad y sexo femenino (Rubino y cols. 2016). Los resultados del presente estudio concuerdan con investigaciones previas (Domínguez y cols, 2017; Rubino y cols., 2016), en las que también observamos que los pacientes con MC tenían concentraciones séricas de leptina significativamente más altas en comparación con el control. grupo (16,4 frente a 7,2 ng/ml, $p < 0,0001$).

En nuestro estudio, encontramos que los controles con P mostraron niveles de leptina sérica similares en comparación con los grupos de P de estudios previos (Gundala y cols. 2014; Karthikeyan y Pradeep 2007; Purwar y cols. 2015). Ya se ha planteado la hipótesis de que el aumento de la concentración de leptina sérica hasta 10 ng/ml podría considerarse un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular (Wallace y cols. 2001; Yamagishi y cols. 2001). De acuerdo con esto, un aumento en los niveles de leptina sérica debido a P podría desempeñar un papel en la patología cardiovascular como el infarto agudo de miocardio (Gundala y cols. 2014). En el presente estudio, observamos que la presencia de P se asoció con mayores niveles de leptina tanto en el grupo MC (19,8 frente a 11,8

ng/ml, $p < 0,0001$) como en el grupo control (10,6 frente a 4,2 ng/ml, $p = 0,037$). Cuando se realizó un análisis de regresión multivariable, las medidas periodontales continuas (es decir, PS y NIC) se asociaron de forma independiente con la leptina. De hecho, cuando se analizó la PC como una variable categórica, también encontramos que la infección periodontal estaba fuertemente asociada con los niveles de leptina en los migrañosos, después de ajustar por posibles factores de confusión ($R^2 = 0,270$, $p = 0,013$). Por lo tanto, el aumento crónico de las concentraciones de leptina sérica en pacientes con diagnóstico de P podría exacerbar la DCP y los procesos inflamatorios que ocurren en la migraña, elevando así el riesgo de cronificación de la migraña (Ameijeira et al., 2017). Debido a que la P se puede tratar de manera eficaz y se ha demostrado que la terapia periodontal reduce los niveles de leptina sérica en pacientes con P (Purwar y cols. 2010; Shimada y cols. 2010), se necesitan más estudios de intervención para reducir los niveles de leptina en pacientes con MC, lo que puede producir una menor cronificación de la migraña.

En el presente trabajo, demostramos que los pacientes con MC y P tenían niveles séricos de proCT significativamente más altos en comparación con los pacientes con MC y periodontalmente sanos, sistémicamente sanos y con P, y sistémica y periodontalmente sanos. La P surgió como un contribuyente significativo e independiente a los niveles séricos elevados de proCT en pacientes con MC. Además, las medidas continuas de P demostraron estar fuertemente asociadas con las concentraciones séricas de proCT. De hecho, se encontró una relación significativa y positiva entre los indicadores del estado actual y prolongado de P (es decir, PS y NIC, respectivamente) con proCT en migrañosos crónicos. Se ha informado que los niveles séricos de proCT aumentan durante los ataques de migraña. (Turan y cols. 2011) Debido a que la inflamación estéril meníngea parece ocurrir en la migraña, (Waeber y Moskowitz 2005) es factible creer que la proCT se libera durante el dolor de cabeza. Además, proCT actúa como un agonista parcial del receptor del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP1) y, por lo tanto, puede promover la acción de CGRP. (Sexton y cols. 2008) La ProCT es producida tanto por la glándula tiroides como por las células neuroendocrinas que forman parte de los pulmones. (Becker y cols. 2004). Se podrían formular dos hipótesis sobre diferentes vías a través de las cuales la P se relaciona con niveles más altos de proCT en suero. Una es que las bolsas periodontales proporcionan una gran área de superficie, en la que las ulceraciones en el revestimiento de la bolsa ofrecen un fácil acceso para las bacterias periodontales y los mediadores inflamatorios (es decir, proCT) a la circulación sistémica.

El otro corresponde a la secreción de proCT por parte del tiroides en respuesta a la infección periodontal (Becker y cols. 2004). Según esto, la liberación crónica de proCT por parte de la P podría estar involucrada en el proceso de neuroinflamación que ocurre durante el inicio y la cronificación de la migraña. Otro hallazgo de nuestro estudio es el hecho de que los niveles séricos de hs-CRP en migrañosos crónicos sin PC no fueron significativamente diferentes de los del grupo sano sistémica y periodontalmente. Nuestros resultados están de acuerdo con estudios previos en los que se midieron los niveles de hs-CRP en pacientes con migraña durante el período interictal. (Silva y cols. 2007; Guldiken y cols. 2011; Rockett y cols. 2013) Además, un estudio transversal realizado en mujeres italianas diagnosticadas con MC demostró que las concentraciones séricas de hs-CRP eran similares a las del grupo control. (Fava y cols. 2014). Por el contrario, hay algunos estudios que muestran un aumento modesto de hs-CRP en migrañosos (Welch y cols. 2006; Vanmolkot y de Hoon 2007) pero pueden surgir algunas dudas metodológicas. En el primer estudio, no hay un grupo de control y los casos eran

migrañosos que tenían características clínicas atípicas, graves y complejas. Además, no se realizó un control de factores de riesgo vascular de confusión como hipertensión, hipercolesterolemia o tabaquismo (Welch y cols. 2006). En otra investigación (Vanmolkot y de Hoon 2007), el aumento de esta proteína de fase aguda solo se observó en pacientes sin aura y, se ha demostrado que es la migraña con aura más que sin aura la que se asocia con enfermedades vasculares.

En el presente estudio, también buscamos investigar la asociación entre la P y la inflamación sistémica vascular en la MC. Nuestros resultados mostraron que la P avanzada estaba relacionada con niveles circulantes elevados de PTX3 y sTWEAK en un grupo de pacientes diagnosticados con MC. Sin embargo, no se observaron asociaciones significativas con respecto a los niveles séricos de CRP, C3 y C4.

Debido a su capacidad para producir un estado permanente de inflamación de bajo grado, se considera que la P aumenta el riesgo de desarrollar varias enfermedades neurológicas, como el accidente cerebrovascular isquémico, la enfermedad de Alzheimer o la esclerosis múltiple (Leira y cols. 2017a; Leira y cols. 2017b; Sheu y Linn 2013). Además, en este trabajo descubrimos que los pacientes con P tenían un riesgo 2,4 veces mayor de tener MC (Ameijeira y cols. 2019). En el presente análisis confirmamos los hallazgos observados previamente, en los que la P es frecuente en pacientes con MC (55 individuos diagnosticados de EP, el 58,5 % de la muestra total). Se ha planteado la hipótesis de que durante la inflamación periodontal, los mediadores proinflamatorios que se producen localmente dentro de la encía se diseminan sistémicamente debido a la endotoxemia y, por lo tanto, podrían estar involucrados en la cronificación de la migraña al aumentar la inflamación neurogénica (Ameijeira y cols. 2017).

En nuestro estudio, encontramos una asociación independiente de P avanzada y parámetros clínicos de P con niveles circulantes elevados de PTX3 y sTWEAK en migrañosos crónicos. Estos resultados concuerdan con informes previos en la literatura en los que el aumento de la inflamación sistémica medida por los niveles séricos de leptina y procalcitonina se vinculó con la enfermedad de Parkinson entre los pacientes con MC (Leira y cols. 2017c; Leira y cols. 2018). Los PTX son miembros de la superfamilia de APR y se pueden dividir en PTX cortos y largos. Los constituyentes cortos incluyen PCR, que se sintetiza en el hígado principalmente con la estimulación de IL-6. Por el contrario, la PTX3 de larga duración es producida por neutrófilos, células dendríticas de fibroblastos, macrófagos, células epiteliales y células endoteliales, en respuesta a señales proinflamatorias como productos bacterianos, TNF- α , IL-1 β y por receptores tipo toll-like. (Mantonvani y cols. 2008; Vilahur y Badimon 2015). Nuestros resultados confirmaron estudios previos realizados en pacientes periodontales crónicos, que mostraron una relación positiva entre los parámetros clínicos periodontales (es decir, PS o NIC) y niveles de PTX3 tanto a nivel local como sistémico (Pradeep y cols. 2011; Fujita y cols. 2012; Temelli y cols. 2018).

Además, los datos clínicos transversales encontraron un aumento en las concentraciones de PTX en los sitios afectados periodontalmente en comparación con los sitios sin EP (Fujita y cols. 2012). Del mismo modo, observamos que el método PISA, que es una medida de actividad y gravedad de la EP, se correlacionó con niveles elevados de PTX3 en sangre periférica. PTX3 se ha estudiado como marcador de disfunción endotelial vascular. Los datos experimentales sugieren que la administración exógena de PTX3 redujo significativamente la producción de óxido nítrico a través de la vía de la

metaloproteinasa de matriz (MMP)-1 y la P-selectina, lo que condujo a alteraciones morfológicas de las células endoteliales. (Carrizo y cols. 2015). La evidencia clínica demostró que la PTX3 plasmática, pero no la CRP, se asoció con la dilatación mediada por flujo (FMD) (una medida directa de la función endotelial alterada entre pacientes con enfermedad de las arterias coronarias, PTX3 podría ser un predictor más potente de disfunción endotelial en comparación con la CRP (Yasunaga y cols. 2014). Estos resultados fueron respaldados con otros estudios realizados en diferentes poblaciones de pacientes como la enfermedad renal crónica o el síndrome de apnea obstructiva del sueño (Suliman y cols. 2008; Kanbay y cols. 2015). En la migraña, PTX3 no solo se sobreexpresa (Ceylan y cols. 2016), sino que también podría ser un nuevo biomarcador para la selección del tratamiento de la MC porque se asocia con una buena respuesta a OnabotA (Domínguez y cols. 2018), lo que otorga a esta molécula importantes implicaciones terapéuticas en los migrañosos crónicos. No se encontró asociación entre la P y sus parámetros clínicos y la CRP en nuestros pacientes con MC. Aunque se sugiere que los niveles circulantes de CRP aumentan en pacientes periodontales (Paraskevas y cols. 2008), los resultados de la migraña son controvertidos (Silva y cols. 2007; Guldiken y cols. 2011; Rockett y cols. 2013; Fava y cols. 2014; Welch y cols. 2006; Vanmolkot y De Hoon 2007) Los pacientes periodontales severos tenían los niveles séricos de hs-CRP sérico dos veces superior con respecto a los sujetos sin EP (0.4 ± 0.9 mg/dL vs. 0.2 ± 0.3 mg/dL). Otro hallazgo de nuestro estudio es la falta de marcadores de activación del complemento (es decir, C3 y C4) y la EP entre nuestra cohorte de pacientes. C3a y C5a pueden iniciar la respuesta inflamatoria local similar a la que ocurre en la EP, y varias proteínas del complemento también pueden activar las células endoteliales y fagocíticas (Damgaard y cols. 2015). Aunque algunas series de casos observaron que la activación del complemento a través de la vía clásica podría ocurrir en migrañosos mostrando una disminución de C4 y C5 al inicio del dolor de cabeza, así como una ruptura de C3 antes del ataque de migraña (Lord y cols. 1977a; Lord y Duckworth 1997b) datos clínicos adicionales demostraron que los factores del complemento podrían no estar implicados en la fisiopatología de la migraña (Behan y cols. 1981; Moore y cols. 1980; Kemper y cols. 2001). sTWEAK pertenece a la superfamilia TNF y se expresa en varios tejidos, como el corazón, los pulmones y el cerebro, así como en las células endoteliales y del músculo liso (Chicheportiche y cols. 1997). Los tejidos gingivales afectados por EP sobreexpresan TWEAK en comparación con los tejidos periodontales sanos (Kataria y cols. 2010). En nuestra muestra de pacientes se encontró asociación entre P avanzada y sTWEAK.

Además, observamos que una medida clínica de inflamación periodontal (es decir, PISA) se correlacionó positivamente con niveles séricos aumentados de sTWEAK, y otros parámetros periodontales como PS y NIC confirmaron el vínculo positivo entre EP y sTWEAK. Estudios *in vitro* mostraron que TWEAK tiene el potencial de inducir IL-1 β , moléculas de adhesión endotelial [molécula de adhesión intracelular-1 (ICAM-1) y molécula de adhesión de células vasculares-1 (VCAM-1)] en fibroblastos gingivales humanos (Hosokawa y cols. 2006; Hosokawa y cols. 2012) De hecho, TWEAK está relacionado con la disfunción del endotelio vascular. La evidencia *in vitro* mostró que TWEAK es capaz de inducir selectina E e ICAM-1 en la superficie celular de las células endoteliales de la vena umbilical humana (Harada y cols. 2002) y en pacientes con enfermedad renal crónica, sTWEAK se correlaciona con la fiebre aftosa (Yilmaz y cols. 2009). Con respecto a la migraña, nuestro grupo mostró niveles más altos de sTWEAK periférico en migrañosos en comparación con los controles, aunque no pudo demostrar un papel potencial como predictor de una buena respuesta a OnabotA (Domínguez y cols. 2018). Sin embargo, sTWEAK está relacionado con una mayor permeabilidad de la

barrera hematoencefálica (BHE), que es un evento crítico en el desarrollo y la progresión de las enfermedades neuroinflamatorias (Boulamery y Deplat-Jego 2017). Por ejemplo, sTWEAK modula la producción y activación de MMP-9, por lo que participa en la alteración de la BHE en cultivos de células endoteliales microvasculares cerebrales humanas (Stephan y cols. 2013). Mostramos una mayor producción de MMP-9 durante los ataques de migraña (Leira y cols. 2007). Por lo tanto, es factible que sTWEAK también pueda participar en la interrupción de BHE a través de MMP-9. Se necesita más trabajo en esta área para explorar esta hipótesis.

En la misma línea también encontramos que la inflamación periodontal (es decir, PISA) fue asociado con un aumento de los niveles circulantes de CGRP en migrañosos crónicos y esta relación podría estar mediada por una mayor inflamación sistémica planteada por la periodontitis. Hasta donde sabemos, este es el primer trabajo que tiene como objetivo investigar el vínculo entre la periodontitis y la CGRP entre los pacientes con migraña crónica.

La inflamación está presente en la migraña. (Waeber y Moskowitz 2005) Anteriormente, nuestro grupo mostró que los migrañosos crónicos tenían niveles elevados de IL-6 y niveles más bajos de IL-10 en comparación con las personas sin dolor de cabeza (Domínguez y cols. 2018). Confirmamos esta observación en nuestra cohorte de participantes, en la que el grupo de migraña crónica presentó más IL-6 y menos IL-10 en comparación con el grupo control. La evidencia reciente sugiere que los pacientes con periodontitis son más propensos a tener migraña crónica. (Ameijeira y cols. 2019) En nuestro estudio, corroboramos que la periodontitis es común en la migraña crónica. Además, los valores medios de una medida de la inflamación periodontal y la actividad de la enfermedad, el método PISA, fueron significativamente más altos en los migrañosos crónicos que en los controles. De hecho, el epitelio periodontal ulcerado e inflamado fue de 4,3 cm² en el grupo de migraña crónica frente a 0,4 cm² en el grupo de control. Con base en esto, se especula que la plausibilidad biológica detrás de la posible asociación entre periodontitis y migraña crónica se debe principalmente a la entrada transitoria de mediadores inflamatorios en el torrente sanguíneo como la leptina o la procalcitonina (Leira y cols. 2017; Leira y cols. 2018) que podrían viajar a los vasos sanguíneos cerebrales exacerbando los ataques de migraña, lo que a su vez podría conducir al proceso de cronificación de la enfermedad. En el presente estudio observamos que los migrañosos crónicos con periodontitis tenían niveles séricos significativamente más altos de IL-6 en comparación con aquellos sin periodontitis y que había una correlación positiva lineal entre PISA e IL-6, lo que confirma nuevamente el vínculo entre la periodontitis, inflamación sistémica y migraña crónica. Por el contrario, y como era de esperar debido a su naturaleza antiinflamatoria, las concentraciones circulantes de IL-10 fueron menores en la migraña crónica que en el grupo control. Además, los pacientes con ambas condiciones (migraña crónica y periodontitis) también tenían niveles más bajos de IL-10 en comparación con aquellos con migraña crónica y sin periodontitis.

Se ha demostrado que el CGRP tiene un papel causal en los ataques de migraña (Lassen y cols. 2002) y los estudios demostraron que este biomarcador podría ser un buen predictor de la eficacia para prevenir los ataques de migraña en los migrañosos crónicos. (Cernuda-Morollón y cols. 2014; Cernuda-Morollón y cols. 2015). La liberación de CGRP periférico provoca vasodilatación y altera el microambiente del STV resultando en más liberaciones de CGRP y, por lo tanto, aumentando las probabilidades de tener ataques de migraña más frecuentes. La evidencia de experimentos humanos demostró que

las inyecciones intravenosas de CGRP podrían desencadenar ataques similares a los de la migraña en los migrañosos, pero no en individuos sanos. (Lassen y cols. 2002; Hansen y cols. 2002) Además, los ensayos que utilizaron antagonistas selectivos de los receptores de CGRP no peptídicos proporcionaron más pruebas del papel causal del CGRP en la patogenia de la migraña. (Karsan y Goadsby 2015) En primer lugar, observamos que los niveles séricos de CGRP fueron significativamente más altos en el grupo de migraña crónica que en aquellos sin migraña crónica. Estos hallazgos concuerdan con estudios previos en los que el CGRP se considera un biomarcador importante de la migraña crónica. (Cernuda-Morollón y cols. 2013) Sin embargo, también se publicaron resultados negativos en los que los niveles de CGRP interictal en sangre periférica no difirieron entre los migrañosos crónicos y los controles (Lee y cols. 2018). En segundo lugar, esos pacientes con migraña crónica y periodontitis presentaron niveles elevados de CGRP en comparación con individuos con migraña crónica y periodonto sano. En tercer lugar, entre el grupo de control, los pacientes periodontales tenían niveles más altos de CGRP en suero en comparación con aquellos sin periodontitis. Contrariamente a estos resultados, otro estudio (Haririan y cols. 2017) no observaron diferencias en las concentraciones de CGRP medidas tanto en el suero como en la saliva de pacientes con periodontitis y sin periodontitis. Sin embargo, otro estudio mostró que los sitios periodontalmente sanos mostraron un aumento de las concentraciones de CGRP en el líquido crevicular gingival, en comparación con sitios con gingivitis o periodontitis (sin detección de CGRP) (Lundy y cols. 2000). Un hallazgo clave de nuestro estudio es que la periodontitis y, en particular, el PISA se asociaron significativamente con niveles periféricos elevados de CGRP en pacientes con migraña crónica. Esto podría explicarse por el efecto vasodilatador producido por la inflamación periodontal que podría aumentar la tasa neta de eliminación de CGRP de las encías y elevar CGRP sistémicamente, promoviendo así la cronificación de la migraña debido a un aumento en el número de dolores de cabeza. Sin embargo, también podría ser factible que CGRP inicie el proceso inflamatorio en la encía después del desafío microbiano en individuos susceptibles periodontalmente. Por lo tanto, se justifican más estudios que evalúen el riesgo de que los pacientes con migraña crónica tengan periodontitis. Otra posibilidad es que la asociación observada entre inflamación periodontal y CGRP pueda estar mediada por una respuesta inflamatoria sistémica.

En nuestra muestra de migrañosos crónicos, encontramos una correlación lineal entre PISA, IL-6 y CGRP. Esto está respaldado por datos experimentales, que mostraron que los lipopolisacáridos de bacterias similares a las involucradas en la patogenia de la periodontitis produjeron citocinas que facilitaron la liberación de CGRP y sensibilizaron las terminales a través de la regulación de la función de liberación periférica de los aferentes sensoriales primarios. (Hua y cols. 1996). Debido a la naturaleza transversal de nuestra investigación, no podemos descartar la hipótesis de que CGRP estimula la producción de IL-6. Se ha demostrado que el CGRP es capaz de producir citoquinas proinflamatorias a partir de linfocitos y macrófagos después de una infección por lipopolisacáridos. (Cuesta y cols. 2002; Tang y cols. 1998) Sería de gran interés si una respuesta inflamatoria mejorada contribuye a la liberación de CGRP, o si el CGRP es uno de los contribuyentes al aumento sistémico de inflamación en pacientes con migraña crónica.

A pesar de que varias vías fisiopatológicas pueden explicar la asociación potencial entre P y MC, como la inflamación sistémica, la alteración de la función del endotelio vascular o la activación del STV, faltan estudios sobre el mecanismo que investiguen el papel de la P en el proceso de cronificación de la migraña. Sin embargo, nuestro grupo

demuestra en este trabajo que la PC podría contribuir a niveles elevados de leptina, procalcitonina, en pacientes con MC, por lo tanto, exacerbando la DCP y los procesos inflamatorios que tienen lugar en la migraña y, como resultado, elevando la riesgo de cronificación de la migraña. Se ha demostrado que el control de la infección periodontal local podría tener un efecto positivo en términos de reducción de la inflamación sistémica (D'Aiuto y cols. 2004) y mejora de la función del endotelio vascular (Tonetti y cols. 2007). Debido a que, hasta donde sabemos, este es el primer estudio que demostró una asociación entre P y MC, existe una falta de evidencia con respecto a los ensayos clínicos con el objetivo de investigar el efecto del tratamiento periodontal en pacientes con MC. Sin embargo, se podría suponer que, en migrañosos con P, el tratamiento de esta última podría tener beneficios potenciales no solo en cuanto a parámetros inflamatorios sino también mejorando la función vascular del endotelio. Además, se ha demostrado que la terapia periodontal da como resultado una reducción significativa tanto de la sustancia P del líquido crevicular gingival como del plasma y la neuroquinina A, que son neuropéptidos implicados en la patogenia de la migraña (Lundy y cols. 2000; Pradeep y cols. 2009)

La principal limitación del estudio es la mayor tasa de mujeres (98%) en la muestra. Debido a que la MC es casi tres veces más común en mujeres que en hombres (Buse y cols. 2012; Katsarava y cols. 2009), es bastante difícil incluir un número similar de pacientes de ambos sexos. Otra limitación es la influencia de los fármacos antiinflamatorios que reciben los migrañosos como parte de su terapia. Este parámetro no fue analizado y esta condición puede tener un papel en la inflamación gingival. Sin embargo, los pacientes con MC y P tenían valores significativamente más altos de inflamación gingival (es decir, ISBC) que el grupo de MC sin P (60,0 vs. 41,3 %, $p < 0,0001$). El diseño del estudio de casos y controles tiene limitaciones. Debido a que el estado periodontal se evaluó después del diagnóstico de migraña, no pudimos investigar la relación temporal entre la exposición y el resultado. Otra limitación es el posible sesgo de selección hacia controles con mayor conciencia sobre la salud. Finalmente, aunque la pérdida ósea radiográfica también puede incluirse en el diagnóstico periodontal para clasificar la gravedad de la P, realizamos un gráfico periodontal de boca completa para garantizar un diagnóstico periodontal correcto.

Existen algunos factores que podrían predisponer a la cronificación de la migraña (i.e. depresión, eventos vitales estresantes o alodinia) (May y Schulte, 2016), los cuales no fueron incluidos en el presente estudio. Sin embargo, nuestros análisis estadísticos mostraron que en los migrañosos, la PC se asoció de forma independiente con la leptina después de controlar otras covariables de confusión bien conocidas, como el IMC, el sexo femenino, la edad y el bajo nivel educativo. Nuestros análisis estadísticos también mostraron que en los migrañosos crónicos, la P se asoció de forma independiente con proCT después de controlar otras covariables de confusión bien conocidas, como el sexo femenino, la edad, el IMC, la depresión o el bajo nivel educativo. Está bien documentado que el aumento de los niveles séricos de hs-PCR es un marcador de inflamación, especialmente en enfermedades vasculares ateroscleróticas (Ridker y cols. 2002) o enfermedades infecciosas como la PC. (Paraskevas y cols. 2008). Sin embargo, niveles bajos de este mediador proinflamatorio también podrían verse en enfermedades con inflamación tisular como el lupus eritematoso sistémico (Ter Borg y cols. 1990). Cabe señalar que, aunque se encontraron niveles normales de hs-CRP en nuestra población con MC, esto no significa que no haya inflamación presente en la MC. Debido a que nuestro resultado primario fueron los niveles séricos de proCT, la explicación más razonable para

estos resultados es que el tamaño de la muestra no se calculó en función de los niveles séricos de hs-CRP en pacientes con migraña crónica. por lo tanto, no alcanzando significación estadística. Sin embargo, dentro de los pacientes diagnosticados con MC, las concentraciones de hs-CRP tendieron a ser más altas en pacientes periodontales en comparación con aquellos con periodonto sano (3,1 frente a 2,7 mg/L). Además, cuando analizamos la población sistémicamente sana, encontramos que los pacientes con P también tenían niveles séricos de hs-CRP significativamente más altos en comparación con los sujetos sin P (5,2 frente a 1,3 mg/l, $p = 0,013$). De hecho, está bien establecido que niveles de PCR-us > 3 mg/L constituyen un predictor de riesgo de enfermedad cardiovascular (Pearson y cols. 2003), por lo que, de acuerdo con la literatura previa, nuestros pacientes con P también podrían tener un mayor riesgo de desarrollar eventos vasculares. (Paraskevas y cols. 2008).

Otra limitación de la investigación es que los biomarcadores inflamatorios sistémicos medidos podrían aumentar en la sangre periférica debido a otras afecciones inflamatorias relacionadas con la MC, como la obesidad (Bigal y cols. 2007). Sin embargo, la asociación entre EP avanzada y concentraciones elevadas de PTX3 y sTWEAK siguió siendo significativa después de ajustar por obesidad. Finalmente, debemos ser cautos a la hora de interpretar nuestros resultados debido al bajo número de pacientes con EP avanzada. A pesar de tener 19 pacientes con EP avanzada en nuestra muestra (20,2%), es casi el doble de los sujetos que esperaríamos de la población general (10,8%).

Otra limitación del estudio es que ciertos medicamentos (p. ej., medicamentos antiinflamatorios no esteroideos [AINE], OnabotA o triptanos), así como condiciones como la obesidad, pueden disminuir o aumentar los niveles circulantes de CGRP. Sin embargo, las concentraciones de CGRP aún eran significativamente más altas en la migraña crónica que en los controles. En nuestros modelos de regresión, después de ajustar por obesidad, encontramos una asociación significativa entre periodontitis y CGRP en la migraña crónica. De manera similar, una serie de factores relacionados con la reducción o el aumento del sangrado/inflamación gingival, como el consumo de tabaco y los medicamentos (p. ej., AINE, OnabotA o antihipertensivos), junto con enfermedades como la diabetes, la obesidad o la hipertensión pueden influir en las puntuaciones de PISA.

CONCLUSIONES

- 1.- La P se asoció de forma independiente con la presencia de MC.
- 2.- El PISA, que es un parámetro clínico periodontal de enfermedad activa, se asocia positiva e independientemente con la presencia de MC.
- 3.- La P se asocia de forma independiente a niveles elevados de leptina sérica en pacientes con MC. Se sugiere que la P a través de la leptina podría estar involucrada en el proceso de cronificación de la migraña.
- 4.- La P se asocia de forma independiente a niveles elevados de proCT en suero en pacientes con MC. Se sugiere que la P mediante la vía proCT podría estar involucrada en el proceso de cronificación de la migraña.
- 4.- La P avanzada se asoció con niveles circulantes elevados de PTX3 y sTWEAK en pacientes con MC. Se sugiere que la P a través de la vía de disfunción endotelial podría estar implicada en el proceso de cronificación de la migraña.
- 5.- La P está relacionada con niveles séricos más altos de CGRP en pacientes con MC. Se sugiere que la P mediante la vía de la inflamación neurogénica podría estar involucrada en la cronificación de la migraña.

IMPLICACIONES PARA INVESTIGACIÓN FUTURA

IMPLICACIONES PARA INVESTIGACIÓN FUTURA

Son necesarios más estudios longitudinales con muestras grandes para confirmar nuestros resultados e investigar si la P puede ser considerada como un factor cronificante de la migraña, así como identificar mecanismos fisiopatológicos que puedan explicar el vínculo entre ambas enfermedades. Si se establece una clara asociación entre enfermedades, una intervención temprana para mitigar los factores de riesgo podría ser potencialmente efectiva para prevenir la progresión de EM a MC. Por lo tanto, se deben realizar estudios de intervención en migrañosos con PC para evaluar un beneficio potencial de la terapia periodontal.

Para comprender mejor los mecanismos fisiopatológicos subyacentes a la asociación encontrada en nuestro trabajo, se justifican estudios experimentales para investigar los mecanismos biológicos subyacentes a la relación entre periodontitis, CGRP, inflamación sistémica, disfunción endotelial y migraña crónica.

REFERENCIAS

REFERENCIAS

Abdellatif HM, Burt BA. 1987. An epidemiological investigation into the relative importance of age and oral hygiene status as determinants of periodontitis. *J Dent Res*. 66(1):13–18.

Ainamo J, Bay I. 1975 Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*. 25:229–35.

Akhter R, Hannan M A, Okhubo R, Morita M. 2005. Relationship between stress factor and periodontal disease in a rural area population in Japan. *Eur J Med Res* 10(8):352-7.

Albandar, J.M., Brunelle, J.A. y Kingman, A. 1999. Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *Journal of Periodontology* 70, 13–29.

Albandar JM, Rams TE. 2002. Global epidemiology of periodontal diseases: an overview. *Periodontol* 2000. 29:7–10.

Albandar, J.M. 2002a. Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. *Periodontology* 2000 29, 177–206.

Amar, S., Gokce, N., Morgan, S. et al. 2003. Periodontal disease is associated with brachial artery endothelial dysfunction and systemic inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 23, 1245–1249.

Ameijeira, P., Leira, Y., Blanco, J. Leira, R. 2017. Periodontal disease as a potential factor of migraine chronification. *Medical Hypotheses*, 102, 94–98.

Ameijeira P, Leira Y, Domínguez C, Leira R, Blanco J 2018. Association between periodontitis and chronic migraine: a case-control study. *Odontology* 107:90–95

Andriankaja OM, Sreenivasa S, Dunford R, DeNarfin E. 2010. Association between metabolic syndrome and periodontal disease. *Aus Dent J*. 55(3):252–259.

Arulmani U, Maassenvandenbrink A, Villalón CM, Saxena PR. 2004 Calcitonin gene-related peptide and its role in migraine pathophysiology. *Eur J Pharmacol*. 500:315–330.

Aurora SK, Kulthia A, Barrodale PM. 2011. Mechanism of chronic migraine. *Curr Pain Headache R*. 15(1):57-63.

Aurora SK, Barrodale P, Chronicle EP, Mulleners WM. 2005. Cortical inhibition is reduced in chronic and episodic migraine and demonstrates a spectrum of illness. *Headache*. 45(5):546-552.

Aurora SK, Barrodale PM, Tipton RL, Khodavirdi A. 2007. Brainstem dysfunction in chronic migraine as evidenced by neurophysiological and positron emission tomography studies. *Headache*. 47(7):996-1003.

Armstrong L, Jordan N, Millar A. 1996. Interleukin 10 (IL-10) regulation of tumour necrosis factor alpha (TNF- alpha) from human alveolar macrophages and peripheral blood monocytes. *Thorax*. 51(2):143-149.

Ayata, C. 2010. Cortical spreading depression triggers migraine attack: *Pro. Headache*, 50, 725-730.

Ayata C, Lauritzen M. 2015 Spreading depression, spreading depolarizations, and the cerebral vasculature. *Physiol Rev* 95:953-93.

Bagaitkar, J., Daep, C.A., Patel, C.K. 2011. Tobacco smoke augments *Porphyromonas gingivalis* - *Streptococcus gordonii* biofilm formation. *PLoS ONE* 6, e27386.

Bartold PM, Van Dyke TE. 2013 Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. *Unlearning learned concepts. Periodontol* 2000. (62):203-17.

Bassim CW, Redman RS, DeNucci DJ, Becker KL, Nylen ES. 2008 Salivary procalcitonin and periodontitis in diabetes. *J Dent Res*. 87:630-634.

Behan WM, Behan PO, Durward WF. 1981. Complement studies in migraine. *Headache* 21:55-57

Becker KL, Nylén ES, White JC, Müller JC. 2004. Clinical review 167: procalcitonin and the calcitonin gene family of peptides in inflammation, infection, and sepsis: a journey from calcitonin back to its precursors. *J Clin Endocrinol Metab*. 89:1512-1525.

Becker KL, Snider R, Nylen ES. Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis: clinical utility and limitations. *Crit Care Med*. 2008;36:941-952.

Bergström, J. (1989). Cigarette smoking as risk factor in chronic periodontal disease. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 17, 245-247.

Bergström J, Boström L. 2001. Tobacco smoking and periodontal hemorrhagic responsiveness. *J Clin Periodontol*. 28(7):680-685.

Bigal ME, Lipton RB, Holland PR, Goadsby PJ 2007. Obesity, migraine, and chronic migraine: possible mechanisms of interaction. *Neurology* 68:1851-1861

Bizzarro S, van der Velden U, ten Heggeler JM, Leivadaros E, Hoek FJ, Gerdes VE, Bakker SJ, Gans RO, Ten Cate H, Loos BG. 2007. Periodontitis is characterized by elevated PAI-1 activity. *J Clin Periodontol*. 43(7):574-580.

Blanco M, Rodríguez-Yáñez M, Sobrino T, Leira R, Castillo J. 2005. Platelets, inflammation, and atherothrombotic neurovascular disease: the role of endothelial dysfunction. *Cerebrovasc Dis.* 20(2 Suppl):32S–39S.

Blau JN. 1980. Migraine prodromes separated from the aura: complete migraine. *Br Med J* 281:658–60.

Bloudek LM, Stokes M, Buse DC, Wilcox TK, Lipton RB, Goadsby PJ, Varon SF, Blumenfeld AM, Katsarava Z, Pascual J, Lanteri-Minet M, Cortelli P, Martelletti P. 2012 Cost of healthcare for patients with migraine in five European countries: results from the International Burden of Migraine Study (IBMS). *J Headache Pain.* 13:361-378.

Boes T, Levy D. 2012. Influence of sex, estrous cycle, and estrogen on intracranial dural mast cells. *Cephalalgia.* 32(12):924- 931.

Bolay H, Reuter U, Dunn AK, Huang Z, Boas DA, Moskowitz MA. 2002. Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. *Nat Med.* 8(2):136-142.

Bolin A, Eklund G, Frithiof L, Lavstedt S. 1993. The effect of changed smoking habits on marginal alveolar bone loss. A longitudinal study. *Swed Dent J.* 17(5):211–216.

Boughman, J.A., Astemborski, J.A., Suzuki, J.B. 1992. Phenotypic assessment of early onset periodontitis in sibships. *Journal of Clinical Periodontology* 19, 233–239.

Bovento G, MacKenzie ET, Edvinsson L. 1991. Serotonergic innervation of the cerebral vasculature: relevance to migraine and ischaemia. *Brain Res Brain Res Rev.* 16:257-263.

Boulamery A, Deplat-Jégo S 2017 Regulation of neuroinflammation: what role for the tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis/Fn14 pathway? *Front Immunol* 8:1–7

Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. 2003. Osteoclast differentiation and activation. *Nature.* 423(6937):337–342.

Brown, L.J., Oliver, R.C., Löe, H. 1989. Periodontal diseases in the U.S. in 1981: Prevalence, severity, extent, and role in tooth mortality. *Journal of Periodontology* 60, 363–370.

Burch RC, Loder S, Loder E, Smitherman TA. 2015. The prevalence and burden of migraine and severe headache in the United States: updated statistics from government health surveillance studies. *Headache.* 55(1):21-34.

Burstein R, Strassman A, Moskowitz M. 2012. Can cortical spreading depression activate central trigeminovascular neurons without peripheral input? Pitfalls of a new concept. *Cephalalgia* 32:509–11.

Burt, B.A. 1994. Periodontitis and aging: reviewing recent evidence. *Journal of the American Dental Association* 125, 273–279.

Buse DC, Manack A, Serrano D, Turkel C, Lipton RB. 2010. Sociodemographic and comorbidity profiles of chronic migraine and episodic migraine sufferers. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 81:428–32.

Buse DC, Manack AN, Fanning KM, Serrano D, Reed ML, Turkel CC, Lipton RB. 2012. Chronic migraine prevalence, disability, and sociodemographic factors: results from the American Migraine Prevalence and Prevention Study. *Headache*. 52:1456–70.

Buzzi MG, Bonamini M, Moskowitz MA. 1995. Neurogenic model of migraine. *Cephalalgia*. 15(4):277-280.

Cady R, Schreiber C, Farmer K, Sheftell F. 2002. Primary headaches: A convergence hypothesis. *Headache* 42:204–16.

Califf RM. 2018. Biomarker definitions and their applications. *Exp Biol Med* 243:213–21.

Carasol M, Llodra JC, Fernández-Meseguer A, Bravo M, García-Margallo MT, Calvo-Bonacho E, Sanz M, Herrera D. 2016. Periodontal conditions among employed adults in Spain. *J Clin Periodontol*. 43(7):548–456.

Carrizo A, Lenzi P, Procaccini C et al (2015) Pentraxin 3 induces Vascular endothelial dysfunction through a P-selectin/matrix metalloproteinase-1 pathway. *Circulation* 131:1495–1505

Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, Geisinger ML, Genco RJ, Glogauer M, Goldstein M, Griffin TJ, Holmstrup P, Johnson GK, Kapila Y, Lang NP, Meyle J, Murakami S, Plemons J, Romito GA, Shapira L, Tatakis DN, Teughels W, Trombelli L, Walter C, Wimmer G, Xenoudi P, Yoshie H. 2018. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-implant Diseases and Conditions *J Clin Periodontol*. 45 Suppl 20:S68-S77.

Cernuda-Morollón E, Larrosa D, Ramón C, Vega J, Martínez- Camblor P, Pascual J. 2013. Interictal increase of CGRP levels in peripheral blood as a biomarker for chronic migraine. *Neurology*. 81:1191–1196.

Cernuda-Morollón E, Ramón C, Martínez-Camblor P, Serrano- Pertierra E, Larrosa D, Pascual J. 2015. OnabotulinumtoxinA decreases interictal CGRP plasma levels in patients with chronic migraine. *Pain*. 156:820–824.

Cernuda-Morollón E, Martínez-Camblor P, Ramón C, Larrosa D, Serrano-Pertierra E, Pascual J. 2014. CGRP and VIP levels as predictors of efficacy of Onabotulinumtoxin type A in chronic migraine. *Headache*. 54:987–995.

Ceylan M, Bayraktutan OF, Becel S, Atis Ö, Yalcin A, Kotan D. 2016. Serum levels of pentraxin-3 and other inflammatory biomarkers in migraine: Association with migraine characteristics. *Cephalalgia* 36:518–25.

Chesterman CN. 1988. Vascular endothelium, haemostasis and thrombosis. *Blood Rev.* 2:88-94.

Chiapparini L, Ferraro S, Grazzi L, Bussone G. 2010. Neuroimaging in chronic migraine. *Neurol Sci.* 31 Suppl 1:S19- 22.

Chicheportiche Y, Bourdon PR, Xu H, Hsu YM, Scott H, Hession C, Garcia I, Browning JL. 1997. TWEAK, a new secreted ligand in the tumor necrosis factor family that weakly induces apoptosis. *J Biol Chem.* 272(51):32401–32410.

Christensen, L.B., Petersen, P.E., Krustup, U., Kjoller, M. 2003. Self-reported oral hygiene practices among adults in Denmark. *Community Dental Health* 20, 229–235.

Cortelli P, Pierangeli G. 2003. Chronic pain-autonomic interactions. *Neurol Sci.* 24 Suppl 2 :S68-70.

Costa PP, Trevisan GL, Macedo GO, Palioto DB, Souza SL, Grisi MF, Novaes AB Jr, Taba M Jr. 2010. Salivary interleukin-6, matrix metalloproteinase-8, and osteoprotegerin in patients with periodontitis and diabetes. *J Periodontol.* 81(3):384–391.

Cuesta MC, Quintero L, Pons H, Suarez-Roca H. 2002 Substance P and calcitonin gene-related peptide increase IL-1 beta, IL-6 and TNF alpha secretion from human peripheral blood mononuclear cells. *Neurochem Int.* 40 :301–306.

Cuff MJ, McQuade MJ, Scheidt MJ, Sutherland DE, Van Dyke TE. 1989. The presence of nicotine on root surfaces of periodontally diseased teeth in smokers. *J Periodontol.* 60(10):564–569.

D’Aiuto F, Parkar M, Andreou G, Suvan J, Brett PM, Ready D, Tonetti MS. 2004. Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J Dent Res.* 83(2):156–160.

Dalessio DJ. 1985 Is there a difference between classic and common migraine? What is migraine, after all? *Arch Neurol.* 42:275-276

Daly CG, Mitchel DH, Highfield JE, Grossberg DE, Stewart D. 2001. Bacteremia due to periodontal probing: a clinical and microbiological investigation. *J Periodontol.* 72(2):210–204.

Damgaard C, Holmstrup P, Van Dyke TE, Nielsen CH 2015. The complement system and its role in the pathogenesis of periodontitis: current concepts. *J Periodontol* 50:283–293

Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. 2004. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol.* 25(1):4–7.

Dearborn, J. L., Schneider, A. L., Gottesman, R. F., Kurth, T., Pankow, J. S., Couper, D. J., Rose K.M., Williams M A., Peterlin, B. L. 2014. Adiponectin and leptin levels in

migraineurs in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Neurology*, 83, 2211–2218.

Desplat-Jégo S, Varriale S, Creidy R, Terra R, Bernard D, Khrestchatisky M, Izui S, Chicheportiche Y, Boucraut J. 2002. TWEAK is expressed by glial cells, induces astrocyte proliferation and increases EAE severity. *J Neuroimmunol*. 133(1-2):116–123.

De Simone R, Ranieri A, MONTella S, Bonavita V. 2013 Cortical spreading depression and central pain networks in trigeminal nuclei modulation: time for an integrated migraine pathogenesis perspective. ;34 Suppl 1:S51-5.

Di Napoli M, Papa F, Bocola V. 2001. C-reactive protein in ischemic stroke: An independent prognostic factor. *Stroke*. 32:917-924.

Dresner-Pollak R, Gelb N, Rachmilewitz D, Karmeli F, Weinreb M. 2004. Interleukin 10-deficient mice develop osteopenia, decreased bone formation, and mechanical fragility of long bones. *Gastroenterology*. 127(3):792–801.

Drexler H. Endothelial dysfunction: clinical implications. *Prog Cardiovasc Dis*. 1997;39:287-324.

Dodick DW, Loder EW, Manack Adams A, Buse DC, Fanning KM, Reed ML. 2016. Assessing barriers to chronic migraine consultation, diagnosis, and treatment: Results from the Chronic Migraine Epidemiology and Outcomes (CaMEO) study. *Headache* 56:821–34.

Domínguez, C., Vieites-Prado, A., Pérez-Mato, M., Sobrino, T., Rodríguez- Osorio, X., López, A., Leira, R. 2017. Role of adipocytokines in the pathophysiology of migraine. A cross-sectional study. *Cephalalgia*, 38(5):904-911.

Domínguez C, Vieites-Prado A, Pérez-Mato M, Sobrino T, Rodríguez- Osorio X, López A, Campos F, Martínez F, Castillo J, Leira R 2018. CGRP and PTX3 as predictors of efficacy of Onabotulinumtoxin type A in chronic migraine: an observational study. *Headache* 58:78–87

Domínguez, C., Vieites-Prado, A., Pérez-Mato, M., Sobrino, T., Rodríguez- Osorio, X., López, A., ... Leira, R. 2018. Role of adipocytokines in the pathophysiology of migraine. A cross-sectional study. *Cephalalgia*, 38(5):904-911.

Domínguez C, López A, Ramos-Cabrera P, Vieites-Prado A, Pérez-Mato M, Villalba C, Sobrino T, Rodríguez- Osorio X, Campos F, Castillo J, Leira R. 2019. Iron deposition in periaqueductal gray matter as a potential biomarker for chronic migraine. *Neurology*. 92(10):e1076-e85.

Domínguez-Vivero C, Leira Y, López-Ferreiro A, Saavedra M, Rodríguez- Osorio X, Sobrino T, Leira R, 2020. Pentraxin 3 (PTX3): A molecular marker of endothelial dysfunction in chronic migraine. *J Clin Med* 2020;9:1–11.

Donohue PJ, Richards CM, Brown SA, Hanscom HN, Buschman J, Thangada S, Hla T, Williams MS, Winkles JA. 2003. TWEAK is an endothelial cell growth and

chemotactic factor that also potentiates FGF-2 and VEGF-A mitogenic activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 23(4):594–600.

Dunlop, D.D., Manheim, L.M., Song, J., Chang, R.W. 2002. Gender and ethnic/racial disparities in health care utilization among older adults. *Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences* 57, S221–233.

Durham P, Papapetropoulos S. 2013. Biomarkers associated with migraine and their potential role in migraine management. *Headache* 53:1262–77.

Du Clos TW. 2000 Function of C-reactive protein. *Ann Med.* 32:274–278.

Dye, B.A., Tan, S., Smith, V. 2007. Trends in oral health status: United States, 1988–1994 and 1999–2004. *Vital Health Statistics* 11, 1–92.

Eftekhari S, Salvatore C, Gaspar R, Roberts R, O'Malley S, Zeng Z, Edvinsson L. Localization of CGRP receptor components, CGRP, and receptor binding sites in human and rhesus cerebellar cortex. *Cerebellum* 12(6):937–49.

Eikermann-Haerter, K., Ayata, C. 2010. Cortical spreading depression and migraine. *Current Neurology & Neuroscience Reports*, 10, 167–173.

Eke PI, Page RC, Wei L, Thornton-Evans G, Genco RJ. 2012. Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol.* 83(12):1449–1454.

Eke PI, Dye BA, Wei L, Thornton-Evans GO, Genco RJ. 2012. Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. *J Dent Res.* 91(10):914–920.

Eke PI, Dye BA, Wei L, Slade GD, Thornton-Evans GO, Borgnakke WS, Taylor GW, Page RC, Beck JD, Genco RJ. 2015 Update on prevalence of periodontitis in adults in the United States: NHANES 2009 to 2012. *J Periodontol.* 86: 611–622.

Elter JR, Offenbacher S, Toole JF, Beck JD. 2003. Relationship of periodontal disease and edentulism to stroke/TIA. *J Dent Res.* 82(12):998–1001.

Engelbreton SP, Hey-Hadavi J, Ehrhardt FJ, Hsu D, Celenti RS, Grbic JT, Lamster IB. 2004. Gingival crevicular fluid levels of interleukin-1 β and glycemic control in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *J Periodontol.* 75(9):1203–1208.

Fava A, Pirritano D, Consoli D, Plastino M, Casalnuovo F, Cristofaro S, Colica C, Ermio C, De Bartolo M, Pipari C, Lanzo R, Consoli A, Bosco D. 2014. Chronic migraine in women is associated with insulin resistance: a cross-sectional study. *Eur J Neurol.* 21:267–72.

Fazzini F, Peri G, Doni A, Dell'Antonio G, Dal Cin E, Bozzolo E, D'Auria F, Praderio L, Ciboddo G, Sabbadini MG, Manfredi AA, Mantovani A, Querini PR. 2001. PTX3 in small-vessel vasculitides: an independent indicator of disease activity produced at sites of inflammation. *Arthritis Rheum.* 44(12):2841–2850.

Ferrari MD. 1998. Migraine. *Lancet.* 351:1043–1051

Ferroni P, Barbanti P, Spila A, Fratangeli F, Aurilia C, Fofi L, Egeo G GF. 2019. Circulating Biomarkers In Migraine. New Opportunities For Precision Medicine. *Curr Med Chem* 26:6191-6206.

Fidan I, Yüksel S, Ymir T, Irkeç C, Aksakal FN. 2006. The importance of cytokines, chemokines and nitric oxide in pathophysiology of migraine. *J Neuroimmunol.* 171:184-188.

Fornai F, Carrizzo A, Forte M, Ambrosio M, Damato A, Ferruci M, Biagioni F, Busceti C, Puca AA, Vecchione C. 2016. The inflammatory protein Pentraxin 3 in cardiovascular disease. *Immun Aging.* 13(1):1–9.

Frederiksen SD. 2019 Promote Biomarker Discovery by Identifying Homogenous Primary Headache Subgroups. *Headache* 0:1–5.

Fujita Y, Ito H, Sekino S, Numabe Y. 2012. Correlations between pentraxin 3 or cytokine levels in gingival crevicular fluid and clinical parameters of chronic periodontitis. *Odontology.* 100(2):215–221.

Garcia, R.I. (2005). Smokers have less reductions in probing depth than non-smokers following nonsurgical periodontal therapy. *Evidence-Based Dentistry* 6, 37–38.

Garcia JM, Stillings SA, Leclerc JL, Phillips H, Edwards NJ, Robicsek SA, Hoh BL, Blackburn S, Doré S. 2017. Role of interleukin- 10 in acute brain injuries. *Front Neurol.* 8:1–17.

GBD 2016 Headache Collaborators. 2018. Global, regional, and national burden of migraine and tension-type headache, 1990- 2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* 17(11):954-976.

Geerts SO, Nys M, De MP, Charpentier J, Albert A, Legrand V, Rompen EH. 2002. Systemic release of endotoxins induced by gentle mastication: association with periodontitis severity. *J Periodontol.* 73(1):73–78.

Geivelis M, Turner DW, Pederson ED, Lamberts BL. 1993. Measurements of interleukin-6 in gingival crevicular fluid from adults with destructive periodontal disease. *J Periodontol.* 64(10):980–983.

Genco RJ, Ho AW, Grossi SG, Dunford RG, Tedesco LA. 1999. Relationship of stress, distress and inadequate coping behaviors to periodontal disease. *J Periodontol.* 70(7):711–723.

Genco RJ, Grossi SG, Ho A, Nishimura F, Murayama Y. 2005. A proposed model linking inflammation to obesity, diabetes, and periodontal infections. *J Periodontol.* 76(11 Suppl):2075S–2084S.

Genco RJ, Borgnakke WS. 2013. Risk factors for periodontal disease. *Periodontol* 2000. 62(1):59–94.

Gibson FC 3rd, Yumoto H, Takahashi Y, Chou HH, Genco CA. 2006. Innate immune signaling and Porphyromonas gingivalis-accelerated atherosclerosis. J Dent Res. 85(2):106–121.

Gibson FC 3rd, Genco CA. 2007. Porphyromonas gingivalis mediated periodontal disease and atherosclerosis: disparate diseases with commonalities in pathogenesis through TLRs. Curr Pharm Des. 13(36):3665–3675.

Giffin NJ, Ruggiero L, Lipton RB, Silberstein SD, Tvedskov JF, Olesen J. 2003. Premonitory symptoms in migraine: An electronic diary study. Neurology 60:935–40.

Giffin NJ, Lipton RB, Silberstein SD, Olesen J, Goadsby PJ. 2016. The migraine postdrome: An electronic diary study. Neurology 20:309–13.

Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R. 1990. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. Ann Neurol. 28:183–187.

Goadsby PJ, Lipton RB, Ferrari MD. 2002. Migraine—current understanding and treatment. N Engl J Med; 346:257–70.

Gokdemir MT, Nas C, Gokdemir GS. 2020. Pentraxin 3 level in acute migraine attack with aura: Patient management in the emergency department. Am J Emerg Med 38:38–42.

Graham JR, Wolff HG. 1938. Mechanism of migraine headache and action of ergotamine tartrate. Arch Neurol Psychiatry. 39:737-763.

Grunfeld, C., Zhao, C., Fuller, J., Pollack, A., Moser, A., Friedman, J., Feingold, K. R. 1996. Endotoxin and cytokines induce expression of leptin, the ob gene product, in hamsters. The Journal of Clinical Investigations, 97, 2152–2157.

Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, Koch G, Dunford RG, Matchei EE, Norderyd OM, Genco RJ. 1994. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. J Periodontol. 65(3):260–267.

Grossi SG, Genco RJ, Matchei EE, Ho AW, Koch G, Dunford RG, Zambon JJ, Hausmann EE. 1995. Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss. J Periodontol. 66(1):23–29.

Grossi, S.G., Zambon, J., Machtei, E.E. et al. (1997). Effects of smoking and smoking cessation on healing after mechanical periodontal therapy. Journal of the American Dental Association 128, 599–607.

Guldiken B, Guldiken S, Demir M, Turgut N, Kabayel L, Ozkan H, Ozcelik E, Tugrul A. 2008. Insulin resistance and high sensitivity C-reactive protein in migraine. Can J Neurol Sci. 35:448-451.

Guldiken, B., Guldiken, S., Demir, M., Turgur, N., Tugrul, A. 2008. Low leptin levels in migraine: A case control study. Headache, 48, 1103– 1107.

Guldiken S, Guldiken B, Demir M. 2011. Soluble CD40 ligand and prolactin levels in migraine patients during interictal period. *J Headache Pain* 12:355-360.

Gümüş P, Nizam N, Nalbantsoy A, Özçaka Ö, Buduneli N. 2014. Saliva and serum levels of pentraxin-3 and interleukin-1 β in generalized aggressive or chronic periodontitis. *J Periodontol.* 85(3):40–46.

Gundala R, Chava VK, Ramalingam K. 2014. Association of leptin in periodontitis and acute myocardial infarction. *J Periodontol.* 85(7):917–924.

Guo L, Wang M, Zhang ZY, Hao L, Lou BY, Li XY, Loo WT, Jin L, Cheung MN. 2011. Angiotensin II induces interleukin-6 synthesis in osteoblasts through ERK1/2 pathway via AT1 receptor. *Arch Oral Biol.* 56(3):205–211.

Güzel I, Tasdemir N, Celik Y. 2013. Evaluation of serum transforming growth factor β 1 and C-reactive protein levels in migraine patients. *Neurol Neurochir Pol.* 47:357-362.

Haffajee, A.D. Socransky, S.S. 2001. Relationship of cigarette smoking to the subgingival microbiota. *Journal of Clinical Periodontology* 28, 377–388.

Hajishengallis, G. 2010. Too old to fight? Aging and its toll on innate immunity. *Molecular Oral Microbiology* 25, 25–37.

Hajishengallis, G. 2015. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nat Rev Immunol.* 15(1):30-44.

Hamed SA, Hamed EA, Ezz Eldin AM, Mahmoud NM. 2010. Vascular risk factors, endothelial function, and carotid thickness in patients with migraine: relationship to atherosclerosis. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 19:92-103.

Hansen JM, Hauge AW, Olesen J, Ashina M. 2002. Calcitonin gene-related peptide triggers migraine-like attacks in patients with migraine with aura. *Cephalalgia.* 22:54–61.

Harada N, Nakayama M, Nakano H, Fukuchi Y, Yagita H, Okumura K. 2002. Pro-inflammatory effect of TWEAK/Fn14 interaction on human umbilical vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 299(3):488–493.

Haraszthy VI, Zambon JJ, Trevisan M, Zeid M, Genco RJ. 2000. Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. *J Periodontol.* 71(10):1554–1560.

Haririan H, Andrukhov O, Böttcher M. 2017. Salivary neuropeptides, stress and periodontitis. *J Periodontol.* 89:9–18. Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. 2004. The International Classification of Headache Disorders: 2nd edition. *Cephalalgia.* 24 Suppl 1:9-160.

Headache Classification Committee of the International Headache Society. 2013. The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition (beta version). *Cephalalgia.* 33(9):629-808.

Headache Classification Committee of the International Headache Society. 2018. The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition. *Cephalalgia* 2018;38:1–211.

Heimdahl A, Hall G, Hedberg M, Sandberg H, Söder PO, Tunér K, Nord CE. 1990. Detection and quantitation by lysis-filtration of bacteremia after different oral surgical procedures. *J Clin Microbiol.* 28(10):2205–2209.

Hilgert J B, Hugo F N, Bandeira D R, Bozzetti M C. 2006. Stress, cortisol, and periodontitis in a population aged 50 years and over. *J Dent Res.* 85(4):324-8.

Hirano T, Matsuda T, Turner M, Miyasaka N, Buchan G, Tang B, Sato K, Shimizu M, Maini R, Feldman M, Kishimoto T. 1988. Excessive production of interleukin6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol.* 18(11):1797–1801.

Holtfreter B, Albandar JM, Dietrich T, Dye BA, Eaton KA, Eke PI, Papapanou PN, Kocher T; Joint EU/USA Periodontal Epidemiology Working Group. 2015. Standards for reporting chronic periodontitis prevalence and severity in epidemiologic studies: Proposed standards from de Joint EU/USA Periodontal Epidemiology Working Group. *J Clin Periodontol.* 42(5):407–412.

Holtfreter B, Kocher T, Hoffmann T, Desvarieux M, Micheelis W. 2010. Prevalence of periodontal disease and treatment demands based on a German dental survey (DMS IV). *J Clin Periodontol:* 37: 211–219.

Holzmann B. 2013. Modulation of immune responses by the neuropeptide CGRP. *Amino Acids.* 45:1–7.

Hosokawa Y, Hosokawa I, Ozaki K, Nakae H, Matsuo T (2006) Proinflammatory effects of tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) on human gingival fibroblasts. *Clin Exp Immunol* 146:540–549

Hosokawa Y, Hosokawa I, Shindo S, Ozaki K, Nakae H, Matsuo T 2012 Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis in- creases CC chemokine ligand 20 production in interleukin 1 β - stimulated human gingival fibroblasts. *Hum Immunol* 73:470–473

Hua XY, Chen P, Fox A, Myers RR. 1996. Involvement of cytokines in lipopolysaccharide-induced facilitation of CGRP release from capsaicin-sensitive nerves in the trachea: studies with interleukin- 1beta and tumor necrosis factor-alpha. *J Neurosci.* 16:4742– 4748.

Hujoel PP, White BA, García RI, Listgarten MA.2001. The dentogingival epithelial surface area revisited. *J Periodontal Res.* 36: 48–55.

Hugoson, A., Norderyd, O., Slotte, C., Thorstensson, H. 1998. Oral hygiene and gingivitis in a Swedish adult pop- ulation 1973, 1983 and 1993. *Journal of Clinical Periodontology* 25, 807–812.

Hugoson A, Sjo din B, Norderyd O. 2008 Trends over 30 years, 1973–2003, in the prevalence and severity of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 35: 405–414.

Hussain Bokhari SA, Khan AA, Tatakis DN, Azhar M, Hanif M, Izhar M. 2009. Non-surgical periodontal therapy lowers serum inflammatory markers: a pilot study. *J Periodontol.* 80(10):1574–1580

Huynh-Ba, G., Lang, N.P., Tonetti, M.S., Salvi, G.E. 2007. The association of the composite IL-1 genotype with periodontitis progression and/or treatment outcomes: a systematic review. *Journal of Clinical Periodontology* 34, 305–317.

James JA, Sayers NM, Drucker DB, Hull PS. 1999. Effects of tobacco products on the attachment and growth of periodontal ligament fibroblasts. *J Periodontol.* 70(5):518–525.

Jones KG, Brull DJ, Brown LC, Sian M, Greenhalgh RM, Humphries SE, Powell JT. 2001. Interleukin-6 (IL-6) and the prognosis of abdominal aortic aneurysms. *Circulation.* 103(18):2260–2265.

Karatas H, Erdener SE, Gursoy-Ozdemir Y, Lule S, Eren- Koçak E, Sen ZD, Dalkara T. 2013. Spreading depression triggers headache by activating neuronal Panx1 channels. *Science.* 339(6123):1092-1095.

Karsan N, Goadsby PI. 2015. CGRP mechanism antagonists and migraine management. *Curr Neurol Neurosci Rep.*15:1–9.

Kaldahl, W.B., Johnson, G.K., Patil, K.D., Kalkwarf, K.L. 1996. Levels of cigarette consumption and response to periodontal therapy. *Journal of Periodontology* 67, 675–681.

Kanbay A, Kaya E, Büyükoğlu. 2015. Correlation between pentraxin-3 and endothelial dysfunction in obstructive sleep apnea syndrome. *Ann Thorac Med* 10:199–203

Karimbux NY, Saraiya VM, Elangovan S, Allareddy V, Kinnunen T, Kornman KS, Duff GW. 2012. Interleukin-1 gene polymorphisms and chronic periodontitis in adult whites: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol.* 83(11):1407–1419.

Karthikeyan BV, Pradeep AR. 2007. Gingival crevicular fluid and serum leptin: their relationship to periodontal health and disease. *J Clin Periodontol.* 34(6):467–472.

Kassebaum NJ, Bernabé, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJ, Marcenes W. 2014. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *J Dent Res.* 93(11):1045–1053.

Kassebaum NJ A.G.C. Smith, E. Bernabé, T.D. Fleming, A.E. Reynolds, T. Vos, C.J.L. Murray, W. Marcenes, and GBD 2015 Oral Health Collaborators. 2017 Global, Regional, and National Prevalence, Incidence, and Disability-Adjusted Life Years for Oral Conditions for 195 Countries, 1990–2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors *J Dent Res.* 2017 Apr; 96(4): 380–387.

Kataria NG, Bartold PM, Dharmapatni AA, Atkins GJ, Holding CA, Haynes DR 2010 Expression of tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) and its

receptor, fibroblast growth factor-inducible 14 protein (Fn14), in healthy tissues and in tissues affected by periodontitis. *J Periodontal Res* 45:564–573

Kathariya R, Jain H, Gujar D, Singh A, Ajwani H, Mandhyan D. 2013. Pentraxins as key disease markers for periodontal diagnosis. *Dis Markers*. 34(3):143–151.

Katsarava Z, Dzagnidze A, Kukava M, Mirvelashvili E, Dijbuti M, Janelidze M, Jensen R, Stovner LJ, Steiner TJ, 2009. Lifting The Burden: The Global Campaign to Reduce the Burden of Head-ache Worldwide and the Russian Linguistic Subcommittee of the International Headache Society. Primary headache disorders in the Republic of Georgia: prevalence and risk factors. *Neurology*. 73:1796–803.

Kemper RH, Meijiller WJ, Korf J, Ter Horst GJ 2001. Migraine and function of the immune system: a meta-analysis of clinical literature published between 1966 and 1999. *Cephalalgia* 21:549–557

Kim JH, Suh SI, Seol HY, Oh K, Seo WK, Yu SW, Park KW, Koh SB. 2008. Regional grey matter changes in patients with migraine: a voxel-based morphometry study. *Cephalalgia*. 28(6):598-604.

Kinane, D.F., Radvar, M. 1997. The effect of smoking on mechanical and antimicrobial periodontal therapy. *Journal of Periodontology* 68, 467–472.

Kinane, D.F., Chestnutt, I.G. 2000. Smoking and periodontal disease. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 11, 356–365.

Kinane, D. F., Riggio, M. P., Walker, K. F., Mac- Kenzie, D. & Shearer, B. 2005 Bacteraemia following periodontal procedures. *Journal of Clinical Periodontology* 32, 708–713

Kitamura, E., Kanazawa, N., Hamada, J. 2015. Hyperleptinemia increases the susceptibility of the cortex to generate cortical spreading depression. *Cephalalgia*, 35, 327–334.

Knotkova H, Pappagallo M. 2007. Imaging intracranial plasma extravasation in a migraine patient: a case report. *Pain Med*. 8(4):383-387.

Koçer A, Koçer E, Memişoğulları R, Domaç FM, Yüksel H. 2010. Interleukin-6 levels in tension headache patients. *Clin J Pain*. 26:690-693.

Kolenbrander PE, Andersen RN, Blehert DS, England PG, Foster JS, Palmer RJ Jr. 2002. Communication among oral bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*. 66(3):486–505.

Krall EA, Garcia RI, Dawson-Hughes B. 1996. Increased risk of tooth loss is related to bone loss at the whole body, hip, and spine. *Calcif Tissue Int* 59: 433–437.

Kruit MC, van Buchem MA, Launer LJ, Terwindt GM, Ferrari MD. 2010. Migraine is associated with an increased risk of deep white matter lesions, subclinical posterior circulation infarcts and brain iron accumulation: the population-based MRI CAMERA study. *Cephalalgia*. 30(2):129-136.

Kubota, M., Tanno-Nakanishi, M., Yamada, S., Okuda, K., Ishihara, K. 2011. Effect of smoking on subgingival micro- flora of patients with periodontitis in Japan. *BMC Oral Health* 11, 1.

Kumar, P.S., Matthews, C.R., Joshi, V., de Jager, M. & Aspiras, M. 2011. Tobacco smoking affects bacterial acquisition and colonization in oral biofilms. *Infection and Immunity* 79, 4730–4738.

Kurth T, Ridker P, Buring JE. 2008. Migraine and biomarkers of cardiovascular disease in women. *Cephalalgia*. 28:49-56.

Kwon, Y.E., Ha, J.E., Paik, D.I., Jin, B.H., Bae, K.H. 2011. The relationship between periodontitis and metabolic syndrome among a Korean nationally representative sample of adults. *Journal of Clinical Periodontology* 38, 781–786.

Labriola A, Needleman I, Moles DR. 2005. Systematic review of the effect of smoking on nonsurgical periodontal therapy. *Periodontol 2000*. 37:124–137.

Lampl C, Thomas H, Stovner LJ, Tassorelli C, Katsarava Z, Laínez JM. 2016. Interictal burden attributable to episodic headache: findings from the Eurolight project. *J Headache Pain* 17:1–10.

Lashey KS. 1941. Patterns of cerebral integration indicated by scotomas of migraine. *Arch Neurol Psychiatry*. 46:331-339

Lassen LH, Haderslev PA, Jacobsen VB, Iversen HK, Sperling B, Olensen J.2002. CGRP may play a causative role in migraine. *Cephalalgia*. 22:54–61.

La Cava, A., y Matarese, G. (2004). The weight of leptin in immunity. *Nature Reviews Immunology*, 4, 371–379.

Lanteri-Minet M, Duru G, Mudge M, Cottrell S. 2011. Quality of life impairment, disability and economic burden associated with chronic daily headache, focusing on chronic migraine with or without medication overuse: a systematic review. *Cephalalgia*. 31(7):837-850.

Leao AA.1944 Spreading depression of activity in cerebral cortex. *J Neurophysiol*. ;7:359- 390

Lee MJ, Lees-Y, Chos, Kang E-S, Chung C-S. 2018. Feasibility of serum CGRP measurement as a biomarker of chronic migraine: a critical reappraisal. *J Headache Pain*. 19:1–8.

Leira R, Sobrino T, Rodríguez-Yáñez M, Blanco M, Arias S, Castillo J. 2007. MMP-9 immunoreactivity in acute migraine. *Headache* 47:698–702

Leira Y, Ameijeira P, Domínguez C, Leira R, Blanco J 2017. The role of leptin as a biomarker in the relationship between periodontitis and chronic migraine. *J Clin Periodontol* 44:1208–1214

Leira Y, Ameijeira P, Domínguez C, Leira R, Blanco J 2018 a High serum procalcitonin levels in patients with periodontitis and chronic migraine. *J Periodontol* 89:1069–1074

Leira Y, Martín-Lancharro P, Blanco J. 2018b. Periodontal inflamed surface area and periodontal case definition classification. *Acta Odontol Scand*. 76(3):195–198.

Leira Y, Ameijeira P, López-Arias E, Ávila-Gómez P, Pérez-Mato M, Sobrino T, Campos F, D'Aiuto F, Leira R, Blanco J. 2019a. Periodontal inflammation is related to increased serum calcitonin gene-related peptide levels in patients with chronic migraine. *J Periodontol*. (10):1088-1095.

Leira Y, Ameijeira P, Domínguez C, López-Arias E, Ávila-Gómez P, Pérez-Mato M, Sobrino T, Campos F, D'Aiuto F, Leira R, Blanco J. 2019b. Severe periodontitis is linked with increased peripheral levels of sTWEAK and PTX3 in chronic migraineurs. *Clin Oral Investig*. 24(2):597-606

Leira Y, Rodríguez-Yáñez M, Arias S, López-Dequidt I, Campos F, Sobrino T, D'Aiuto F, Castillo J, Blanco J 2019 c Periodontitis is associated with systemic inflammation and vascular endothelial dysfunction in lacunar infarct patients. *J Periodontol*. 90(5):465-474.

Levy D, Burstein R, Kainz V, Jakubowski M, Strassman AM. 2007. Mast cell degranulation activates a pain pathway underlying migraine headache. *Pain*. 130(1-2):166-176.

Levy D. 2012. Endogenous mechanisms underlying the activation and sensitization of meningeal nociceptors: the role of immuno-vascular interactions and cortical spreading depression. *Curr Pain Headache R*. 16(3):270-277.

Li X, Kolltveit KM, Tronstad L, Olsen I. 2000. Systemic diseases caused by oral infection. *Clin Microbiol Rev*. 13(4):547–558.

Li X, Tse HF, Yiu KH, et al. Increased levels of circulating endothelial progenitor cells in subjects with moderate to severe chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2009;36:933–9.

Liapis A, Gibbs K, Nylen E, Yoon B, Snider R, Gao B Becker K. 2011. Exogenous procalcitonin evokes a pro-inflammatory cytokine response. *Inflamm Res* 60(2):203-7.

Libby P, Aikawa M, Jain MK. Vascular endothelium and atherosclerosis. *Handb Exp Pharmacol*. 2006;176:285-306.

Lipton RB, Stewart WF, Diamond S, Diamond ML, Reed M. 2001. Prevalence and burden of migraine in the United States: data from the American Migraine Study II. *Headache*. 41(7):646- 657.

Lipton RB, Serrano D, Nicholson RA, Buse DC, Runken MC, Reed ML. 2013. Impact of NSAID and Triptan use on developing chronic migraine: results from the American Migraine Prevalence and Prevention (AMPP) study. *Headache*. 53(10):1548-1563.

Lipton RB, Serrano D, Holland S, Fanning KM, Reed ML, Buse DC. 2013. Barriers to the diagnosis and treatment of migraine: Effects of sex, income, and headache features. *Headache* 53:81–92.

Lipton RB, Serrano D, Pavlovic JM, Manack AN, Reed ML, Turkel CC. 2014. Improving the classification of migraine subtypes: An empirical approach based on factor mixture models in the american migraine prevalence and prevention (AMPP) study. *Headache* 54:830–49.

Liu D, Yao S, Wise GE. 2006. Effect of interleukin-10 on gene expression of osteoclastogenic regulatory molecules in the rat dental follicle. *Eur J Oral Sci*. 114(1):42–49.

Löesche W, Karapetow F, Pohl A, Pohl C, Kocher T. 2000. Plasma lipid and blood glucose levels in patients with destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 27(8):537–541.

Looker AC, Orwoll ES, Johnston CC Jr, Lindsay RL, Wahner HW, Dunn WL, Calvo MS, Harris TB, Heyse SP. 1997 Prevalence of low femoral bone density in older U.S. adults from NHANES III. *J Bone Miner Res* 12: 1761–1768.

Lord GD, Duckworth JW, Charlesworth JA 1977a Complement activation in migraine. *Lancet* 1:781–782

Lord GD, Duckworth JW 1977b Immunoglobulin and complement studies in migraine. *Headache* 17:163–168

Loos BG. 2005. Systemic markers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol*. 76:2106S–2115S.

Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen PM, van der Velden U. 2000. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol*. 71(10):1528–1534.

López Ferreiro, A. 2015. Migraña crónica como causa de daño neurovascular cerebral: estudio clínico-molecular.[Tesis doctoral]. Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España.

Lundy FT, Mullally BH, Burden DJ, Lamey PJ, Shaw C, Linden GJ. 2000. Changes in substance P and neurokinin A in gingival crevicular fluid in response to periodontal treatment. *J Clin Periodontol*. 27:526–30.

Lynch CN, Wang YC, Lund JK, Chen YW, Leal JA, Wiley SR. 1999. TWEAK induces angiogenesis and proliferation of endothelial cells. *J Biol Chem*. 274(13):8455–8459.

Manack A, Buse DC, Serrano D, Turkel CC, Lipton RB. 2011. Rates, predictors, and consequences of remission from chronic migraine to episodic migraine. *Neurology*. 76(8):711-718.

Mantovani A, Garlanda C, Doni A, Bottazzi B. 2008. Pentraxins in innate immunity: from C-reactive protein to the long pentraxin PTX3. *J Clin Immunol*. 28(1):1–13.

Marazita, M.L., Burmeister, J.A., Gunsolley, J.C. et al. 1994. Evidence for autosomal dominant inheritance and race-specific heterogeneity in early-onset periodontitis. *Journal of Periodontology* 65, 623–630.

Marsh PD. 2003. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology*. 149(2):279–294.

Martami F, Razeghi Jahromi S, Togha M, Ghorbani Z, Seifishahpar M, Saidpour A. 2018. The serum level of inflammatory markers in chronic and episodic migraine: a case-control study. *Neurol Sci* 39: 1741–1749.

Maseri A. 1997. Inflammation, atherosclerosis, and ischemic events—exploring the hidden side of the moon. *N Engl J Med*. 336:1014-1016.

Martínez-Maestre MÁ, González-Cejudo C, Machuca G, Torrejón G, Castelo-Branco. 2010. Periodontitis and osteoporosis: a systematic review. *Climacteric*. 13(6):523–529.

Matsuki Y, Yamamoto T, Hara K. 1992. Detection of inflammatory cytokine messenger RNA (mRNA)-expressing cells in human inflamed gingiva by combined in situ hybridization and immunohistochemistry. *Immunology*. 76(1):42–47.

May A, Schulte LH. 2016. Chronic migraine: risk factors, mechanisms and treatment. *Nat Rev Neurol*. 12:455–64.

Mekori YA, Metcalfe DD. 2000. Mast cells in innate immunity. *Immunol Rev*. 173:131-140.

Meng H, Ren X, Tian Y, Feng X, Xu L, Zhang L, Lu R, Shi D, Chen Z. 2011. Genetic study of families affected with aggressive periodontitis. *Periodontol* 2000. 56(1):87–101.

Mertz PM, DeWitt DL, Stetler-Stevenson WG, Wahl LM. 1994. Interleukin 10 suppression of monocyte prostaglandin H synthase-2. Mechanism of inhibition of prostaglandin-dependent matrix metalloproteinase production. *J Biol Chem*. 269(33):21322–21329.

Meyle J, Chapple I. 2015. Molecular aspects of pathogenesis of periodontitis. *Periodontol* 2000. 69(1):1–17.

Michalowicz BS, Aepli D, Virag JG, Klump DG, Hinrichs JE, Segal NL, Bouchard TJ Jr, Pihlstrom BL. 1991. Periodontal findings in adult twins. *J Periodontol*. 62(5):293–299.

Micheel CM, Nass SJ, Omenn GS. 2012. Committee on the Review of Omics-Based Tests for Predicting Patient Outcomes in Clinical Trials; Board on Health Care Services; Board on Health Sciences Policy; Institute of Medicine. Evolution of Translational Omics: Lessons Learned and the Path Forward. Washington (DC): National Academies Press (US).

Miley DD, Garcia MN, Hildebolt CF, Shannon WD, Couture RA, Anderson Spearie CL, Dixon DA, Langenwaller EM, Mueller C, Civitelli R. 2009. Cross-sectional study of vitamin D and calcium supplementation effects on chronic periodontitis. *J Periodontol*. 80(9):1433–1439.

Mongini F, Keller R, Deregibus A, Barbalonga E, Mongini T. 2005. Frontal lobe dysfunction in patients with chronic migraine: a clinical-neuropsychological study. *Psychiatry Res*. 133(1):101- 106.

Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O’Garra A. 2001. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*. 19:683–765.

Moore TL, Ryan RE Jr, Pohl DA, Roodman ST, Ryan RE Sr 1980. Immunoglobulin, complement, and immune complex levels during a migraine attack. *Headache* 20:9–12

Morozumi T, Kubota T, Sato T, Okuda K, Yoshie H. 2004. Smoking cessation increases gingival blood flow and gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol*. 31(4):267–272.

Mortensen RF. 2001. C-reactive protein, inflammation, and innate immunity. *Immunol Res*. 24:163-176.

Moskowitz MA, Reinhard JF Jr, Romero J, Melamed E, Pettibone DJ. 1979. Neurotransmitters and the fifth cranial nerve: is there a relation to the headache phase of migraine? *Lancet*. 2(8148):883-885.

Moutsopoulos NM, Madianos PN. 2006. Low-grade inflammation in chronic infectious diseases: paradigm of periodontal infections. *Ann N Y Acad Sci*. 1008:251–164.

Munakata J, Hazard E, Serrano D, Klingman D, Rupnow MF, Tierce J, Reed M, Lipton RB. 2009. Economic burden of transformed migraine: results of the American Migraine Prevalence and Prevention (AMPP) Study. *Headache*. 49:498-508.

Murakami S, Mealey BL, Mariotti A, Chapple ILC. 2018. Dental plaque-induced gingival conditions. *J Clin Periodontol*. 45(Suppl 20):S17–S27.

Munno I, Marinaro M, Bassi A, Cassiano MA, Causarano V, Centonze V. 2001. Immunological aspects in migraine: Increase of IL-10 plasma levels during attack. *Headache*. 41:764-767.

Muzio M, Bosisio D, Polentarutti N, D’Amico G, Stoppacciaro A, Mancinelli R, van’t Veer C, Penton-Rol G, Ruco LP, Allavena P, Mantovani A. 2000. Differential expression

and regulation of toll-like receptors (TLR) in human leukocytes: selective expression of TLR3 in dendritic cells. *J Immunol.* 164(11):5998–6004.

Natoli JL, Manack A, Dean B, Butler Q, Turkel CC, Stovner L, Lipton RB. 2010. Global prevalence of chronic migraine: a systematic review. *Cephalalgia.* 30(5):599-609.

Nelson RG, Shlossman M, Budding LM, Pettitt DJ, Saad MF, Genco RJ, Knowler WC. 1990. Periodontal disease and NIDDM in Pima Indians. *Diabetes Care.* 13(8):836–840.

Nelson KB, Richardson AK, He J, Lateef TM, Khoromi S, Merikangas KR. 2010. Headache and biomarkers of vascular disease in a representative sample of US children. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 164:358-362.

Nesse W, Abbas F, van der Ploeg I, Spijkervet FK, Dijkstra PU, Vissink A. 2008. Periodontal inflamed surface area: quantifying inflammatory burden. *J Clin Periodontol.* 35(8):668–673.

Nibali L, Fedele S, D’Aiuto F, Donos N. 2012. Interleukin-6 in oral diseases: a review. *Oral Dis.* 18(3):236–243.

Nicod LP, el Habre F, Dayer JM, Boehringer N. 1995. Interleukin- 10 decreases tumor necrosis factor alpha and beta in alloreactions induced by human lung dendritic cells and macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 13(1):83–90.

Nihiro H, Otsuka T, Kuga S, Nemoto Y, Abe M, Hara N, Nakano T, Ogo T, Niho Y. 1994. IL-10 inhibits prostaglandin E2 production by lipopolysaccharide- stimulated monocytes. *Int Immunol.* 6(4):661–664.

Nihiro H, Otsuka T, Tanabe T, Hara S, Kuga S, Nemoto Y, Tanaka Y, Nakashima H, Kitajima S, Abe M, Niho Y. 1995. Inhibition by interleukin-10 of inducible cyclooxygenase expression in lipopolysaccharide-stimulated monocytes: its underlying mechanism in comparison with interleukin-4. *Blood.* 85(12):3736–3745.

Nishida M, Grossi SG, Dunford RG, Ho AW, Trevisan M, Genco RJ. 2000. Calcium and the risk for periodontal disease. *J Periodontol.* 71(7):1057–1066.

Nishimura, F., Murayama, Y. 2001. Periodontal inflammation and insulin resistance- lessons from obesity. *Journal of Dental Research* 80, 1690–1694.

Norata GD, Garlanda C, Catapano AL. 2010. The long pentraxin PTX3: a modulator of the immunoinflammatory response in atherosclerosis and cardiovascular diseases. *Trends Cardiovasc Med.* 20(2):35–40.

Nosedá R, Burstein R. 2013. Migraine pathophysiology: Anatomy of the trigeminovascular pathway and associated neurological symptoms, cortical spreading depression, sensitization, and modulation of pain. *Pain* 154 Suppl 1:10.

Novak KF, Taylor GW, Dawson DR, Ferguson FE 2nd, Novak MJ. 2006. Periodontitis and gestational diabetes mellitus: exploring the link in NHANES III. *J Public Health Dent.* 66(3):163–168.

Page RC, Schroeder HE. 1976 Pathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: a summary of current work. *Lab Invest* 33: 235-249. [17]

Page RC, Kornman KS. 1997. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology* 2000. 14:9–11.

Page RC, Eke PI. 2007. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol.* 78(7 Suppl):1387S–1399S.

Palmer, R.M., Wilson, R.F., Hasan, A.S., Scott, D.A. 2005. Mechanisms of action of environmental factors--tobacco smoking. *Journal of Clinical Periodontology* 32 Suppl 6, 180–195.

Papapanou, P.N., Lindhe, J., Sterrett, J.D., Eneroth, L. 1991. Considerations on the contribution of ageing to loss of periodontal tissue support. *Journal of Clinical Periodontology* 18, 611–615.

Papapanou, P.N., Lindhe, J. 1992. Preservation of probing attachment and alveolar bone levels in 2 random population samples. *Journal of Clinical Periodontology* 19, 583–588.

Papapanou PN. 1996. Periodontal diseases: epidemiology. *Ann Periodontol.* 1(1):1–36.

Paraskevas S, Huizinga JD, Loos BG 2008. A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol* 35:277–290.

Pascual J, Combarros O, Leno C, Polo JM, Rebollo M, Berciano J. 1995. Distribución por diagnósticos del dolor de cabeza como motivo de consulta neurológica. *Med Clin (Barc).* 104:161-164.

Patel, R.A., Wilson, R.F. & Palmer, R.M. 2012. The effect of smoking on periodontal bone regeneration: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Periodontology* 83, 143–145.

Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL, Rifai N, Smith SC Jr, Taubert K, Tracy RP, Vinicor F. 2003. Centers for Disease Control and Prevention; American Heart Association. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation.* 107:499-511.

Peri G, Introna M, Corradi D, Iacuitti G, Signorini S, Avanzini F, Pizzetti F, Maggioni AP, Moccetti T, Metra M, Cas LD, Ghezzi P, Sipe JD, Re G, Olivetti G, Mantovani A,

Latini R. 2000. PTX3, a prototypical long pentraxin, is an early indicator of acute myocardial infarction in humans. *Circulation*. 102(6):636–641.

Perini F, D'Andrea G, Galloni E, Pignatelli F, Billo G, Alba S, Bussone G, Toso V. 2005. Plasma cytokine levels in migraineurs and controls. *Headache*. 45:926-931.

Peruzzo DC, Benatti BB, Ambrosano GM, Nogueira-Filho GR, Sallum EA, Casati MZ, Nociti FH Jr. 2007. A systematic review of stress and psychological factors as possible risk factors for periodontal disease. *J Periodontol*. 78(8):1491–1504.

Peterlin BL, Rosso AL, Rapoport AM, Scher AI. 2010. Obesity and migraine: the effect of age, gender and adipose tissue distribution. *Headache*. 50:52–62.

Peterlin BL, Tietjen GE, Gower BA, Ward TN, Tepper SJ, White LW, Dash PD, Hammond ER, Haythornthwaite JA. 2013. Ictal adiponectin levels in episodic migraineurs: a randomized pilot trial *Headache*. 53:474-490.

Philstrom, B. L., Michalowicz, B. S., & Johnson, N. W. 2005. Periodontal diseases. *Lancet*, 366, 1809–1820

Pietrobon D, Moskowitz MA. 2013. Pathophysiology of migraine. *Annu Rev Physiol* 75:365–91

Pisanu, C., Preisig, M., Castela, E., Glaes, J., Cunningham, J. L., Del Zompo, M., ... Mwinyi, J. 2016. High leptin levels are associated with migraine with aura. *Cephalalgia*, 37, 435–441.

Pradeep AR, Raj S, Aruna G, Chowdhry S. 2009. Gingival crevicular fluid and plasma levels of neuropeptide Substance-P in periodontal health, disease and after nonsurgical therapy. *J Periodontal Res*. 44:232–7.

Pradeep AR, Kathariya R, Raghavendra NM, Sharma A. 2011. Levels of pentraxin-3 in gingival crevicular fluid and plasma in periodontal health and disease. *J Periodontol*. 82(5):734–741.

Preshaw PM, Heasman L, Stacey F, Steen N, McCracken GI, Heasman PA. 2005. The effect of quitting smoking on chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 32(8):869–879.

Purwar, P., Khan, M. A., Mahdi, A. A., Pandey, S., Singh, B., Dixit, J., Sareen, S. 2015. Salivary and serum leptin concentrations in patients with chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*, 86, 588–594.

Purwar, P., Khan, M. A., Gupta, A., Mahdi, A. A., Pandey, S., Singh, B., Rai, P. 2010. The effects of periodontal therapy on serum and salivary leptin levels in chronic periodontitis patients with normal body mass index. *Acta Odontologica Scandinavica*, 73, 633–641.

Raghavendran, K., Mylotte, J. M., Scannapieco, F. A. 2007. Nursing home-associated pneumonia, hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated

pneumonia: the contribution of dental biofilms and periodontal inflammation. *Periodontology* 2000 44, 164–177.

Rai B, Kaur J, Anand SC, Jacobs R. 2011. Salivary stress markers, stress, and periodontitis: a pilot study. *J Periodontol.* 82(2):287–292.

Ramón C, Cernuda-Morollón E, Pascual J. 2017. Calcitonin gene-related peptide in peripheral blood as a biomarker for migraine. *Curr Opin Neurol.* 30:281–286.

Rebeck GW, Marynard KI, Hyman BT, Moskowitz MA. 1994. Selective 5-HT_{1D} alpha serotonin receptor gene expression in trigeminal ganglia: implications for antimigraine drug development. *Proc Natl Acad Sci USA.* 91: 3666-3669.

Recker R, Lappe J, Davies KM, Heaney R. 2004. Bone remodeling increases substantially in the years after menopause and remains increased in older osteoporosis patients. *J Bone Miner Res:* 19: 1628–1633.

Reyes L, Herrera D, Kozarov E, Roldán S, Progulske-Fox A. 2013. Periodontal bacterial invasion and infection: contribution to atherosclerotic pathology. *J Clin Periodontol.* 40(14 Suppl):30S–50S.

Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. 1997. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med.* 336(14):973–979.

Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. 2000. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med.* 342:836-843.

Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. 2002. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med.* 14:1557–1565.

Robb MA, McInnes PM, Califf RM. 2016. Biomarkers and surrogate endpoints: Developing common terminology and definitions. *JAMA* 315:1107–8.

Rockett FC, Perla Ada S, Perry ID, Chaves ML. 2013 Cardiovascular disease risk in women with migraine. *J Headache Pain.*14:1–9.

Rodríguez Osorio, X. 2010. Migraña y función endotelial: relación en el período crítico e intercrítico. [Tesis doctoral]. Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España.

Rodríguez-Osorio X, Sobrino T, Brea D, Martínez F, Castillo J, Leira R. 2012. Endothelial progenitor cells: a new key for endothelial dysfunction in migraine. *Neurology.*79:474–479.

Rosania AE, Low KG, McCormick CM, Rosania DA. 2009. Stress, depression, cortisol, and periodontal disease. *J Periodontol.* 80(2):260–266.

Rubino, E., Vacca, A., Govone, F., Gai, A., Boschi, S., Zucca, M., Rainero, I. 2016. Investigating the role of adipokines in chronic migraine. *Cephalalgia*, 37(11):1067-1073

Ryu WS, Kim CK, Kim BJ, Kim C, Lee SH, Yoon BW.2012. Pentraxin 3: a novel and independent prognostic marker in ischemic stroke. *Atherosclerosis* 220:581–6.

Saas P, Boucraut J, Walker PR, Quiquerez AL, Billot M, Desplat- Jego S, Chicheportiche Y, Dietrich PY. 2000. TWEAK stimulation of astrocytes and the proinflammatory consequences. *Glia*. 32(1):102–107.

Saito, T., Shimazaki, Y., Sakamoto, M. 1998. Obesity and periodontitis. *New England Journal of Medicine* 339, 482–483.

Saito T, Yamaguchi N, Shimazaki Y, Hayashida H, Yonemoto K, Doi Y, Kiyohara Y, Iida M, Yamashita Y. 2008. Serum levels of resistin and adiponectin in women with periodontitis: the Hisayama study. *J Dent Res*. 87(4):319–322.

Salvi GE, Yalda B, Collins JG, Jones BH, Smith FW, Arnold RR, Offenbacher S. 1997a. Inflammatory mediator response as a potential risk marker for periodontal diseases in insulin-dependent diabetes mellitus patients. *J Periodontol*. 68(2):127–135.

Salvi GE, Collins JG, Yalda B, Arnold RR, Lang NP, Offenbacher S. 1997b. Monocytic TNF alpha secretion patterns in IDDM patients with periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. 24(1):8–16.

Sanchez del Río M, Bakker D, Wu O, Agosti R, Mitsikostas DD, Ostergaard L, Wells WA, Rosen BR, Sorensen G, Moskowitz MA, Cutrer FM.1999. Perfusion weighted imaging during migraine: spontaneous visual aura and headache. *Cephalalgia*. 19:701-707

Sarchielli P, Alberti A, Baldi A, Coppola F, Rossi C, Pierguidi L, Floridi A, Calabresi P.2006. Proinflammatory cytokines, adhesion molecules, and lymphocyte integrin expression in the internal jugular blood of migraine patients without aura assessed ictally. *Headache*. 46(2):200-207.

Sasaki H, Okamatsu Y, Kawai T, Kent R, Taubman M, Stashenko P. 2004. The interleukin-10 knockout mouse is highly susceptible to *Porphyromonas gingivalis*-induced alveolar bone loss. *J Periodontal Res*. 39(6):432–441.

Sateia MJ. 2014. International classification of sleep disorders-third edition: highlights and modifications. *Chest*. 146:1387–94.

Schain AJ, Melo-Carrillo A, Strassman AM, Burstein R. 2017 Cortical spreading depression closes paravascular space and impairs glymphatic flow: Implications for migraine headache. *J Neurosci*;37:2904–15.

Schenkein HA, Loos BG. 2013. Inflammatory mechanisms linking periodontal diseases to cardiovascular diseases. *J Clin Periodontol*. 40(14 Suppl):51S–69S.

Schneider HG, Lam QT. 2007. Procalcitonin for the clinical laboratory: a review. *Pathology*. 39:383–390.

Schulte LH, May A. 2016. The migraine generator revisited: Continuous scanning of the migraine cycle over 30 days and three spontaneous attacks. *Brain* 139:1987–93.

Schulte LH, Mehnert J, May A. 2020. Longitudinal Neuroimaging over 30 Days: Temporal Characteristics of Migraine. *Ann Neurol* 87:646–51.

Schwahn C, Völzke H, Robinson DM, Luedemann J, Bernhardt O, Gesch D, John, Kocher T. 2004. Periodontal disease, but not edentulism, is independently associated with increased plasma fibrinogen levels. Results from a population-based study. *Thromb Haemost*. 92(2):244–252.

Schwedt TJ, Schlaggar BL, Mar S, Nolan T, Coalson RS, Nardos B, Benzinger T, Larson-Prior LJ. 2013. Atypical resting-state functional connectivity of affective pain regions in chronic migraine. *Headache*. 53(5):737-751.

Schwedt TJ. 2014. Chronic migraine. *Bmj*.348:g1416

Schwedt TJ, Larson-Prior L, Coalson RS, Nolan T, Mar S, Ances BM, Benzinger T, Schlaggar BL. 2014. Allodynia and descending pain modulation in migraine: a resting state functional connectivity analysis. *Pain Med*. 15(1):154-165.

Seppälä, B., Seppälä, M., Ainamo, J. 1993. A longitudinal study on insulin-dependent diabetes mellitus and periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* 20, 161–165.

Sexton PM, Christopoulos G, Christopoulos A, Nylen ES, Snider RH, Jr, Becker KL. 2008 Procalcitonin has bioactivity at calcitonin receptor family complexes: potential mediator implications in sepsis. *Crit Care Med*. 36:1637–1640

Shchipkova, A.Y., Nagaraja, H.N., Kumar, P.S. 2010. Subgingival microbial profiles of smokers with periodontitis. *Journal of Dental Research* 89, 1247–1253.

Sheiham A., Netuveli S. 2002. Periodontal diseases in Europe. *Periodontol* 2000;29:104-21.

Sheu JJ, Lin HC 2013. Association between multiple sclerosis and chronic periodontitis: a population-based pilot study. *Eur J Neurol* 20:1053–1059

Shimada Y, Komatsu Y, Ikezawa-Suzuki I, Tai H, Sugita N, Yoshie H. 2010. The effect of periodontal treatment on serum leptin, interleukin-6, and C-reactive protein. *J Periodontol*. 81(8):1118–1123.

Shimazaki Y, Shirota T, Uchida K, Yonemoto K, Kiyohara Y, Iida M, Saito T, Yamashita Y. 2008. Intake of dairy products and periodontal disease: the Hisayama study. *J Periodontol* 79: 131–137.

Silva FA, Rueda-Clausen CF, Silva SY. 2007. Endothelial function in patients with migraine during the interictal period. *Headache*. 2007;47:45–51.

Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J. 2004. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 39:206–217.

Sjöberg B, Qureshi AR, Heimbürger O, Stenvinkel P, Lind L, Larsson A, Bárány P, Ärnlöv J. 2016. Association between levels of pentraxin 3 and incidence of chronic kidney disease in elderly. *J Intern Med*. 279(2):173–179.

Söder B, Nedlich U, Jin LJ. 1999. Longitudinal effect of non-surgical treatment and systemic metronidazole for 1 week in smokers and non-smokers with refractory periodontitis: a 5-year study. *J Periodontol*. 70(7):761–771.

Strassman AM, Weissner W, Williams M, Ali S, Levy D. 2004. Axon diameters and intradural trajectories of the dural innervation in the rat. *J Comp Neurol*. 473(3):364–376.

Stephan D, Sbati O, Wen J. 2013. TWEAK/Fn14 pathway modulates properties of human microvascular endothelial cell model of blood brain barrier. *J Neuroinflammation* 10:1–14

Stewart WF, Lipton RB, Celentano DD, Reed ML. 1992. Prevalence of migraine headache in the United States. Relation to age, income, race, and other sociodemographic factors. *JAMA*. 267(1):64–69.

Stewart WF, Simon D, Shechter A, Lipton RB. 1995. Population variation in migraine prevalence: a meta-analysis. *J Clin Epidemiol*. 48(2):269–280.

Stewart WF, Wood C, Reed ML, Roy J, Lipton RB, Group AA. 2008. Cumulative lifetime migraine incidence in women and men. *Cephalalgia*. 28(11):1170–1178.

Stokes M, Becker WJ, Lipton RB, Sullivan SD, Wilcox TK, Wells L, Manack A, Proskorovsky I, Gladstone J, Buse DC, Varon SF, Goadsby PJ, Blumenfeld AM. 2011. Cost of health care among patients with chronic and episodic migraine in Canada and the USA: results from the International Burden of Migraine Study (IBMS). *Headache*. 51:1058–1077.

Suliman ME, Yilmaz MI, Carrero JJ, Qureshi AR, Saglam M, Ipcioglu OM, Yenicesu M, Tong M, Heimbürger O, Barany P, Alvestrand A, Lindholm B, Stenvinkel P. 2008. Novel links between the long pentraxin 3, endothelial dysfunction, albuminuria in early and advanced chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 3:976–985

Suvan J, D'Aiuto F, Moles DR, Petrie A, Donos N. 2010. Association between overweight/obesity and periodontitis in adults. *Obes Rev*. 12(5):381–404.

Tang Y, Feng Y, Wang X. 1998. Calcitonin gene-related peptide potentiates LPS-induced IL-6 release from mouse peritoneal macrophages. *J Neuroimmunol*. 84:207–212.

Taylor JJ, Preshaw PM, Lalla E. 2013. A review of the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *J Clin Periodontol.* 40 Suppl 14:S113-S134.

Taylor GW, Burt BA, Becker MP, Genco RJ, Shlossman M. 1998. Glycemic control and alveolar bone loss progression in type 2 diabetes. *Ann Periodontol.* 3(1):30–39.

Temelli B, Yetkin Ay Z, Savaş HB et al 2018. Circulation levels of acute phase proteins pentraxin 3 and serum amyloid A in atherosclerosis have correlations with periodontal inflamed surface area. *J Appl Oral Sci* 26:1–9

Ter Borg EJ, Horst G, Limburg PC, van Rijswijk MH, Kallenberg CG. 1990. C-reactive protein levels during disease exacerbations and infections in systemic lupus erythematosus: a prospective longitudinal study. *J Rheumatol.* 17:1642–1648.

Tervonen, T., Oliver, R.C. 1993. Long-term control of diabetes mellitus and periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 20, 431–435.

Tervonen, T., Karjalainen, K. 1997. Periodontal disease related to diabetic status. A pilot study of the response to periodontal therapy in type 1 diabetes. *Journal of Clinical Periodontology* 24, 505–510.

Thomassen MJ, Divis LT, Fisher CJ. 1996. Regulation of human alveolar macrophage inflammatory cytokine production by interleukin- 10. *Clin Immunol Immunopathol.* 80(3 Pt 1):321–324

Tietjen GE, Herial NA, White L, Utley C, Kosmyna JM, Khuder SA. 2009. Migraine and biomarkers of endothelial activation in young women. *Stroke.*40:2977-2982.

Tietjen GE, Khubchandani J, Herial N, Shah K. 2012. Adverse childhood experiences are associated with migraine and vascular biomarkers. *Headache.* 52:920-929.

Tietjen GE, Khubchandani J. 2015. Vascular biomarkers in migraine. *Cephalalgia.* 35:95-117.

Tonetti, M.S., Muller-Campanile, V., Lang, N.P. 1998. Changes in the prevalence of residual pockets and tooth loss in treated periodontal patients during a supportive maintenance care program. *Journal of Clinical Periodontology* 25, 1008–1016.

Tonetti MS, D’Aiuto F, Nibali L, Donald A, Storry C, Parkar M, Suvan J, Hingorani AD, Vallance P. 2007. Treatment of periodontitis and endothelial function. *N Engl J Med.* 356:911–20.

Torres de Heens GL, Loos BG, van der Velden U. 2010. Monozygotic twins are discordant for chronic periodontitis: clinical and bacteriological findings. *J Clin Periodontol.* 37(2):120–128.

Tran NL, McDonough WS, Donohue PJ, Winkles JA, Berens TJ, Ross KR, Hoelzinger DB, Beaudry C, Coons SW, Berens ME. 2003. The human Fn14 receptor gene is up-

regulated in migrating glioma cells in vitro and overexpressed in advanced glial tumors. *Am J Pathol.* 162(4):1313–1321.

Turan H, Horasanli B, Ugur M, Arslan H. 2011. Procalcitonin levels in migraine patients. *Can J Neurol Sci.* 38:124–128.

Uzar E, Evliyaoglu O, Yucel Y, Ugur Cevik M, Acar A, Guzel I, Islamoglu Y, Colpan L, Tasdemir N. 2011. Serum cytokine and pro-brain natriuretic peptide (BNP) levels in patients with migraine. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 15:1111-1116.

Vanmolkot FH, de Hoon JN. 2007. Increased C-reactive protein in young adult patients with migraine. *Cephalalgia.* 27:843-846.

Van Dyke, T. E., Serhan, C. N. 2003. Resolution of inflammation: a new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases. *Journal of Dental Research* 82, 82–90.

Van Dyke, T. E. 2007. Control of inflammation and periodontitis. *Periodontology* 2000 45), 158 –166.

Van Dyke TE. 2008. The management of inflammation in periodontal disease. *J Periodontol.* 79(8 Suppl):1601S–S1608.

Van Dyke TE, Van Winkelhoff AJ. 2013. Infection and inflammatory mechanisms. *J Clin Periodontol*; 40 (Suppl. 14): S1–S7.

Van Winkelhoff AJ, Abbas F, Pavicic MJ, Graaff J. 1991 Chronic conjunctivitis caused by oral anaerobes and effectively treated with systemic metronidazole plus amoxicillin. *J Clin Microbiol* 1991 Apr; 29(4): 723–725.

Van Winkelhoff, AJ, Slots, J. 1999. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in nonoral infections. *Periodontology* 2000 20 122–135.

Vered Y, Soskolne V, Zini A, Livny A, Sgran-Cohen H D. 2011. Psychological distress and social support are determinants of changing oral health status among an immigrant population from Ethiopia. *Community Dent Oral Epidemiol.* 39(2):145-53.

Verma S, Buchanan MR, Anderson TJ. 2003. Endothelial function testing as biomarker of vascular disease. *Circulation.* 108:2054-2059.

Vermeire S, Van Assche G and Rutgeerts P. 2004. C-reactive protein as a marker for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 10:661-665.

Vila N, Castillo J, Dávalos A, Esteve A, Planas AM, Chamorro A. 2003. Levels of anti-inflammatory cytokines and neurological worsening in acute ischemic stroke. *Stroke.* 34(3):671–675.

Vilahur G, Badimon L. 2015. Biological actions of pentraxins. *Vascul Pharmacol.* 73:38–44.

Von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP; STROBE Initiative. 2008. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol*. 61(4):344–349.

Waeber C, Moskowitz MA. 2005. Migraine as an inflammatory disorder. *Neurology*. 64:9–15.

Wallace, A. M., McMahon, A. D., Packard, C. J., Kelly, A., Shepherd, J., Gaw, A., Sattar, N. 2001. Plasma leptin and the risk of cardio-vascular disease in the west of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). *Circulation*, 104, 3052–3056

Welch KM, Nagesh V, Aurora SK, Gelman N. 2001. Periaqueductal gray matter dysfunction in migraine: cause or the burden of illness? *Headache*. 41(7):629-637.

Welch KM, Brandes AW, Salermo L, Brandes JL. 2006. C-reactive protein may be increased in migraine patients who present with complex clinical features. *Headache*. 46:197–199.

Wiley SR, Cassiano L, Lofton T, Davis-Smith T, Winkles JA, Lindner V, Liu H, Daniel TO, Smith CA, Fanslow WC. 2001. A novel TNF receptor family member binds TWEAK and is implicated in angiogenesis. *Immunity*. 15(5):837–846.

Wiley SR, Winkles JA. 2003. TWEAK, a member of the TNF superfamily, is a multifunctional cytokine that binds the TweakR/Fn14 receptor. *Cytokine Growth Factor Rev*. 14(3-4):241–249.

Wilkes DS, Neimeier M, Mathur PN, Soliman DM, Twigg HL 3rd, Bowen LK, Heidler KM. 1995. Effect of human lung allograft alveolar macrophages on IgG production: immunoregulatory role of interleukin- 10, transforming growth factor-beta, and interleukin-6. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 13(5):621–628.

Willis' T, 1986. Two chapters on headache of 1672: a first attempt to apply the "New science" to this topic. *Headache*. 26:95-98

Wood, N., Johnson, R.B., Streckfus, C.F. 2003. Comparison of body composition and periodontal disease using nutritional assessment techniques: Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Journal of Clinical Periodontology* 30, 321–327.

Xanthos DN, Sandkuhler J. 2014. Neurogenic neuroinflammation: inflammatory CNS reactions in response to neuronal activity. *Nat Rev Neurosci*. 15(1):43-53.

Yamagishi, S. I., Edelstein, D., Du, X. L., Kaneda, Y., Guzmán, M., Brownlee, M. 2001. Leptin induces mitochondrial superoxide production and monocyte chemoattractant protein-1 expression in aortic endothelial cells by increasing fatty acid oxidation via protein kinase A. *The Journal of Biological Chemistry*, 276, 25096–25100.

Yasunaga T, Ikeda S, Koga S, Nakata T, Yoshida T, Masuda N, Kohno S, Maemura K. 2014. Plasma pentraxin 3 is a more potent predictor of endothelial dysfunction than high-sensitive C-reactive protein. *Int Heart J.* 55(2):160–164.

Yilmaz M, Carrero JJ, Ortiz A. 2009. Soluble TWEAK plasma levels as a novel biomarker of endothelial function in patients with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 4:1716–1723.

Yu, S.M., Bellamy, H.A., Schwalberg, R.H. & Drum, M.A. 2001. Factors associated with use of preventive dental and health services among U.S. adolescents. *Journal of Adolescent Health* 29, 395–405.

Zhan Y, Holtfreter B, Meisel P, Hoffmann T, Micheelis W, Dietrich T, Kocher T. 2014. Prediction of periodontal disease: modelling and validation in different general German populations. *J Clin Periodontol.* 41: 224–231.

Zhang Q, Chen B, Yan F, Guo J, Zhu X, Ma S, Yang W. 2014. Interleukin-10 inhibits bone resorption: a potential therapeutic strategy in periodontitis and other bone loss diseases. *Biomed Res Int.*1–5.

Zhang X, Levy D, Kainz V, Nosedá R, Jakubowski M, Burstein R. 2011. Activation of central trigeminovascular neurons by cortical spreading depression. *Ann Neurol* 69:855–65.

Zlokovic BV. 2008. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron.* 57(2):178–201.

ARTÍCULOS

ARTÍCULO 1

Ameijeira P, Leira Y, Blanco J, Leira R. 2017. Periodontal disease as a potential factor of migraine chronification. Med Hypotheses. 102:94–98.

Editorial: Elsevier

ISSN: 0306-9877

DOI: 10.1016/j.mehy.2017.03.019

Año: 2017

Índices de calidad de la publicación:

Revista: Medical Hypothesis

Factor de impacto en 2017: 1.120

Posición en la categoría en 2017: 113/133 Q4

Autores:

Pablo Ameijeira a,

Yago Leira a,b,

Juan Blanco a,

Rogelio Leira c

a Departamento de Periodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

b Instituto de Investigaciones Sanitarias de Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, España

c Departamento de Neurología, Unidad de Cefalea, Laboratorio de Investigación en Neurociencias Clínicas, Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela(IDIS), Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

Mi contribución específica: Redacción del artículo

La autorización de la revista/editorial para el uso de la publicación en la tesis.

Dear Prof. PABLO AMEJEIRA,

Thank you for contacting us.

RE: Periodontal disease as a potential factor of migraine chronification, Medical Hypotheses, Volume 102, May 2017, Pages 94-98.

Proposed use: doctoral thesis.

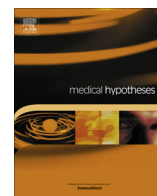
As an Elsevier journal author, you retain the right to Include the article in a thesis or dissertation (provided that this is not to be published commercially) whether in full or in part, subject to proper acknowledgment; see <https://www.elsevier.com/about/policies/copyright> for more information. As this is a retained right, no written permission from Elsevier is necessary.

As outlined in our permissions licenses, this extends to the posting to your university's digital repository of the thesis provided that if you include the published journal article (PJA) version, it is embedded in your thesis only and not separately downloadable.

Thank you.

Kind regards,

Thomas Rexson Yesudoss
Copyrights Specialist
ELSEVIER | HCM - Health Content Management



Periodontal disease as a potential factor of migraine chronification



Pablo Ameijeira^a, Yago Leira^{a,b,*}, Juan Blanco^a, Rogelio Leira^c

^a Department of Periodontology, School of Dentistry, Faculty of Medicine, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain

^b Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, Spain

^c Department of Neurology, Headache Unit, Clinical Neurosciences Research Laboratory, Hospital Clínico Universitario, Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 1 February 2017

Accepted 11 March 2017

Keywords:

Periodontal disease

Migraine

Inflammation

Headache

Hypothesis

Risk factors

Chronification

ABSTRACT

Migraine is a hereditary constitutional base disorder, which is characterized by recurrent episodes of headache pulsatile characteristics associated with photophobia/phonophobia, nausea and/or vomiting. The main complication in migraine is the chronicity of the process, now recognized as a chronic migraine. Although pathogenic mechanisms that may influence the pathophysiology of migraine and its possible chronicity are not fully understood, previous studies have shown in patients with migraine molecular alterations of systemic inflammation, neurogenic inflammation, endothelial dysfunction, innate immunity, dysfunction of matrix proteases and blood-brain barrier. Periodontal disease is an inflammatory lesion caused by bacteria. After the bacterial infection begins, an immune response that will be responsible for individual susceptibility appears. More advanced forms of periodontitis have demonstrated molecular alterations of inflammation, endothelial dysfunction, dysfunction of matrix proteases and innate immunity, similar to those observed in migraine. Furthermore, the main molecular mediators of neurogenic inflammation related to activation of the trigeminovascular system, which are characteristic of migraine, are overexpressed in gingival crevicular fluid and mucosa in patients with periodontal disease. Hypertension, hypercholesterolemia, insulin resistance, stroke or coronary artery disease are comorbidities that periodontal disease and migraine could share. Therefore, several mechanisms and hypotheses could explain the possible association between both diseases. However, epidemiological and molecular studies will be necessary to provide a better understanding of this potential association, which could be implicated in the chronification of migraine.

© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

Migraine is a type of primary episodic headache that is defined by its clinical features, including recurrent episodes of unilateral high-intensity pulsatile headache that are aggravated by habitual physical activity and usually accompanied by hypersensitivity to light and noise and vegetative symptoms such as nausea or vomiting [1].

In migraine two entities are distinguished, namely migraine without aura and migraine with aura. The concept of aura could be defined as the transient neurological visual, sensory or language symptom that may precede or accompany the headache [2].

Categorization of episodic migraine depends on the number of headache that a patient experiences. According to the International

Headache Society, when the headache appears for ≥ 15 days per month for more than 3 months (at least 8 days should meet criteria for migraine) chronic migraine would be the correct diagnostic [2].

In the Western world, the overall annual prevalence of migraine is 11% (18% in women and 6% in men), with prevalence peaks (25% in women) in the most productive years of adulthood (from 25 to 55 years) [3,4].

Although chronic migraine is less prevalent than episodic migraine, the main complication in episodic migraine is the chronicity of the process [5].

Various risk factors for migraine chronification have been identified such as overuse of acute migraine medication, ineffective acute treatment, obesity, depression, low educational status and stressful life events [6].

Periodontal disease (PD) is a common inflammatory and infectious disease among the adult population [7]. After bacterial infection begins, an immune response will be responsible for individual susceptibility [8].

* Corresponding author at: Department of Periodontology – School of Dentistry – Faculty of Medicine, University of Santiago de Compostela, Rúa Entrerriós, S/N, 15782 Santiago de Compostela (A Coruña), Spain.

E-mail address: yagoleira@gmail.com (Y. Leira).

In recent years, PD has been linked to various systemic diseases such as cardiovascular and cerebrovascular diseases, rheumatoid arthritis, diabetes mellitus, dementia and adverse pregnancy outcomes [9–14].

Three basic mechanisms have been postulated that could play a pivotal role in these interactions: metastatic infections, inflammation and inflammatory injury, and adaptive immunity [15].

Although specific association between PD and migraine has not been yet investigated, more advanced forms of PD have shown molecular alterations of inflammation, endothelial dysfunction, matrix protease dysfunction and innate immunity, similar to those observed in migraine [16–18].

Plausibility of a potential relationship between periodontal disease and migraine

Molecular alterations of inflammation

Numerous studies have shown that periodontal patients have increased levels of inflammatory mediators including increased levels of C-reactive protein (CRP), interleukin-1 (IL-1) and IL-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α) compared to healthy controls [16,17]. In migraine, the same pattern of inflammatory markers has been observed in the systemic circulation [19]. These cytokines are proinflammatory and have also been implicated in vascular dysfunction [20].

Alterations of endothelial function

Some studies have suggested that patients with migraine have impaired endothelial function [21,22]. Likewise, PD produce a chronic low-grade state of systemic inflammation and, therefore, causing endothelial dysfunction [18].

Elevated levels of fibrinogen indicate systemic inflammation and may also damage blood vessel walls causing smooth muscle proliferation and migration [23]. Certain studies reported an increase of von Willebrand factor and fibrinogen levels in migraineurs compared to controls [24–26]. Similarly, several studies found higher concentrations of fibrinogen in patients with PD than in healthy subjects [27–29].

Endothelial progenitor cell (EPC) have a key role in endothelial regeneration and repair of injured vessels. The EPCs were reduced in migraine compared to controls and its function was also reduced in patients with migraine, showing a reduced migratory capacity and increased cellular senescence [30]. Furthermore, moderate or severe PD was associated with increased levels of circulating EPCs [31].

Pentraxin-3 (PTX-3) is one of the PTXs with a C-terminal and long N-terminal domain which appears to be specific to vascular damage [32]. It was shown that PTX-3 levels rise during a migraine attack [33]. Similarly, in patients with PD, PTX-3 concentration was found to be higher in gingival crevicular fluid and plasma than in healthy subjects [34].

Matrix protease dysfunction

Biomarkers associated [i.e., matrix metalloproteinase-9 (MMP-9)] with vascular repair/remodelling have also been linked with migraine. It is believed that MMPs may play a pivotal role in periodontal destruction [35]. In addition, plasma levels of MMP-9 are significantly higher in migraineurs than in control subjects [36].

Immune responses

The pathogenesis of migraine involves immune-mediated mechanisms in the vascular endothelium. Toll-like receptors (TLRs) are master regulators of innate immune function and are involved in the activation of inflammatory responses in the brain [37]. TLRs have been implicated in host innate immune responses to periodontopathogenic bacteria and in the activation of adaptive immunity. Moreover, dysfunctional host immunity induced by periodontal pathogens could contribute to the progression of PD [38].

Increase of mediators of neurogenic inflammation

In migraine, the neurogenic inflammation involves two different processes: vasodilation and increased vascular permeability [39]. These phenomena are modulated at a molecular level by the release of a series of neuropeptides [i.e., substance P (SP), neurokinin A (NKA), and calcitonin gene-related peptide (CGRP)] [39].

Studies investigating the distribution of neurochemical markers in tissue obtained from gingivitis and PD affected sites showed that the tachykinins, SP and NKA were significantly elevated in PD [40]. However, they failed to detect CGRP in PD sites. It is suggested that selective degradation of CGRP, but not SP or NKA, could serve to enhance the proinflammatory effects of the tachykinins in periodontal inflammation [41].

Comorbidities associated with migraine and periodontal disease

Epidemiological (i.e., longitudinal, cross-sectional and case-control studies) data have shown a strong association between PD and migraine with some medical conditions.

Hypertension

Epidemiological evidence has reported a significant association between migraine and hypertension. Patients with chronic migraine are more likely to be hypertensive than patients with episodic migraine [42]. An increased prevalence of migraine and other headaches with auras was observed with hypertension [43]. Furthermore, the presence of hypertension increases the risk of arterial damage in migraine patients [43].

A recent systematic review described the potential influence of PD on hypertension with a higher risk of hypertension especially for severe PD [44]. This relationship may be explained by common risk factors or by dissemination of infectious and inflammatory components from periodontal lesions through bloodstream, immune response or glucose and lipids metabolism [45].

Hypercholesterolemia

It has been demonstrated that patients with migraine had higher levels of total cholesterol and low-density lipoprotein (LDL) cholesterol compared to those without migraine [46]. The authors found a significant association of total cholesterol with migraine in elderly men after adjustment for confounding variables.

It is considered that high fat diet produces platelet aggregation, which implies higher levels of prostaglandin and lower levels of serotonin, leading to vasodilation, which is an aetiological factor of migraine [47].

Presence of hypercholesterolemia or dyslipidemia in patients with migraine may increase the risk of vascular wall injury. Hypercholesterolemia is associated with an increase in endothelial

permeability [48]. Elevated cholesterol concentrations are considered pro-atherogenic. LDLs, diffuse into the inner layer of arteries and may suffer modifications that could be recognized by cellular receptors of the phagocytes. Consequently, the subendothelial macrophages may be dilated by lipids and, as a result, they become foam cells in the early stages of atheroma formation [17]. Activation of macrophages with the corresponding release of inflammatory mediators could stimulate endothelial cells causing the release of chemotactic cytokines and stimulating the receptors, which are responsible for the recruitment of monocytes in atherosclerotic lesions [17].

With regard to PD, the presence of lipopolysaccharides (LPS) in the plasma as well as the systemic spread of the bacterium may increase the hepatic production of cholesterol, which could be transported as lipids that will bind to bacterial LPS. In this way, the interaction between periodontal infection and dyslipidemia and atherogenesis is explained [17].

Clinical studies showed that patients with PD have higher total serum cholesterol levels than healthy patients [49,50].

Mosteiro et al. found that patients with PD have higher levels of LDL, lower levels of high-density lipoprotein (HDL) and higher levels of triglycerides [51].

Insulin resistance

There are some evidence suggesting a link between insulin metabolism and migraine. In fasting situations, the activation of the insulin receptor occurs that could trigger a migraine attack [52]. A study evaluated insulin sensitivity in 30 young, non-obese, non-diabetic, normotensive migraine patients and in 15 healthy controls. Glucose plasma concentrations were found to be significantly higher in migraineurs than in controls [53].

There is consistent evidence that severe PD negatively affects blood glucose levels expressed as HbA1c in people with and without diabetes [54]. Furthermore, randomized clinical trials demonstrated that periodontal treatment was associated with approximately 0.4% reduction in HbA1c at 3 months, implying a clinical impact equivalent to adding a second drug to a regimen therapy for the treatment of diabetes [54]. On the other side, a bidirectional relationship has been identified between PD and diabetes [54].

Cerebrovascular disease

Several studies have found that migraine patients are more likely to develop ischemic strokes [55,56]. In addition, other studies indicate that repeated migraine attacks increase the risk of stroke in women younger than 35 years [57].

Likewise, several observational studies have suggested an association between PD and cerebral ischemia [58–60]. Indeed, a recent meta-analysis showed a statistically significant association between PD and ischemic stroke in both cohort (pooled RR = 2.52; 95% CI: 1.77–3.58) and case-control studies (pooled RR = 3.04; 95% CI: 1.10–8.43) [61].

Coronary heart disease

The association between migraine and cardiovascular disease was investigated in several studies. One study points out that the risk of cardiovascular disease is double in women with migraine compared to individuals without migraine [62]. It has been demonstrated that 66% of patients with migraine have an intermediate to high coronary risk versus 48% of control subjects [63]. In a prospective cohort study, a significant association between migraine and myocardial infarction was identified in women with high Framingham risk scores [64].

Periodontal infection leads to the entry of bacteria into the bloodstream. These bacteria activate the inflammatory response of the host by several mechanisms. The host immune response favours formation, maturation and exacerbation of atherosclerotic plaques. Longitudinal studies concluded, in a statistically significant way, that in patients diagnosed with PD there was a high risk of atherosclerotic cardiovascular disease [65]. Periodontal treatment has been shown to reduce systemic inflammation by reducing C-reactive protein levels and improving both clinical measurements and surrogate measures of endothelial function [66].

The hypothesis

Several pathophysiological pathways may explain the potential association between PD and migraine (i.e., systemic and neurogenic inflammation, endothelial dysfunction, matrix protease dysfunction). In addition, both diseases share some systemic conditions (i.e., hypertension, hypercholesterolemia, insulin resistance and vascular atherosclerotic diseases). When migraine chronification occurs, disability increases and treatment response rates diminish. In this sense, identification and elimination of modified risk factors (i.e., obesity, depression, low educational status and stressful life events) is highly recommended in patients diagnosed with chronic migraine. We propose PD as a possible factor for migraine chronification (Fig. 1). This hypothesis is supported by the fact that periodontal inflammation, which occurs within the gingival tissues, releases a great number of inflammatory mediators that could be involved in the development of migraine attacks and, as a result, facilitating migraine chronification. It seems likely that during periodontal inflammation, which is caused by an interaction between periodontopathogens (e.g., *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* or *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) and the host response, cytokines and acute-phase reactants (e.g., IL-1, TNF- α , CRP and IL-6) are produced locally and disseminated systemically due to endotoxemia. This chronic low-grade inflammatory state could be responsible for the overexpression of neurogenic biomarkers (i.e., CGRP, SP, NKA) during the interictal state of chronic migraineurs. On the other hand, periodontal infection could directly promote the activation of the trigeminovascular system, which is involved in the process of migraine chronification. Although the proposed hypothesis could be feasible, future epidemiological and molecular research on this relationship is warranted.

Conflict of interest statement

The authors report no conflict of interest.

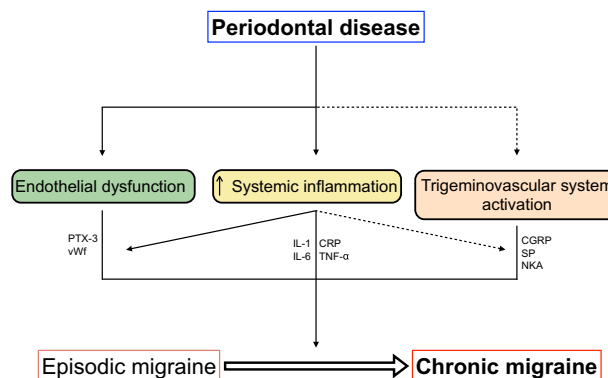


Fig. 1. Proposed mechanism by which periodontitis could be involved in the process of migraine chronification.

Source of support

This paper has been partially supported by grants from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness – Instituto de Salud Carlos III (PI 15/01578). The funders had no role in the research hypothesis or preparation of the manuscript.

Acknowledgement

Y. Leira is recipient of a fellowship from Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS).

References

- [1] Goadsby PJ, Lipton RB, Ferrari MD. Migraine—current understanding and treatment. *N Engl J Med* 2002;346:257–70.
- [2] Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS). The international classification of headache disorders, 3rd edition (beta version). *Cephalalgia* 2013;33:629–808.
- [3] Lipton RB, Bigal ME. The epidemiology of migraine. *Am J Med* 2005;118(Suppl. 1):3S–10S.
- [4] Lipton RB, Bigal ME. Ten lessons on the epidemiology of migraine. *Headache* 2007;47(Suppl. 1):S2–9.
- [5] Lipton RB. Tracing transformation: chronic migraine classification, progression, and epidemiology. *Neurology* 2009;72(Suppl. 5):S3–7.
- [6] May A, Schulte LH. Chronic migraine: risk factors, mechanisms and treatment. *Nat Rev Neurol* 2016;12:455–64.
- [7] Sheiham A, Netuveli GS. Periodontal diseases in Europe. *Periodontol* 2002;2000(29):104–21.
- [8] Bartold PM, Van Dyke TE. Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. *Unlearning learned concepts. Periodontol* 2013;2000(62):203–17.
- [9] Teng YT, Taylor GW, Scannapieco F, et al. Periodontal health and systemic disorders. *J Can Dent Assoc* 2002;68:188–92.
- [10] Dietrich T, Sharma P, Walter C, Weston P, Beck J. The epidemiological evidence behind the association between periodontitis and incident atherosclerotic cardiovascular disease. *J Clin Periodontol* 2013;40(Suppl. 14):S70–84.
- [11] Borgnakke WS, Ylöstalo PV, Taylor GW, Genco RJ. Effect of periodontal disease on diabetes: systematic review of epidemiologic observational evidence. *J Clin Periodontol* 2013;40(Suppl. 14):S135–52.
- [12] Ide M, Papapanou PN. Epidemiology of associations between maternal periodontal disease and adverse pregnancy outcomes – systematic review. *J Clin Periodontol* 2013;40(Suppl. 14):S181–94.
- [13] Leira Y, Blanco M, Blanco J, Castillo J. Association between periodontal disease and cerebrovascular disease. A review of the literature. *Rev Neurol* 2015;61:29–38.
- [14] Pazos P, Leira Y, Domínguez C, Pías-Peleiteiro JM, Blanco J, Aldrey JM. Association between periodontal disease and dementia: a literature review. *Neurologia* 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nrl.2016.07.013> [Epub ahead of print].
- [15] Van Dyke TE, van Winkelhoff AJ. Infection and inflammatory mechanisms. *J Clin Periodontol* 2013;40(Suppl. 14):S1–7.
- [16] Paraskvas S, Huizinga JD, Loos BG. A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol* 2008;35:277–90.
- [17] Schenkein HA, Loos BG. Inflammatory mechanisms linking periodontal diseases to cardiovascular diseases. *J Clin Periodontol* 2013;40(Suppl. 14):S51–69.
- [18] Gurav AN. The implication of periodontitis in vascular endothelial dysfunction. *Eur J Clin Invest* 2014;44:1000–9.
- [19] Hamed SA. The vascular risk associations with migraine: relation to migraine susceptibility and progression. *Atherosclerosis* 2009;205:15–22.
- [20] Guzik TJ, Mangalath D, Korbut R. Adipocytokines – novel link between inflammation and vascular function? *J Physiol Pharmacol* 2006;57:505–28.
- [21] Hamed SA, Hamed EA, Ezz Eldin AM, Mahmoud NM. Vascular risk factors, endothelial function, and carotid thickness in patients with migraine: relationship to atherosclerosis. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2010;19:92–103.
- [22] Rodríguez-Osorio X, Sobrino T, Brea D, Martínez F, Castillo J, Leira R. Endothelial progenitors cells: a new key for endothelial dysfunction in migraine. *Neurology* 2012;79:474–9.
- [23] Davalos D, Akassoglou K. Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease. *Semin Immunopathol* 2012;34:43–62.
- [24] Tietjen GE, Al-Qasbi MM, Athanas K, Dafer RM, Khuder SA. Increased con Willebrand factor in migraine. *Neurology* 2001;57:334–6.
- [25] Walkowiak B, Kozubski W, Pawlowska Z, Prusinski A, Cierniewski CS. Expression of fibrinogen receptors in platelets of migraine patient—correlation with platelet GPIIb content and plasma cholesterol. *Thromb Haemost* 1989;61:419–22.
- [26] Yucel Y, Tanriverdi H, Arkanoglu A, et al. Increased fibrinogen, D-dimer and galectin-3 levels in patients with migraine. *Neurol Sci* 2014;35:545–9.
- [27] Kweider M, Lowe GD, Murray GD, Kinane DF, McGowan DA. Dental disease, fibrinogen and white cell count; links with myocardial infarction? *Scott Med J* 1993;38:73–4.
- [28] Schwahn C, Völzke H, Robinson DM, et al. Periodontal disease, but not edentulism, is independently associated with increased plasma fibrinogen levels. Results from a population-based study. *Thromb Haemost* 2004;92:244–52.
- [29] Sahingur SE, Sharma A, Genco RJ, De Nardin E. Association of increased levels of fibrinogen and the –455G/A fibrinogen gene polymorphism with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2003;74:329–37.
- [30] Tietjen GE, Khubchandani J. Vascular biomarkers in migraine. *Cephalalgia* 2015;35:95–117.
- [31] Li X, Tse HF, Yiu KH, et al. Increased levels of circulating endothelial progenitor cells in subjects with moderate to severe chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2009;36:933–9.
- [32] Ryu WS, Kim CK, Kim BJ, Kim C, Lee SH, Yoon BW. Pentraxin 3: a novel and independent prognostic marker in ischemic stroke. *Atherosclerosis* 2012;220:581–6.
- [33] Ceylan M, Bayraktutan OF, Becel S, Atis Ö, Yalcin A, Kotan D. Serum levels of pentraxin-3 and other inflammatory biomarkers in migraine: association with migraine characteristics. *Cephalalgia* 2016;36:518–25.
- [34] Pradeep AR, Kathariya R, Raghavendra NM, Sharma A. Levels of pentraxin-3 in gingival crevicular fluid and plasma in periodontal health and disease. *J Periodontol* 2011;82:734–41.
- [35] Page RC. The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. *Ann Periodontol* 1998;3:108–20.
- [36] Leira R, Sobrino T, Rodríguez-Yáñez M, Blanco M, Arias S, Castillo J. MMP-9 immunoreactivity in acute migraine. *Headache* 2007;47:698–702.
- [37] Ghaemi A, Sajadian A, Khodaei B, et al. Immunomodulatory effect of Toll-like receptor-3 ligand poly I: C on cortical spreading depression. *Mol Neurobiol* 2016;53:143–54.
- [38] Song B, Zhang Y, Chen L, et al. The role of Toll-like receptors in periodontitis. *Oral Dis* 2016. <http://dx.doi.org/10.1111/odi.12468> [Epub ahead of print].
- [39] Moskowitz MA. The neurobiology of vascular head pain. *Ann Neurol* 1984;16:157–68.
- [40] Linden GJ, McKinnell J, Shaw C, Lundy FT. Substance P and neurokinin A in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease. *J Clin Periodontol* 1997;24:799–803.
- [41] Lundy FT, Shaw C, McKinnell J, Lamey PJ, Linden GJ. Calcitonin gene-related peptide in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease. *J Clin Periodontol* 1999;26:212–6.
- [42] Baldrati A, Bini L, D'Alessandro R, et al. Analysis of outcome predictors of migraine towards chronicity. *Cephalalgia* 1985;5(Suppl. 2):195–9.
- [43] Cirillo M, Stellato D, Lombardi C, De Santo NG, Covelli V. Headache and cardiovascular risk factors: positive association with hypertension. *Headache* 1999;39:409–16.
- [44] Martín-Cabezas R, Seelam N, Petit C, et al. Association between periodontitis and arterial hypertension: a systematic review and meta-analysis. *Am Heart J* 2016;180:98–112.
- [45] Tsioufis C, Kasiakogias A, Thomopoulos C, Stefanadis C. Periodontitis and blood pressure: the concept of dental hypertension. *Atherosclerosis* 2011;219:1–9.
- [46] Monastero R, Pipia C, Cefalù AB, et al. Association between plasma lipid levels and migraine in subjects aged > or =50 years: preliminary data from the Zabùt Aging Project. *Neurol Sci* 2008;29(Suppl. 1):S179–81.
- [47] Bic Z, Blix GG, Hopp HP, Leslie FM, Schell MJ. The influence of a low fat-diet on incidence and severity of migraine headaches. *J Womens Health Gend Based Med* 1999;8:623–30.
- [48] Heinecke JW, Kawamura M, Suzuki L, Chait A. Oxidation of low density lipoprotein by thiols: superoxide-dependent and -independent mechanisms. *J Lipid Res* 1993;34:2051–61.
- [49] Lösche W, Karapetow F, Pohl A, Pohl C, Kocher T. Plasma lipid and blood glucose levels in patients with destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2000;27:537–41.
- [50] Katz J, Chaushu G, Sharabi Y. On the association between hypercholesterolemia, cardiovascular disease and severe periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2001;28:865–8.
- [51] Monteiro AM, Jardini MA, Alves S. Cardiovascular disease parameters in periodontitis. *J Periodontol* 2009;80:378–88.
- [52] Masters JB, Mortimer MJ, Hay KM. Glucose and diet in the fasting migraineur. *Headache* 1986;26:243–7.
- [53] Rainero I, Limone P, Ferrero M, et al. Insulin sensitivity is impaired in patients with migraine. *Cephalalgia* 2005;25:593–7.
- [54] Chapple IL, Genco R, Working group 2 of joint EFP/AAP workshop. Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the joint EFP/AAP workshop on periodontitis and systemic diseases. *J Clin Periodontol* 2013;40(Suppl. 14):S106–12.
- [55] Hu X, Zhou Y, Zhao H, Peng C. Migraine and the risk of stroke: an updated meta-analysis of prospective cohort studies. *Neurol Sci* 2017;38:33–40.
- [56] Peng KP, Chen YT, Fuh JL, Tang CH, Wang SJ. Migraine and incidence of ischemic stroke: a nationwide population-based study. *Cephalalgia* 2016. pii: 0333102416642602 [Epub ahead of print].
- [57] Tietjen GE. The risk of stroke in patients with migraine and implications for migraine management. *CNS Drugs* 2005;19:683–92.
- [58] Wu T, Trevisan M, Genco RJ, Dorn JP, Falkner KL, Sempos CT. Periodontal disease and risk of cerebrovascular disease: the first national health and

- nutrition examination survey and its follow-up study. *Arch Intern Med* 2000;160:2749–55.
- [59] Leira Y, López-Dequidt I, Arias S, et al. Chronic periodontitis is associated with lacunar infarct: a case-control study. *Eur J Neurol* 2016;23:1572–9.
- [60] Grau AJ, Becher H, Ziegler CM, et al. Periodontal disease as a risk factor for ischemic stroke. *Stroke* 2004;35:496–501.
- [61] Leira Y, Seoane J, Blanco M, et al. Association between periodontitis and ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Epidemiol* 2016. <http://dx.doi.org/10.1007/s10654-016-0170-6> [Epub ahead of print].
- [62] Wingerchuk DM, Spencer B, Dodick DW, Demaerschalk BM. Migraine with aura is a risk factor for cardiovascular and cerebrovascular disease: a critically appraised topic. *Neurologist* 2007;13:231–3.
- [63] Vanmolkot FH, de Hoon JN. Increased C-reactive protein in young adult patients with migraine. *Cephalalgia* 2007;27:843–6.
- [64] Kurth T, Schürks M, Logroscino G, Gaziano JM, Buring JE. Migraine, vascular risk, and cardiovascular events in women: prospective cohort study. *BMJ* 2008;337:a636.
- [65] Tonetti MS, Van Dyke TE, Working Group 1 of the Joint EFP/AAP Workshop. Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the joint EFP/AAP workshop on periodontitis and systemic diseases. *J Clin Periodontol* 2013;40(Suppl. 14):S24–9.
- [66] D'Aiuto F, Orlandi M, Gunsolley JC. Evidence that periodontal treatment improves biomarkers and CVD outcomes. *J Clin Periodontol* 2013;40(Suppl. 14):S85–S105.

ARTÍCULO 2

Ameijeira, P., Leira, Y., Domínguez, C., Leira, R., & Blanco, J. (2019). Association between periodontitis and chronic migraine: a case–control study. *Odontology*, 107, 90-95

Editorial: Springer

ISSN: 1618-1247

DOI: 10.1007/s10266-018-0360-7

Año: 2019

Índices de calidad de la publicación:

Revista: Odontology

Factor de impacto en 2019: 1.840

Posición en la categoría dentistry, oral surgery & medicine en 2017: 41/91 Q2

Autores:

Pablo Ameijeira a,

Yago Leira a,b,

Clara Domínguez,c

Juan Blanco a,b

Rogelio Leira c

a Departamento de Periodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

b Investigación en Odontología Médico-Quirúrgica (OMEQUI)

Grupo, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, España

c Departamento de Neurología, Unidad de Cefalea, Laboratorio de Investigación en Neurociencias Clínicas, Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela(IDIS), Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

Mi contribución específica: Adquisición de datos clínicos, interpretación de los datos, redacción, revisión del manuscrito en cuanto a contenido intelectual y aprobación final de la versión a publicar.

La autorización de la revista/editorial para el uso de la publicación en la tesis.



This is a License Agreement between PABLO AMEJEIRA ("User") and Copyright Clearance Center, Inc. ("CCC") on behalf of the Rightsholder identified in the order details below. The license consists of the order details, the Marketplace Permissions General Terms and Conditions below, and any Rightsholder Terms and Conditions which are included below. All payments must be made in full to CCC in accordance with the Marketplace Permissions General Terms and Conditions below.

Order Date	17-Jun-2024	Type of Use	Republish in a thesis/dissertation
Order License ID	1495292-1	Publisher	Springer Japan KK
ISSN	1618-1247	Portion	Chapter/article

LICENSED CONTENT			
Publication Title	Odontology : official journal of the Society of the Nippon Dental University	Publication Type	Journal
Article Title	Association between periodontitis and chronic migraine: a case-control study.	Start Page	90
Author / Editor	Nihon Shika Daigaku.	End Page	95
Date	01/01/2001	Issue	1
Country	Japan	Volume	107
Rightsholder	Springer Nature BV	URL	http://www.springer.com/medicine/denti...

REQUEST DETAILS			
Portion Type	Chapter/article	Rights Requested	Main product
Page Range(s)	3-8	Distribution	Worldwide
Total Number of Pages	5	Translation	Original language of publication
Format (select all that apply)	Print	Copies for the Disabled?	No
Who Will Republish the Content?	Author of requested content	Minor Editing Privileges?	No
Duration of Use	Life of current edition	Incidental Promotional Use?	No
Lifetime Unit Quantity	Up to 499	Currency	EUR

REQUESTED CONTENT DETAILS			
Title, Description or Numeric Reference of the Portion(s)	Association between periodontitis and chronic migraine: a case-control study.	Title of the Article / Chapter the Portion Is From	Association between periodontitis and chronic migraine: a case-control study.
Editor of Portion(s)	Ameijeira, Pablo; Blanco, Juan; Domínguez, Clara; Leira, Rogelio; Leira, Yago	Author of Portion(s)	Ameijeira, Pablo; Blanco, Juan; Domínguez, Clara; Leira, Rogelio; Leira, Yago
Volume / Edition	107	Publication Date of Portion	2019-01-01
Page or Page Range of Portion	90-95		

Association between periodontitis and chronic migraine: a case–control study

Pablo Ameijeira, Yago Leira, Clara Domínguez, Rogelio Leira & Juan Blanco

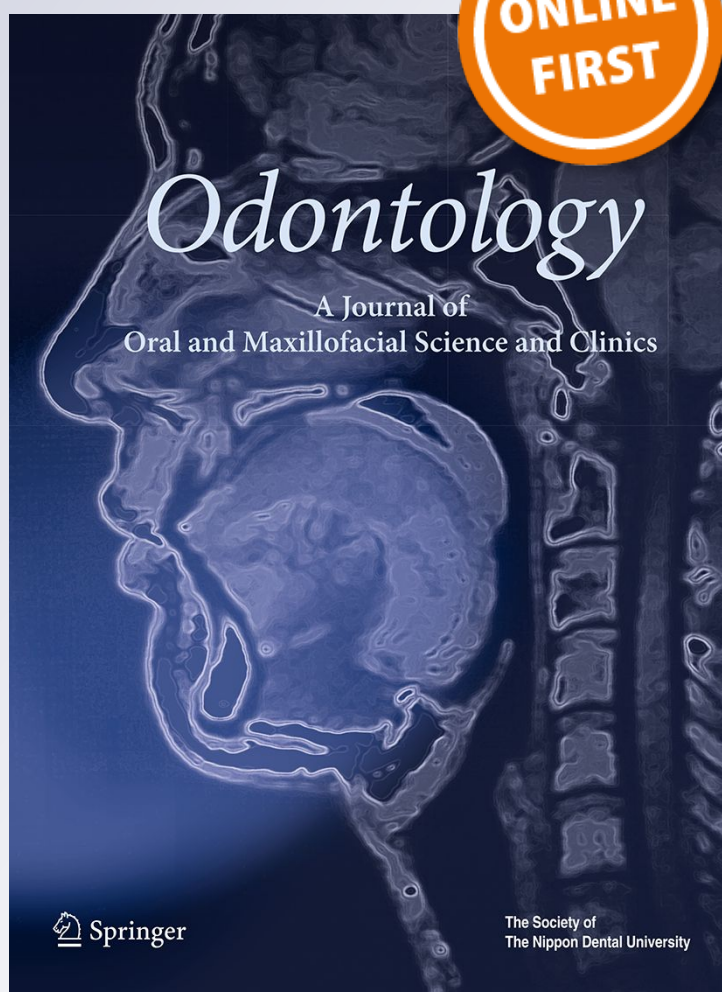
Odontology

Official Journal of the Society of the
Nippon Dental University

ISSN 1618-1247

Odontology

DOI 10.1007/s10266-018-0360-7



Your article is protected by copyright and all rights are held exclusively by The Society of The Nippon Dental University. This e-offprint is for personal use only and shall not be self-archived in electronic repositories. If you wish to self-archive your article, please use the accepted manuscript version for posting on your own website. You may further deposit the accepted manuscript version in any repository, provided it is only made publicly available 12 months after official publication or later and provided acknowledgement is given to the original source of publication and a link is inserted to the published article on Springer's website. The link must be accompanied by the following text: "The final publication is available at link.springer.com".



Association between periodontitis and chronic migraine: a case–control study

Pablo Ameijeira¹ · Yago Leira^{1,2} · Clara Domínguez³ · Rogelio Leira³ · Juan Blanco^{1,2}

Received: 6 February 2018 / Accepted: 3 April 2018
© The Society of The Nippon Dental University 2018

Abstract

The aim of this investigation was to examine whether chronic periodontitis (CP) is a risk indicator of chronic migraine (CM). We performed a case–control study consisted of 102 cases (patients diagnosed with CM) and 91 controls (non-CM individuals) matched by age and gender. Full-mouth periodontal charts, demographic, medical, clinical, as well as neurological data were obtained. In addition, high sensitive C-reactive protein serum levels were determined from blood samples of both cases (taken during migraine interictal period) and controls. The prevalence of CP was significantly higher in patients with CM compared to those without CM (58.8 vs. 30.8%, $p < 0.0001$). Logistic regression analysis showed that CP was significantly associated with the presence of CM, independently of well-known chronifying factors of migraine (OR 2.4; 95% CI 1.2–4.7; $p = 0.012$). Based on our results, CP could be considered as a risk indicator of CM. However, more evidence is necessary to investigate if this relationship is causal or not.

Keywords Periodontitis · Migraine · Headache · Risk factors · Chronification

Introduction

Migraine is a primary chronic headache characterized by recurrent episodes of intense and incapacitating headache, usually unilateral and pulsatile, accompanied by symptoms such as nausea or vomiting, hypersensitivity to light and noise [1]. More than 11% of the general population suffers from this disease, with a higher incidence in women (18%) than in men (6%) [2]. The World Health Organization (WHO) has included this disease among the most disabling

disorders, since 80% of patients with migraine suffer some degree of disability related to this headache [3]. Two main types of migraine exist: episodic (EM) and chronic migraine (CM). The main complication in EM is the chronicity of the process that has a yearly rate of progression of 3% [4]. Activation of trigeminovascular system (TVS) and cortical spreading depression (CSD) have been implicated in the pathophysiology of migraine [5]. Overuse of acute migraine medication, ineffective acute treatment, obesity, depression, low educational status, and stressful life events are some of the risk factors related to migraine chronification [6].

Chronic periodontitis (CP) is an inflammatory lesion caused by bacteria. Due to bacterial infection, a host response is initiated that will be responsible for the supporting connective tissue breakdown and progressive alveolar bone loss [7]. In the last years, an association between CP and systemic diseases such as diabetes mellitus, cardiovascular and cerebrovascular diseases, adverse pregnancy outcomes, rheumatoid arthritis, dementia, and Alzheimer's disease has been demonstrated [8–13].

Recently, it has been suggested that several mechanisms and hypotheses could explain the possible association between CP and CM [14]. Indeed, it has been proposed that CP via leptin [15] or procalcitonin [16] may be involved in the process of migraine chronification. To date, however,

Pablo Ameijeira and Yago Leira have contributed equally to the study.

✉ Yago Leira
yagoleira@gmail.com

- ¹ Periodontology Unit, Faculty of Medicine and Odontology, University of Santiago de Compostela, Rúa Entrerriños S/N, 15782 Santiago de Compostela, Spain
- ² Odontología Médico-Quirúrgica (OMEQUI) Research Group, Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, Spain
- ³ Headache Unit, Department of Neurology, Hospital Clínico Universitario, University of Santiago de Compostela, Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, Spain

there is no evidence investigating CP as a potential risk indicator of CM. Hence, the aim of this case–control study is to investigate whether CP is associated with CM in an age- and gender-matched sample.

Materials and methods

Study design

A case–control study was carried out in by the Periodontology Unit, Faculty of Odontology in collaboration with the Headache Unit, Hospital Clínico Universitario, University of Santiago de Compostela, Spain, following the STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology) guidelines [17]. The research was performed in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (2008) and approved by the Ethics Committee of the Servizo Galego de Saúde. Informed consent was obtained from each patient or their relatives after full explanation of the periodontal examination.

Study population

A sample size of 180 subjects was calculated (90 cases and 90 controls, 1:1 case:control, 90% power, and α error=0.05), taking into account the expected prevalence of CP among CM patients (57.6%) compared to those without CM (36.2%) [15].

CM group (cases)

Patients who had attended the Headache Unit of the University Clinical Hospital of Santiago de Compostela from November 2015 to October 2016 were asked to participate in this study as cases. Cases were included in the study if they fulfilled the following inclusion criteria: (1) diagnosis of CM based on the International Classification of Headache Disorders 3rd edition criteria [18]; (2) age between 18 and 80 years; (3) at least 15 teeth (excluding third molars); and (4) written informed consent.

Exclusion criteria were: (1) patients who had received periodontal treatment in the previous 12 months; (2) systemic antibiotics, and/or immunosuppressant therapy within 3 months prior to periodontal assessment; (3) Infectious diseases; (4) chronic inflammatory conditions; (5) severe systemic diseases, and (6) pregnancy or lactation.

Control group

The control group consisted of subjects without CM and free from any neurological disorder, matched by age and gender with the cases. Control individuals were examined and

interviewed in parallel with patient recruitment. Controls were identified among friends ($n=26$) or relatives ($n=59$) of the patients with CM as well as hospital workers ($n=6$). Exclusion criteria were the same as for the case group.

Periodontal examination

The periodontal examination was performed by two expert periodontists (P. A. and Y. L.). The calibration was described elsewhere. Briefly, both examiners were previously calibrated using 10 non-study patients suffering from moderate or severe CP, and intraclass correlation coefficients for intra- and inter-examiner reliability were calculated (>0.80) [15].

A full-mouth periodontal examination was performed in all participants. The following variables were recorded in all teeth (except third molars): probing pocket depth (PPD), clinical attachment level (CAL), gingival recession, full-mouth plaque score (FMPS), and full-mouth bleeding score (FMBS) [19].

Measurements were recorded at six sites per tooth (mesio-buccal, disto-buccal, mid-buccal, mesio-lingual, disto-lingual, and mid-lingual), except for FMPS (four sites/tooth), using a calibrated University of North Carolina periodontal probe (UNC 15; Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). The presence of CP was defined according to the CDC-AAP consensus for epidemiologic studies [20]. Therefore, mild CP was defined as ≥ 2 interproximal sites with $CAL \geq 3$ mm and ≥ 2 interproximal sites with $PPD \geq 4$ mm (not on the same tooth) or 1 site with $PPD \geq 5$ mm. Moderate CP was defined as ≥ 2 interproximal sites with $CAL \geq 4$ mm (not on the same tooth) or ≥ 2 interproximal sites with $PPD \geq 5$ mm, also not on the same tooth. Severe CP was defined as the presence of ≥ 2 interproximal sites with $CAL \geq 6$ mm (not on the same tooth) and ≥ 1 interproximal site with $PPD \geq 5$ mm. Total CP was the sum of mild, moderate, and severe CP [21].

Neurological examination

Patients were diagnosed with CM if they presented headache occurring on 15 or more days per month for more than 3 months according to International Classification of Headache Disorders 3rd edition criteria [18]. In addition, we registered type of migraine (with aura or without aura), time of CM evolution (in months), intensity of headache using the visual analogue scale (VAS), and number of days with headache per month.

Demographic and clinical variables, covariates, and laboratory test

We interviewed subjects using a structured questionnaire that included age, gender, and education level. To calculate body mass index (BMI), anthropometric measurements (i.e.,

weight and height) were also recorded. BMI was calculated as the weight divided by the square of height (kg/m^2). Total body obesity was defined as $\text{BMI} \geq 30$.

To assess potential confounders, we obtained information regarding smoking habit, history of hypertension, diabetes mellitus, hypercholesterolemia, depression, asthma, stress, and fibromyalgia. Sleep bruxism was diagnosed by clinical criteria proposed by the American Academy of Sleep Medicine [22].

Serum levels of high sensitive C-reactive protein (hs-CRP) were measured using an immunodiagnostic IMMULITE® 2000 Systems (Siemens Healthcare Diagnostics, Malvern, PA, USA); minimum assay sensitivity was 0.2 mg/L.

Statistical analysis

Statistical analysis was carried out with IBM SPSS Statistics 20.0 software for Mac (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Mean values and standard deviation ($\text{mean} \pm \text{SD}$) were calculated for continuous variables, after the method of Kolmogorov–Smirnov was applied to confirm that the data were sampled from a normal distribution. Categorical data were reported as percentages (%) and compared by χ^2 test. Independent t test was used to compare the mean values among groups. Logistic regression analysis was applied to test associations between CP and CM, adjusting for potential confounding factors involved in the process of migraine chronification. All tests were performed at a significance level of $\alpha = 0.05$.

Results

A total of 208 subjects were asked to participate in this study. Of these, 15 were excluded due to different reasons such as having received systemic antibiotic ($n = 2$), declined to participate ($n = 2$), < 15 teeth ($n = 8$), and periodontal treatment in the last 12 months ($n = 3$). The final study sample consisted of 193 subjects ($\text{mean age } 45.95 \pm 9.6$ years; 97.9% female). Cases consisted of 102 patients diagnosed with CM ($\text{mean age } 47.0 \pm 10.2$ years; 98.0% female). The control group consisted of 91 age- and gender-matched subjects without CM ($\text{mean age } 46.9 \pm 9.0$ years; 97.8% female).

The CM group showed higher depression, BMI, obesity, and lower educational level compared to controls. In addition, all periodontal clinical variables were significantly higher in CM patients compared to those without CM (Table 1). The prevalence of CP was almost double in the CM group in comparison to the non-CM group (58.8 vs. 30.8%, $p < 0.0001$, Fig. 1). In terms of CP severity, severe CP was more frequent in CM patients compared to controls (33.9 vs. 10.7%, $p = 0.02$, Fig. 2). No significant differences

were observed for the remaining variables (i.e., hypertension, diabetes, hypercholesterolemia, asthma, stress, bruxism, fibromyalgia, smokers, and hs-CRP (Table 1).

Within the CM group, no statistical differences between periodontal patients and periodontally healthy subjects were found regarding demographic, clinical, potential confounders, hs-CRP, and CM characteristics (i.e., time of CM evolution in months, intensity of headache, number of days with headache per month, and aura) (data not shown).

Table 2 provides the results of the binary logistic regression analyses adjusting for female sex and age (model I), model I plus depression (model II), and model II plus obesity (model III), and model III plus low education level (model IV). It appeared that, in model IV, CP (OR 2.4; 95% CI 1.2–4.7; $p = 0.012$), depression (OR 5.4; 95% CI 2.1–13.7; $p < 0.0001$), and obesity (OR 7.1; 95% CI 2.1–23.3; $p = 0.001$) were still significantly associated with the presence of CM, after adjusting for demographic and confounding factors.

Discussion

The results of the present age- and gender-matched case–control study investigating the association between CP and CM support the hypothesis that CP is an independent migraine risk indicator. This association was controlled for various potential confounders, including socio-demographic characteristics, lifestyle factors, and other CM risk factors.

In the present study, the prevalence of CP in the individuals with CM was 58.8%. These results are in concordance with the results of a previous study where more than half of patients with CM were diagnosed with CP [15]. In the same way, in the group of cases, significant differences were found in terms of prevalence for depression, obesity, and lower educational level. In fact, these are some of the most important factors that confer increased risk of migraine chronification [6]. Patients with CM are more likely to experience psychiatric comorbidities such as depression [23]. Obesity is another risk factor for migraine chronification [23, 24], which has been shown to be associated with a higher prevalence of migraine [25]. In our study, however, logistic regression analysis showed that CP remained independently associated with CM after adjustment for the aforementioned potential confounding factors (i.e., depression and obesity) that both diseases might share. On the other hand, Spanish public health system only covers tooth extraction. As a result, people with a low educational/economical level could have less access to private odontology services and, thus, their periodontal conditions may be worse. In the present analysis, although the prevalence of subjects with low educational level was significantly higher in the CM group compared to controls, this variable did not show a significant

Table 1 Baseline characteristics

Variables	CM cases (n = 102)	Control (n = 91)	p value
Age (years)	47.0 ± 10.2	46.9 ± 9.0	NS
Female, n (%)	100 (98.0)	89 (97.8)	NS
FMPS	38.2 ± 22.2	21.0 ± 4.2	< 0.0001
FMBS	52.3 ± 26.8	22.1 ± 7.1	< 0.0001
PPD measures			
Mean PPD	3.1 ± 0.5	2.4 ± 0.5	< 0.0001
Number of sites/mouth PPD ≥ 6 mm	10.4 ± 15.9	1.6 ± 4.1	< 0.0001
Gingival recession	0.5 ± 0.4	0.2 ± 0.1	< 0.0001
CAL measures			
Mean CAL	3.6 ± 0.8	2.7 ± 0.5	< 0.0001
Number of sites/mouth CAL ≥ 5 mm	30.7 ± 27.5	7.7 ± 11.0	< 0.0001
Number of teeth	24.5 ± 3.1	26.1 ± 1.5	< 0.0001
BMI	27.5 ± 4.7	24.7 ± 4.4	< 0.0001
Arterial hypertension, n (%)	12 (11.8)	7 (7.7)	NS
Diabetes, n (%)	1 (1.0)	2 (2.2)	NS
Hypercholesterolemia, n (%)	14 (13.7)	9 (9.9)	NS
Depression, n (%)	42 (41.2)	8 (8.8)	< 0.0001
Asthma, n (%)	13 (12.7)	11 (12.1)	NS
Stress, n (%)	22 (21.6)	16 (17.6)	NS
Bruxism, n (%)	12 (11.8)	10 (11.0)	NS
Total body obesity, n (%) ^a	32 (31.4)	4 (4.4)	< 0.0001
Fibromyalgia, n (%)	12 (11.8)	4 (4.4)	NS
Low education level, n (%)	49 (48.0)	27 (29.7)	0.002
Tobacco consumption, n (%)	17 (16.7)	16 (17.6)	NS
hs-CRP (mg/L)	3.2 ± 5.6	2.3 ± 5.6	NS

Significant results are reported in bold

CM chronic migraine, FMPS full-mouth plaque score, FMBS full-mouth bleeding score, PPD probing pocket depth, CAL clinical attachment level, BMI body mass index, hs-CRP high sensitive C-reactive protein, NS non-significant

^aBMI ≥ 30

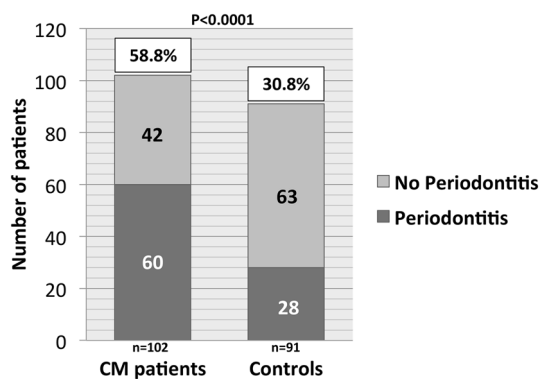


Fig. 1 Prevalence of periodontitis among cases and controls

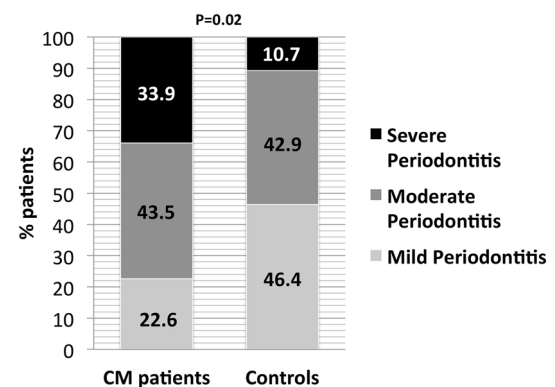


Fig. 2 Percentage of patients according to periodontitis severity among cases and controls

association with the presence of CM. On contrary, CP was statistically associated with CM independent of low educational level. A word of caution in interpreting our results is owing to the fact that migraineurs diagnosed with CP did not

show statistically differences in any of the CM characteristics (i.e., time of CM evolution, intensity of headache, and number of migraine attacks per month) compared to those

Table 2 Logistic regression analyses

	OR	95% CI	<i>p</i> value
Model I			
Age	1.0	0.9–1.0	NS
Female sex	1.1	0.1–8.9	NS
Periodontitis	3.2	1.7–5.9	< 0.0001
Model II			
Age	1.0	0.9–1.0	NS
Female sex	1.2	0.1–11.8	NS
Periodontitis	2.4	1.2–4.6	0.006
Depression	6.7	2.7–16.1	< 0.0001
Model III			
Age	1.0	0.9–1.0	NS
Female sex	1.6	0.1–15.8	NS
Periodontitis	2.4	1.2–4.7	0.011
Depression	5.2	2.0–13.0	< 0.0001
Obesity	8.1	2.5–26.2	< 0.0001
Model IV			
Age	1.0	0.9–1.0	NS
Female sex	1.7	0.1–16.4	NS
Periodontitis	2.4	1.2–4.7	0.012
Depression	5.4	2.1–13.7	< 0.0001
Obesity	7.1	2.1–23.3	0.001
Low education level	1.9	0.9–3.9	NS

Dependent variable: Chronic migraine (1 = yes, 0 = no)

Significant results are reported in bold

NS non-significant

without CP. We believe that to demonstrate a specific association between CP and CM, controls composed of chronic tension-type headache patients or other chronic pain conditions as well as EM subjects should be tested.

Despite the fact that several pathophysiological pathways may explain the potential association between CP and CM such as systemic inflammation, disruption of the vascular endothelial function, or TVS activation [14], there is a lack of mechanistic studies investigating the role of CP in the process of migraine chronification. Nevertheless, our group demonstrated that CP could contribute to elevated levels of leptin [15] and procalcitonin [16] in CM patients, therefore, exacerbating CSD and inflammatory processes that take place in migraine and, as a result, elevating the risk of migraine chronification. It has been demonstrated that control of the local periodontal infection could have a positive effect in terms of reducing systemic inflammation [26] and improving vascular endothelial function [27]. Because, to our knowledge, this is the first study that demonstrated an association between CP and CM, there is a lack of evidence regarding clinical trials with the aim to investigate the effect of periodontal treatment in CM patients. However, it could be hypothesized

that, in migraineurs with CP, treatment of the latter could have potential benefits not only with regard to inflammatory parameters but also improving the vascular function of the endothelium. In addition, it has been demonstrated that periodontal therapy results in a significant reduction of both plasma and gingival crevicular fluid substance P and neurokinin A, which are neuropeptides involved in the pathogenesis of migraine [28, 29].

The main limitation of the study is the higher rate of female (98%) in sample. Because CM is almost three times more common in women than in men [30, 31], it is quite challenging to include similar number of patients of both genders. Another limitation is the influence of anti-inflammatory drugs that migraineurs received as part of their therapy. This parameter was not analysed and this condition may have a role in gingival inflammation. However, CM patients with CP had significantly higher values of gingival inflammation (i.e., FMBS) than the group of CM without CP (60.0 vs. 41.3%, $p < 0.0001$). The case-control study design has limitations. Because the periodontal status was evaluated after migraine diagnosis, we could not investigate the temporal relationship between exposure and outcome. Other limitation is the possible selection bias towards controls with higher health awareness. Finally, although radiographic bone loss may also be included in the periodontal diagnosis to classify the severity of CP, we performed a full-mouth periodontal chart ensuring a correct periodontal diagnosis.

In conclusion, CP was independently associated with the presence of CM after adjusting for well-known migraine risk factors. However, further longitudinal studies are needed to confirm our results and to investigate whether CP may be considered as a chronifying factor of migraine, as well as identify pathophysiological mechanisms that could explain the link between both diseases. If a clear association between diseases is established, an early intervention to mitigate risk factors could be potentially effective to prevent progression from EM to CM. Thus, interventional studies should be performed in migraineurs with CP to evaluate a potential benefit of periodontal therapy.

Acknowledgements Y. Leira is supported by a fellowship from the Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS) and is the recipient of the 2017 SEPA-Sunstar International Training Grant.

Funding This study was partially supported by grants from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness—Institute of Health Carlos III (PI15/01578). The funders had no role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflicts of interest in relation to this paper.

Ethical approval All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Informed consent Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

References

- Goadsby PJ, Lipton RB, Ferrari MD. Migraine—current understanding and treatment. *N Engl J Med*. 2002;346:257–70.
- Lipton RB, Bigal ME, Diamond M, Freitag F, Reed ML, Stewart WF, AMPP Advisory Group. Migraine prevalence, disease burden, and the need for preventive therapy. *Neurology*. 2007;68:343–9.
- Menken M, Munsat TL, Toole JF. The global burden of disease study: implications for neurology. *Arch Neurol*. 2000;57:418–20.
- Scher AI, Stewart WF, Ricci JA, Lipton RB. Factors associated with the onset and remission of chronic daily headache in a population-based study. *Pain*. 2003;106:81–9.
- Mathew NT. Pathophysiology of chronic migraine and mode of action of preventive medications. *Headache*. 2011;51(Suppl. 2):84–92.
- May A, Schulte LH. Chronic migraine: risk factors, mechanisms and treatment. *Nat Rev Neurol*. 2016;12:455–64.
- Philstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet*. 2005;366:1809–20.
- Chapple ILC, Genco R, Working group 2 of the joint EFP/AAP workshop. Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Clin Periodontol*. 2013;40(Suppl. 14):106–12.
- Tonetti MS, van Dyke TE, Working group 1 of the joint EFP/AAP workshop. Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Clin Periodontol*. 2013;40(Suppl. 14):24–9.
- Leira Y, López-Dequid I, Arias S, Rodríguez-Yáñez M, Leira R, Sobrino T, Campos F, Blanco M, Blanco J, Castillo J. Chronic periodontitis is associated with lacunar infarct: a case-control study. *Eur J Neurol*. 2016;23:157–9.
- Leira Y, Seoane J, Blanco M, Rodríguez-Yáñez M, Takkouche B, Blanco J, Castillo J. Association between periodontitis and ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Epidemiol*. 2017;32:43–53.
- Linden GJ, Herzberg MC, Working group 4 of the joint EFP/AAP workshop. Periodontitis and systemic diseases: a record of discussions of working group 4 of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Clin Periodontol*. 2013;40(Suppl. 14):20–3.
- Leira Y, Domínguez C, Seoane J, Seoane-Romero J, Pías-Peleiteiro JM, Takkouche B, Blanco J, Aldrey JM. Is periodontal disease associated with Alzheimer's disease? A systematic review with meta-analysis. *Neuroepidemiology*. 2017;48:21–31.
- Ameijeira P, Leira Y, Blanco J, Leira R. Periodontal disease as a potential factor of migraine chronification. *Med Hypotheses*. 2017;102:94–8.
- Leira Y, Ameijeira P, Domínguez C, Leira R, Blanco J. The role of leptin as a biomarker in the relationship between periodontitis and chronic migraine. *J Clin Periodontol*. 2017;44:1208–14.
- Leira Y, Ameijeira P, Domínguez C, Leira R, Blanco J. High serum procalcitonin levels in patients with periodontitis and chronic migraine. *J Periodontol*. 2018. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0603>.
- Von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP, STROBE Initiative. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol*. 2008;61:344–9.
- Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS). The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition (beta version). *Cephalalgia*. 2013;33:629–808.
- Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*. 1975;25:229–35.
- Holtfreter B, Albandar JM, Dietrich T, Dye BA, Eaton KA, Eke PI, Papapanou PN, Kocher T, Joint EU/USA Periodontal Epidemiology Working Group. Standards for reporting chronic periodontitis prevalence and severity in epidemiologic studies: proposed standards from the Joint EU/USA Periodontal Epidemiology Working Group. *J Clin Periodontol*. 2015;42:407–12.
- Eke PI, Page RC, Wei L, Thornton-Evans G, Genco RJ. Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol*. 2012;83:14–54.
- Sateia MJ. International classification of sleep disorders-third edition: highlights and modifications. *Chest*. 2014;146:1387–94.
- Buse DC, Manack A, Serrano D, Turkel C, Lipton RB. Sociodemographic and comorbidity profiles of chronic migraine and episodic migraine sufferers. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2010;81:428–32.
- Fava A, Pirritano D, Consoli D, Plastino M, Casalnuovo F, Cristofaro S, Colica C, Ermio C, De Bartolo M, Opiari C, Lanzo R, Consoli A, Bosco D. Chronic migraine in women is associated with insulin resistance: a cross-sectional study. *Eur J Neurol*. 2014;21:267–72.
- Peterlin BL, Rosso AL, Rapoport AM, Scher AI. Obesity and migraine: the effect of age, gender and adipose tissue distribution. *Headache*. 2010;50:52–62.
- D'Aiuto F, Parkar M, Andreou G, Suvan J, Brett PM, Ready D, Tonetti MS. Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J Dent Res*. 2004;83:156–60.
- Tonetti MS, D'Aiuto F, Nibali L, Donald A, Storry C, Parkar M, Suvan J, Hingorani AD, Vallance P. Treatment of periodontitis and endothelial function. *N Engl J Med*. 2007;356:911–20.
- Lundy FT, Mullally BH, Burden DJ, Lamey PJ, Shaw C, Linden GJ. Changes in substance P and neurokinin A in gingival crevicular fluid in response to periodontal treatment. *J Clin Periodontol*. 2000;27:526–30.
- Pradeep AR, Raj S, Aruna G, Chowdhry S. Gingival crevicular fluid and plasma levels of neuropeptide Substance-P in periodontal health, disease and after nonsurgical therapy. *J Periodontol Res*. 2009;44:232–7.
- Buse DC, Manack AN, Fanning KM, Serrano D, Reed ML, Turkel CC, Lipton RB. Chronic migraine prevalence, disability, and sociodemographic factors: results from the American Migraine Prevalence and Prevention Study. *Headache*. 2012;52:1456–70.
- Katsarava Z, Dzagnidze A, Kukava M, Mirvelashvili E, Djibuti M, Janelidze M, Jensen R, Stovner LJ, Steiner TJ, Lifting The Burden: The Global Campaign to Reduce the Burden of Headache Worldwide and the Russian Linguistic Subcommittee of the International Headache Society. Primary headache disorders in the Republic of Georgia: prevalence and risk factors. *Neurology*. 2009;73:1796–803.

ARTÍCULO 3

Leira, Y., **Ameijeira, P.**, Domínguez, C., Leira, R., Blanco, J. (2017). The role of leptin as a biomarker in the relationship between periodontitis and chronic migraine. *Journal of Clinical Periodontology*, 44(12), 1208-1214.

Editorial: Wiley

ISSN: 0303-6979

DOI: 10.1111/jcpe.12819

Año: 2017

Índices de calidad de la publicación:

Revista: Journal of Clinical Periodontology

Factor de impacto en 2017: 4.046

Posición en la categoría dentistry, oral surgery & medicine en 2017: 6/91 Q1

Autores:

Yago Leira a,b,

Pablo Ameijeira a,

Clara Domínguez,c

Juan Blanco a,b

Rogelio Leira c

a Departamento de Periodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

b Investigación en Odontología Médico-Quirúrgica (OMEQUI)

Grupo, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, España

c Departamento de Neurología, Unidad de Cefalea, Laboratorio de Investigación en Neurociencias Clínicas, Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

Mi contribución específica: Adquisición de datos clínicos, interpretación de los datos, revisión del manuscrito en cuanto a contenido intelectual y aprobación final de la versión a publicar.

La autorización de la revista/editorial para el uso de la publicación en tu tesis.

This is a License Agreement between PABLO AMEJEIRA ("User") and Copyright Clearance Center, Inc. ("CCC") on behalf of the Rightsholder identified in the order details below. The license consists of the order details, the Marketplace Permissions General Terms and Conditions below, and any Rightsholder Terms and Conditions which are included below. All payments must be made in full to CCC in accordance with the Marketplace Permissions General Terms and Conditions below.

Order Date	19-Jun-2024	Type of Use	Republish in a thesis/dissertation
Order License ID	1496190-1	Publisher	BLACKWELL MUNKSGAARD
ISSN	0303-6979	Portion	Chapter/article

LICENSED CONTENT

Publication Title	Journal of clinical periodontology	Publication Type	Journal
Article Title	The role of leptin as a biomarker in the relationship between periodontitis and chronic migraine.	Start Page	1208
		End Page	1214
Author / Editor	BRITISH SOCIETY OF PERIODONTOLOGY.	Issue	12
Date	01/01/1974	Volume	44
Language	English, French, German	URL	http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10...
Country	Denmark		
Rightsholder	John Wiley & Sons - Books		

REQUEST DETAILS

Portion Type	Chapter/article	Rights Requested	Main product
Page Range(s)	1-7	Distribution	Worldwide
Total Number of Pages	7	Translation	Original language of publication
Format (select all that apply)	Print	Copies for the Disabled?	No
Who Will Republish the Content?	Author of requested content	Minor Editing Privileges?	No
Duration of Use	Life of current edition	Incidental Promotional Use?	No
Lifetime Unit Quantity	Up to 499	Currency	EUR

ADDITIONAL DETAILS

The Requesting Person / Organization to Appear on the License	PABLO AMEJEIRA
--	----------------

REQUESTED CONTENT DETAILS

Title, Description or Numeric Reference of the Portion(s)	The role of leptin as a biomarker in the relationship between periodontitis and chronic migraine.	Title of the Article / Chapter the Portion Is From	The role of leptin as a biomarker in the relationship between periodontitis and chronic migraine.
Editor of Portion(s)	Leira, Yago; Ameijeira, Pablo; Domínguez, Clara; Leira, Rogelio; Blanco, Juan	Author of Portion(s)	Leira, Yago; Ameijeira, Pablo; Domínguez, Clara; Leira, Rogelio; Blanco, Juan
Volume / Edition	44	Publication Date of Portion	2017-12-01
Page or Page Range of Portion	1208-1214		

RIGHTSHOLDER TERMS AND CONDITIONS

No right, license or interest to any trademark, trade name, service mark or other branding ("Marks") of WILEY or its licensors is granted hereunder, and you agree that you shall not assert any such right, license or interest with respect thereto. You may not alter, remove or suppress in any manner any copyright, trademark or other notices displayed by the Wiley material. This Agreement will be void if the Type of Use, Format, Circulation, or Requestor Type was misrepresented during the licensing process. In no instance may the total amount of Wiley Materials used in any Main Product, Compilation or Collective work comprise more than 5% (if figures/tables) or 15% (if full articles/chapters) of the (entirety of the) Main Product, Compilation or Collective Work. Some titles may be available under an Open Access license. It is the Licensors' responsibility to identify the type of Open Access license on which the requested material was published, and comply fully with the terms of that license for the type of use specified Further details can be found on Wiley Online Library <http://olabout.wiley.com/WileyCDA/Section/id-410895.html>.

The role of leptin as a biomarker in the relationship between periodontitis and chronic migraine

Yago Leira^{1,2}  | Pablo Ameijeira¹ | Clara Domínguez³ | Rogelio Leira³ | Juan Blanco^{1,2}

¹Periodontology Unit, Faculty of Medicine and Odontology, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain

²Odontología Médico-Quirúrgica (OMEQUI) Research Group, Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, Spain

³Service of Neurology, Headache Unit, Hospital Clínico Universitario, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain

Correspondence

Dr. Yago Leira, Periodontology Unit – Faculty of Medicine and Odontology, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain.
Email: yagoleira@gmail.com

Funding information

This study has been partially supported by grants from Instituto de Salud Carlos III (PI15/01578) Y. Leira is supported by a fellowship from the Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS). The funders had no role in the study design, data collection and analysis, decision to publish or preparation of the manuscript.

Abstract

Aim: To evaluate the prevalence of periodontitis (CP) and its contribution to serum leptin levels in chronic migraine (CM).

Material and methods: In this case-control study, we included 150 subjects divided into healthy controls ($n = 58$) and CM patients ($n = 92$). Demographic, neurological, clinical data as well as full-mouth periodontal records were obtained. Serum leptin levels were measured by ELISA technique.

Results: Both the prevalence of CP and mean serum leptin levels were significantly higher in patients with CM in comparison with controls (57.6% versus 36.2%, $p = .01$ and 16.4 versus 7.2 ng/ml, $p < .0001$, respectively). Patients from the CM group who had CP showed significantly higher leptin concentrations than CM patients without CP (19.8 versus 11.8 ng/ml, $p < .0001$). Multivariable linear regression analysis showed that CP was an independent contributor to raised leptin levels in CM patients ($R^2 = 0.270$, $p = 0.013$).

Conclusions: CP is prevalent in CM patients and when present it contributes to elevated serum leptin levels, independently of other confounding factors. Therefore, it seems that CP via leptin could be involved in the process of migraine chronification.

KEYWORDS

adipocytokines, chronic migraine, headache, inflammation, leptin, periodontitis

1 | INTRODUCTION

Migraine is a disease of vascular origin, with a prevalence of approximately 12% in the general population (Lipton et al., 2007). The disease is considered to be an important cause of disability worldwide due to its great personal and socio-economic impact (D'Amico et al., 2003). Two main types of migraine exist, episodic (EM) and chronic migraine (CM). While EM is defined as migraine attacks occurring less than 15 days/month, CM is characterized by headache occurring more than 15 days/month for at least 3 months (Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS), 2013). Annually, the progression rate from EM to CM is nearly 3% (Scher, Stewart, Ricci, & Lipton, 2003). Furthermore, it is suggested that several risk factors may be associated with

migraine chronification such as age, female gender, obesity or low educational level (May & Schulte, 2016). Although the exact mechanisms involved in the pathogenesis of migraine remain unclear, cortical spreading depression (CSD) and activation of trigeminovascular pathway with release of several pro-inflammatory markers are some of the hypotheses proposed to explain the onset of the disease (Mathew, 2011).

Periodontitis (CP) is characterized by chronic inflammation that extends deep into the gingival tissues surrounding the teeth causing destruction of the supporting connective tissue and progressive alveolar bone loss (Philstrom, Michalowicz, & Johnson, 2005). Although in the past CP was regarded as a local inflammatory disease, current evidence confirms that CP has a systemic impact affecting among others, atherosclerotic vascular disease (i.e. cardiovascular and

cerebrovascular diseases), diabetes, adverse pregnancy outcomes, rheumatoid arthritis, chronic kidney disease and Alzheimer's disease (Chapple & Genco, 2013; Leira et al., 2016; Leira, Seoane, et al., 2017; Leira, Domínguez, et al., 2017; Linden & Herzberg, 2013; Sanz & Kornman, 2013; Tonetti & Van Dyke, 2013). Recently, it has been proposed a pathophysiological model in which CP could be involved in the process of migraine chronification (Ameijeira, Leira, Blanco, & Leira, 2017). Indeed, periodontal inflammation that occurs within the gingiva releases a great number of pro-inflammatory mediators that could play a pivotal role in the development of migraine attacks, which may result in CM.

Leptin is an adipocyte-derived hormone/cytokine, which is expressed during inflammation and infection. In fact, leptin appears to be part of the immune response against infection or injury considering that enhances pro-inflammatory cytokines production (La Cava & Matarese, 2004). Results from a study showed that serum leptin levels are increased in patients diagnosed with CM, after adjustment for age, sex and body mass index (BMI) (Rubino et al., 2016). Moreover, leptin concentration in serum increases progressively from health to CP; therefore, subjects who suffer from CP have higher serum leptin levels compared to periodontally healthy individuals (Karthikeyan & Pradeep, 2007). To the best of our knowledge, there is no study correlating CP with CM using leptin as a potential biomarker in this relationship. Hence, our study had two aims: firstly, to compare the prevalence of CP in patients diagnosed with CM with a control group of subjects without migraine, and secondly, to determine whether the presence of CP was associated with higher leptin levels in the CM group.

2 | MATERIAL AND METHODS

2.1 | Study population

This case-control study was carried out by the Periodontology Unit, Faculty of Odontology in collaboration with the Headache Unit, Hospital Clínico Universitario, University of Santiago de Compostela, Spain. A total of 150 subjects were recruited (mean age 45.7 ± 11.0 years; 94.7% female) from November 2015 to October 2016. Cases consisted of 92 patients diagnosed with CM. The control group consisted of 58 age- and gender-matched subjects without migraine.

Exclusion criteria were as follows: (i) <18 years of age; (ii) <15 teeth (excluding third molars); (iii) aggressive CP diagnosis; (iv) patients who had received periodontal treatment in the previous 12 months; (v) systemic antibiotics, corticosteroids, and/or immunosuppressant therapy within 3 months prior to periodontal assessment; (vi) high blood pressure (known HBP or ≥ 2 measurements over 140/90 mmHg); (vii) coronary disease (coronary lesions >50% determined by angiography, myocardial infarction, angina pectoris or coronary recanalization); (viii) diabetes mellitus (known DM or ≥ 2 fasting serum glucose determinations >126 mg/dl); (ix) hypercholesterolaemia (pharmacologically treated or fasting serum cholesterol >200 mg/dl); (x) infectious diseases; (xi) chronic inflammatory conditions; (xii) severe systemic

Clinical Relevance

Scientific rationale for study: Leptin is an adipocytokine that is expressed during periodontal inflammation. Recently, it has been hypothesized that periodontitis could be involved in the process of migraine chronification. However, no data is available of the prevalence of periodontitis in chronic migraine as well as the potential molecular mechanisms that may explain this association.

Principal findings: The prevalence of periodontal disease in chronic migraineurs is high. Indeed, when periodontitis is present in these patients, an association could be found with elevated serum leptin levels.

Practical implications: It appears that leptin measured in serum could be used as a biomarker in the relationship between periodontitis and chronic migraine.

diseases; (xiii) pregnancy or lactation; and (xiv) recent consumption of vasoactive drugs (<4 times the medium half-life of the active substance).

The research was performed in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (2008) and approved by the Ethics Committee of the Servizo Galego de Saúde. Informed consent was obtained from each patient or their relatives after full explanation of the periodontal examination.

2.2 | Periodontal examination

A full-mouth periodontal examination was performed in all participants. The following parameters were measured in all teeth (except third molars): probing pocket depth (PPD), clinical attachment level (CAL), full-mouth plaque score (FMPS) and full-mouth bleeding score (FMBS) (Ainamo & Bay, 1975).

The periodontal examination was performed by two expert periodontists (Y.L. and P.A.). The calibration was completed before the start of the study in the Periodontology Unit; Faculty of Odontology (University of Santiago de Compostela) using 10 non-study patients suffering from moderate or severe CP. Intra-examiner reliability and inter-examiner reliability were assessed using the intraclass correlation coefficient (ICC). The intra-examiner ICC values were 0.89 (PPD) and 0.82 (CAL) for Y.L., and 0.86 (PPD) and 0.83 (CAL) for P.A. The inter-examiner values were 0.90 (PPD) and 0.81 (CAL). Thus, the degree of reliability was satisfactory in the measurements.

Measurements were recorded at six sites per tooth (mesio-buccal, disto-buccal, mid-buccal, mesio-lingual, disto-lingual and mid-lingual), except for FMPS (four sites/tooth), using a calibrated University of North Carolina periodontal probe (UNC 15; Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). The presence of CP was established when ≥ 2 interproximal sites with CAL ≥ 3 mm and ≥ 2 interproximal sites with PPD ≥ 4 mm (not on the same tooth) or 1 site with PPD ≥ 5 mm were present (Eke, Page, Wei, Thornton-Evans, & Genco, 2012).

2.3 | Neurological examination

Chronic migraine was defined according to International Classification of Headache Disorders 3rd edition criteria (IHS 2013). Thus, patients were diagnosed with CM if they presented headache occurring on 15 or more days per month for more than 3 months. In addition, we registered time of CM evolution (in months), intensity of headache using the visual analogue scale (VAS) and frequency of migraine attacks per month.

2.4 | Demographic and clinical variables

By means of a structured questionnaire, we obtained information regarding age, gender and education level. To calculate BMI, anthropometric measurements (i.e. weight and height) were also recorded. A digital scale was used to measure body weight. Standing body height was measured with the shoulders in a relaxed position and the arms hanging freely, using a commercial stadiometer. Thus, BMI was calculated as the weight divided by the square of height (kg/m^2).

2.5 | Serum collection and leptin analyses

Fasted samples were obtained in the morning in a headache-free period (at least 12 hr from the last migraine attack). Subjects had not consumed anti-inflammatory or analgesic medication in the previous 72 hr. Briefly, 2 millimetres (ml) of venous blood was collected from the antecubital fossa by venepuncture using a 20-gauge needle with a 2-ml syringe. Blood samples were allowed to clot at room temperature, and after 1 hr, serum was separated from blood by centrifugation (15 min at 3,000 g) and 0.5 ml of extracted serum was immediately transferred to 1.5-ml aliquots. Each aliquot was stored at -80°C until the time of analysis. The samples were assayed for leptin levels using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (DGR Instruments GmbH, Marburg, Germany) following manufacturer instructions. Determinations were performed in an independent laboratory blinded to clinical data. Clinical investigators were unaware of the laboratory results until the study had ended.

2.6 | Statistical analysis

The sample size calculation was performed using the Macro !NSize for PASW Statistics (<http://www.metodo.uab.cat/macros.htm>). Based on a cross-sectional study carried by our group (Domínguez et al., 2017), to detect a difference in the serum leptin levels of 12.1 ng/ml between CM patients and healthy controls, assuming α -risk = 0.05 and β -risk = 0.15, a sample of 92 cases and 58 controls were needed. Mean values and standard deviation (mean $\pm$ SD) were calculated for continuous variables, after the method of Kolmogorov–Smirnov was applied to confirm that the data were sampled from a normal distribution. Categorical data were reported as percentages (%) and compared by χ^2 test. Independent t test and one-way analysis of variance (ANOVA) were used to compare the mean values among groups.

Additionally, Bonferroni post hoc tests for multiple comparisons between groups were used. Multivariable linear regression analysis was used to test associations between CP and leptin levels, adjusting for potential confounders that could be involved in migraine chronification. All tests were performed at a significance level of $\alpha = 0.05$. All data analyses were performed with IBM SPSS Statistics 20.0 software for Mac (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3 | RESULTS

Table 1 shows comparisons between groups regarding demographic and clinical data. No differences were observed between groups with regards to age and gender. Cases had significantly higher BMI and lower educational level than controls. Additionally, the CM group and control subjects differed significantly in all clinical periodontal parameters. In this sense, CP was significantly more frequent in CM cases compared with non-CM subjects (57.6% versus 36.2%, $p = .01$, Fig. 1).

Characteristics of the patients with CM, according to the presence of CP, are shown in Table 2. Patients with CM who had CP were older and had a higher BMI than patients with CM who did not have CP. However, there were no significant differences in sex and CM characteristics (i.e. time of CM evolution, intensity of headache and number of migraine attacks per month).

As expected, patients with CM had significantly higher mean serum leptin levels than controls (16.4 versus 7.2 ng/ml, $p < .0001$). Figure 2 depicts that the presence of CP was associated with higher mean leptin concentrations in both cases and controls.

TABLE 1 Comparisons of demographic, clinical and periodontal data

Variables	CM cases (<i>n</i> = 92)	Control (<i>n</i> = 58)	<i>p</i> -Value
Age (years)	46.3 $\pm$ 10.3	43.0 $\pm$ 11.2	.70
Female, <i>n</i> (%)	90 (97.8)	55 (94.8)	.319
BMI	28.2 $\pm$ 5.7	23.8 $\pm$ 5.3	<.0001
FMPS	36.2 $\pm$ 25.7	26.8 $\pm$ 20.5	.021
FMBS	39.8 $\pm$ 28.9	20.5 $\pm$ 7.5	<.0001
PPD measures			
Mean PPD	3.0 $\pm$ 0.7	2.5 $\pm$ 0.8	.002
Number of sites/ mouth PPD $\geq$ 6 mm	9.2 $\pm$ 16.0	1.8 $\pm$ 3.4	.001
CAL measures			
Mean CAL	3.3 $\pm$ 0.8	2.8 $\pm$ 0.9	.001
Number of sites/ mouth CAL $\geq$ 5 mm	22.9 $\pm$ 30.4	8.0 $\pm$ 9.4	<.0001
Number of teeth	24.2 $\pm$ 4.0	26.2 $\pm$ 1.7	.001
Low education level, <i>n</i> (%)	46 (50.0)	11 (19.0)	<.0001

CM, chronic migraine; BMI, body mass index; FMPS, full-mouth plaque score; FMBS, full-mouth bleeding score; PPD, probing pocket depth; CAL, clinical attachment level.

Significant results are reported in bold.

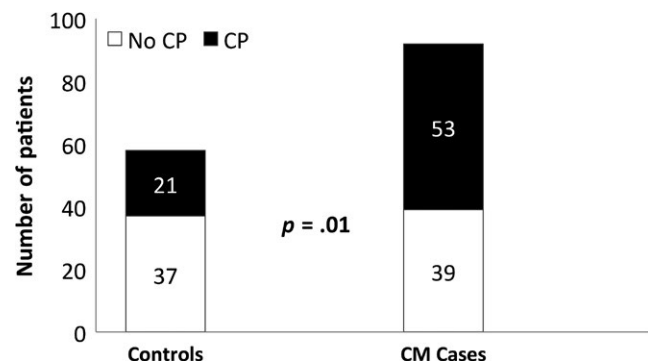


FIGURE 1 Prevalence of periodontitis

TABLE 2 Characteristics of CM cases according to periodontal status

Variables	No CP (n = 39)	CP (n = 53)	p-Value
Age (years)	42.7 ± 10.8	49.0 ± 9.0	.04
Female, n (%)	39 (100)	51 (96.2)	.220
BMI	25.7 ± 4.7	30.1 ± 5.7	<.0001
Low education level, n (%)	18 (46.2)	28 (52.8)	.610
Time of CM evolution in months	24.5 ± 13.1	27.0 ± 14.7	.394
Intensity of headache (VAS)	8.2 ± 1.3	8.4 ± 1.3	.526
Migraine attacks/month	18.4 ± 6.2	19.2 ± 5.2	.510

CM, chronic migraine; CP, periodontitis; BMI, body mass index; VAS, visual analogue scale.

Significant results are reported in bold.

Multivariable linear regression analysis carried out in the 92 patients with CM showed that mean serum leptin levels were significantly and positively associated with greater mean PPD and mean CAL ($R^2 = 0.392$, $R^2 = 0.426$, $p < .0001$; Table 3). When CP exposure was examined as a categorical variable, multivariable linear regression analysis again indicated that CP in patients with CM was associated with significantly higher serum leptin concentrations ($R^2 = 0.270$, $p = .013$; Table 3).

4 | DISCUSSION

In our study, we observed that more than half of our patients with CM were diagnosed with CP. When present, CP emerged as a significant and independent contributor to increased serum leptin levels.

Leptin expression is regulated during acute phase reactions, and the levels of this adipocytokine appear to be elevated when inflammatory and infectious stimuli occur as a result of bacterial lipopolysaccharide and cytokines action (Grunfeld et al., 1996). Based on this, increased serum leptin concentrations are correlated with the

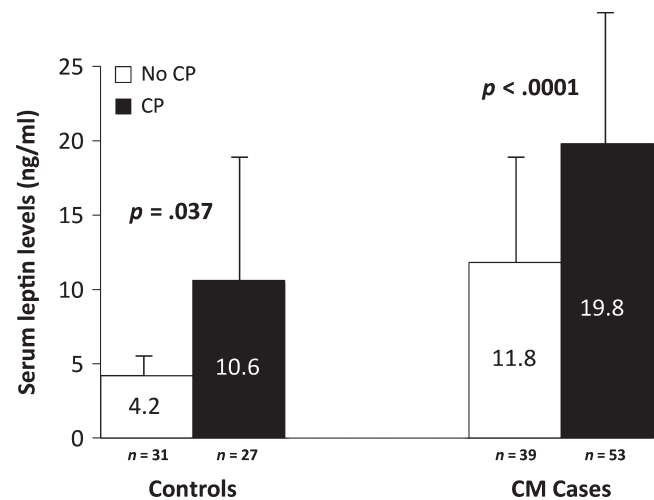


FIGURE 2 Serum leptin levels according to the presence or absence of periodontitis

TABLE 3 Multivariable regression models for leptin levels in CM patients

	B	SE	PC	p-Value
Model I ($R^2 = 0.392$)				
Age	-0.104	0.097	-0.115	.286
Female sex	-1.976	6.113	-0.035	.747
BMI	0.438	0.174	0.263	.013
Low education level	-1.996	1.273	-0.167	.121
Mean PPD	6.480	1.298	0.474	<.0001
Model II ($R^2 = 0.426$)				
Age	-0.143	0.095	-0.159	.139
Female sex	-2.721	5.948	-0.049	.649
BMI	0.348	0.173	0.212	.048
Low education level	-1.919	1.236	-0.165	.124
Mean CAL	6.758	1.205	0.518	<.0001
Model III ($R^2 = 0.270$)				
Age	-0.054	0.106	-0.054	.616
Female sex	0.373	6.696	0.006	.956
BMI	0.578	0.190	0.312	.003
Low education level	-1.958	1.399	-0.149	.165
Periodontitis	5.573	2.196	0.264	.013

B, parameter estimate; SE, standard error; PC, partial correlation; BMI, body mass index; PPD, probing pocket depth; CAL, clinical attachment level.

Significant results are reported in bold.

amount of periodontal tissue destruction (Karthikeyan & Pradeep, 2007). In our study, we found that indicators of both current and prolonged CP status (i.e. PPD and CAL, respectively) were positively associated with serum leptin levels among patients with CP and CM. These results are similar to those in previous studies, where it was

demonstrated that clinical periodontal parameters were associated with increased leptin levels in serum in patients with CP (Gundala, Chava, & Ramalingam, 2014; Purwar et al., 2015). Nevertheless, data from our multivariable regression analyses showed that BMI was also strongly associated with serum leptin levels. Thus, suggesting that an elevated BMI could also contribute to a rise in serum leptin concentrations.

The CSD phenomenon is considered to be the electrophysiologic substrate of migraine and a trigger for headache. Briefly, CSD consists of a transient depression of electrocorticographic activity that lasts up to several minutes and slowly spreads in all directions in cortex by way of grey matter contiguity. In addition, CSD is also associated with characteristic cerebral blood flow (CBF) changes (Ayata, 2010). Whereas a large increase in CBF occurs that last a couple of minutes (i.e. hyperemia), a CBF reduction could be observed that persists for at least 1 hr (i.e. oligemia) (Eikermann-Haerter & Ayata, 2010). Recently, an animal study showed that chronic administration of leptin caused changes in cortical excitability and significantly increased the occurrence of CSD, which suggests that leptin may play a role in migraine pathogenesis (Kitamura, Kanazawa, & Hamada, 2015). Results from studies evaluating serum leptin levels in patients with migraine are controversial (Dearborn et al., 2014; Guldiken, Guldiken, Demir, Turgur, & Tugrul, 2008; Pisanu et al., 2016). One study found significantly lower leptin levels in EM patients in comparison with healthy controls. Nevertheless, after adjusting for fat mass, leptin levels did not differ between groups (Guldiken et al., 2008). Results from the Atherosclerosis Risk in Communities Study (ARIC) also demonstrated that leptin levels were similar in migraine patients and controls (Dearborn et al., 2014). However, authors did not mention whether patients suffered from EM or CM. On contrary, Pisanu et al. (2016) showed that migraineurs had significantly higher levels of leptin than controls. Furthermore, leptin was found to be associated with the presence of migraine, concluding that this biomarker could play a role in the pathogenesis of migraine. Recently, our group demonstrated that elevated levels of leptin are involved not only in migraine pathophysiology but also in the chronification process of this disease via systemic inflammation (Domínguez et al., 2017). Similarly, a study carried out in CM patients also showed significantly increased serum leptin levels compared to controls, after adjusting for BMI, age and female gender (Rubino et al., 2016). Results from the present study are in agreement with previous research (Domínguez et al., 2017; Rubino et al., 2016), in which we also observed that CM patients had significantly higher serum leptin concentrations in comparison with the control group (16.4 versus 7.2 ng/ml, $p < .0001$).

In our study, we found that controls with CP showed similar serum leptin levels compared with those CP groups from previous studies (Gundala et al., 2014; Karthikeyan & Pradeep, 2007; Purwar et al., 2015). It has been already hypothesized that rise in serum leptin concentration up to 10 ng/ml could be regarded as a risk factor for cardiovascular disease (Wallace et al., 2001; Yamagishi et al., 2001). According to this, an increase in serum leptin levels owing to CP might play a role in cardiovascular pathology such as acute myocardial infarction (Gundala et al., 2014). In the present study, we

observed that the presence of CP was associated with higher leptin levels in both the CM group (19.8 versus 11.8 ng/ml, $p < .0001$) and the control group (10.6 versus 4.2 ng/ml, $p = .037$). When multivariable regression analysis was performed, continuous periodontal measures (i.e. PPD and CAL) were independently associated with leptin. Indeed, when CP was analysed as a categorical variable, we also found that periodontal infection was strongly associated with leptin levels in migraineurs, after adjusting for potential confounders ($R^2 = 0.270$, $p = .013$). Hence, chronic increase of serum leptin concentrations in patients diagnosed with CP could exacerbate CSD and inflammatory processes occurring in migraine, thereby elevating the risk of migraine chronification (Ameijeira et al., 2017). Because CP can be effectively treated and periodontal therapy has demonstrated to lower serum leptin levels in CP patients (Purwar et al., 2010; Shimada et al., 2010), further interventional studies are needed to lower leptin levels in CM patients, which may lower chronification of CM.

There are some limitations in our study. The influence of anti-inflammatory drugs that CM patients received as part of their treatment was not analysed, and this may have an impact on periodontal inflammation. However, those migraineurs who were diagnosed with CP showed significantly higher values of gingival inflammation (i.e. FMBS) in comparison with migraineurs without CP (59% versus 11.7%, respectively). There are some factors that could predispose to migraine chronification (i.e. depression, stressful life events or allodynia) (May & Schulte, 2016), which were not included in the present study. Nevertheless, our statistical analyses showed that in migraineurs, CP was independently associated with leptin after controlling for other well-known confounding covariates such as BMI, female gender, age and low educational level.

In conclusion, our study demonstrated that CP is prevalent in CM patients and when present it independently contributes to elevated serum leptin levels. Therefore, it could be suggested that CP via leptin may be involved in the process of migraine chronification. Further longitudinal studies with a larger sample are warranted to confirm our results and to investigate whether CP may be considered as a chronifying factor of migraine. In addition, interventional studies are also necessary to examine the potential benefit of periodontal treatment in CM patients.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have stated explicitly that there are no conflicts of interest in connection with this article.

ORCID

Yago Leira  <http://orcid.org/0000-0001-5027-7276>

REFERENCES

- Ainamo, J., & Bay, I. (1975). Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International Dental Journal*, 25, 229–235.

- Ameijera, P., Leira, Y., Blanco, J., & Leira, R. (2017). Periodontal disease as a potential factor of migraine chronification. *Medical Hypotheses*, 102, 94–98. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2017.03.019>
- Ayata, C. (2010). Cortical spreading depression triggers migraine attack: Pro. *Headache*, 50, 725–730. <https://doi.org/10.1111/j.1526-4610.2010.01647.x>
- Chapple, I. L. C., Genco, R., Working group 2 of the joint EFP/AAP workshop. (2013). Diabetes and periodontal diseases: Consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 40(Suppl. 14), S106–S112. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12077>
- D'Amico, D., Usai, S., Grazi, L., Rigamonti, A., Solari, A., Leone, M., & Bussone, G. (2003). Quality of life and disability in primary chronic daily headaches. *Neurological Sciences*, 24(Suppl. 2), S97–S100. <https://doi.org/10.1007/s100720300052>
- Dearborn, J. L., Schneider, A. L., Gottesman, R. F., Kurth, T., Pankow, J. S., Couper, D. J., ... Peterlin, B. L. (2014). Adiponectin and leptin levels in migraineurs in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Neurology*, 83, 2211–2218. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001067>
- Domínguez, C., Vieites-Prado, A., Pérez-Mato, M., Sobrino, T., Rodríguez-Osorio, X., López, A., ... Leira, R. (2017). Role of adipocytokines in the pathophysiology of migraine. A cross-sectional study. *Cephalalgia*, [Epub ahead of print]. <https://doi.org/10.1177/0333102417720213>
- Eikermann-Haerter, K., & Ayata, C. (2010). Cortical spreading depression and migraine. *Current Neurology & Neuroscience Reports*, 10, 167–173. <https://doi.org/10.1007/s11910-010-0099-1>
- Eke, P. I., Page, R. C., Wei, L., Thornton-Evans, G., & Genco, R. J. (2012). Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. *Journal of Periodontology*, 83, 1449–1454. <https://doi.org/10.1902/jop.2012.110664>
- Grunfeld, C., Zhao, C., Fuller, J., Pollack, A., Moser, A., Friedman, J., & Feingold, K. R. (1996). Endotoxin and cytokines induce expression of leptin, the *ob* gene product, in hamsters. *The Journal of Clinical Investigations*, 97, 2152–2157. <https://doi.org/10.1172/JCI118653>
- Guldiken, B., Guldiken, S., Demir, M., Turgur, N., & Tugrul, A. (2008). Low leptin levels in migraine: A case control study. *Headache*, 48, 1103–1107. <https://doi.org/10.1111/j.1526-4610.2008.01152.x>
- Gundala, R., Chava, V. K., & Ramalingam, K. (2014). Association of leptin in periodontitis and acute myocardial infarction. *Journal of Periodontology*, 85, 917–924. <https://doi.org/10.1902/jop.2012.110620>
- Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS). (2013). The international classification of headache disorders, 3rd edition (beta version). *Cephalalgia*, 33, 629–808. <https://doi.org/10.1177/0333102413485658>
- Karthikeyan, B. V., & Pradeep, A. R. (2007). Gingival crevicular fluid and serum: Their relationship to periodontal health and disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 34, 467–472. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2007.01078.x>
- Kitamura, E., Kanazawa, N., & Hamada, J. (2015). Hyperleptinemia increases the susceptibility of the cortex to generate cortical spreading depression. *Cephalalgia*, 35, 327–334. <https://doi.org/10.1177/0333102414540813>
- La Cava, A., & Matarese, G. (2004). The weight of leptin in immunity. *Nature Reviews Immunology*, 4, 371–379. <https://doi.org/10.1038/nri1350>
- Leira, Y., Domínguez, C., Seoane, J., Seoane-Romero, J., Pías-Peleiteiro, J. M., Takkouche, B., ... Aldrey, J. M. (2017). Is periodontal disease associated with Alzheimer's disease? A systematic review with meta-analysis. *Neuroepidemiology*, 48, 21–31. <https://doi.org/10.1159/000458411>
- Leira, Y., López-Dequid, I., Arias, S., Rodríguez-Yáñez, M., Leira, R., Sobrino, T., ... Castillo, J. (2016). Chronic periodontitis is associated with lacunar infarct: A case-control study. *European Journal of Neurology*, 23, 1572–1579. <https://doi.org/10.1111/ene.13080>
- Leira, Y., Seoane, J., Blanco, M., Rodríguez-Yáñez, M., Takkouche, B., Blanco, J., & Castillo, J. (2017). Association between periodontitis and ischemic stroke: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Epidemiology*, 32, 43–53. <https://doi.org/10.1007/s10654-016-0170-6>
- Linden, G. J., Herzberg, M. C. Working group 4 of the joint EFP/AAP workshop. (2013). Periodontitis and systemic diseases: A record of discussions of working group 4 of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 40(Suppl. 14), S20–S23. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12091>
- Lipton, R. B., Bigal, M. E., Diamond, M., Freitag, F., Reed, M. L., Stewart, W. F., AMPP Advisory Group. (2007). Migraine prevalence, disease burden, and the need for preventive therapy. *Neurology*, 68, 343–349. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000252808.97649.21>
- Mathew, N. T. (2011). Pathophysiology of chronic migraine and mode of action of preventive medications. *Headache*, 51(Suppl. 2), 84–92. <https://doi.org/10.1111/j.1526-4610.2011.01955.x>
- May, A., & Schulte, L. H. (2016). Chronic migraine: Risk factors, mechanisms and treatment. *Nature Reviews Neurology*, 12, 455–464. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2016.93>
- Philstrom, B. L., Michalowicz, B. S., & Johnson, N. W. (2005). Periodontal diseases. *Lancet*, 366, 1809–1820. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67728-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67728-8)
- Pisanu, C., Preisig, M., Castela, E., Glaus, J., Cunningham, J. L., Del Zompo, M., ... Mwinyi, J. (2016). High leptin levels are associated with migraine with aura. *Cephalalgia*, 37, 435–441. <https://doi.org/10.1177/0333102416648650>
- Purwar, P., Khan, M. A., Gupta, A., Mahdi, A. A., Pandey, S., Singh, B., ... Rai, P. (2010). The effects of periodontal therapy on serum and salivary leptin levels in chronic periodontitis patients with normal body mass index. *Acta Odontologica Scandinavica*, 73, 633–641. <https://doi.org/10.3109/00016357.2015.1030768>
- Purwar, P., Khan, M. A., Mahdi, A. A., Pandey, S., Singh, B., Dixit, J., & Sareen, S. (2015). Salivary and serum leptin concentrations in patients with chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*, 86, 588–594. <https://doi.org/10.1902/jop.2014.140581>
- Rubino, E., Vacca, A., Govone, F., Gai, A., Boschi, S., Zucca, M., ... Rainero, I. (2016). Investigating the role of adipokines in chronic migraine. *Cephalalgia*, [Epub ahead of print]. <https://doi.org/10.1177/0333102416665871>
- Sanz, M., Kornman, K., Working group 3 of the joint EFP/AAP workshop. (2013). Periodontitis and adverse pregnancy outcomes: Consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 40(Suppl. 14), S164–S169. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12083>
- Scher, A. I., Stewart, W. F., Ricci, J. A., & Lipton, R. B. (2003). Factors associated with the onset and remission of chronic daily headache in a population-based study. *Pain*, 106, 81–89. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(03\)00293-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(03)00293-8)
- Shimada, Y., Komatsu, Y., Ikezawa-Suzuki, I., Tai, H., Sugita, N., & Yoshie, H. (2010). The effect of periodontal treatment on serum leptin, interleukin-6, and C-reactive protein. *Journal of Periodontology*, 81, 1118–1123. <https://doi.org/10.1902/jop.2010.090741>
- Tonetti, M. S., Van Dyke, T. E., Working group 1 of the joint EFP/AAP workshop. (2013). Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: Consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 40(Suppl. 14), S24–S29. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12089>
- Wallace, A. M., McMahon, A. D., Packard, C. J., Kelly, A., Shepherd, J., Gaw, A., & Sattar, N. (2001). Plasma leptin and the risk of cardiovascular disease in the west of Scotland coronary prevention study

(WOSCOPS). *Circulation*, 104, 3052–3056. <https://doi.org/10.1161/hc5001.101061>

Yamagishi, S. I., Edelstein, D., Du, X. L., Kaneda, Y., Guzmán, M., & Brownlee, M. (2001). Leptin induces mitochondrial superoxide production and monocyte chemoattractant protein-1 expression in aortic endothelial cells by increasing fatty acid oxidation via protein kinase A. *The Journal of Biological Chemistry*, 276, 25096–25100. <https://doi.org/10.1074/jbc.M007383200>

How to cite this article: Leira Y, Ameijeira P, Domínguez C, Leira R, Blanco J. The role of leptin as a biomarker in the relationship between periodontitis and chronic migraine. *J Clin Periodontol*. 2017;44:1208–1214. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12819>

ARTÍCULO 4

Leira, Y., Ameijeira, P., Domínguez, C., Leira, R., Blanco, J. (2018). High serum procalcitonin levels in patients with periodontitis and chronic migraine. *Journal of Periodontology*, 89(9), 1069-1074.

Editorial: Wiley

ISSN: 0022-3492

DOI: 10.1002/JPER.17-0603

Año: 2018

Índices de calidad de la publicación:

Revista: Journal of Periodontology

Factor de impacto en 2018: 2.768

Posición en la categoría dentistry, oral surgery & medicine en 2018: 14/91 Q1

Autores:

Yago Leira a,b,

Pablo Ameijeira a,

Clara Domínguez,c

Juan Blanco a,b

Rogelio Leira c

a Departamento de Periodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

b Investigación en Odontología Médico-Quirúrgica (OMEQUI)

Grupo, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, España

c Departamento de Neurología, Unidad de Cefalea, Laboratorio de Investigación en Neurociencias Clínicas, Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

Mi contribución específica: Adquisición de datos clínicos, interpretación de los datos, revisión del manuscrito en cuanto a contenido intelectual y aprobación final de la versión a publicar.

La autorización de la revista/editorial para el uso de la publicación en tu tesis.

This is a License Agreement between PABLO AMEJEIRA ("User") and Copyright Clearance Center, Inc. ("CCC") on behalf of the Rightsholder identified in the order details below. The license consists of the order details, the Marketplace Permissions General Terms and Conditions below, and any Rightsholder Terms and Conditions which are included below. All payments must be made in full to CCC in accordance with the Marketplace Permissions General Terms and Conditions below.

Order Date	19-Jun-2024	Type of Use	Republish in a thesis/dissertation
Order License ID	1496196-1	Publisher	AMERICAN ACADEMY OF
ISSN	0022-3492	Portion	PERIODONTOLOGY. Chapter/article

LICENSED CONTENT

Publication Title	Journal of periodontology	Rightsholder	John Wiley & Sons - Books
Article Title	High serum procalcitonin levels in patients with periodontitis and chronic migraine.	Publication Type	Journal
Author / Editor	AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY.	Page Range	1069
Date	01/01/1930	Issue	1074
Language	English	Volume	9
Country	United States of America		89

REQUEST DETAILS

Portion Type	Chapter/article	Rights Requested	Main product
Page Range(s)	1-6	Distribution	Worldwide
Total Number of Pages	6	Translation	Original language of publication
Format (select all that apply)	Print	Copies for the Disabled?	No
Who Will Republish the Content?	Author of requested content	Minor Editing Privileges?	No
Duration of Use	Life of current edition	Incidental Promotional Use?	No
Lifetime Unit Quantity	Up to 499	Currency	EUR

ADDITIONAL DETAILS

The Requesting Person / Organization to Appear on the License	PABLO AMEJEIRA
---	----------------

REQUESTED CONTENT DETAILS

Title, Description or Numeric Reference of the Portion(s)	High serum procalcitonin levels in patients with periodontitis and chronic migraine.	Title of the Article / Chapter the Portion Is From	High serum procalcitonin levels in patients with periodontitis and chronic migraine.
Editor of Portion(s)	Ameijeira, Pablo; Blanco, Juan; Domínguez, Clara; Leira, Rogelio; Leira, Yago	Author of Portion(s)	Ameijeira, Pablo; Blanco, Juan; Domínguez, Clara; Leira, Rogelio; Leira, Yago
Volume / Edition	89	Publication Date of Portion	2018-09-01
Page or Page Range of Portion	1069-1074		



ORIGINAL ARTICLE

High serum procalcitonin levels in patients with periodontitis and chronic migraine

Yago Leira^{1,2} | Pablo Ameijeira¹ | Clara Domínguez³ | Rogelio Leira³ | Juan Blanco^{1,2}

¹Periodontology Unit, Faculty of Medicine and Odontology, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain

²Odontología Médico-Quirúrgica (OMEQUI) Research Group, Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, Spain

³Service of Neurology, Headache Unit, Hospital Clínico Universitario, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain

Correspondence

Dr. Yago Leira, Periodontology Unit – Faculty of Medicine and Odontology, University of Santiago de Compostela, Rúa Entreríos S/N, 15782 – Santiago de Compostela (Spain)
Email: yagoleira@gmail.com

One sentence summary: Periodontitis independently contributes to elevated serum proCT levels in chronic migraineurs.

Abstract

Background: To evaluate the contribution of chronic periodontitis (CP) to serum procalcitonin (proCT) levels in chronic migraine (CM) patients in a cross-sectional study.

Methods: We included 138 subjects divided into 4 groups based on clinical features of CM and periodontal parameters: systemically and periodontally healthy individuals ($n = 37$), systemically healthy and CP patients ($n = 19$), CM and periodontally healthy patients ($n = 34$), and CM+CP patients ($n = 48$). Demographic, neurological, clinical data as well as full-mouth periodontal records were obtained. ProCT and high sensitive C-reactive protein (hs-CRP) serum levels were determined from blood samples taken during migraine interictal period.

Results: Patients from the CP+CM group (0.056 ± 0.006 ng/mL) had significantly higher serum proCT levels in comparison with the systemically and periodontally healthy group (0.029 ± 0.019 ng/mL), CM group (0.041 ± 0.002 ng/mL), or CP group (0.034 ± 0.014 ng/mL) ($p < 0.001$). There were no significant differences in hs-CRP between groups ($p = 0.081$). Multiple linear regression analysis showed that CP was associated with increased proCT levels in CM patients ($R^2 = 0.293$, $p < 0.001$).

Conclusions: CP independently contributes to elevated serum proCT levels in CM patients. These findings suggest that CP could play a role in migraine chronification.

KEYWORDS

headache, inflammation, migraine, periodontitis, pro-calcitonin

Migraine is a neurovascular disorder and, with regards to frequency, can be classified into episodic (EM) and chronic migraine (CM).¹ Although EM is defined as migraine attacks occurring less than 15 days/month, CM is characterized by headache occurring more than 15 days/month for at least 3 months.¹ The progression rate per year from EM to CM is nearly 3%.² There are several risk factors that could be associated with migraine chronification such as age, female gender, obesity, or low educational level.³ Even though the exact mechanisms involved in the pathogenesis of migraine remain unclear, it is hypothesized that the onset of the disease may be initiated by activation of trigeminovascular pathway with release of several pro-inflammatory markers.⁴

Chronic periodontitis (CP) is an infectious disease characterized by chronic inflammation that extends deep into the gingival tissues surrounding the teeth causing destruction of the supporting connective tissue and progressive alveolar bone loss, which in the long-term might lead to tooth loss.⁵ Although in the past CP was regarded as a local inflammatory disease, current evidence confirms that CP may contribute to the body's overall inflammatory burden,⁶ thus, worsening neurological conditions in which neuroinflammation processes play a key role such as ischemic stroke and Alzheimer's disease.^{7–9}

Procalcitonin (proCT) is the 116 amino acid polypeptide precursor of calcitonin, a calcium regulatory hormone.¹⁰



Serum proCT levels are elevated in patients with sepsis and, in those with systemic inflammation correlates with mortality and severity of illness as well as remains at high levels in the long-term.¹¹ Although high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) is a popular marker of systemic inflammation that has been employed in subjects with infections, a recent meta-analysis has demonstrated that proCT is a more useful monitor.¹² During migraine attacks, proCT in serum is increased,¹³ which suggests that this acute-phase reactant could be involved in migraine pathogenesis owing to the fact that migraine pain is considered to be a type of sterile inflammation.¹⁴ On the other hand, periodontal infection has been linked to elevated levels of serum proCT, and it is further influenced by the severity of the disease.¹⁵ Recently, our group proposed a pathophysiological model in which CP could be involved in the process of migraine chronification.¹⁶ Accordingly, periodontal inflammation that occurs within the gingiva releases a great number of pro-inflammatory mediators that could play a pivotal role in the development of migraine attacks, which may result in CM. It seems, therefore, reasonable to speculate that CP may contribute to increased proCT serum concentrations in CM.

Hence, the aim of our study was to determine whether the presence of CP was associated with higher proCT levels in chronic migraineurs.

1 | METHODS

A cross-sectional study was carried out by the Periodontology Unit, Faculty of Odontology in collaboration with the Headache Unit, Hospital Clínico Universitario, University of Santiago de Compostela, Spain. A total of 138 subjects were recruited (mean age 46.3 ± 10.1 years; 96.4% female) from November 2015 to October 2016. Afterwards, they were divided into four groups based on the clinical features of CP and CM: 1) Systemically and periodontally healthy ($n = 37$); 2) Systemically healthy and CP ($n = 19$); 3) CM and periodontally healthy ($n = 34$) and; 4) CM and CP ($n = 48$).

Exclusion criteria were: 1) < 18 years of age; 2) < 15 teeth (excluding third molars); 3) Aggressive periodontitis (AgP) diagnosis (i.e., rapid attachment loss and bone destruction proven by radiographs in subjects < 30 years of age at the time of the initial diagnosis as well as familial aggregation of the cases)^{17,18}; 4) Patients who had received periodontal treatment in the previous 12 months; 5) Systemic antibiotics, corticosteroids, and/or immunosuppressant therapy within 3 months prior to periodontal assessment; 6) Severe systemic diseases; and 7) Pregnancy or lactation.

The research was performed in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (2008) and approved by the Ethics Committee of the Serviço Galego de Saúde. Informed consent was obtained from each patient or

their relatives after full explanation of the periodontal examination. The study was conducted and described according to the STROBE (STrengthening the Reporting of OBservational studies in Epidemiology) guidelines.¹⁹

1.1 | Periodontal examination

A full-mouth periodontal examination was performed in all participants. The following parameters were measured in all teeth (except third molars): probing pocket depth (PPD), clinical attachment level (CAL), full-mouth plaque score (FMPS), and full-mouth bleeding score (FMBS).²⁰

The periodontal examination was performed by two expert periodontists (Y.L. and P.A.). Both examiners were previously calibrated using 10 non-study patients suffering from moderate or severe CP, and intraclass correlation coefficients for intra- and inter-examiner reliability were calculated (>0.80).²¹

Measurements were recorded at six sites per tooth (mesio-buccal, disto-buccal, mid-buccal, mesio-lingual, disto-lingual, and mid-lingual), except for FMPS (four sites/tooth), using a calibrated University of North Carolina periodontal probe (UNC 15; Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). The presence of CP was established when ≥ 2 interproximal sites with CAL ≥ 3 mm and ≥ 2 interproximal sites with PPD ≥ 4 mm (not on the same tooth) or 1 site with PPD ≥ 5 mm were present.²²

1.2 | Neurological examination

CM was defined according to International Classification of Headache Disorders 3rd edition criteria.¹ Thus, patients were diagnosed with CM if they presented headache occurring on 15 or more days per month for more than 3 months. In addition, we registered time of CM evolution (in months), intensity of headache using the visual analog scale (VAS), number of days with headaches per month, and type of migraine (i.e., with or without aura).

1.3 | Demographic and clinical variables

By means of a structured questionnaire, we obtained information regarding age, gender, arterial hypertension, diabetes, hypercholesterolemia, depression, asthma, fibromyalgia, education level, and tobacco consumption. To calculate body mass index (BMI), anthropometric measurements (i.e., weight and height) were also recorded. A digital scale was used to measure body weight. Standing body height was measured with the shoulders in a relaxed position and the arms hanging freely, using a commercial stadiometer. Thus, BMI was calculated as the weight divided by the square of height (kg/m^2).

1.4 | Serum collection and biomarkers analyses

Fasted samples were obtained in the morning in a pain free period (at least 12 hours from the last migraine attack). Subjects had not consumed anti-inflammatory or analgesic medication in the previous 72 hours. Briefly, two millilitres (mL) of venous blood was collected from the antecubital fossa by venepuncture using a 20-gauge needle with a 2 mL syringe. Blood samples were allowed to clot at room temperature and after 1 hour, serum was separated from blood by centrifugation (15 min. at $3000 \times g$) and 0.5 mL of extracted serum was immediately transferred to 1.5 mL aliquots. Each aliquot was stored at -80°C until the time of analysis. Serum levels of hs-CRP were measured using an immunodiagnostic device; minimum assay sensitivity was 0.2 mg/L. Serum proCT levels were measured using an electrochemiluminescence immunoassay; minimum assay sensitivity was 0.02 ng/mL. Determinations were performed in an independent laboratory blinded to clinical data. Clinical investigators were unaware of the laboratory results until the study had ended.

1.5 | Statistical analysis

Mean values and standard deviation (mean $\pm$ SD) were calculated for continuous variables, after the method of Kolmogorov-Smirnov was applied to confirm that the data were sampled from a normal distribution. Categorical data were reported as percentages (%) and compared by χ^2 test. Independent t test and one-way analysis of variance (ANOVA) was used to compare the mean values among groups. Additionally, Bonferroni post-hoc tests for multiple comparisons between groups were used. Multiple linear regression analysis was used to test associations between CP and proCT levels, adjusting for potential confounding factors. All tests were performed at a significance level of $\alpha = 0.05$. All data analyses were performed with IBM SPSS Statistics 20.0 software for Mac (SPSS Inc., Chicago, IL).

2 | RESULTS

Patients with CM who had CP were older, had a higher prevalence of hypercholesterolemia, as well as increased BMI than both non-CP patients with or without CM. Participants with CM had more frequently a previous history of depression and lower education level than those without CM. No significant differences in sex, CM characteristics (i.e., time of CM evolution, intensity of headache, number of days with headache per month, and presence of aura), and other covariates were observed between groups (Table 1). Regarding hs-CRP levels, CP patients had significantly higher levels of this acute-phase protein compared to systemically and periodontally healthy individuals.

As expected, the CM+CP group showed significantly higher proCT levels than the other groups ($p < 0.001$). Concentrations of proCT in patients with CM and periodontally healthy were significantly elevated compared to those systemically and periodontally healthy ($p < 0.001$). Serum proCT levels of the CP group did not differ from the CM group or systemically and periodontally healthy individuals (Figure 1).

Multiple linear regression analysis carried out in the 82 patients with CM showed that mean serum proCT levels were significantly and positively associated with greater mean PPD and mean CAL ($R^2 = 0.252$, $R^2 = 0.284$, $p < 0.001$; Table 2). When CP exposure was examined as a categorical variable, multiple linear regression analysis again indicated that CP in patients with CM was associated with significantly higher serum proCT concentrations ($R^2 = 0.293$, $p < 0.001$; Table 2).

3 | DISCUSSION

In the present study, we demonstrated that patients with CM and CP had significantly higher serum proCT levels compared to patients with CM and periodontally healthy, systemically healthy and CP, and systemically and periodontally healthy. CP emerged as a significant and independent contributor to elevated serum proCT levels in patients with CM. In addition, continuous measures of CP proved to be strongly associated with serum proCT concentrations. Indeed, a significant and positive relationship was found between indicators of both current and prolonged CP status (i.e., PPD and CAL, respectively) with proCT in chronic migraineurs.

It has been reported that serum proCT levels are increased during attacks in migraineurs.¹³ Because meningeal sterile inflammation seems to occur in migraine,¹⁴ it is feasible to believe that proCT is released during headache. Additionally, proCT acts as a partially agonist of the calcitonin gen-related peptide (CGRP₁) receptor and, thus, can promotes CGRP action.²³ ProCT is produced by both thyroid gland and neuroendocrine cells that are part of the lungs.²⁴ Two different pathways could be hypothesized through which CP is related to higher levels of proCT in serum. One is that periodontal pockets provide a large surface area, in which ulcerations in the pocket lining offer an easy access for periodontal bacteria and inflammatory mediators (i.e., proCT) to the systemic circulation. The other corresponds to the secretion of proCT by thyroid in response to periodontal infection.²⁴ According to this, chronic release of proCT by CP might be involved in the neuroinflammation process that occurs during migraine onset and chronification.

Another finding of our study is the fact that serum hs-CRP levels in chronic migraineurs without CP were not significantly different from those of the systemically and periodontally healthy group. Our results are in agreement with previous studies in which hs-CRP levels were measured

**TABLE 1** Baseline characteristics

Variables	Systemically and periodontally healthy (n = 37)	CP (n = 19)	CM (n = 34)	CM+CP (n = 48)
Age (years)	43.3±9.9	48.0±10.9	43.7±10.7	50.0±8.4 ^{a,b}
Female, n (%)	34 (91.9)	19 (100)	34 (100)	46 (95.8)
FMPS	6.18±13.1	38.3±28.7 ^{a,b}	12.1±10.0	52.6±21.0 ^{a,b,c}
FMBS	8.7±5.7	24.0±7.4 ^{a,b}	11.6±8.2	59.8±22.6 ^{a,b,c}
PPD measures				
Mean PPD	2.2±0.5	3.0±0.9 ^{a,b}	2.4±0.4	3.5±0.7 ^{a,b,c}
Number of sites/mouth PPD ≥6 mm	0.8±1.4	9.8±5.5 ^{a,b}	0.1±0.5	17.8±17.2 ^{a,b,c}
CAL measures				
Mean CAL	2.4±0.6	3.4±1.2 ^{a,b}	2.7±0.5	4.0±0.8 ^{a,b,c}
Number of sites/mouth CAL ≥5 mm	1.9±2.3	18.3±7.3 ^{a,b}	1.6±2.8	47.4±52.3 ^{a,b,c}
Number of teeth	26.5±1.4	23.6±2.5 ^{a,b}	26.2±2.4	22.3±4.4 ^{a,c}
BMI	21.7±2.7	26.8±6.3 ^a	26.1±4.9 ^a	31.1±5.4 ^{a,b,c}
Arterial hypertension, n (%)	1 (2.7)	1 (5.3)	3 (8.8)	9 (18.8)
Diabetes, n (%)	0 (0.0)	2 (10.5)	1 (2.9)	1 (2.1)
Hypercholesterolemia, n (%) ^d	2 (5.4)	3 (15.8)	2 (5.9)	12 (25.0)
Depression, n (%) ^d	3 (8.1)	3 (15.8)	12 (35.3)	24 (50.0)
Asthma, n (%)	3 (8.1)	4 (21.1)	5 (14.7)	6 (12.5)
Fibromyalgia, n (%)	1 (2.7)	1 (5.3)	3 (8.8)	7 (14.6)
Low education level, n (%) ^d	6 (16.2)	4 (21.1)	17 (50.0)	26 (54.2)
Tobacco consumption, n (%)	5 (13.5)	5 (26.3)	4 (11.8)	8 (16.7)
hs-CRP (mg/L)	1.3±2.5	5.2±8.5 ^a	2.7±3.5	3.1±6.2
Time of CM evolution in month			25.5±13.3	27.9±14.6
Intensity of headache (VAS)			8.2±1.4	8.4±1.4
Days with headache/month			18.7±6.6	19.1±5.3
Aura, n (%)			19 (55.9)	30 (62.5)

BMI: body mass index; CAL: clinical attachment level; CM: chronic migraine; CP: chronic periodontitis; FMBS: full-mouth bleeding score; FMPS: full-mouth plaque score; hs-CRP: high sensitive C-reactive protein; PPD: probing pocket depth; VAS: visual analog scale.

^a*p* < 0.05 ANOVA with Bonferroni post-hoc test compared with control.

^b*p* < 0.05 ANOVA with Bonferroni post-hoc test compared with CM.

^c*p* < 0.05 ANOVA with Bonferroni post-hoc test compared with CP.

^d*p* < 0.05 Pearson chi-square test.

in migraine patients during interictal period.^{25–27} Further, a cross-sectional study carried out in Italian women diagnosed with CM demonstrated that serum hs-CRP concentrations were similar to those from the control group.²⁸ On the contrary, there are some studies reporting modest hs-CRP increase in migraineurs^{29,30} but some concerns may arise. In the first study, there is no control group and cases were migraineurs who had atypical, severe, and complex clinical features. In addition, no control of confounding vascular risk factors such as hypertension, hypercholesterolemia, or smoking habit was made.²⁹ In the investigation carried out by Vanmolkot and de Hoon,³⁰ the rise in this acute phase protein was only noted in patients without aura and, it has been demonstrated that it is migraine with aura rather than without aura that is associated with vascular diseases.

There are some limitations in our study. The influence of anti-inflammatory drugs that CM patients received as part of

their treatment was not analyzed and this may have an impact in periodontal inflammation. However, the group of CM+CP showed significantly higher values of gingival inflammation (i.e., FMBS) in comparison with chronic migraineurs without CP (59.8% vs. 12.6%, respectively). There are some factors that could predispose to migraine chronification (i.e., stressful life events or allodynia),³ which were not included in the present study. Nevertheless, our statistical analyses showed that in chronic migraineurs, CP was independently associated with proCT after controlling for other well-known confounding covariates such as female gender, age, BMI, depression, or low educational level. It is well documented that increased serum hs-CRP levels is a marker of inflammation, especially in atherosclerotic vascular diseases³¹ or infectious diseases such as CP.³² Nevertheless, low levels of this pro-inflammatory mediator could also be seen in diseases with tissue inflammation such as systemic lupus erythematosus.³³

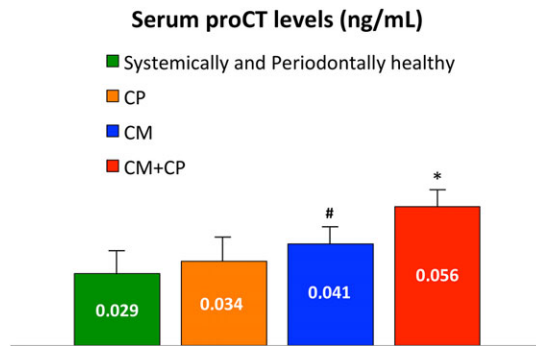


FIGURE 1 Distribution of serum proCT levels among different groups. * $p < 0.001$ versus systemically and periodontally healthy, CM, and CP groups; # $p < 0.001$ versus systemically and periodontally healthy

It is noteworthy that, although normal levels of hs-CRP were found in our CM population, it did not mean that there is no inflammation present in CM. Because our primary outcome was serum proCT levels, the most reasonable explanation for these results is that sample size was not calculated based on hs-CRP levels in serum of chronic migraineurs, there-

TABLE 2 Multiple regression models for procalcitonin levels in chronic migraineurs

	<i>B</i>	SE	PC	<i>p</i> -value
Model I ($R^2 = 0.252$)				
Age	0.000	0.000	-0.163	0.062
Female sex	0.005	0.007	0.070	0.425
BMI	0.001	0.000	0.189	0.030
Hypercholesterolemia	0.005	0.004	0.103	0.240
Depression	0.002	0.003	0.067	0.063
Low education level	-0.005	0.002	-0.249	0.400
Mean PPD	0.006	0.002	0.301	<0.001
Model II ($R^2 = 0.284$)				
Age	0.000	0.000	-0.188	0.310
Female sex	0.005	0.006	0.072	0.409
BMI	0.000	0.000	0.169	0.053
Hypercholesterolemia	0.003	0.004	0.069	0.433
Depression	0.002	0.003	0.065	0.458
Low education level	-0.005	0.002	-0.257	0.300
Mean CAL	0.006	0.001	0.359	<0.001
Model III ($R^2 = 0.293$)				
Age	0.000	0.000	-0.140	0.111
Female sex	0.007	0.006	0.096	0.272
BMI	0.000	0.000	0.103	0.242
Hypercholesterolemia	0.003	0.004	0.068	0.441
Depression	0.003	0.003	0.090	0.303
Low education level	-0.005	0.002	-0.256	0.302
Periodontitis	0.013	0.003	0.375	<0.001

B: parameter estimate; BMI: body mass index; CAL: clinical attachment level; PC: partial correlation; PPD: probing pocket depth; SE: standard error. Significant results are reported in bold.

fore, not reaching statistical significance. However, within patients diagnosed with CM, hs-CRP concentrations tended to be higher in periodontal patients in comparison to those with healthy periodontium (3.1 vs. 2.7 mg/L). Additionally, when we analyze the systemically healthy population, we found that patients with CP had also significantly higher serum hs-CRP levels compared to non-CP subjects (5.2 versus 1.3 mg/L, $p = 0.013$). In fact, it is well established that hs-CRP levels > 3 mg/L constitute a risk predictor for cardiovascular disease,³⁴ therefore, accordingly with previous literature, our patients with CP might be also at an increased risk to develop vascular events.³²

4 | CONCLUSION

In conclusion, our study demonstrates that patients with CM and CP have significantly higher serum proCT levels than patients with CM only, CP only, or systemically and periodontally healthy individuals. CP independently contributes to elevated serum proCT levels in CM patients. Therefore, it could be suggested that CP via proCT may be involved in the process of migraine chronification. Longitudinal studies with larger samples are needed to confirm our hypothesis and to investigate whether CP may be considered as a chronifying factor of migraine.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was partially supported by grants from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness – Institute of Health Carlos III, Spain (PI15/01578). Y. Leira is supported by a fellowship from the Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS) and is the recipient of the 2017 SEPA-Sunstar International Training Grant. The funders had no role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors declare that there is no conflict of interest.

PRODUCTS AND COMPANIES

§IMMULITE® 2000 Systems (Siemens Healthcare Diagnostics, Malvern, PA, USA).

||Electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) (Elecsys® BRAHMS PCT 2010 system, Cobas® e601, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany).

REFERENCES

1. Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS). The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition (beta version). *Cephalalgia*. 2013;33:629–808.



2. Scher AI, Stewart WF, Ricci JA, Lipton RB. Factors associated with the onset and remission of chronic daily headache in a population-based study. *Pain*. 2003;106:81–89.
3. May A, Schulte LH. Chronic migraine: risk factors, mechanisms and treatment. *Nat Rev Neurol*. 2016;12:455–464.
4. Mathew NT. Pathophysiology of chronic migraine and mode of action of preventive medications. *Headache*. 2011;51(Suppl. 2):84–92.
5. Philstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet*. 2005;366:1809–1820.
6. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:1–14.
7. Leira Y. Gums and brain: does the evidence support an association between periodontal infection and neurological diseases. *EC Dental Science*. 2017a;7:143–145.
8. Leira Y, Seoane J, Blanco M, et al. Association between periodontitis and ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Epidemiol*. 2017b;32:43–53.
9. Leira Y, Domínguez C, Seoane J, et al. Is periodontal disease associated with Alzheimer's disease? A systematic review with meta-analysis. *Neuroepidemiology*. 2017c;48:21–31.
10. Schneider HG, Lam QT. Procalcitonin for the clinical laboratory: a review. *Pathology*. 2007;39:383–390.
11. Becker KL, Snider R, Nylen ES. Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis: clinical utility and limitations. *Crit Care Med*. 2008;36:941–952.
12. Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2004;39:206–217.
13. Turan H, Horasanli B, Ugur M, Arslan H. Procalcitonin levels in migraine patients. *Can J Neurol Sci*. 2011;38:124–128.
14. Waeber C, Moskowitz MA. Migraine as an inflammatory disorder. *Neurology*. 2005;64:S9–15.
15. Bassim CW, Redman RS, DeNucci DJ, Becker KL, Nylen ES. Salivary procalcitonin and periodontitis in diabetes. *J Dent Res*. 2008;87:630–634.
16. Ameijeira P, Leira Y, Blanco J, Leira R. Periodontal disease as a potential factor of migraine chronification. *Med Hypotheses*. 2017;102:94–98.
17. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999;4:1–6.
18. Llorente MA, Griffiths GC. Periodontal status among relatives of aggressive periodontitis patients and reliability of family history report. *J Clin Periodontol*. 2006;33:121–125.
19. Von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP, STROBE Initiative. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol*. 2008;61:344–349.
20. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*. 1975;25:229–235.
21. Ahead of print. Leira Y, Ameijeira P, Domínguez C, Leira R, Blanco J. The role of leptin as a biomarker in the relationship between periodontitis and chronic migraine [published online ahead of print September 18, 2017]. *J Clin Periodontol*. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12819>.
22. Eke PI, Page RC, Wei L, Thornton-Evans G, Genco RJ. Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol*. 2012;83:1449–1454.
23. Sexton PM, Christopoulos G, Christopoulos A, Nylen ES, Snider RH, Jr, Becker KL. Procalcitonin has bioactivity at calcitonin receptor family complexes: potential mediator implications in sepsis. *Crit Care Med*. 2008;36:1637–1640.
24. Becker KL, Nylén ES, White JC, Müller JC. Clinical review 167: procalcitonin and the calcitonin gene family of peptides in inflammation, infection, and sepsis: a journey from calcitonin back to its precursors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:1512–1525.
25. Silva FA, Rueda-Clausen CF, Silva SY, et al. Endothelial function in patients with migraine during the interictal period. *Headache*. 2007;47:45–51.
26. Guldiken B, Guldiken S, Demir M, et al. Soluble CD40 ligand and prolactin levels in migraine patients during interictal period. *J Headache Pain*. 2011;12:355–360.
27. Rockett FC, Perla Ada S, Perry ID, Chaves ML. Cardiovascular disease risk in women with migraine. *J Headache Pain*. 2013;14:1–9.
28. Fava A, Pirritano D, Consoli D, et al. Chronic migraine in women is associated with insulin resistance: a cross-sectional study. *Eur J Neurol*. 2014;21:267–272.
29. Welch KM, Brandes AW, Salerno L, Brandes JL. C-reactive protein may be increased in migraine patients who present with complex clinical features. *Headache*. 2006;46:197–199.
30. Vanmolkot FH, de Hoon JN. Increased C-reactive protein in young adult patients with migraine. *Cephalalgia*. 2007;27:843–846.
31. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2002;14:1557–1565.
32. Paraskevas S, Huizinga JD, Loos BG. A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2008;35:277–290.
33. ter Borg EJ, Horst G, Limburg PC, van Rijswijk MH, Kallenberg CG. C-reactive protein levels during disease exacerbations and infections in systemic lupus erythematosus: a prospective longitudinal study. *J Rheumatol*. 1990;17:1642–1648.
34. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al. Centers for Disease Control and Prevention; American Heart Association. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003;107:499–511.

How to cite this article: Leira Y, Ameijeira P, Domínguez C, Leira R, Blanco J. High serum procalcitonin levels in patients with periodontitis and chronic migraine. *J Periodontol*. 2018;1–6. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0603>

ARTÍCULO 5

Leira, Y., Ameijeira, P., Domínguez, C., López-Arias, E., Ávila-Gómez, P., Pérez-Mato, M., Sobrino, T., Campos, F., D'Aiuto, F., Leira, R., Blanco, J., (2020). Severe periodontitis is linked with increased peripheral levels of sTWEAK and PTX3 in chronic migraineurs. *Clinical Oral Investigations*, 24, 597-606.

Editorial: Springer Heilderberg

ISSN: 1432-6981

DOI: 10.1007/s00784-019-02950-9

Año: 2020

Índices de calidad de la publicación:

Revista: Clinical Oral Investigations

Factor de impacto en 2020: 3.573

Posición en la categoría dentistry, oral surgery & medicine en 2020: 21/92 Q1

Autores:

Yago Leira ^{a,b,d}, Pablo Ameijeira ^a, Clara Domínguez,^c Esteban López Arias ^e, Paulo Ávila-Gómez ^e, María Pérez Mato ^e, Tomás Sobrino ^e, Francisco Campos ^e, Francesco D'Aiuto^d, Rogelio Leira^c y Juan Blanco ^{a,b}

a) Departamento de Periodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

b) Investigación en Odontología Médico-Quirúrgica (OMEQUI)

Grupo, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela

(IDIS), Santiago de Compostela, España

c) Departamento de Neurología, Unidad de Cefalea, Laboratorio de Investigación en Neurociencias Clínicas, Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

d) Unidad de Periodoncia, UCL Eastman Dental Institute and Hospital, University College London, 256 Gray's Inn Road, London WC1X 8LD, UK

e) Laboratorio de Investigación en Neurociencias Clínicas, Departamento de Neurología, Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, España

Mi contribución específica: Adquisición de datos clínicos, interpretación de los datos, revisión del manuscrito en cuanto a contenido intelectual y aprobación final de la versión a publicar.

La autorización de la revista/editorial para el uso de la publicación en la tesis.

This is a License Agreement between PABLO AMEIJIRA ("User") and Copyright Clearance Center, Inc. ("CCC") on behalf of the Rightsholder identified in the order details below. The license consists of the order details, the Marketplace Permissions General Terms and Conditions below, and any Rightsholder Terms and Conditions which are included below. All payments must be made in full to CCC in accordance with the Marketplace Permissions General Terms and Conditions below.

Order Date	19-Jun-2024	Type of Use	Republish in a thesis/dissertation
Order License ID	1496188-1	Publisher	SPRINGER-VERLAG
ISSN	1432-6981	Portion	Chapter/article

LICENSED CONTENT

Publication Title	Clinical oral investigations	Rightsholder	Springer Nature BV
Article Title	Severe periodontitis is linked with increased peripheral levels of sTWEAK and PTX3 in chronic migraineurs.	Publication Type	Journal
Author / Editor	Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde.	Start Page	597
Date	01/01/1997	End Page	606
Language	English	Issue	2
Country	Germany	Volume	24

REQUEST DETAILS

Portion Type	Chapter/article	Rights Requested	Main product
Page Range(s)	1-10	Distribution	Worldwide
Total Number of Pages	10	Translation	Original language of publication
Format (select all that apply)	Print	Copies for the Disabled?	No
Who Will Republish the Content?	Author of requested content	Minor Editing Privileges?	No
Duration of Use	Life of current edition	Incidental Promotional Use?	No
Lifetime Unit Quantity	Up to 499	Currency	EUR

ADDITIONAL DETAILS

The Requesting Person / Organization to Appear on the License	PABLO AMEIJIRA
---	----------------

REQUESTED CONTENT DETAILS

Title, Description or Numeric Reference of the Portion(s)	Severe periodontitis is linked with increased peripheral levels of sTWEAK and PTX3 in chronic migraineurs.	Title of the Article / Chapter the Portion Is From	Severe periodontitis is linked with increased peripheral levels of sTWEAK and PTX3 in chronic migraineurs.
Editor of Portion(s)	Leira, Yago; Ameijeira, Pablo; Domínguez, Clara; López-Arias, Esteban; Ávila-Gómez, Paulo; Pérez-Mato, María; Sobrino, Tomás; Campos, Francisco; Leira, Rogelio; Blanco, Juan	Author of Portion(s)	Leira, Yago; Ameijeira, Pablo; Domínguez, Clara; López-Arias, Esteban; Ávila-Gómez, Paulo; Pérez-Mato, María; Sobrino, Tomás; Campos, Francisco; D'Aiuto, Francesco; Leira, Rogelio; Blanco, Juan
Volume / Edition	24	Page of Portion	2020-02-01
Page or Page Range of Portion	597-606		



Severe periodontitis is linked with increased peripheral levels of sTWEAK and PTX3 in chronic migraineurs

Yago Leira^{1,2,3} · Pablo Ameijeira² · Clara Domínguez⁴ · Esteban López-Arias⁵ · Paulo Ávila-Gómez⁵ · María Pérez-Mato⁵ · Tomás Sobrino⁵ · Francisco Campos⁵ · Francesco D'Aiuto¹ · Rogelio Leira⁴ · Juan Blanco^{2,3}

Received: 13 February 2019 / Accepted: 3 May 2019
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2019

Abstract

Objectives Periodontitis (PD) and chronic migraine (CM) have been recently linked, and inflammatory processes and vascular endothelial changes are hypothesized as potential mediators of this relationship. The aim of this cross-sectional analysis was to investigate the potential association of PD with vascular systemic inflammation and complement activation in patients with CM.

Materials and methods Ninety-four chronic migraineurs underwent a full-mouth periodontal evaluation and a measure of PD activity and severity, namely the periodontal inflamed surface area (PISA) was calculated for each patient. We divided CM patients according to their periodontal status: mild PD ($N = 14$), moderate PD ($N = 22$), severe PD ($N = 19$), and non-PD ($N = 39$). Serum levels of C-reactive protein (CRP), pentraxin 3 (PTX3), soluble tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (sTWEAK), and complements C3 and C4 were measured outside of migraine attacks.

Results We found that severe periodontal patients had significantly higher circulating levels of PTX3 and sTWEAK compared with those without PD (2475.3 ± 1646.8 pg/mL vs. 516.6 ± 1193.8 pg/mL, $P < 0.0001$ and 672.4 ± 118.2 pg/mL vs. 485.7 ± 112.2 pg/mL, $P < 0.0001$; respectively). For the remaining biomarkers, no significant differences were found between groups. Severe PD was independently associated with higher levels of PTX3 ($\beta = 1997.6$, $P < 0.0001$) and sTWEAK ($\beta = 187.1$, $P < 0.0001$) but not with CRP, C3, and C4. PISA positively correlated to PTX3 ($r = 0.475$, $P < 0.0001$) and sTWEAK ($r = 0.386$, $P < 0.0001$).

Conclusions Based on these preliminary results, severe PD was linked with vascular systemic inflammation in patients with CM. However, further longitudinal studies should be performed to confirm these findings.

Clinical relevance sTWEAK and PTX3 measured in serum could be used as biomarkers in the PD-CM link.

Keywords Periodontitis · Chronic migraine · Headache · Inflammation · Periodontal inflamed surface area

Rogelio Leira and Juan Blanco contributed equally to this work.

Electronic supplementary material The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s00784-019-02950-9>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Yago Leira
y.leira@ucl.ac.uk

¹ Periodontology Unit, UCL Eastman Dental Institute and Hospital, University College London, 256 Gray's Inn Road, London WC1X 8LD, UK

² Periodontology Unit, Faculty of Medicine and Odontology, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain

³ Medical-Surgical Dentistry (OMEQUI) Research Group, Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, Spain

⁴ Department of Neurology, Headache Unit, University Clinical Hospital, Clinical Neurosciences Research Laboratory, Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain

⁵ Clinical Neurosciences Research Laboratory, Department of Neurology, Clinical University Hospital, Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, Spain

Introduction

Periodontitis (PD) is a chronic inflammatory infection affecting the gingiva. If remained untreated, periodontal tissue destruction and bone loss might progress leading to tooth loss. Currently, 743 million people (10.8%) in the world are affected by severe forms of PD, being this disease, the sixth most common condition worldwide among adults [1].

Migraine is a common, disabling, and complex neurovascular disorder, which has a global estimated prevalence of 14.7% worldwide [2]. Based on frequency of headache attacks, migraine can be sub-classified into episodic migraine (EM) (< 15 days of headache/month) and chronic migraine (CM) (≥ 15 days of headache/month for at least 3 months with ≥ 8 days/month fulfilling migraine criteria) [3]. Among the general population, the prevalence of CM ranges from 1.4 to 2.2% [4]. The proportion of migraineurs with a CM pattern increases slightly with age. Annually, the progression rate from EM to CM is nearly 3% [5].

Acute-phase reactants (APRs) such as C-reactive protein (CRP) and pentraxin 3 (PTX3) that are overexpressed in periodontal patients are able to activate the complement through the classical pathway. Increased local activation of complement products (e.g., C3 and C4) in the periodontal tissues increases the intensity of the local inflammatory response, resulting in enhanced vascular permeability and vasodilatation and recruitment of inflammatory cells, which in turn will lead to excessive release of reactive oxygen species and interleukins (ILs) and other pro-inflammatory mediators such as IL-1 β , IL-8, or tumor necrosis factor- α (TNF- α) [6]. Some of these locally produced inflammatory markers can disseminate into the blood circulation exerting systemic effects in distant organs, thus, contributing to the overall body inflammatory burden. For example, systemic elevated levels of PTX3 and soluble fragment of tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (sTWEAK) were linked with PD in patients with small vessel ischemic stroke [7]. In migraine, it has been hypothesized that some inflammatory mediators released during migraine attacks could have an effect in activation and sensitization of peripheral nociceptors [8]. In fact, several studies showed a hyperinflammatory response during migraine with increased levels of CRP, ILs, TNF- α , or PTX3 in the systemic circulation of these patients [9–12]. Furthermore, we demonstrated that PTX3 and sTWEAK are elevated in CM patients and that PTX3 could be a predictor of good response to onabotulinumtoxin A (OnabotA), which is widely used for the treatment of CM [13].

Recently, our group showed that patients with PD were more likely to have CM than those without PD [14]. We also reported that in CM patients, PD was associated with increased circulating levels of inflammatory markers such as leptin and procalcitonin [15, 16]. However, no information is available regarding the potential link between PD and

peripheral blood biomarkers of vascular inflammation as well as complement activation in CM patients. Our aim was, therefore, to investigate the relationship between PD and serum levels of PTX3, sTWEAK, CRP, C3, and C4 in a cohort of patients diagnosed with CM.

Material and methods

Study population

In this cross-sectional study, we included 94 patients with CM (mean age 47.2 ± 10.6 ; 97.9% females). Neurological examination was carried out by a senior neurologist (RL). CM was defined according to the International Classification of Headache Disorders 3rd edition criteria [3]. Hence, patients were considered to have CM if they presented headache occurring on 15 or more days per month for more than 3 months. Additionally, we registered time of evolution of CM (in months), intensity of headache measured with the visual analogue scale, number of days with headaches per month, duration of migraine attacks (in hours), and presence of aura and allodynia. Preventives and symptomatic drugs for migraine were also recorded along with analgesic overuse.

Exclusion criteria were (i) < 18 years of age; (ii) < 15 teeth (excluding third molars); (iii) patients who had received periodontal treatment in the previous 12 months; (iv) use of systemic antibiotics, within 3 months prior to periodontal assessment; (v) severe systemic diseases; and (vi) pregnancy or lactation. The study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (2008) and approved by the Ethics Committee of the Serviço Galego de Saúde (ID: 2016/079). Informed consent was obtained from each patient or their relatives after full explanation of the periodontal examination. Demographic and relevant medical information were registered by means of a structured questionnaire [14].

Periodontal assessment

Periodontal examination protocol was recently reported [14, 17]. In brief, two calibrated periodontists (YL and PA) carried out full-mouth periodontal measurements from each participant including probing pocket depth (PPD), clinical attachment level (CAL), gingival recession (Rec), and bleeding on probing (BoP) [18]. Patients were classified into three groups according to the severity of the disease: (a) Mild PD: those participants with ≥ 2 interproximal sites with CAL ≥ 3 mm and ≥ 2 interproximal sites with PPD ≥ 4 mm (not on the same tooth) or 1 site with PPD ≥ 5 mm; (b) Moderate PD: defined as ≥ 2 interproximal sites with CAL ≥ 4 mm (not on the same tooth) or ≥ 2 interproximal sites with PPD ≥ 5 mm, also not on the same tooth; (c) Severe PD: presence of ≥ 2 interproximal

sites with CAL ≥ 6 mm (not on the same tooth) and ≥ 1 interproximal site with PPD ≥ 5 mm [19]. Additionally, we calculated a measure of PD activity, the periodontal inflamed surface area (PISA), which reflects the surface area of bleeding pocket epithelium in mm² [20]. PISA was calculated as follows: (i) with the mean CAL and Rec, we obtained the periodontal epithelial surface area (PESA) for each tooth [21]; (ii) the PESA value multiplied by the number of sites with BoP results in the PISA for a specific tooth; (iii) full-mouth PISA is calculated for each participant (in mm²) by the sum of the PISAs for each tooth.

Laboratory tests

Fasted samples were obtained in the morning in a pain-free period (at least 12 h from the last migraine attack). Subjects had not consumed anti-inflammatory or analgesic medication in the previous 72 h. In brief, 2 mL of venous blood was collected from the antecubital fossa by venepuncture using a 20-gauge needle with a 2-mL syringe. Blood samples were allowed to clot at room temperature and after 1 h, serum was separated from blood by centrifugation (15 min. at 3000 g) and 0.5 mL of extracted serum was immediately transferred to 1.5-mL aliquots. Each aliquot was stored at -80°C until the time of analysis. Serum levels of high-sensitive CRP (hs-CRP) were measured using an immunodiagnostic IMMULITE® 2000 Systems (Siemens Healthcare Diagnostics, Malvern, PA, USA); minimum assay sensitivity was 0.02 mg/dL. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique was used to assess serum concentrations of PTX3 and sTWEAK following manufacturer instructions. A PTX3 ELISA kit (Rockland antibodies & assays, Limerik PA, USA) minimum assay sensitivity was 40 pg/mL with an intra- and inter-assay coefficient of variation (CV) of $<8\%$ and $<10\%$, respectively. A sTWEAK ELISA kit (Thermo Scientific, Massachusetts, USA) minimum assay sensitivity was 10 pg/mL with an intra- and inter-assay CV of $<6\%$ and $<7\%$, respectively. Complements C3 and C4 serum levels were measured with C3 and C4 Flex® reagent cartridge using the Dimension Vista® System (Siemens, Healthcare GmbH, Marburg, Germany), minimum assay sensitivity 4.00 mg/dL and 1.50 mg/dL, respectively. Determinations were performed in an independent laboratory blinded to clinical data. Clinical investigators were unaware of the laboratory results until the study had ended.

Statistics

All data analyses were performed with IBM SPSS Statistics 20.0 software for Mac (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Mean values and standard deviation (mean $\pm$ SD) were calculated for continuous variables, after the method of Kolmogorov-Smirnov was applied to confirm that the

data were sampled from a normal distribution. Categorical data were reported as percentages (%) and compared by χ^2 test. One-way analysis of variance (ANOVA) was used to compare the mean values among different groups of PD severity. Bonferroni post hoc tests for multiple comparisons between groups were used. Non-normally distributed variables were reported as median [P_{25} , P_{75}] and compared applying the Kruskal-Wallis H test. Parametric correlation analyses between PISA and significant biomarkers among CM patients were performed using Pearson's correlation coefficient. Generalized linear models were performed to test associations between PD severity and biomarkers. Linear regression models were also created to assess the relationship of continuous measures of PD and biomarkers. All models were adjusted for potential confounding factors (i.e., age, sex, obesity, depression, low education level, and smoking). All tests were performed at a significance level of $\alpha = 0.05$.

Results

Characteristics of the population according to periodontal status

Baseline characteristics of 94 CM patients according to severity of PD are shown in Table 1. In general, periodontal patients were older and had more frequently a history of hypertension, hypercholesterolemia, bruxism, stress, asthma, fibromyalgia, obesity, and lower educational level. However, only prevalence of depression reached statistical significance (68.4% vs. 28.2%, $P = 0.036$). Similarly, we observed differences in terms of neurological variables between the PD groups and non-PD patients although were not statistically significant. With regard to migraine treatment, PD patients tended to take more drugs, even though only opioid consumption was significantly different between groups ($P = 0.024$). As expected, PISA values increased from periodontal health to disease ($P < 0.0001$). Indeed, severe PD patients showed significantly higher PISA values than those without PD (958.9 ± 457.3 mm² vs. 390.2 ± 332.8 mm², $P < 0.0001$).

Comparisons of biomarker levels between groups

Circulating levels of PTX3 and sTWEAK were significantly elevated in severe periodontal patients compared with those without PD (2475.3 ± 1646.8 pg/mL vs. 516.6 ± 1193.8 pg/mL, $P < 0.0001$ and 672.4 ± 118.2 pg/mL vs. 485.7 ± 112.2 pg/mL, $P < 0.0001$; respectively). No significant differences were observed between groups regarding hs-CRP, C3, and C4 (Table 2).

Table 1 Baseline characteristics of 94 patients with CM

Variables	Whole sample	No PD (N = 39)	Mild PD (N = 14)	Moderate PD (N = 22)	Severe PD (N = 19)	P value
Age (years)	47.1 ± 10.5	45.1 ± 11.1	47.0 ± 10.5	49.1 ± 11.0	48.3 ± 8.8	0.600
Females, %	92 (97.9)	38 (97.4)	14 (100)	22 (100)	18 (94.7)	0.634
BMI (kg/m ²)	27.4 [24.1, 31.2]	26.1 [23.4, 30.4]	26.1 [21.8, 29.9]	29.3 [24.6, 33.4]	29.7 [25.5, 31.2]	0.187
Hypertension, n (%)	12 (12.8)	3 (7.7)	1 (7.1)	4 (18.2)	4 (21.1)	0.384
Diabetes mellitus, n (%)	1 (1.1)	1 (2.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.700
Hypercholesterolemia, n (%)	14 (14.9)	3 (7.7)	1 (7.1)	4 (18.2)	6 (31.6)	0.085
Bruxism, n (%)	11 (11.7)	5 (12.8)	1 (7.1)	2 (9.1)	3 (15.8)	0.854
Depression, n (%)	39 (41.5)	11 (28.2)	6 (42.9)	13 (40.9)	13 (68.4)	0.036
Current smokers, n (%)	14 (14.9)	4 (10.3)	1 (7.1)	3 (13.6)	6 (31.6)	0.137
Stress, n (%)	21 (22.3)	6 (15.4)	4 (28.6)	3 (13.6)	8 (42.1)	0.084
Asthma, n (%)	13 (13.8)	5 (12.8)	3 (21.4)	2 (9.1)	3 (15.8)	0.756
Fibromyalgia, n (%)	12 (12.8)	4 (10.3)	1 (7.1)	3 (13.6)	4 (21.1)	0.614
Obesity, n (%) ^a	32 (34.0)	11 (28.2)	3 (21.4)	10 (45.5)	8 (42.1)	0.333
Low education level, n (%)	47 (50.0)	17 (43.6)	5 (35.7)	13 (59.1)	12 (63.2)	0.281
PISA (mm ²)	550.9 ± 404.0	390.2 ± 332.8	473.1 ± 276.2	533.1 ± 304.8	958.9 ± 457.3*	< 0.0001
Time of CM evolution (months)	25.8 ± 13.9	25.6 ± 14.3	20.2 ± 14.8	26.1 ± 14.0	30.0 ± 11.7	0.271
Intensity of headache	8.0 [7.0, 10.0]	8.0 [7.0, 9.0]	8.5 [8.0, 10.0]	8.0 [6.7, 10.0]	8.0 [8.0, 10.0]	0.263
Number days with headache/month	18.8 ± 5.7	18.7 ± 5.3	19.1 ± 8.0	17.6 ± 5.3	20.2 ± 4.9	0.551
Aura, n (%)	7 (7.4)	1 (2.6)	3 (21.4)	1 (4.5)	2 (10.5)	0.334
Allodynia, n (%)	58 (63.7)	22 (59.5)	8 (61.5)	15 (68.2)	13 (68.4)	0.876
Duration of migraine attack						0.273
< 12 h	7 (7.4)	2 (5.1)	3 (21.4)	0 (0.0)	2 (10.5)	
12–24 h	18 (19.1)	9 (23.1)	1 (7.1)	4 (18.2)	4 (21.1)	
> 24 h	69 (73.4)	28 (71.8)	10 (71.4)	18 (81.8)	13 (68.4)	
Analgesic overuse, n (%)	20 (21.3)	6 (15.4)	3 (21.4)	4 (18.2)	7 (36.8)	0.298
Preventive treatment, n (%)						
Topiramate	28 (30.1)	11 (28.2)	2 (14.3)	5 (23.8)	10 (52.6)	0.082
β-blockers	38 (40.4)	14 (35.9)	9 (64.3)	8 (36.4)	7 (36.8)	0.273
Amitriptyline	37 (39.4)	18 (46.2)	6 (27.3)	7 (36.8)	18 (46.2)	0.527
Flunarizine	15 (16.0)	5 (12.8)	4 (28.6)	3 (13.6)	3 (15.8)	0.565
OnabotA	66 (70.2)	28 (71.8)	9 (64.3)	15 (68.2)	14 (73.7)	0.933
Migraine acute treatment, n (%)						
Triptans	68 (72.3)	26 (66.7)	9 (64.3)	17 (77.3)	16 (84.2)	0.442
NSAIDs	84 (89.4)	35 (89.7)	13 (92.9)	19 (86.4)	17 (89.5)	0.941
Opioids	17 (18.1)	5 (12.8)	2 (14.3)	2 (9.1)	8 (42.1)	0.024

PD, periodontitis; BMI, body mass index; CM, chronic migraine; PISA, periodontal inflamed surface area; OnabotA, onabotulinumtoxin A; NSAIDs, non-steroidal anti-inflammatory drugs

^a BMI ≥ 30 kg/m²

**P* < 0.0001 compared with no PD

Association between PD and its clinical parameters and increased levels of biomarkers

After adjusting for all relevant confounders, severe PD was independently associated with increased serum levels of PTX3 (β = 1997.6; 95% CI 1219.2 to 2776.0, *P* < 0.0001) and sTWEAK (β = 187.1; 95%CI 118.2 to 256.0, *P* < 0.0001) in our cohort of CM patients

(Table 3). Similarly, continuous measures of PD such as PPD and CAL were also significantly associated with both biomarkers (Table 4). In fact, PISA showed a positive correlation with both PTX3 (*r* = 0.475, *P* < 0.0001; Fig. 1a) and sTWEAK (*r* = 0.386, *P* < 0.0001; Fig. 1b). No significant associations were found of PD and its clinical parameters with hs-CRP, C3, and C4 (Table 3 and Table 4).

Table 2 Biochemical parameters of 94 patients with CM

Variables	Whole sample	No PD (N = 39)	Mild PD (N = 14)	Moderate PD (N = 22)	Severe PD (N = 19)	P value
PTX3 (pg/mL)	1063.5 ± 1551.0	516.6 ± 1193.8	769.4 ± 1220.9	1000.9 ± 1551.5	2475.3 ± 1646.8*	< 0.0001
sTWEAK (pg/mL)	537.0 ± 138.1	485.7 ± 112.2	521.7 ± 114.6	520.8 ± 140.5	672.4 ± 118.2*	< 0.0001
hs-CRP (mg/dL)	0.3 ± 0.5	0.2 ± 0.3	0.3 ± 0.6	0.3 ± 0.4	0.4 ± 0.9	0.501
C3 (mg/dL)	116.0 [103.7, 133.5]	118.0 [100.0, 128.0]	127.5 [108.7, 136.7]	117.0 [100.5, 135.2]	112.0 [103.0, 142.9]	0.790
C4 (mg/dL)	25.6 ± 8.1	25.2 ± 9.0	22.9 ± 5.8	26.4 ± 7.6	28.1 ± 7.7	0.227

PD, periodontitis; PTX3, pentraxin 3; sTWEAK, soluble tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis; hs-CRP, high-sensitivity C-reactive protein; C3, complement component 3; C4, complement component 4

* $P < 0.0001$ compared with no PD

Table 3 Associations of PD with increased levels of inflammatory markers in CM patients

Dependent variable	Severity of PD	β (95% CI)	P value
PTX3 (pg/mL)	No PD ^a		
	Mild PD	113.5 (− 700.2–927.2)	0.784
	Moderate PD	484.3 (− 216.7–1185.3)	0.176
	Severe PD	1997.6 (1219.2–2776.0)	< 0.0001
sTWEAK (pg/mL)	No PD ^a		
	Mild PD	33.1 (− 38.8–105.2)	0.367
	Moderate PD	30.1 (− 31.8–92.2)	0.340
	Severe PD	187.1 (118.2–256.0)	< 0.0001
hs-CRP (mg/dL)	No PD ^a		
	Mild PD	0.1 (− 0.2–0.4)	0.480
	Moderate PD	0.1 (− 0.1–0.4)	0.460
	Severe PD	0.1 (− 0.1–0.5)	0.263
C3 (mg/dL)	No PD ^a		
	Mild PD	5.8 (− 6.6–18.2)	0.361
	Moderate PD	− 3.6 (− 14.4–7.0)	0.501
	Severe PD	− 1.9 (− 13.8–9.9)	0.746
C4 (mg/dL)	No PD ^a		
	Mild PD	− 2.8 (− 7.4–1.7)	0.231
	Moderate PD	0.2 (− 3.6–4.2)	0.892
	Severe PD	1.9 (− 2.4–6.3)	0.392

^a Reference category

PD, periodontitis; PTX3, pentraxin 3; sTWEAK, soluble tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis; hs-CRP, high-sensitivity C-reactive protein; C3, complement component 3; C4, complement component 4

Models are adjusted for age, sex, obesity, depression, low education level, and tobacco consumption

Discussion

In the present study, we sought to investigate the association between PD and vascular systemic inflammation in CM. Our results showed that severe PD was linked with increased circulating levels of PTX3 and sTWEAK in a group of patients diagnosed with CM. However, no significant associations were observed regarding serum levels of CRP, C3, and C4.

Due to its capability to produce a permanent state of low-grade inflammation, PD is considered to increase the risk for developing several neurological diseases such as ischemic stroke, Alzheimer's disease, or multiple sclerosis [22–24]. In particular, we recently found that patients with PD had 2.4-fold-increased risk for having CM [14]. In the present analysis we confirmed findings previously observed [14–16], in which PD is common in patients with CM (55 individuals diagnosed with PD, 58.5% of the whole sample). It has been hypothesized that during periodontal inflammation, pro-inflammatory mediators that are produced locally within the gingiva are disseminated systemically due to endotoxemia and, therefore, could be involved in migraine chronification by increasing neurogenic inflammation [25]. In our study, we found an independent association of severe PD and clinical parameters of PD with increased circulating levels of PTX3 and sTWEAK in chronic migraineurs. These results are in accordance with previous reports in the literature in which enhanced systemic inflammation measured by serum levels of leptin and procalcitonin was linked with PD among CM patients [15, 16].

PTXs are members of the superfamily of APRs and can be divided into short and long PTXs. Short constituents include CRP, which is synthesized in the liver mostly upon IL-6 stimulation. On contrary, long constituent PTX3 is produced by neutrophils, fibroblast dendritic cells, macrophages, epithelial cells, and endothelial cells, in response to pro-inflammatory signals such as bacterial products, TNF- α , IL-1 β , and by toll-like receptor engagement [26, 27]. Our results confirmed previous studies carried out in chronic periodontal patients, which showed a positive relationship between periodontal clinical

Table 4 Associations of relevant clinical periodontal parameters with increased levels of inflammatory markers in CM patients

Dependent variable	Clinical periodontal parameters	β (95% CI)	<i>P</i> value
PTX3 (pg/mL)	PPD	799.0 (136.0–1462.0)	0.019
	CAL	485.2 (15.9–954.3)	0.043
sTWEAK (pg/mL)	PPD	82.1 (23.4–140.9)	0.007
	CAL	66.0 (25.3–106.6)	0.002
hs-CRP (mg/dL)	PPD	0.1 (−0.1–0.3)	0.431
	CAL	0.1 (−0.0–0.2)	0.195
C3 (mg/dL)	PPD	−1.1 (−10.4–8.2)	0.810
	CAL	−0.0 (−6.6–6.4)	0.982
C4 (mg/dL)	PPD	−0.0 (−3.5–3.3)	0.963
	CAL	0.1 (−2.2–2.6)	0.877

PTX3, pentraxin 3; *sTWEAK*, soluble tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis; *hs-CRP*, high-sensitivity C-reactive protein; *C3*, complement component 3; *C4*, complement component 4; *PPD*, probing pocket depth; *CAL*, clinical attachment level

Models are adjusted for age, sex, obesity, depression, low education level, and tobacco consumption

parameters (i.e., PPD or CAL) and PTX3 levels both locally and systemically [28–30]. Furthermore, cross-sectional clinical data found an increase in PTX concentrations in periodontally affected sites compared with those sites without PD [29]. Similarly, we observed that the PISA method, which is a measure of PD activity and severity, was correlated with levels elevated of PTX3 in peripheral blood. PTX3 has been studied as a marker of vascular endothelial dysfunction. Experimental data suggests that exogenous administration of PTX3

significantly blunted nitric oxide production through the matrix metalloproteinase (MMP)-1 and P-selectin pathway leading to morphological alterations of endothelial cells [31]. Clinical evidence demonstrated that plasma PTX3 but not CRP was associated with flow-mediated dilatation (FMD) (a direct measure of endothelial function); thus, shown among patients with coronary artery disease, PTX3 might be a more potent predictor of endothelial dysfunction compared with CRP [32]. These results were supported with other studies performed in different

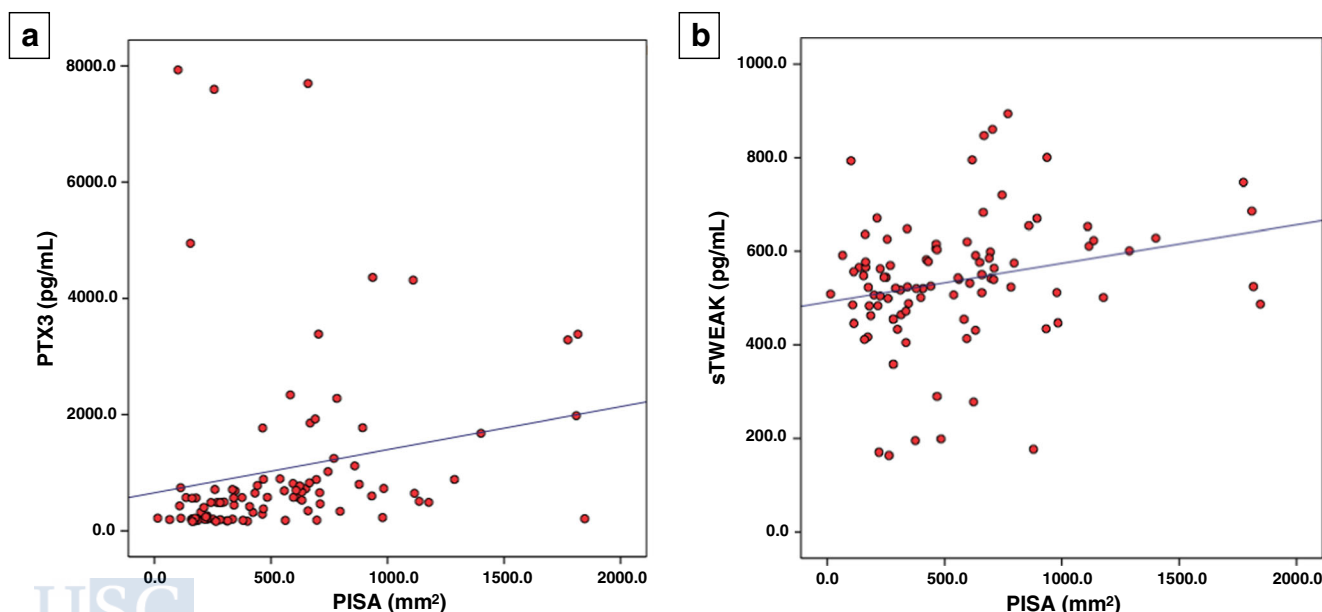


Fig. 1 Correlation between PISA (mm²) and **a** PTX3 serum levels (pg/mL); **b** sTWEAK serum levels (pg/mL)

populations of patients such as chronic kidney disease (CKD) or obstructive sleep apnea syndrome [33, 34]. In migraine, PTX3 is not only overexpressed [12] but also could be a new biomarker for the selection of CM treatment because it is associated with good response to OnabotA [13], giving this molecule important therapeutic implications in chronic migraineurs.

No association was found between PD and its clinical parameters and CRP in our CM patients. Although it is suggested that CRP circulating levels are increased in periodontal patients [35], migraine results are controversial [36–41]. Our results are similar to previous studies where PD was not linked with hs-CRP in chronic migraineurs [14, 15]. Nevertheless, it is worth mentioning that severe periodontal patients had two-fold serum hs-CRP serum levels compared with those without PD (0.4 ± 0.9 mg/dL vs. 0.2 ± 0.3 mg/dL). Another finding from our study is the lack of between complement activation markers (i.e., C3 and C4) and PD among our cohort of patients. C3a and C5a can initiate the local inflammatory response similar to the one occurring in PD, and several complement proteins also are able to activate endothelial and phagocytic cells [6]. Even though a few case series observed that complement activation through the classical pathway could occur in migraineurs showing a decrease of C4 and C5 at headache onset as well as C3 breakdown prior to migraine attack [42, 43], further clinical data demonstrated that complement factors might not be involved in migraine pathophysiology [44–46].

sTWEAK belongs to the TNF superfamily and is expressed in several tissues such as the heart, lung, and brain as well as endothelial and smooth muscle cells [47]. Gingival tissues affected by PD overexpress TWEAK compared with healthy periodontal tissues [48]. In our sample of patients, an association was found between severe PD and sTWEAK. What is more, we observed that a clinical measure of periodontal inflammation (i.e., PISA) was positively correlated with increased serum levels of sTWEAK, and other periodontal parameters such as PPD and CAL confirmed the positive link between PD and sTWEAK. In vitro studies showed that TWEAK has the potential to induce IL-1 β , endothelial adhesion molecules [intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)] in human gingival fibroblasts [49, 50]. TWEAK is indeed linked with vascular endothelial dysfunction. In vitro evidence showed that TWEAK is able to induce E-selectin and ICAM-1 on the cell surface of human umbilical vein endothelial cells [51] and in patients with CKD, sTWEAK correlates with FMD [52]. Regarding migraine, our group showed higher levels of peripheral sTWEAK in migraineurs compares with controls although failed to demonstrate a potential role as predictor of good response to OnabotA [13]. However, sTWEAK is related to increased permeability of the blood–brain barrier (BBB), which is a critical event in the development and progression of neuroinflammatory diseases [53]. For

example, sTWEAK modulates the production and activation of MMP-9, thus, being involved in BBB disruption in human cerebral microvascular endothelial cell cultures [54]. We showed increased production of MMP-9 during migraine attacks [55]. Therefore, it is feasible that sTWEAK might also participate in BBB disruption via MMP-9. Further work in this area is needed to explore this hypothesis.

Several shortcomings have to be acknowledged related to our study. The cross-sectional design does not allow demonstrating causality. Secondly, some medications (e.g., antihypertensives or NSAIDs) and smoking habit may influence PISA values. However, none of these variables significantly differ between groups of PD severity and tobacco consumption was adjusted in all regression models. Thirdly, systemic inflammatory biomarkers measured in the present investigation could be increased in the peripheral blood due to other inflammatory conditions related to CM such as obesity [56]. Nevertheless, the association between severe PD and elevated concentrations of PTX3 and sTWEAK remained significant after adjusting for obesity. Finally, we have to be cautious when interpreting our results owing to the low number of patients with severe PD. In spite of having 19 patients with severe PD in our sample (20.2%), it is almost double the number of subjects that we would expect from the general population (10.8%).

We can conclude, within the limitations inherent to our study, that severe PD was associated with increased circulating levels of PTX3 and sTWEAK in patients with CM. Future studies with larger sample sizes are needed to confirm our preliminary results. In addition, trials investigating the potential role of PD in the chronification process of migraine are also warranted.

Acknowledgements YL holds a Senior Clinical Research Fellowship supported by the UCL Biomedical Research Centre. FC (CP14/00154) and TS (CP12/03121-CPII17/00027) are recipients of a research contract from Miguel Servet Program of Institute of Health Carlos III, Spain. We thank Professor José Castillo for his helpful comments.

Authors' contribution statement To qualify for authorship, we indicate the contribution of each author to this manuscript:

Leira, Y: Design, conceptualization of the study, acquisition of clinical data, analysis, interpretation of the data, drafting, revising the manuscript for intellectual content and final approval of the version to be published

Ameijeira, P; Domínguez C: Acquisition of clinical data, interpretation of the data, drafting, revising the manuscript for intellectual content and final approval of the version to be published

López-Arias, E; Ávila-Gómez, P; Pérez-Mato, M, Sobrino, T; Campos, F: Biochemical analysis, interpretation of the data, drafting, revising the manuscript for intellectual content and final approval of the version to be published

D'Aiuto, F; Leira, R; Blanco, J: Design, conceptualization of the study, interpretation of the data revising the manuscript for intellectual content and final approval of the version to be published

Funding This study was partially supported by grants from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness–Institute of Health Carlos III

(PI15/01578). The funders had no role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical approval All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Informed consent Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

References

- Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Murray CJ, Marcenes W (2014) Global burden of severe periodontitis in 1990–2010: a systematic review and meta-regression. *J Dent Res* 93:1045–1053
- Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, Lozano R, Michaud C, Ezzati M, Shibuya K, Salomon JA, Abdalla S, Aboyans V, Abraham J, Ackerman I, Aggarwal R, Ahn SY, Ali MK, AlMazroa MA, Alvarado M, Anderson HR, Anderson LM, Andrews KG, Atkinson C, Baddour LM, Bahalim AN, Barker-Collo S, Barrero LH, Bartels DH, Basáñez MG, Baxter A, Bell ML, Benjamin EJ, Bennett D, Bernabé E, Bhalla K, Bhandari B, Bikbov B, Abdulhak AB, Birbeck G, Black JA, Blencowe H, Blore JD, Blyth F, Bolliger I, Bonaventure A, Boufous S, Bourne R, Boussinesq M, Braithwaite T, Brayne C, Bridgett L, Brooker S, Brooks P, Brugha TS, Bryan-Hancock C, Bucello C, Buchbinder R, Buckle G, Budke CM, Burch M, Burney P, Burstein R, Calabria B, Campbell B, Canter CE, Carabin H, Carapetis J, Carmona L, Cella C, Charlson F, Chen H, Cheng ATA, Chou D, Chugh SS, Coffeng LE, Colan SD, Colquhoun S, Colson KE, Condon J, Connor MD, Cooper LT, Corriere M, Cortinovis M, de Vaccaro KC, Couser W, Cowie BC, Criqui MH, Cross M, Dabhadkar KC, Dahiya M, Dahodwala N, Damsere-Derry J, Danaei G, Davis A, de Leo D, Degenhardt L, Dellavalle R, Delossantos A, Denenberg J, Derrett S, Des Jarlais DC, Dharmaratne SD, Dherani M, Diaz-Torne C, Dolk H, Dorsey ER, Driscoll T, Duber H, Ebel B, Edmond K, Elbaz A, Ali SE, Erskine H, Erwin PJ, Espindola P, Ewoigbokhan SE, Farzadfar F, Feigin V, Felson DT, Ferrari A, Ferri CP, Fèvre EM, Finucane MM, Flaxman S, Flood L, Foreman K, Forouzanfar MH, Fowkes FGR, Franklin R, Fransen M, Freeman MK, Gabbe BJ, Gabriel SE, Gakidou E, Ganatra HA, Garcia B, Gaspari F, Gillum RF, Gmel G, Gosselin R, Grainger R, Groeger J, Guillemin F, Gunnell D, Gupta R, Haagsma J, Hagan H, Halasa YA, Hall W, Haring D, Haro JM, Harrison JE, Havmoeller R, Hay RJ, Higashi H, Hill C, Hoen B, Hoffman H, Hotez PJ, Hoy D, Huang JJ, Ibeanusi SE, Jacobsen KH, James SL, Jarvis D, Jasrasaria R, Jayaraman S, Johns N, Jonas JB, Karthikeyan G, Kassebaum N, Kawakami N, Keren A, Khoo JP, King CH, Knowlton LM, Kobusingye O, Koranteng A, Krishnamurthi R, Laloo R, Laslett LL, Lathlean T, Leasher JL, Lee YY, Leigh J, Lim SS, Limb E, Lin JK, Lipnick M, Lipshultz SE, Liu W, Loane M, Ohno SL, Lyons R, Ma J, Mabweijano J, MacIntyre MF, Malekzadeh R, Mallinger L, Manivannan S, Marcenes W, March L, Margolis DJ, Marks GB, Marks R, Matsumori A, Matzopoulos R, Mayosi BM, McAnulty JH, McDermott MM, McGill N, McGrath J, Medina-Mora ME, Meltzer M, Memish ZA, Mensah GA, Merriman TR, Meyer AC, Miglioli V, Miller M, Miller TR, Mitchell PB, Mocumbi AO, Moffitt TE, Mokdad AA, Monasta L, Montico M, Moradi-Lakeh M, Moran A, Morawska L, Mori R, Murdoch ME, Mwaniki MK, Naidoo K, Nair MN, Naldi L, Narayan KMV, Nelson PK, Nelson RG, Nevitt MC, Newton CR, Nolte S, Norman P, Norman R, O'Donnell M, O'Hanlon S, Olives C, Omer SB, Ortblad K, Osborne R, Ozgediz D, Page A, Pahari B, Pandian JD, Rivero AP, Patten SB, Pearce N, Padilla RP, Perez-Ruiz F, Perico N, Pesudovs K, Phillips D, Phillips MR, Pierce K, Pion S, Polanczyk GV, Polinder S, Pope CA III, Popova S, Porrini E, Pourmalek F, Prince M, Pullan RL, Ramaiah KD, Ranganathan D, Razavi H, Regan M, Rehm JT, Rein DB, Remuzzi G, Richardson K, Rivara FP, Roberts T, Robinson C, de León FR, Ronfani L, Room R, Rosenfeld LC, Rushton L, Sacco RL, Saha S, Sampson U, Sanchez-Riera L, Sanman E, Schwebel DC, Scott JG, Segui-Gomez M, Shahraz S, Shepard DS, Shin H, Shrivastava R, Silberberg D, Singh D, Singh GM, Singh JA, Singleton J, Sleet DA, Sliwa K, Smith E, Smith JL, Stapelberg NJC, Steer A, Steiner T, Stolk WA, Stovner LJ, Sudfeld C, Syed S, Tamburlini G, Tavakkoli M, Taylor HR, Taylor JA, Taylor WJ, Thomas B, Thomson WM, Thurston GD, Tleyjeh IM, Tonelli M, Towbin JA, Truelsén T, Tsilimbaris MK, Ubeda C, Undurraga EA, van der Werf MJ, van Os J, Vavilala MS, Venketasubramanian N, Wang M, Wang W, Watt K, Weatherall DJ, Weinstock MA, Weintraub R, Weisskopf MG, Weissman MM, White RA, Whiteford H, Wiersma ST, Wilkinson JD, Williams HC, Williams SRM, Witt E, Wolfe F, Woolf AD, Wulf S, Yeh PH, Zaidi AKM, Zheng ZJ, Zonies D, Lopez AD, Murray CJL (2012) Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 380:2163–2196
- Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS) (2013) The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition (beta version). *Cephalalgia* 33:629–808
- Natoli JL, Manack A, Dean B, Butler Q, Turkel CC, Stovner L, Lipton RB (2010) Global prevalence of chronic migraine: a systematic review. *Cephalalgia* 30:599–609
- Bigal ME, Serrano D, Buse D, Scher A, Steart WF, Lipton RB (2008) Acute migraine medications and evolution from episodic to chronic migraine: a longitudinal population-based study. *Headache* 48:1157–1168
- Damgaard C, Holmstrup P, Van Dyke TE, Nielsen CH (2015) The complement system and its role in the pathogenesis of periodontitis: current concepts. *J Periodontol* 50:283–293
- Leira Y, Rodríguez-Yáñez M, Arias S, López-Dequidt I, Campos F, Sobrino T, D'Aiuto F, Castillo J, Blanco J (2018) Periodontitis is associated with systemic inflammation and vascular endothelial dysfunction in lacunar infarct patients. *J Periodontol*. <https://doi.org/10.1002/JPER.18-0560>
- Waeber C, Moskowitz MA (2005) Migraine as an inflammatory disorder. *Neurology* 64:9–15
- Vanmolkot FH, de Hoon JN (2007) Increased C-reactive protein in young adults with migraine. *Cephalalgia* 27:843–846
- Perini F, D'Andrea G, Galloni E et al (2005) Plasma cytokine levels in migraineurs and controls. *Headache* 45:926–931
- Martami F, Razeqhi Jahromi S, Togha M, Ghorbani Z, Seifishahpar M, Saidpour A (2018) The serum level of inflammatory markers in chronic and episodic migraine: a case-control study. *Neurol Sci* 39: 1741–1749. <https://doi.org/10.1007/s10072-018-3493-0>
- Ceylan M, Bayraktutan OF, Becel S, Atis Ö, Yalcin A, Kotan D (2016) Serum levels of pentraxin-3 and other inflammatory biomarkers in migraine: association with migraine characteristics. *Cephalalgia* 36:518–525
- Dominguez C, Vieites-Prado A, Pérez-Mato M, Sobrino T, Rodríguez-Orsorio X, López A, Campos F, Martínez F, Castillo J, Leira R (2018) CGRP and PTX3 as predictors of efficacy of

- Onabotulinumtoxin type A in chronic migraine: an observational study. *Headache* 58:78–87
14. Ameijeira P, Leira Y, Domínguez C, Leira R, Blanco J (2019) Association between periodontitis and chronic migraine: a case-control study. *Odontology* 107:90–95
 15. Leira Y, Ameijeira P, Domínguez C, Leira R, Blanco J (2017) The role of leptin as a biomarker in the relationship between periodontitis and chronic migraine. *J Clin Periodontol* 44:1208–1214
 16. Leira Y, Ameijeira P, Domínguez C, Leira R, Blanco J (2018) High serum procalcitonin levels in patients with periodontitis and chronic migraine. *J Periodontol* 89:1069–1074
 17. Leira Y, Rodríguez-Yañez M, Arias S et al (2019) Periodontitis as a risk indicator and predictor of poor outcome for lacunar infarct. *J Clin Periodontol* 46:20–30
 18. Ainamo J, Bay I (1975) Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* 25:229–235
 19. Eke PI, Page RC, Wei L, Thornton-Evans G, Genco RJ (2012) Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol* 83:1449–1454
 20. Nesse W, Abbas F, van der Ploeg I, Spijkervet FK, Dijkstra PU, Vissink A (2008) Periodontal inflamed surface area: quantifying inflammatory burden. *J Clin Periodontol* 35:668–673
 21. Hujoel PP, White BA, García RI, Listgarten MA (2001) The dentogingival epithelial surface area revisited. *J Periodontol Res* 36:48–55
 22. Leira Y, Seoane J, Blanco M, Rodríguez-Yañez M, Takkouche B, Blanco J, Castillo J (2017) Association between periodontitis and ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Epidemiol* 32:43–53
 23. Leira Y, Domínguez C, Seoane J, Seoane-Romero J, Pias-Peleiteiro JM, Takkouche B, Blanco J, Aldrey JM (2017) Is periodontal disease associated with Alzheimer's disease? A systematic review with meta-analysis. *Neuroepidemiology* 48:21–31
 24. Sheu JJ, Lin HC (2013) Association between multiple sclerosis and chronic periodontitis: a population-based pilot study. *Eur J Neurol* 20:1053–1059
 25. Ameijeira P, Leira Y, Blanco J, Leira R (2017) Periodontal disease as a potential factor of migraine chronification. *Med Hypotheses* 102:94–98
 26. Mantovani A, Garlanda C, Doni A, Bottazzi B (2008) Pentraxins in innate immunity: form C-reactive protein to the long pentraxin PTX3. *J Clin Immunol* 28:1–13
 27. Vilahur G, Badimon L (2015) Biological actions of pentraxins. *Vasc Pharmacol* 73:38–44
 28. Pradeep AR, Kathariya R, Raghavendra NM, Sharma A (2011) Levels of pentraxin-3 in gingival crevicular fluid and plasma in periodontal health and disease. *J Periodontol* 82:734–741
 29. Fujita Y, Ito H, Sekino S, Numabe Y (2012) Correlations between pentraxin 3 or cytokine levels in gingival crevicular and clinical parameters of chronic periodontitis. *Odontology* 100:215–221
 30. Temelli B, Yetkin Ay Z, Savaş HB et al (2018) Circulation levels of acute phase proteins pentraxin 3 and serum amyloid A in atherosclerosis have correlations with periodontal inflamed surface area. *J Appl Oral Sci* 26:1–9
 31. Carrizo A, Lenzi P, Procaccini C et al (2015) Pentraxin 3 induces vascular endothelial dysfunction through a P-selectin/matrix metalloproteinase-1 pathway. *Circulation* 131:1495–1505
 32. Yasunaga T, Ikeda S, Koga S, Nakata T, Yoshida T, Masuda N, Kohno S, Maemura K (2014) Plasma pentraxin 3 is a more potent predictor of endothelial dysfunction than high-sensitive C-reactive protein. *Int Heart J* 55:160–164
 33. Suliman ME, Yilmaz MI, Carrero JJ, Qureshi AR, Saglam M, Ipcioglu OM, Yenicesu M, Tong M, Heimbürger O, Barany P, Alvestrand A, Lindholm B, Stenvinkel P (2008) Novel links between the long pentraxin 3, endothelial dysfunction, and albuminuria in early and advanced chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 3:976–985
 34. Kanbay A, Kaya E, Büyükoğlu et al (2015) Correlation between pentraxin-3 and endothelial dysfunction in obstructive sleep apnea syndrome. *Ann Thorac Med* 10:199–203
 35. Paraskevas S, Huizinga JD, Loos BG (2008) A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol* 35:277–290
 36. Silva FA, Rueda-Clausen CF, Silva SY, Zarruk JG, Guzmán JC, Morillo CA, Vesga B, Pradilla G, Flórez M, López-Jaramillo P (2007) Endothelial function in patients with migraine during the interictal period. *Headache* 47:45–51
 37. Guldiken B, Guldiken S, Demir M et al (2011) Soluble CD40 ligand and prolactin levels in migraine patients during interictal period. *J Headache Pain* 12:355–360
 38. Rockett FC, Perla Ada S, Perry ID, Chaves ML (2013) Cardiovascular disease risk in women with migraine. *J Headache Pain* 14:1–9
 39. Fava A, Pirritano D, Consoli D, Plastino M, Casalnuovo F, Cristofaro S, Colica C, Ermio C, de Bartolo M, Opipari C, Lanzo R, Consoli A, Bosco D (2014) Chronic migraine in women is associated with insulin resistance: a cross-sectional study. *Eur J Neurol* 21:267–272
 40. Welch KM, Brandes AW, Salermo L, Brandes JL (2006) C-reactive protein may be increased in migraine patients who present with complex clinical features. *Headache* 46:197–199
 41. Vanmolkot FH, de Hoon JN (2007) Increased C-reactive protein in young adult patients with migraine. *Cephalalgia* 27:843–846
 42. Lord GD, Duckworth JW, Charlesworth JA (1977) Complement activation in migraine. *Lancet* 1:781–782
 43. Lord GD, Duckworth JW (1977) Immunoglobulin and complement studies in migraine. *Headache* 17:163–168
 44. Behan WM, Behan PO, Durward WF (1981) Complement studies in migraine. *Headache* 21:55–57
 45. Moore TL, Ryan RE Jr, Pohl DA, Roodman ST, Ryan RE Sr (1980) Immunoglobulin, complement, and immune complex levels during a migraine attack. *Headache* 20:9–12
 46. Kemper RH, Meijiller WJ, Korf J, Ter Horst GJ (2001) Migraine and function of the immune system: a meta-analysis of clinical literature published between 1966 and 1999. *Cephalalgia* 21:549–557
 47. Chicheportiche Y, Bourdon PR, Xu H, Hsu YM, Scott H, Hession C, Garcia I, Browning JL (1997) TWEAK, a new secreted ligand in the tumor necrosis factor family that weakly induces apoptosis. *J Biol Chem* 272:32401–32410
 48. Kataria NG, Bartold PM, Dharmapatni AA, Atkins GJ, Holding CA, Haynes DR (2010) Expression of tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) and its receptor, fibroblast growth factor-inducible 14 protein (Fn14), in healthy tissues and in tissues affected by periodontitis. *J Periodontol Res* 45:564–573
 49. Hosokawa Y, Hosokawa I, Ozaki K, Nakae H, Matsuo T (2006) Proinflammatory effects of tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) on human gingival fibroblasts. *Clin Exp Immunol* 146:540–549
 50. Hosokawa Y, Hosokawa I, Shindo S, Ozaki K, Nakae H, Matsuo T (2012) Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis increases CC chemokine ligand 20 production in interleukin 1 β -stimulated human gingival fibroblasts. *Hum Immunol* 73:470–473
 51. Harada N, Nakayama M, Nakano H, Fukuchi Y, Yagita H, Okumura K (2002) Pro-inflammatory effect of TWEAK/Fn14 interaction on human umbilical vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 299:488–493
 52. Yilmaz M, Carrero JJ, Ortiz A et al (2009) Soluble TWEAK plasma levels as a novel biomarker of endothelial function in patients with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 4:1716–1723

53. Boulamery A, Deplat-Jégo S (2017) Regulation of neuroinflammation: what role for the tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis/Fn14 pathway? *Front Immunol* 8:1–7
54. Stephan D, Sbaj O, Wen J et al (2013) TWEAK/Fn14 pathway modulates properties of human microvascular endothelial cell model of blood brain barrier. *J Neuroinflammation* 10:1–14
55. Leira R, Sobrino T, Rodríguez-Yáñez M, Blanco M, Arias S, Castillo J (2007) MMP-9 immunoreactivity in acute migraine. *Headache* 47:698–702
56. Bigal ME, Lipton RB, Holland PR, Goadsby PJ (2007) Obesity, migraine, and chronic migraine: possible mechanisms of interaction. *Neurology* 68:1851–1861

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

ARTÍCULO 6

Leira, Y., Ameijeira, P., Domínguez, C., López-Arias, E., Ávila-Gómez, P., Pérez-Mato, M., Sobrino, T., Campos, F., D'Aiuto, F., Leira, R., Blanco, J., (2019). Periodontal inflammation is related to increased serum calcitonin gene-related

Editorial: Wiley

ISSN: 0022-3492

DOI: 10.1002/JPER.19-0051

Año: 2019

Índices de calidad de la publicación:

Revista: Journal of Periodontology

Factor de impacto en 2019: 3.742

Posición en la categoría dentistry, oral surgery & medicine en 2019: 7/91 Q1

Autores:

Yago Leira ^{a,b,d}, Pablo Ameijeira ^a, Clara Domínguez,^c Esteban López Arias ^e, Paulo Ávila-Gómez ^e, María Pérez Mato ^e, Tomás Sobrino ^e, Francisco Campos ^e, Francesco D'Aiuto^d, Rogelio Leira^c y Juan Blanco ^{a,b}

a) Departamento de Periodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

b) Investigación en Odontología Médico-Quirúrgica (OMEQUI)

Grupo, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, España

c) Departamento de Neurología, Unidad de Cefalea, Laboratorio de Investigación en Neurociencias Clínicas, Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

d) Unidad de Periodoncia, UCL Eastman Dental Institute and Hospital, University College London, 256 Gray's Inn Road, London WC1X 8LD, UK

e) Laboratorio de Investigación en Neurociencias Clínicas, Departamento de Neurología, Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, España

Mi contribución específica: Adquisición de datos clínicos, interpretación de los datos, revisión del manuscrito en cuanto a contenido intelectual y aprobación final de la versión a publicar.

La autorización de la revista/editorial para el uso de la publicación en la tesis.

This is a License Agreement between PABLO AMEIJIRA ("User") and Copyright Clearance Center, Inc. ("CCC") on behalf of the Rightsholder identified in the order details below. The license consists of the order details, the Marketplace Permissions General Terms and Conditions below, and any Rightsholder Terms and Conditions which are included below. All payments must be made in full to CCC in accordance with the Marketplace Permissions General Terms and Conditions below.

Order Date	19-Jun-2024	Type of Use	Republish in a thesis/dissertation
Order License ID	1496197-1	Publisher	AMERICAN ACADEMY OF
ISSN	0022-3492	Portion	PERIODONTOLOGY.
			Chapter/article

LICENSED CONTENT

Publication Title	Journal of periodontology	Rightsholder	John Wiley & Sons - Books
Article Title	Periodontal inflammation is related to increased serum calcitonin gene-related peptide levels in patients with chronic migraine.	Publication Type	Journal
		Start Page	1088
		End Page	1095
Author / Editor	AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY.	Issue	10
		Volume	90
Date	01/01/1930		
Language	English		
Country	United States of America		

REQUEST DETAILS

Portion Type	Chapter/article	Rights Requested	Main product
Page Range(s)	1-8	Distribution	Worldwide
Total Number of Pages	8	Translation	Original language of publication
Format (select all that apply)	Print	Copies for the Disabled?	No
Who Will Republish the Content?	Author of requested content	Minor Editing Privileges?	No
Duration of Use	Life of current edition	Incidental Promotional Use?	No
Lifetime Unit Quantity	Up to 499	Currency	EUR

REQUESTED CONTENT DETAILS

Title, Description or Numeric Reference of the Portion(s)	Periodontal inflammation is related to increased serum calcitonin gene-related peptide levels in patients with chronic migraine.	Title of the Article / Chapter the Portion Is From	Periodontal inflammation is related to increased serum calcitonin gene-related peptide levels in patients with chronic migraine.
Editor of Portion(s)	Leira, Yago; Ameijeira, Pablo; Domínguez, Clara; López-Arias, Esteban; Ávila, Paulo; Pérez-Mato, María; Sobrino, Tomás; Campos, Francisco; D'Aluto, Francesco; Leira, Rogelio; Blanco, Juan	Author of Portion(s)	Leira, Yago; Ameijeira, Pablo; Domínguez, Clara; López-Arias, Esteban; Ávila, Paulo; Pérez-Mato, María; Sobrino, Tomás; Campos, Francisco; D'Aluto, Francesco; Leira, Rogelio; Blanco, Juan
Volume / Edition	90	Publication Date of Portion	2019-10-01
Page or Page Range of Portion	1088-1095		

RIGHTSHOLDER TERMS AND CONDITIONS

No right, license or interest to any trademark, trade name, service mark or other branding ("Marks") of WILEY or its licensors is granted hereunder, and you agree that you shall not assert any such right, license or interest with respect thereto. You may not alter, remove or suppress in any manner any copyright, trademark or other notices displayed by the Wiley material. This Agreement will be void if the Type of Use, Format, Circulation, or Requestor Type was misrepresented during the licensing process. In no instance may the total amount of Wiley Materials used in any Main Product, Compilation or Collective work comprise more than 5% (if figures/tables) or 15% (if full articles/chapters) of the (entirety of the) Main Product, Compilation or Collective Work. Some titles may be available under an Open Access license. It is the Licensors' responsibility to identify the type of Open Access license on which the requested material was published, and comply fully with the terms of that license for the type of use specified Further details can be found on Wiley Online Library <http://olabout.wiley.com/WileyCDA/Section/id-410895.html>.



ORIGINAL ARTICLE

Periodontal inflammation is related to increased serum calcitonin gene-related peptide levels in patients with chronic migraine

Yago Leira^{1,2,3} | Pablo Ameijeira² | Clara Domínguez⁴ | Esteban López-Arias⁵ |
Paulo Ávila-Gómez⁵ | María Pérez-Mato⁵ | Tomás Sobrino⁵ | Francisco Campos⁵ |
Francesco D'Aiuto¹ | Rogelio Leira^{4,5} | Juan Blanco^{2,3}

¹Periodontology Unit, UCL Eastman Dental Institute and Hospital, University College London, London, UK

²Periodontology Unit, Faculty of Medicine and Odontology, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain

³Medical-Surgical Dentistry (OMEQUI) Research Group, Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, Spain

⁴Department of Neurology, Headache Unit, University Clinical Hospital, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain

⁵Clinical Neurosciences Research Laboratory, Department of Neurology, Clinical University Hospital, Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, Spain

Correspondence

Dr. Yago Leira, Periodontology Unit – UCL Eastman Dental Institute and Hospital, University College London, 256 Gray's Inn Road, London WC1X8LD UK.
Email: y.leira@ucl.ac.uk

Abstract

Background: Recently, a relationship was found between periodontitis and chronic migraine. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) is a key element in migraine pathophysiology. However, no information exists of the potential association between periodontal inflammation and CGRP in chronic migraine. The aim of the study was, therefore, to investigate whether there is a link between periodontitis and peripheral levels of CGRP in a cohort of patients with chronic migraine.

Methods: We included 102 chronic migraineurs and 77 age- and sex-matched individuals free of headache/migraine. Full-mouth periodontal parameters were recorded and the periodontal inflamed surface area (PISA) was calculated to quantify the periodontal inflammatory status for each participant. Sociodemographic data and comorbidities were assessed by means of a standard questionnaire. We collected blood samples and serum concentrations were done for CGRP, interleukin (IL)-6 and IL-10.

Results: In the chronic migraine group, patients with periodontitis had greater levels of serum CGRP (19.7 ± 6.5 versus 15.3 ± 6.2 pg/mL, $P < 0.0001$) and IL-6 (15.1 ± 9.2 versus 9.6 ± 6.3 pg/mL, $P < 0.0001$) while non-significant differences were observed with IL-10 (2.0 ± 1.0 versus 2.8 ± 1.5 pg/mL, $P = 0.675$) concentrations than those without periodontitis. PISA was independently associated with CGRP in patients with chronic migraine ($\beta = 0.003$; 95% confidence interval: 0.001 to 0.006, $P = 0.031$). PISA correlated positively with CGRP ($r = 0.236$; $P = 0.017$) and IL-6 ($r = 0.262$; $P = 0.008$) in chronic migraine.

Conclusions: Periodontal inflammation is associated with increased circulating levels of CGRP in chronic migraineurs. Elucidating the exact mechanisms through which periodontitis and CGRP are linked in these patients deserves further investigation.

KEYWORDS

calcitonin gene-related peptide, headache, inflammation, migraine disorders, periodontitis



1 | INTRODUCTION

Migraine is a common neurovascular disorder characterized by severe headache often throbbing and unilateral.¹ Migraine attacks are usually accompanied with nausea, vomiting, photophobia, and phonophobia.¹ Although most migraineurs have episodic migraine (<15 days of head pain/month), a subgroup of migraineurs suffers from chronic migraine (>15 days of head pain/month at least for 3 months).² The process by which a patient develops chronic migraine due to gradual increase of headache frequency over months or years is called chronification and yearly occurs in about 2.5% of patients with migraine.³ Despite the fact that chronic migraine is not a fatal disease, it has a substantial impact on patient's quality of life since it is considered as one of the most disabling diseases worldwide.⁴

Calcitonin gene-related peptide (CGRP) is a key element in migraine pathophysiology.⁵ This vasoactive neuropeptide expressed in central and peripheral nervous systems modulates nociceptive input and mediates neurogenic inflammation through activation of the trigeminovascular system.⁶ Indeed, CGRP is released inducing vasodilatation around cerebral vessels leading to migraine pain clinically seen as pulsating.⁵ It has been suggested that repeated activation of trigeminovascular system might produce migraine chronification owing to central pain sensitization.⁷ Levels of CGRP are increased in external jugular blood⁸ during migraine attacks (ictal) and in peripheral blood⁹ both ictal and interictal phase of migraine (headache-free periods).⁹ Particularly, it has been shown that chronic migraineurs have interictal elevated circulating levels of CGRP.¹⁰ For instance, onabotulinumtoxin A (OnabotA), a common treatment option for chronic migraine, is capable of reducing interictal CGRP serum levels¹¹ and it could be a predictor of good response to this therapy.^{12,13}

Periodontitis, a highly prevalent disease¹⁴ is associated with systemic inflammation and vascular changes¹⁵ and has been recently associated with chronic migraine.¹⁶ In this case-control study, patients with periodontitis were more likely to have chronic migraine than those without periodontitis (odds ratio [OR] = 2.4, 95% confidence interval [CI]: 1.2 to 4.7).¹⁶ In addition, few mechanistic reports suggested that periodontitis could increase circulating levels of proinflammatory markers such as leptin¹⁷ or procalcitonin¹⁸ in chronic migraine patients, hence, hypothesizing a possible role of periodontitis as a chronifying factor of migraine.¹⁹ Nevertheless, studies measuring the key neuropeptide CGRP to evaluate the impact of periodontitis on chronic migraine are still missing. Experimental studies showed that lipopolysaccharide, which is an endotoxin from Gram-negative bacteria such as those linked with periodontitis, is able to release CGRP and this process is mediated by proinflammatory cytokines.^{20,21} Thus, besides its role on neurogenic inflammation, CGRP can be also involved in immune response after infectious stimulus.²²

However, to the best of our knowledge, whether periodontitis could contribute to elevated levels of CGRP in chronic migraine patients has not yet been explored. Therefore, we aimed to investigate the relationship between periodontitis and CGRP in chronic migraine.

2 | MATERIALS AND METHODS

In this case-control study with a cross-sectional biochemical analysis we included 102 patients with chronic migraine (mean age 47.0 ± 10.2 ; 98.0% females) and 77 age- and sex-matched healthy controls without neurological disorders (mean age 47.5 ± 8.9 ; 97.4% females). Neurological examination was performed by a senior neurologist (RL). Chronic migraine was defined according to the International Classification of Headache Disorders 3rd edition criteria.² Therefore, patients were diagnosed with chronic migraine if they presented headache occurring on ≥ 15 days per month for >3 months. In addition, we registered time of evolution of chronic migraine (in months), intensity of headache measured with the visual analogue scale, number of days with headaches per month, duration of migraine attacks (in hours), presence of aura and allodynia. Preventives and symptomatic drugs for migraine were also recorded along with analgesic overuse. Exclusion criteria were: 1) underage; 2) < 15 teeth (excluding 3° molars); 3) patients who had received periodontal therapy in the last year; 4) consumption of systemic antibiotics within 3 months before periodontal assessment; 5) severe systemic diseases; and 6) pregnancy or lactation. The study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (2008) and approved by the Ethics Committee of the Serviço Galego de Saúde (ID: 2016/079) as well as following the STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology) guidelines.²³ Written informed consent was obtained from each patient or their relatives after full explanation of the periodontal assessment. Demographic and relevant medical information were registered by means of a structured questionnaire for both cases and controls.

Periodontal examination protocol was recently reported.^{16,24} In brief, two calibrated periodontists (YL and PA) masked to patient medical history recorded full-mouth periodontal measurements from each participant including probing depth (PD), attachment loss (AL), gingival recession (Rec), full-mouth plaque score (FMPS), and full-mouth bleeding score (FMBS).²⁵ The presence of periodontitis was established when ≥ 2 interproximal sites with $AL \geq 3$ mm and ≥ 2 interproximal sites with $PD \geq 4$ mm (not on the same tooth) or one site with $PD \geq 5$ mm was present.²⁶ Patients were classified into three groups according to the severity of the disease into: 1) Mild periodontitis: those participants with ≥ 2 interproximal sites with $AL \geq 3$ mm and



≥ 2 interproximal sites with PD ≥ 4 mm (not on the same tooth) or one site with PD ≥ 5 mm; 2) Moderate periodontitis: defined as ≥ 2 interproximal sites with AL ≥ 4 mm (not on the same tooth) or ≥ 2 interproximal sites with PD ≥ 5 mm, also not on the same tooth; and 3) Severe periodontitis: presence of ≥ 2 interproximal sites with AL ≥ 6 mm (not on the same tooth) and ≥ 1 interproximal site with PD ≥ 5 mm.²⁶ Additionally, we calculated a measure of periodontitis activity, the periodontal inflamed surface area (PISA), which reflects the surface area of bleeding pocket epithelium in mm².²⁷ PISA was calculated as follows: 1) With the mean clinical attachment level and Rec we obtained the periodontal epithelial surface area (PESA) for each tooth;²⁸ 2) The PESA value multiplied by the number of sites with BOP results in the PISA for a specific tooth; and 3) Full-mouth PISA is calculated for each participant (in mm²) by the sum of the PISAs for each tooth.

2.1 | Laboratory tests

Fasted samples were obtained in the morning in a pain free period (at least 12 hours from the last migraine attack). Participants had not consumed anti-inflammatory or analgesic medication in the previous 72 hours. Briefly, 2 mL of venous blood was collected from the antecubital fossa by venepuncture using a 20-gauge needle with a 2-mL syringe. Blood samples were allowed to clot at room temperature and after 1 hour, serum was separated from blood by centrifugation (15 minutes at 3,000 g) and 0.5 mL of extracted serum was immediately transferred to 1.5-mL aliquots. Each aliquot was stored at -80°C until the time of analysis. Serum levels of all biomarkers were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique following manufacturer's instructions. Interleukin (IL)-6 ELISA kit* minimum assay sensitivity was 1.6 pg/mL with an intra- and inter-assay coefficient of variation (CV) of 5.0% and 6.8%, respectively. IL-10 ELISA kit† minimum assay sensitivity was 2.0 pg/mL with an intra- and inter-assay CV of 4.1% and 6.2%, respectively. CGRP ELISA kit‡ minimum assay sensitivity was 5.3 pg/mL with an intra- and inter-assay CV of 5.9% and 7.4%, respectively. Determinations were done in the Clinical Neurosciences Research Laboratory, which was masked to clinical data. Clinical investigators were unaware of the laboratory results until the study had ended.

2.2 | Statistical analysis

Mean values and standard deviation were calculated for continuous variables, after the method of Kolmogorov-Smirnov

was applied to confirm that the data were sampled from a normal distribution. Categorical data were reported as percentages (%) and compared by χ^2 test. Independent t test and one-way analysis of variance was used to compare the mean values of biomarkers among groups. Additionally, Bonferroni post-hoc tests for multiple comparisons between groups were used. Non-normally distributed variables were reported as median (interquartile range) and compared applying Mann-Whitney U test. Non-parametric correlation analyses between PISA and biomarkers among chronic migraine patients were performed using Spearman rank correlation coefficient. Linear regression analysis was done to test associations between periodontitis, PISA and CGRP levels. Similarly, we also evaluated the link between different grades of periodontitis and CGRP using a generalized linear model. All models were adjusted for potential confounding factors (i.e. age, sex, obesity, depression, and low education level).¹⁶ All tests were performed at a significance level of $\alpha = 0.05$. Statistical analyses were performed with data analysis software.[§]

3 | RESULTS

Patients with chronic migraine had more frequently a history of depression (41.2% versus 9.1%, $P < 0.0001$), lower education level (48.0% versus 26.0%, $P = 0.003$), and obesity (31.4% versus 5.2%, $P < 0.0001$) than controls (Table 1). The prevalence of periodontitis was higher in chronic migraineurs compared with the control group (58.5% versus 33.8%, $P = 0.001$). Indeed, continuous measures of the extent and severity of periodontitis were also significantly higher in chronic migraine than controls such as average of periodontal pockets with PD ≥ 6 mm (10.4 ± 15.9 versus 1.6 ± 4.1 , $P < 0.0001$) and AL ≥ 5 mm (30.7 ± 27.5 versus 8.1 ± 10.0 , $P < 0.0001$) (Table 1). In addition, increased levels of active periodontitis measured by the PISA method were more present in the chronic migraine group 436.9 (244.2 , 698.7) mm² versus 43.2 (19.9 , 204.4) mm² ($P < 0.0001$) (Fig. 1). Migraine-related characteristics are shown in Table 2.

Circulating levels of IL-6 and CGRP were significantly elevated in chronic migraine compared with controls (12.8 ± 8.6 versus 5.7 ± 5.4 pg/mL, $P < 0.0001$ and 17.9 ± 6.7 versus 6.8 ± 4.2 pg/mL, $P < 0.0001$; respectively). Conversely, chronic migraine patients had significantly lower IL-10 serum levels than non-migraine individuals (2.4 ± 1.3 versus 4.7 ± 3.4 pg/mL, $P < 0.0001$). Subgroup analysis according to periodontal status revealed that among patients with chronic migraine, those with periodontitis had significantly higher IL-6 serum levels compared with those without periodontitis

* BioLegend, San Diego, CA.

† BioLegend, San Diego, CA.

‡ Cloud-Clone, Katy, TX.

§ IBM SPSS Statistics 20.0 software for Mac, SPSS, Chicago, IL.

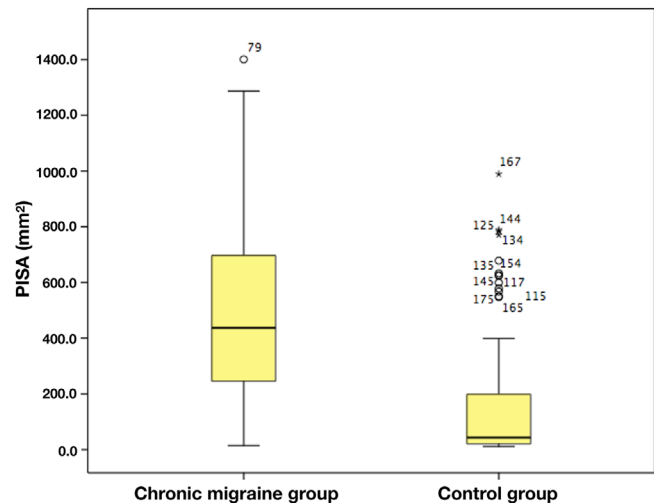
TABLE 1 Baseline characteristics and periodontal conditions

Variables	Chronic migraineurs (n = 102)	Controls (n = 77)	P value
Hypertension, n (%)	12 (11.8%)	5 (6.5%)	0.234
Diabetes mellitus, n (%)	1 (1.0%)	2 (2.6%)	0.404
Hypercholesterolemia, n (%)	14 (13.7%)	8 (10.4%)	0.501
Bruxism, n (%)	12 (11.8%)	9 (11.7%)	0.987
Depression, n (%)	42 (41.2%)	7 (9.1%)	<0.0001
Current smoker, n (%)	17 (16.7%)	11 (14.3%)	0.664
Stress, n (%)	22 (21.6%)	12 (15.6%)	0.312
Fibromyalgia, n (%)	12 (11.8%)	4 (5.2%)	0.127
Obesity, n (%)*	32 (31.4%)	4 (5.2%)	<0.0001
Low education level, n (%)	49 (48.0%)	20 (26.0%)	0.003
FMPS (%)	38.2 ± 22.2	20.9 ± 2.8	<0.0001
FMBS (%)	52.3 ± 26.8	22.1 ± 6.9	<0.0001
Severity of periodontitis, n (%)			<0.0001
Mild	14 (13.7%)	13 (16.9%)	
Moderate	26 (25.5%)	12 (15.6%)	
Severe	21 (20.6%)	1 (1.3%)	
PD measures			
Mean PD (mm)	3.1 ± 0.5	2.4 ± 0.4	<0.0001
Number of sites/mouth PD ≥ 6 mm	10.4 ± 15.9	1.6 ± 4.1	<0.0001
Rec (mm)	0.5 ± 0.4	0.2 ± 0.1	<0.0001
AL measures			
Mean AL (mm)	3.6 ± 0.8	2.7 ± 0.5	<0.0001
Number of sites/mouth AL ≥ 5 mm	30.7 ± 27.5	8.1 ± 10.0	<0.0001
Number of present teeth	24.5 ± 3.1	26.0 ± 1.5	<0.0001

*Body mass index ≥ 30 kg/m².

(15.1 ± 9.2 versus 9.6 ± 6.3 pg/mL, $P < 0.0001$). Control participants with periodontitis also showed elevated levels of IL-6 compared with non-periodontitis controls (10.6 ± 6.5 versus 3.2 ± 2.0 pg/mL, $P < 0.0001$). Similarly, Figure 2 depicts that the presence periodontitis was linked with increased CGRP in both chronic migraine patients and controls. IL-10 concentrations, on contrary, were significantly increased in controls without periodontitis (5.3 ± 3.9 pg/mL) than those with periodontitis (3.6 ± 1.7 pg/mL, $P = 0.030$) as well as compared with chronic migraine patients both with (2.0 ± 1.0 pg/mL, $P < 0.001$) and without periodontitis (2.8 ± 1.5 pg/mL, $P < 0.001$).

Periodontitis as a categorical variable was independently associated with increased serum levels of CGRP in patients with chronic migraine, after adjusting for age, gender, depression, obesity and low education level ($\beta = 4.354$;

**FIGURE 1** PISA values in patients with and without chronic migraine**TABLE 2** Summary of migraine information and treatment among chronic migraine patients (n = 102)

Variables	
Time of chronic migraine evolution (months)	25.8 ± 13.8
Intensity of headache	8.2 ± 1.4
Number days with headache/month	18.8 ± 5.7
Aura, n (%)	41 (40.2%)
Allodynia, n (%)	58 (63.7%)
Duration of migraine attack	
< 12 hours	7 (6.9%)
12 to 24 hours	20 (19.6%)
>24 hours	75 (73.5%)
Analgesic overuse, n (%)	20 (21.3%)
Preventive treatment in the last 3 months, n (%)	
Topiramate	28 (27.7%)
β-blockers	39 (38.2%)
Amitriptyline	41 (40.2%)
Flunarizine	18 (17.6%)
Onabotulinumtoxin A	70 (68.6%)
Antihypertensives	16 (15.7%)
Migraine acute treatment, n (%)	
Triptans	73 (71.6%)
Non-steroidal anti-inflammatory drugs	88 (86.3%)
Opioids	17 (16.7%)
Ergotics	102 (100%)

95% CI: 1.685 to 7.024, $P < 0.0001$). When severity of periodontitis was analyzed, mild ($\beta = 4.662$; 95% CI: 0.929–8.395, $P = 0.014$) and severe periodontitis ($\beta = 7.366$; 95% CI: 3.990 to 10.743, $P < 0.0001$) were associated with CGRP. In contrary, no significant association was found with

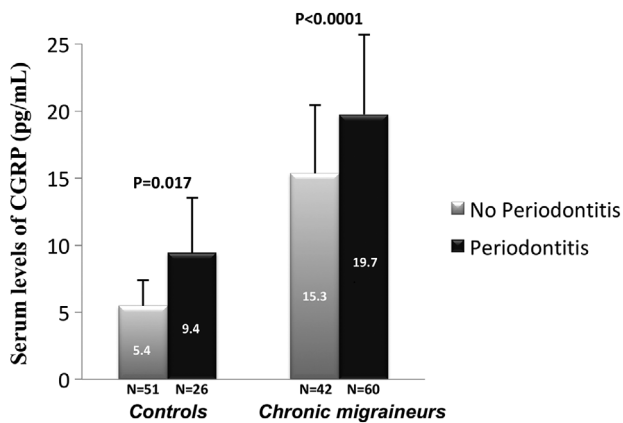


FIGURE 2 CGRP serum levels of patients with and without chronic migraine according to periodontal status (expressed as mean and SD)

moderate periodontitis ($\beta = 1.848$; 95% CI: -1.182 to 4.878 , $P = 0.232$). PISA was also significantly associated with CGRP independent of same confounders ($\beta = 0.003$; 95% CI: 0.001 to 0.006 , $P = 0.031$). Indeed, PISA was positively correlated with serum levels of CGRP ($r = 0.236$; $P = 0.017$) and IL-6 ($r = 0.262$; $P = 0.008$) (Figs. 3A and 3B). A negative correlation was found with PISA and IL-10 concentrations in serum ($r = -0.225$; $P = 0.023$). IL-6 and CGRP were also correlated ($r = 0.417$; $P < 0.0001$).

4 | DISCUSSION

We found that periodontal inflammation (i.e., PISA) was associated with increased circulating levels of CGRP in

chronic migraineurs and this relationship could be mediated by enhanced systemic inflammation posed by periodontitis. To the best of our knowledge, this is the first report aiming to investigate the link between periodontitis and CGRP among chronic migraine patients.

Inflammation is present in migraine.²⁹ Previously, our group showed that chronic migraineurs had elevated IL-6 levels and lower IL-10 levels compared with individuals without headache.¹³ We confirmed this observation in our cohort of participants, in which the chronic migraine group presented more IL-6 and less IL-10 in comparison with the control group. Recent evidence suggests that patients with periodontitis are more likely to have chronic migraine.¹⁶ In our study, we corroborated that periodontitis is common in chronic migraine. Additionally, the median values of a measure of periodontal inflammation and disease activity, the PISA method, were significantly higher in chronic migraineurs than in controls. In fact, the periodontal ulcerated and inflamed epithelium was 4.3 cm^2 in the chronic migraine group versus 0.4 cm^2 in the control group. Based on this, it is speculated that the biological plausibility behind the potential association between periodontitis and chronic migraine is mainly due to the transient entrance of inflammatory mediators into the bloodstream such as leptin or procalcitonin^{17,18} that could travel to cerebral blood vessels exacerbating migraine attacks, which in turn could lead to the chronification process of the disease. In the present study we observed that chronic migraineurs with periodontitis had significantly higher serum levels of IL-6 compared with those without periodontitis and that there was a linear positive correlation between PISA and IL-6, thus, confirming again the link between periodontitis, systemic inflammation,

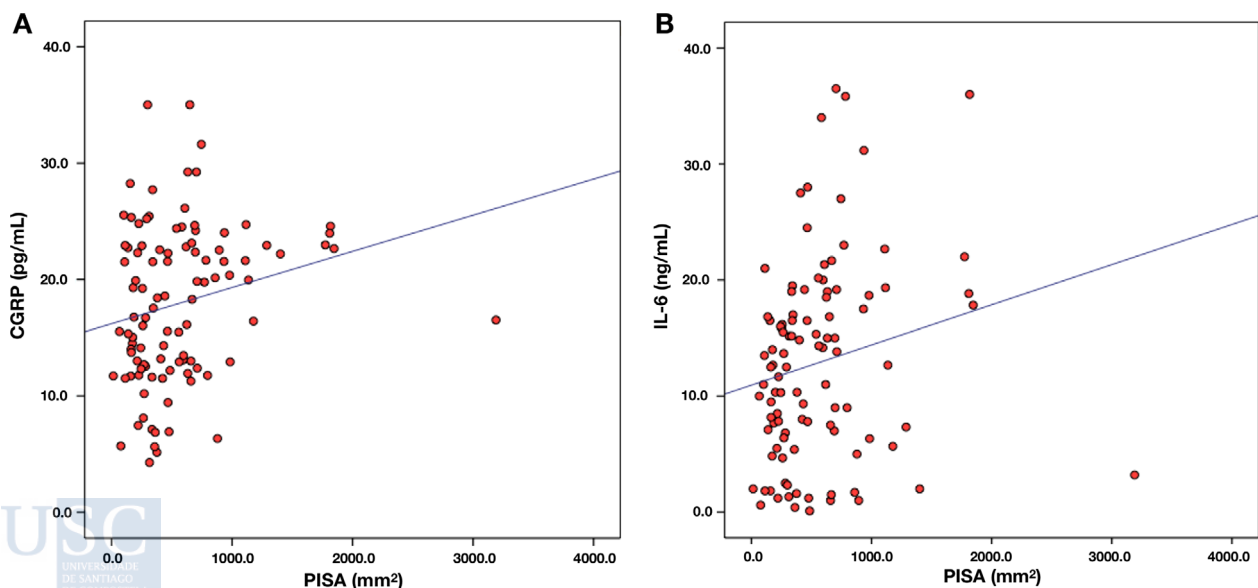


FIGURE 3 Correlation between PISA and A) CGRP (pg/mL); B) IL-6 (ng/mL)



and chronic migraine. On contrary and as expected owing to its anti-inflammatory nature, IL-10 circulating concentrations were lower in chronic migraine than in the control group. Furthermore, patients with both conditions (chronic migraine and periodontitis) had also lower levels of IL-10 in comparison with those with chronic migraine and without periodontitis.

It has been shown that CGRP has a causal role in migraine attacks⁵ and studies showed that this biomarker could be a good predictor of efficacy to prevent migraine attacks in chronic migraineurs.^{11,12} Release of peripheral CGRP causes vasodilation and alters the trigeminovascular system microenvironment resulting in more CGRP releases and, therefore, increasing the odds of having more frequent migraine attacks. Evidence from human experiments demonstrated that intravenous injections of CGRP could trigger migraine-like attacks in migraineurs but not in healthy individuals.^{5,30} In addition, trials using selective non-peptide CGRP receptor antagonists provided more proof of the causative role of CGRP in migraine pathogenesis.³¹ Firstly, we observed that serum levels of CGRP were significantly higher in the chronic migraine group than those without chronic migraine. These findings are in accordance with previous studies where CGRP is considered an important biomarker of chronic migraine.¹⁰ However, negative results were also published where interictal CGRP levels in peripheral blood did not differ between chronic migraineurs and controls.³² Secondly, those patients with chronic migraine and periodontitis presented increased CGRP levels compared with individuals with chronic migraine and a healthy periodontium. Thirdly, among the control group, periodontal patients had higher levels of serum CGRP in comparison with those without periodontitis. Contrary to these results, Haririan and co-workers observed no differences in CGRP concentrations measured in both serum and saliva of patients with periodontitis and without periodontitis.³³ However, another study showed that periodontally healthy sites showed increased gingival crevicular fluid concentrations of CGRP compared with sites with gingivitis or periodontitis (no detection of CGRP).³⁴ A key finding from our study is that periodontitis and in particular the PISA were significantly associated with elevated peripheral levels of CGRP in patients with chronic migraine. This could be explained by the vasodilatory effect produced by periodontal inflammation that might increase the net rate of CGRP removal from the gums and elevate CGRP systemically, thus, promoting migraine chronification due to an increase in the number of headaches. Nevertheless, it could also be feasible that CGRP initiates the inflammatory process in the gingiva after microbial challenge in periodontally susceptible individuals. Hence, further studies assessing the risk of chronic migraineurs for having periodontitis are warranted.

Another possibility is that the association observed between periodontal inflammation and CGRP could be indeed mediated by a systemic inflammatory response.

In our sample of chronic migraineurs, we found a linear correlation between PISA, IL-6 and CGRP. This is supported by experimental data, which showed that lipopolysaccharide from bacteria similar to those involved in the pathogenesis of periodontitis produced cytokines that facilitated CGRP release and sensitized the terminals via regulation of the peripheral releasing function of primary sensory afferents.²⁰ Due to the cross-sectional nature of our investigation, we cannot rule out the hypothesis that CGRP stimulates IL-6 production. It has been shown that CGRP is able to produce proinflammatory cytokines from lymphocytes and macrophages after lipopolysaccharide infection.^{21,35} It would be of great interest whether an enhanced inflammatory response contributes to release of CGRP, or is CGRP one of the contributors to increased systemic inflammation in patients with chronic migraine.

We recognize some limitations regarding the present study. Although the aforementioned cross-sectional design does not allow us to analyze causality, our results are in line with previous studies where periodontitis acts as a systemic inflammatory stressor in chronic migraine patients. Some medications (e.g., non-steroidal anti-inflammatory drugs [NSAIDs], OnabotA, or triptans) as well as conditions like obesity can either decrease or increase CGRP circulating levels. However, CGRP concentrations were still significantly higher in chronic migraine than controls. In our regression models, after adjusting for obesity we found a significant association between periodontitis and CGRP in chronic migraine. Similarly, a number of factors related to either reduction or increase of gingival bleeding/inflammation such as tobacco consumption and medications (e.g., NSAIDs, OnabotA, or antihypertensives) together with diseases such as diabetes, obesity, or hypertension can influence the PISA scores.

5 | CONCLUSIONS

Our results indicate that periodontal inflammation is linked with higher serum levels of CGRP in patients with chronic migraine and this association could be mediated indeed by a systemic inflammatory state due to periodontitis. Longitudinal data are needed to confirm our findings. Experimental studies are also warranted to investigate the biological mechanisms underlying the relationship between periodontitis, CGRP, systemic inflammation, and chronic migraine.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was partially supported by grants from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness – Institute of Health Carlos III, Madrid, Spain (PI15/01578). The funders had no role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.



Dr. Yago Leira, Dr. Tomás Sobrino and Dr. Francisco Campos hold Senior Clinical Research Fellowship supported by the UCL Biomedical Research Centre (London, UK). Dr. Tomás Sobrino (CP117/00027) and Dr. Francisco Campos (CP14/00154) are recipients of research contracts from Miguel Servet Program of Institute of Health Carlos III (Madrid, Spain). The funders had no role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. The authors report no conflicts of interest related to this study.

REFERENCES

- Goadsby PJ, Lipton RB, Ferrari MD. Migraine—current understanding and treatment. *N Engl J Med*. 2002;346:257–270.
- Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS). The international classification of headache disorders, 3rd edition (beta version). *Cephalalgia* 2013;33:629–808.
- Bigal ME, Serrano D, Buse D, Scher A, Stewart WF, Lipton RB. Acute migraine medications and evolution from episodic to chronic migraine: a longitudinal population-based study. *Headache*. 2008;48:1157–1168.
- GBD 2016 Headache Collaborators. Global, regional, and national burden of migraine and tension-type headache, 1990–2016: a systematic analysis for the global burden of disease study 2016. *Lancet Neurol* 2018;17:954–976.
- Lassen LH, Haderslev PA, Jacobsen VB, Iversen HK, Sperling B, Olesen J. CGRP may play a causative role in migraine. *Cephalalgia*. 2002;22:54–61.
- Arulmani U, Maassenvandenbrink A, Villalón CM, Saxena PR. Calcitonin gene-related peptide and its role in migraine pathophysiology. *Eur J Pharmacol*. 2004;500:315–330.
- Ramón C, Cernuda-Morollón E, Pascual J. Calcitonin gene-related peptide in peripheral blood as a biomarker for migraine. *Curr Opin Neurol*. 2017;30:281–286.
- Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol*. 1990;28:183–187.
- Rodríguez-Osorio X, Sobrino T, Brea D, Martínez F, Castillo J, Leira R. Endothelial progenitor cells: a new key for endothelial dysfunction in migraine. *Neurology*. 2012;79:474–479.
- Cernuda-Morollón E, Larrosa D, Ramón C, Vega J, Martínez-Camblor P, Pascual J. Interictal increase of CGRP levels in peripheral blood as a biomarker for chronic migraine. *Neurology*. 2013;81:1191–1196.
- Cernuda-Morollón E, Ramón C, Martínez-Camblor P, Serrano-Pertierra E, Larrosa D, Pascual J. OnabotulinumtoxinA decreases interictal CGRP plasma levels in patients with chronic migraine. *Pain*. 2015;156:820–824.
- Cernuda-Morollón E, Martínez-Camblor P, Ramón C, Larrosa D, Serrano-Pertierra E, Pascual J. CGRP and VIP levels as predictors of efficacy of Onabotulinumtoxin type A in chronic migraine. *Headache*. 2014;54:987–995.
- Domínguez C, Vieites-Prado A, Pérez-Mato M, et al. CGRP and PTX3 as predictors of efficacy of Onabotulinumtoxin type A in chronic migraine: an observational study. *Headache*. 2018;58:78–87.
- Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:1–14.
- Amar S, Gokce N, Morgan S, Loukideli M, Van Dyke TE, Vita JA. Periodontal disease is associated with brachial artery endothelial dysfunction and systemic inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:1245–1249.
- Ameijeira P, Leira Y, Domínguez C, Leira R, Blanco J. Association between periodontitis and chronic migraine: a case-control study. *Odontology*. 2019;107:90–95.
- Leira Y, Ameijeira P, Domínguez C, Leira R, Blanco J. The role of leptin as a biomarker in the relationship between periodontitis and chronic migraine. *J Clin Periodontol*. 2017;44:1208–1214.
- Leira Y, Ameijeira P, Domínguez C, Leira R, Blanco J. High serum procalcitonin levels in patients with periodontitis and chronic migraine. *J Periodontol*. 2018;89:1069–1074.
- Ameijeira P, Leira Y, Blanco J, Leira R. Periodontal disease as a potential factor of migraine chronification. *Med Hypotheses*. 2017;102:94–98.
- Hua XY, Chen P, Fox A, Myers RR. Involvement of cytokines in lipopolysaccharide-induced facilitation of CGRP release from capsaicin-sensitive nerves in the trachea: studies with interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha. *J Neurosci*. 1996;16:4742–4748.
- Cuesta MC, Quintero L, Pons H, Suarez-Roca H. Substance P and calcitonin gene-related peptide increase IL-1 beta, IL-6 and TNF alpha secretion from human peripheral blood mononuclear cells. *Neurochem Int*. 2002;40:301–306.
- Holzmann B. Modulation of immune responses by the neuropeptide CGRP. *Amino Acids*. 2013;45:1–7.
- Von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP, STROBE Initiative. The strengthening the reporting of observational studies in epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol*. 2008;61:344–349.
- Leira Y, Rodríguez-Yáñez M, Arias S, et al. Periodontitis as a risk indicator and predictor of poor outcome for lacunar infarct. *J Clin Periodontol*. 2019;46:20–30.
- Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*. 1975;25:229–235.
- Eke PI, Page RC, Wei L, Thornton-Evans G, Genco RJ. Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol*. 2012;83:1449–1454.
- Nesse W, Abbas F, van der Ploeg I, Spijkervet FK, Dijkstra PU, Vissink A. Periodontal inflamed surface area: quantifying inflammatory burden. *J Clin Periodontol*. 2008;35:668–673.
- Hujoel PP, White BA, García RI, Listgarten MA. The dentogingival epithelial surface area revisited. *J Periodontol Res*. 2001;36:48–55.
- Waeber C, Moskowitz MA. Migraine as an inflammatory disorder. *Neurology*. 2005;64:9–15.
- Hansen JM, Hauge AW, Olesen J, Ashina M. Calcitonin gene-related peptide triggers migraine-like attacks in patients with migraine with aura. *Cephalalgia*. 2002;22:54–61.
- Karsan N, Goadsby PJ. CGRP mechanism antagonists and migraine management. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2015;15:1–9.
- Lee MJ, Lee S-Y, Cho S, Kang E-S, Chung C-S. Feasibility of serum CGRP measurement as a biomarker of chronic migraine: a critical reappraisal. *J Headache Pain*. 2018;19:1–8.



33. Haririan H, Andrukhov O, Böttcher M, et al. Salivary neuropeptides, stress and periodontitis. *J Periodontol*. 2017;89:9–18.
34. Lundy FT, Shaw C, McKinnell J, Lamey PJ, Linden GJ. Calcitonin gene-related in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease. *J Clin Periodontol*. 1999;26:212–216.
35. Tang Y, Feng Y, Wang X. Calcitonin gene-related peptide potentiates LPS-induced IL-6 release from mouse peritoneal macrophages. *J Neuroimmunol*. 1998;84:207–212.

How to cite this article: Leira Y, Ameijeira P, Domínguez C, et al. Periodontal inflammation is related to increased serum calcitonin gene-related peptide levels in patients with chronic migraine. *J Periodontol*. 2019;90:1088–1095. <https://doi.org/10.1002/JPER.19-0051>

ANEXO (AUTORIZACIONES)

AUTORIZACIONES DE FIGURAS.

FIGURA 2

This is a License Agreement between PABLO AMEJEIRA ("User") and Copyright Clearance Center, Inc. ("CCC") on behalf of the Rightsholder identified in the order details below. The license consists of the order details, the Marketplace Permissions General Terms and Conditions below, and any Rightsholder Terms and Conditions which are included below. All payments must be made in full to CCC in accordance with the Marketplace Permissions General Terms and Conditions below.

Order Date	10-Jul-2024	Type of Use	Republish in a thesis/dissertation
Order License ID	1503526-1	Publisher	BLACKWELL MUNKSGAARD
ISSN	0906-6713	Portion	Chart/graph/table/figure

LICENSED CONTENT

Publication Title	Periodontology 2000	Publication Type	Journal
Article Title	Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis.	Start Page	7
Date	01/01/1992	End Page	17
Language	English	Issue	1
Country	Denmark	Volume	69
Rightsholder	John Wiley & Sons - Books	URL	http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10...

REQUEST DETAILS

Portion Type	Chart/graph/table/figure	Distribution	Worldwide
Number of Charts / Graphs / Tables / Figures Requested	1	Translation	Original language of publication
Format (select all that apply)	Print	Copies for the Disabled?	No
Who Will Republish the Content?	Publisher, not-for-profit	Minor Editing Privileges?	No
Duration of Use	Life of current edition	Incidental Promotional Use?	No
Lifetime Unit Quantity	Up to 499	Currency	EUR
Rights Requested	Main product		

NEW WORK DETAILS

Title	PERIODONTAL DISEASE AS FACTOR OF MIGRAINE CHRONIFICATION	Institution Name	UNIVERSITY OF SANTIAGO
Instructor Name	PABLO AMEJEIRA	Expected Presentation Date	2024-07-24

ADDITIONAL DETAILS

The Requesting Person / Organization to Appear on the License	PABLO AMEJEIRA
---	----------------

REQUESTED CONTENT DETAILS

Title, Description or Numeric Reference of the Portion(s)	Contemporary model of host-microbe interactions in the pathogenesis of periodontitis	Title of the Article / Chapter the Portion Is From	Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis.
Editor of Portion(s)	Meyle, Joerg; Chapple, Iain	Author of Portion(s)	Meyle, Joerg; Chapple, Iain
Volume / Edition	69	Publication Date of Portion	2015-10-01
Page or Page Range of Portion	7-17		

RIGHTSHOLDER TERMS AND CONDITIONS

No right, license or interest in any trademark, trade name, service mark or other branding ("Marks") of WILEY or its licensors is granted hereunder, and you agree that you shall not assert any such right, license or interest with respect thereto. You may not alter, remove or suppress in any manner any copyright, trademark or other notices displayed by the Wiley material. This Agreement will be void if the Type of Use, Format, Circulation, or Requestor Type was misrepresented during the licensing process. In no instance may the total amount of Wiley Materials used in any Main Product, Compilation or Collective work comprise more than 5% (if figures/tables) or 15% (if full articles/chapters) of the (entirety of the) Main Product. Compilation or Collective Work. Some titles may be available under an Open Access license. It is the Licensors' responsibility to identify the type of Open Access license on which the requested material was published, and comply fully with the terms of that license for the type of use specified Further details can be found on Wiley Online Library <http://olabout.wiley.com/WileyCDA/Section/id-410895.html>.

FIGURA 3

Solicitud de autorización para el uso de la figura sobre la Depresión Cortical Propagada en mi tesis doctoral

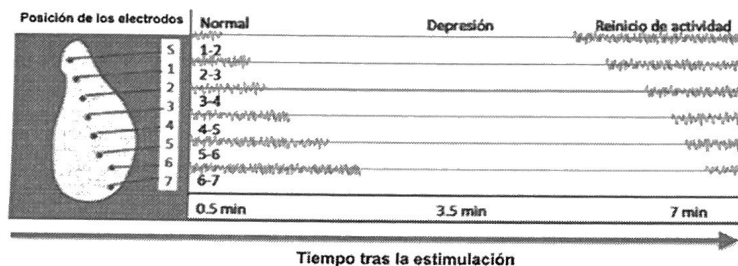
Datos del solicitante:

Pablo Ameijeira Dávila

Doctorando bajo la dirección del Dr. Rogelio Leira

Figura solicitada:

Figura publicada en la tesis "*MIGRAÑA Y FUNCIÓN ENDOTELIAL: RELACIÓN EN EL PERÍODO CRÍTICO E INTERCRÍTICO*", relacionada con el fenómeno de la depresión cortical propagada.



Motivo:

Solicito autorización para incluir esta figura en mi tesis doctoral titulada "*Enfermedad periodontal como factor cronificador de la migraña. Estudio clínico y molecular*". La figura es clave para ilustrar conceptos neurovasculares relevantes en mi trabajo.

Firma de autorización:

Yo, Dra. Rodríguez Osorio, autorizo el uso de la figura solicitada.

Fecha: 12 / 11 / 2024

Nombre: Dra. Rodríguez Osorio

Firma: _____

FIGURA 4

Solicitud de autorización para el uso de una figura en mi tesis doctoral

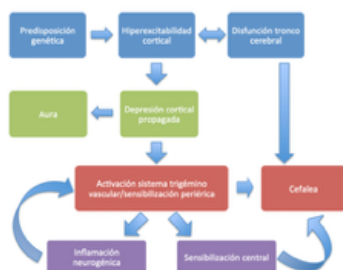
Datos del solicitante:

Pablo Ameijeira Dávila

Doctorando bajo la dirección del Dr. Rogelio Leira

Figura solicitada:

Figura publicada en la tesis *"MIGRAÑA CRÓNICA COMO CAUSA DE DAÑO NEUROVASCULAR CEREBRAL: ESTUDIO CLÍNICO-MOLECULAR"*, que aborda la fisiopatología de la migraña.



Motivo:

Solicito su autorización para incluir una modificación de esta figura en mi tesis doctoral titulada *"Enfermedad periodontal como factor cronificador de la migraña. Estudio clínico y molecular"*.

Firma de autorización:

Yo, Dra. Ana López Ferreiro, autorizo el uso de la figura solicitada:

Fecha: 12/11/2024

Nombre: Dra. Ana López Ferreiro

Firma:

Las formas más avanzadas de periodontitis (P) han demostrado alteraciones moleculares de inflamación, disfunción endotelial e inmunidad innata similares a las observadas en la migraña crónica (MC). Por lo tanto, el objetivo de nuestro trabajo fue investigar si la P se asocia con MC y en caso de estarlo, estudiar los posibles mecanismos que puedan explicar esta asociación. En el presente estudio la P se asoció positivamente con la MC. Se encontró que la periodontitis aumenta los niveles de leptina, procalcitonina, PTX-3, sTWEAK y CGRP en pacientes con MC sugiriendo que la P podría estar involucrada en los procesos de cronificación de la migraña a través de vías como la inflamación sistémica, disfunción endotelial e inflamación neurogénica.