



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

**Estado de Salud Oral y Biomarcadores
Salivales en Pacientes con Deterioro Cognitivo**

D^a. Carmen Zamora Lavella

2020



**UNIVERSIDAD DE MURCIA FACULTAD DE MEDICINA Y
ODONTOLOGÍA**

**DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGÍA, ESTOMATOLOGÍA,
RADIOLOGÍA Y MEDICINA FÍSICA**

**"ESTADO DE SALUD ORAL Y BIOMARCADORES
SALIVALES EN PACIENTES CON DETERIORO COGNITIVO"**

MEMORIA TESIS DOCTORAL

CARMEN ZAMORA LAVELLA



AGRADECIMIENTOS



A mis directoras, Pía López y Asta Tvarisonaviciute por introducirme en el fantástico mundo de la investigación.

A las asociaciones de Alzheimer y residencias para mayores por dejarme conocer su día a día y facilitarme este largo camino.

A los pacientes, en especial a los que padecen Alzheimer, sin saberlo me habéis enseñado mucho y me habéis colmado de cariño.

A mi madre, por confiar en mí, por su apoyo, por los valores que me ha inculcado y por no rendirse nunca.



ÍNDICE

ÍNDICE

Listado acrónimos	8
Índice tablas	9
Índice imágenes y figuras	10
Resumen	11
Summary	12
1. INTRODUCCIÓN	13
1.1 DEMENCIA, CONCEPTO Y ETIOLOGÍA	14
1.2 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER (EA)	17
1.2.1 Diagnóstico EA	19
1.2.1.1 Diagnóstico de EA basado en encuestas	19
1.2.1.2 Diagnóstico de EA basado en diagnóstico por imágenes	23
1.2.1.3 Diagnóstico de EA basado en biomarcadores	24
1.3 SALUD ORAL Y SALUD GENERAL	25
1.3.1 Cambios orales relacionados con la edad	25
1.3.2 Salud bucodental	26
1.3.3 Tratamiento dental	29
1.4 SALIVA	31
1.4.1 Métodos de recogida de saliva y determinación del flujo de salivación	36
1.4.2 Saliva y EA	38



2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	40
2.1 OBJETIVO GENERAL	42
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
3. MATERIAL Y MÉTODO	43
3.1 DISEÑO ESTUDIO	44
3.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN	45
3.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	46
3.4 COMITÉ DE ÉTICA	46
3.5 EXPLORACIÓN NEUROLÓGICA	46
3.6 EXPLORACIÓN BUCO-DENTAL	48
3.6.1 Índice de placa	50
3.6.2 Índice gingival simplificado (GI-S)	50
3.6.3 Profundidad de sondeo	51
3.6.4 Sialometría total no estimulada	51
3.7 ANÁLISIS BIOQUÍMICO	52
3.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	54
4. RESULTADOS	56
4.1 ESTUDIO DESCRIPTIVO Y COMPARATIVO DE LAS VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y HáBITOS SEGÚN GRUPO DE CASOS Y CONTROLES	57
4.2 ANÁLISIS DESCRIPTIVO Y COMPARATIVO DE LAS VARIABLES CLÍNICAS SEGÚN GRUPO	59
4.3 ANÁLISIS DESCRIPTIVO Y COMPARATIVO DE LAS VARIABLES BUCO- DENTALES	61
4.4 ESTUDIO DEL EFECTO DE LAS VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS Y EL NÚMERO DE DIENTES	63



4.5 ESTUDIO DE LAS VARIABLES SALIVALES ANALIZADAS	65
5. DISCUSIÓN	67
5.1 CARACTERÍSTICAS DEL ESTADO DE LA BOCA, LA HIGIENE BUCO-DENTAL Y EL DETERIORO COGNITIVO	68
5.1.1 Biomarcadores en la preclínica de enfermedad de Alzheimer	76
5.1.2 Biomarcadores para el deterioro cognitivo leve	77
5.1.3 Biomarcadores en la Enfermedad de Alzheimer con demencia	77
5.2. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	82
6. CONCLUSIONES	84
7. BIBLIOGRAFÍA	86
8. TRABAJOS RELACIONADOS CON LA TESIS	102
8.1 COMUNICACIONES EN CONGRESOS	103
8.2 PUBLICACIONES	103
8.2.1 Artículo 1	103
8.2.2 Artículo 2	103
9. ANEXOS	104
ANEXO I COMITÉ BIOÉTICA	105
ANEXO II PROTOCOLO	107
ANEXO III AUTORIZACIÓN	109
ANEXO IV DECLARACIÓN DE HELSINKIN	110



LISTADO ACRÓNIMOS

AAC (Angiopatia Amiloide Cerebral)

ADA (Adenosina Desaminasa)

A β (Beta-amiloide)

A β PP (Proteína Precursora A β)

CC4 (Complemento C4)

EA (Enfermedad de Alzheimer)

FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) (Capacidad de Reducción Férrica)

GDS (Global Deterioration Scale) Escala Deterioro Global)

IC (Intervalo de Confianza)

INE (Instituto Nacional de Estadística)

IRM (Imagen Resonancia Magnética)

LCR (Líquido cefalorraquídeo)

MAPT (Microtúbulo T)

MCI (Mild Cognitive Impairment) (Deterioro Cognitivo Leve)

MEC (Mini Examen Cognoscitivo)

MEEM (Mini Examen de Estado Mental)

MMSE (Mini-Mental State Examination)

OR (Od Ratio)

P- Tau (Tau Fosforilada)

PET (Tomografía por emisión de positrones)

ROC (Receiver Operating Characteristic) (Características del funcionamiento del receptor)

RR (Riesgo Relativo)

SPECT (Single Photon Emission Tomography) (Tomografía Coputerizada por emisión de fotón único)

TC (Tomografía Computerizada)

T-Tau (Tau Total)



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Clasificación e las principales etiologías del síndrome de demencia	16
Tabla 1.2 Grado de afectación cognitiva de la Escala GSD	23
Tabla 1.3 Cambios orales asociados al envejecimiento	25
Tabla 1.4 Condiciones orales comunes en personas mayores	27
Tabla 1.5 Resumen de los componentes de la saliva	34
Tabla 1.6 Sialometría	36
Tabla 3.1 Grado de afectación cognitiva de la Escala de GSD	47
Tabla 3.2 Criterios clínicos para el Índice de Löe y Silness	50
Tabla 4.1 Descriptivo y comparativo de las variables demográficas y hábitos según grupo	58
Tabla 4.2 Descriptivo y comparativo de las variables clínicas según grupo	60
Tabla 4.3 Descriptivo y comparativo de las variables buco-dentales según grupo	62
Tabla 4.4 Efecto de las variables demográficas y clínicas en el número de dientes presentes	64
Tabla 4.5 Efecto de las variables salivales en el grupo de casos	66
Tabla 5.1 Características de los estudios sobre la asociación entre el estado de la boca, la higiene bucodental y el deterioro cognitivo	72
Tabla 5.2 Comparativa de los resultados encontrados por distintos autores en los niveles de Ab42	80



ÍNDICE DE IMÁGENES Y FIGURAS

Figura 1.1 Mini examen cognitivo (MEC)	22
Figura 1.2 Salida del conducto salival de Stenon de la glándula Parótida	31
Figura 1.3 Conducto sublingual de Wharton	31
Figura 1.4 Método de recogida Salivette	37
Figura 3.1 Residencia Caser	45
Figura 3.2 AFADE Alcantarilla	45
Figura 3.3 Retracción de las encías	49
Figura 3.4 Gingivitis descamativa	49
Figura 3.5 Luminex xMAP xPONENT 4.2	52
Figura 3.6 Olympus AU600	54
Figura 4.1 Distribución de pacientes según grupo	57



RESUMEN

INTRODUCCIÓN. La demencia se caracteriza por déficit cognitivos múltiples, este deterioro de las capacidades cognitivas y de las actividades de la vida diaria en los pacientes tiene implicaciones en su salud buco-dental.

OBJETIVOS. El objetivo de este estudio fue evaluar el impacto de la demencia en Salud bucal utilizando un diseño de casos y controles.

MATERIAL Y MÉTODO. Se incluyeron 152 pacientes; 69 con demencia y 83 controles de la comunidad Autónoma de la Región de Murcia. Los pacientes fueron clasificados con los distintos grados de Escala de deterioro global (GDS). Se realizaron determinaciones bioquímicas. Los riesgos relativos (RR) y los intervalos de confianza (IC) se estimaron utilizando modelos de regresión.

RESULTADOS. Los pacientes con un grado de enfermedad severo tienen mayor probabilidad de tener un número menor de dientes naturales (OR, 11,00; IC 95%, 1,28 - 23,22) ($P = 0.001$), mayor índice placa de bacteriana ($P = 0.001$) y mayor índice de sangrado ($P = 0.001$) con respecto grupo control. Los pacientes con menor AB42 (OR, 0,53; IC 95%, 0,29 - 0,97) ($P = 0,041$) y mayor CC4 (OR, 1,43; IC 95%, 1,08 - 1,98) ($P = 0,048$) tienen mayor probabilidad de presentar deterioro cognitivo.

CONCLUSIÓN. Los sujetos con demencia tienen una salud bucal deficiente, el número de dientes naturales se asoció significativamente con el grado de deterioro de la a función cognitiva. La detección de bajos valores salivales de AB42 y altos de CC4 podrían indicar deterioro cognitivo en pacientes de edad avanzada.

Palabras clave: Pérdida dental, demencia, edad, higiene oral, índice sangrado



SUMMARY

INTRODUCTION. Dementia is characterized by multiple cognitive deficits. The deterioration of cognitive abilities and activities of daily living in patients has implications on their oral-dental health.

OBJECTIVES. The objective of this study was to evaluate the impact of dementia on oral health using a case-control design.

MATERIAL AND METHOD. 152 patients were included. Out of which 69 presented dementia of different degrees as diagnosed using global deterioration scale (GDS). Eighty-three were healthy controls. Study was performed in the Autonomous Community of the Region of Murcia. A panel of biomarkers was assessed in saliva of all patients. Relative risks (RR) and confidence intervals (CI) were estimated using regression models.

RESULTS. Patients with severe disease were more likely to have a smaller number of natural teeth (OR, 11.00; CI 95%, 1.28 - 23.22) ($P = 0.001$), higher bacterial plaque index ($P = 0.001$) and higher bleeding rate ($P = 0.001$) with respect to the control group. Patients with lower AB42 (OR, 0.53; CI 95%, 0.29-0.97) ($P = 0.041$) and higher CC4 (OR, 1.43; CI 95% 1.08-1.98) ($P = 0.048$) have higher probability of presenting cognitive impairment.

CONCLUSION. Subjects with dementia have poor oral health, the number of natural teeth was significantly associated with the degree of impairment of cognitive function. Detection of low salivary values of AB42 and high of CC4 could indicate cognitive impairment in elder patients.

Keywords: Dental loss, dementia, age, oral hygiene, bleeding index



1. INTRODUCCIÓN



El envejecimiento de la población representa uno de los principales retos sociales y económicos a que se enfrenta la sociedad moderna. El envejecimiento es un proceso biológico cuyos mecanismos celulares y moleculares aún no se conocen por completo y su entendimiento constituye uno de los grandes retos que tienen la biología y la medicina moderna. Durante el proceso de envejecimiento se presentan diferentes eventos que pueden ser estudiados desde casi todas las disciplinas de la biomedicina y de las ciencias relacionadas con ésta y donde la biotecnología y la biología de las células troncales brindarán aportaciones muy importantes para el entendimiento de dicho proceso.

En España, según los datos del Instituto Nacional de Estadística (INE) a 1 de enero de 2017 hay 8.764.204 personas mayores (65 y más años), un 18,8% sobre el total de la población (46.572.132). El sexo predominante en la vejez es el femenino. Hay un 32,6% más de mujeres (4.995.737) que de hombres (3.768.467) (2017). Murcia y Baleares son las comunidades con proporciones más bajas en envejecimiento por debajo del 16%. La esperanza de vida de la población española a los 65 años se encuentra, tanto en hombres como en mujeres, entre las más altas de la Unión Europea y del mundo (Abellan G^a A y cols, 2018).

1.1. DEMENCIA, CONCEPTO Y ETIOLOGÍA

La demencia es una pérdida de la función cerebral que ocurre a causa de ciertas enfermedades. La prevalencia global de demencia es del 61,7%. En España, dos terceras partes de las personas mayores que viven en residencias de ancianos presentan demencia. En la Región de Murcia, aproximadamente 10.050 personas mayores de 64 años padecen demencia (el 5%), de las que 8.250 sufren Alzheimer y demencia mixta (López-Picazo Ferrer JJ y cols, 2015). Las personas afectadas presentan pérdidas de memoria, se afecta su pensamiento, el lenguaje, el juicio y el comportamiento. La demencia normalmente es de carácter degenerativo (Susan L y cols, 2015). El riesgo de padecer demencia aumenta a medida que una persona envejece, por lo tanto es más frecuente en personas de edad avanzada, siendo muy raras en personas más jóvenes de 60 años.



Las principales etiologías del síndrome de demencia, así como sus formas se resumen en la Tabla 1.1

En la actualidad los tipos más comunes de demencia son la enfermedad de Alzheimer (prevalencia 50-75%), demencia vascular (prevalencia 20-30%), y demencia de los cuerpos de Lewy (prevalencia 15-25%) (Montiel Higuero I y cols, 2013; Susan L y cols, 2015). La enfermedad de Alzheimer (EA) es la forma más común de demencia. Esta afecta a la memoria, el pensamiento y el comportamiento. Se desconoce cuál es la causa exacta de la enfermedad, pero sí se conocen algunos factores de riesgo como son la edad o genética.



Tabla 1.1: Clasificación de las principales etiologías del síndrome de demencia (Gonzalez VM y cols, 2002)

DEGENERATIVAS: la demencia es la manifestación principal

- Enfermedad de Alzheimer (50-75% de todas las demencias).
- Demencia con Cuerpos de Lewy (15-25%).
- Demencia fronto-temporal.
- Degeneraciones focales corticales.

DEGENERATIVAS: en las que la demencia forma parte del cuadro clínico.

- Enfermedad de Parkinson.
- Enfermedad de Huntington.
- Degeneración corticobasal.
- Enfermedad de Down.
- Parálisis supranuclear progresiva.

VASCULARES:

- Multiinfarto (20-30% de todas las demencias).
- Estado lacunar (síndrome pseudobulbar).
- Enfermedad de Binswanger.
- Vasculitis: lupus, panarteritis nodosa, arteritis de la temporal.
- Infarto estratégico.

METABÓLICAS:

- Hipo e hipertiroidismo.
- Hipoxia-isquemia.
- Hipo e hiperparatiroidismo.
- Insuficiencia hepática.
- Insuficiencia renal. Insuficiencia adrenal o pituitaria.
- Enfermedades por depósito (Wilson).
- Hipoglucemia crónica (Insulinoma).

CARENCIALES:

- Déficit de vitamina B12.
- Déficit de Ácido fólico.
- Déficit de vitamina B1 (pelagra).

INFECCIOSAS:



- Complejo demencia-sida.
- Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.
- Neuro-lúes.
- Panencefalitis esclerosante subaguda.
- Encefalitis herpética.
- Enfermedad de Whipple.
- Meningoencefalitis brucelosa, tuberculosa, etc.
- Abscesos cerebrales.

OTRAS:

- Tóxicas: alcohol, fármacos, metales, etc.
- Neoplásicas: tumores cerebrales primarios o metastásicos.
- Traumáticas: hematoma subdural crónico, demencia del boxeador.
- Desmielinizantes: esclerosis múltiple.
- Hidrocefalia normotensiva, epilepsia, sarcoidosis cerebral.

1.2. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La enfermedad de Alzheimer es la forma más común de demencia encontrada actualmente, afecta a millones de personas en el mundo. En la Región de Murcia 8.250 sufren Alzheimer y demencia mixta (López-Picazo Ferrer JJ y cols, 2015). Es un desorden neurodegenerativo grave, con una progresión lenta, que se caracteriza por la disminución cognitiva progresiva y pérdida de la memoria, atención, función del lenguaje, habilidad espacio-temporal o juicio (Ballatore C y cols, 2007), causando dificultad en el día a día o la vida social (Kim JS y cols, 2013). Una de las posibles causas de la EA es la angiopatía amiloide cerebral (AAC) reconocida como causante de la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. Los depósitos amiloides y no las placas parenquimatosas parecen ser predictores más sensibles de la patología. La deposición de amiloide en y alrededor de los vasos sanguíneos cerebrales juega un papel central en una serie de mecanismos de respuesta que conducen a cambios en la integridad de la barrera hematoencefálica, extravasación de proteínas plasmáticas, formación de edemas, liberación de mediadores inflamatorios y metaloproteasas de matriz que, a su vez,



produce una degradación parcial de la lámina basal con el potencial de desarrollar complicaciones hemorrágicas (Reisberg B y cols, 2002). La acumulación progresiva de depósitos de amiloide en y alrededor de los vasos sanguíneos limita de manera crónica el suministro de sangre y provoca la privación focal de oxígeno, desencadenando una cascada secundaria de eventos metabólicos, varios de los cuales implican la generación de radicales libres de nitrógeno y oxígeno con el consiguiente estrés oxidativo y la toxicidad celular (Reisberg B y cols, 2002).

Según estudios recientes, además de la hipótesis de la cascada de amiloide, se han descrito sobre el componente inflamatorio y el autoinmune en la patogénesis de EA (Forster MJ y col, 1991; Steinman L, 2006; Sardi F y cols, 2011). Se indica la importancia de la implicación de la autoinmunidad por la presencia de anticuerpos y el buen resultado obtenido después del tratamiento de inmunoterapia en los modelos animales y humanos (Hawkers CA y cols, 2008). También se ha examinado el aspecto inflamatorio, y se ha encontrado la presencia de un estado inflamatorio crónico en un gran número de pacientes afectados por EA (Singh V.K y cols, 1989; Singh V.K y cols, 1992; Sardi F y cols, 2011). Los pacientes presentan alteraciones de los biomarcadores y las células involucradas en la inflamación como por ejemplo: leucocitos, aumento de ferritina, alteraciones del sistema del complemento, altos niveles de proteína C reactiva e IL-6. El nivel de estos marcadores proinflamatorios está relacionado con las dimensiones de las placas de amiloide (Patel NS y cols, 2005).

La microglía tiene un papel importante como efecto inmunológico en las células del cerebro, tiene una estructura dinámica que permite un control continuo de las células cercanas para reconocer cualquier sustancia extraña que pueda desencadenar una respuesta inmune (Hanisch y cols, 1997). En la proximidad de las placas la microglía presenta más proteínas de superficie como el complejo principal de histocompatibilidad II y proliferan, tal vez, ayudando a eliminar las placas. Este tipo de mecanismo, incluso si es útil para reducir el amiloide neurotóxico, puede empeorar el daño cerebral lo que lleva al desarrollo de la enfermedad. La neuroinflamación es una condición normal del envejecimiento del cerebro con una alta expresión de receptores inmunes innatos (Sardi F y cols, 2011), y en particular para EA hay una alta expresión de los niveles CD14 (Fassbender K y cols, 2003).



Son necesarios estudios futuros para entender el papel de la inflamación y la autoinmunidad en la patogénesis de la EA debido a que actúan como mecanismo defensivo y mecanismo nocivo, siendo uno de los numerosos desafíos determinar si el desencadenante es una inflamación o la autoinmunidad, ya que sus conexiones son muy profundas y aún no están del todo claras (Gruden M.A y cols, 2007).

1.2.1 Diagnóstico EA

Hace unos años el diagnóstico definitivo de EA se basaba en pruebas clínicas y patológicas disponibles solo en la autopsia. Las opciones diagnósticas actuales incluyen una combinación de historia clínica, la exclusión de otras causas de deterioro cognitivo y el examen del estado mental y cognitivo (Ballatore C y cols, 2007). Nos encontramos con una ausencia de pruebas diagnósticas estandarizadas que se puedan aplicar en la práctica clínica rutinaria para diferenciar las distintas formas de demencia (Ballatore C y cols, 2007).

Actualmente existen tres tipos de metodología para el diagnóstico de EA:

- 1.2.1.1 Basado en encuestas.
- 1.2.1.2 Basado en diagnóstico por imagen.
- 1.2.1.3 Basado en biomarcadores.

1.2.1.1 Diagnóstico de EA basado en encuestas

Este tipo de metodología no invasiva se basa en la historia clínica y un examen mental cuando hay síntomas cognitivos o conductuales (neuropsiquiátricos) (McKhann GM y cols, 2019).

Estos síntomas pueden ser:



- a- Capacidad deteriorada para adquirir y recordar nueva información, preguntas repetidas o conversaciones, extravío de pertenencias personales, olvidar eventos o citas, perderse en una ruta familiar.
- b- Manejo de tareas complejas, una mala comprensión de los riesgos de seguridad, incapacidad para manejar finanzas, poca capacidad de toma de decisiones, o actividades secuenciales.
- c- Habilidades visuoespaciales deterioradas: incapacidad para reconocer caras u objetos comunes o para encontrar objetos en la vista directa a pesar de buena agudeza visual, incapacidad para orientar la ropa hacia el cuerpo.
- d- Funciones del lenguaje deterioradas (hablar, leer, escribir): dificultad para pensar palabras comunes al hablar, vacilaciones, errores de habla, ortografía y escritura.
- e- Cambios en la personalidad o el comportamiento: fluctuaciones anormales en el estado de ánimo, como agitación, falta de motivación, iniciativa, apatía, retiro social, disminución del interés en actividades previas, pérdida de empatía, comportamientos compulsivos u obsesivos, comportamientos socialmente inaceptables (McKhann GM y cols, 2011).

Otras de las herramientas no invasivas muy útiles en el diagnóstico de la demencia es un cuestionario o examen del estado mental. El test más utilizado para valorar la degeneración de la función cognitiva es el Mini Examen de Estado Mental (MMSE) (Figura 1) y la Escala de Deterioro Global (GDS) (Tabla 1.2) (Kim JS y cols, 2013).

El Mini- Examen Cognoscitivo (MEC) es la primera versión en castellano del MMSE (Figura 1.1). Es un sencillo test que se ha convertido en un instrumento estándar para valorar la función cognoscitiva en situaciones clínicas (Lobo A y cols, 2001; Arevalo-Rodriguez y cols, 2015). Y



es el más utilizado test de cribado o "screening" en la investigación epidemiológica internacional y en ensayos clínicos que requieran la evaluación de las funciones intelectivas del enfermo (Lobo A y cols, 2001).

**MINI EXAMEN
COGNOSCITIVO (MEC)**

Paciente..... Edad.....

Ocupación..... Escolaridad.....

Examinado por..... Fecha.....

ORIENTACIÓN

- Dígame el día..... fecha Mes..... Estación..... Año..... __ 5
- Dígame el hospital (o lugar)..... __ 5
- planta..... ciudad..... Provincia..... Nación.....

FIJACIÓN

- Repita estas tres palabras ; peseta, caballo, manzana (hasta que se las aprenda) __ 3

CONCENTRACIÓN Y CÁLCULO

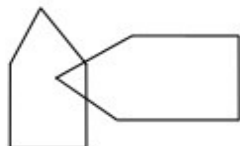
- Si tiene 30 ptas. y me dando de tres en tres ¿cuantas le van quedando ? __ 5
- Repita estos tres números : 5,9,2 (hasta que los aprenda) .Ahora hacia atrás __ 3

MEMORIA

- ¿Recuerda las tres palabras de antes ? __ 3

LENGUAJE Y CONSTRUCCIÓN

- Mostrar un bolígrafo. ¿Qué es esto ?, repetirlo con un reloj __ 2
- Repita esta frase : En un trigal había cinco perros __ 1
- Una manzana y una pera ,son frutas ¿verdad ?
¿qué son el rojo y el verde ? __ 2
- ¿Que son un perro y un gato ? __ 3
- Coja este papel con la mano derecha dóblelo y póngalo encima de la mesa __ 1
- Lea esto y haga lo que dice : CIERRE LOS OJOS __ 1
- Escriba una frase __ 1
- Copie este dibujo __ 1



Puntuación máxima 35.
Punto de corte Adulto no geriátricos 24
Adulto geriátrico 20

Figura 1.1: Mini- Examen Cognoscitivo (MEC) (Lobo A y cols, 2001)



Existen dos versiones, de 30 y de 35 puntos respectivamente. Tanto en una versión como en otra los ítems están agrupados en 5 apartados que comprueban orientación, memoria de fijación, concentración y cálculo, recuerdo diferido, y lenguaje y construcción (Lobo A y cols, 2001; Arevalo-Rodriguez y cols, 2015).

La GDS es una escala global de deterioro Cognitivo que describe siete fases que van desde la normalidad hasta fases más graves (Tabla 1.2). Es realizado por un clínico con conocimientos relevantes sobre el paciente y lo realiza en unos 2-3 minutos, si no es así se requiere de una entrevista dirigida. La puntuación final nos describe el estado actual del paciente. Es una evaluación global que nos orienta sobre la clínica actual del paciente. Se evalúa de 0 a 7, a mayor puntuación hay mayor afectación.

Tabla 1.2: Grado de afectación cognitiva de la Escala GSD (Kim JS y cols, 2013)

FASE / ESTADÍO	INDICA
<i>GSD 1</i>	Ausencia de afectación cognitiva
<i>GSD 2</i>	Disminución cognitiva muy leve
<i>GSD 3</i>	Defecto cognitivo leve
<i>GSD 4</i>	Defecto cognitivo leve- moderado
<i>GSD 5</i>	Defecto cognitivo moderado- grave
<i>GSD 6</i>	Defecto cognitivo grave
<i>GSD 7</i>	Defecto cognitivo muy grave

1.2.1.2 Diagnostico de EA basado en Imágenes

Tomografía computarizada (TC), Resonancia magnética (IRM), tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) o tomografía por emisión de positrones (PET) son técnicas de imagen que presentan utilidad en el diagnostico de EA, pero son técnicas costosas y no todos tiene acceso a ellas, siendo estas razones unas de las principales limitaciones de estas técnicas para el diagnostico de EA (Susan L y cols, 2015; Ballatore C y cols, 2007).



1.2.1.3 Diagnostico de EA basado en Biomarcadores

El uso de los biomarcadores para diagnosticar y/o monitorizar la EA esta cada vez mas reconocido. Generalmente, para determinar los biomarcadores relacionados con EA se utilizan muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR), ya que este biofluido ha mostrado ser de mucha mayor utilidad que el suero sanguíneo. Sin embargo, obtención de LCR es un método altamente invasivo y costoso.

En el caso del Alzheimer, los biomarcadores se centran principalmente en medidas de deposición de β -amiloide cerebral y medidas de marcadores de neurodegeneración (Ballatore C y cols, 2007). Se demostró que la deposición de amiloide desempeña funciones fisiológicas normales en la formación de la memoria, la homeostasis lipídica, la regulación de la actividad neuronal y el crecimiento de las neuritas (Reisberg y cols, 2002). El segundo sello distintivo de la EA es la proteína tau, también llamada proteína asociada al microtúbulo T (MAPT). Pertenece a la familia de proteínas asociadas a los microtúbulos que se une a la tubulina para contribuir a la estabilización y flexibilidad de los microtúbulos. Tanto la tau total como la tau fosforilada (t-tau y p-tau) se han identificado en el LCR y la proporción p-tau / t-tau ha mostrado un aumento significativo en los pacientes con EA en comparación con los controles sanos. Por lo tanto, la alta concentración de p-tau con respecto a la t-tau se puede usar como un biomarcador potencial para la evaluación del estado de EA.



1.3. SALUD ORAL Y SALUD GENERAL

1.3.1 Cambios orales relacionados con la edad

El envejecimiento oral es un proceso dinámico y permanente que forma parte del curso de vida. Sin embargo, la trayectoria hacia un envejecimiento oral saludable se ve sujeta a múltiples condicionamientos sociales, culturales y económicos que es importante analizar (Tabla 1.3).

Tabla 1.3. Cambios orales asociados al envejecimiento (Gómez Jimenez E y cols, 2016)

Con el envejecimiento, la apariencia y estructura de los dientes tienden a cambiar. El oscurecimiento o amarillento de los dientes es causado por cambios en el espesor y composición de la dentina y el esmalte.

La abrasión y el desgaste también contribuyen a los cambios en la apariencia de los dientes, el número de vasos sanguíneos que entran en un diente y el esmalte disminuye con la edad, lo que lleva a sensibilidad reducida.

El cemento (es decir, la sustancia que cubre la superficie de la raíz) se engrosa gradualmente, con el ancho total casi triplicando alrededor de los 75 años de edad. Debido a que el cemento es altamente orgánico, es menos resistente al medio ambiente y a agentes, como el azúcar, ácidos de refrescos, y el tabaco, y por tanto más susceptible a la caries.

Cambios relacionados con la mucosa oral y deficiencias dietéticas u hormonales y disminución de la queratinización, sequedad y adelgazamiento de las estructuras epiteliales.

Adicionalmente, el ancho y contenido de fibra del ligamento periodontal, que es parte de la aparato de fijación del periodonto, disminuye con el envejecimiento.

La recesión gingival es otra condición común en las personas mayores, la recesión gingival expone el cemento, posiblemente conduciendo a la caries radicular.



1.3.2 La salud buco-dental

La salud buco-dental es una parte importante de la salud general. En los mayores, nos encontramos con la presencia de numerosas patologías orales. La OMS en su informe del 2015 indica que aproximadamente el 30% de la población en los mayores de 65 años presentan pérdidas dentales importantes (OMS. Salud bucodental. WHO, 2015). Una salud oral deteriorada; influye de forma negativa en la salud general. (Gómez Jimenez E y cols, 2016). La literatura científica indica que los pacientes con deterioro cognitivo, presentar acumulo de patología y una peor higiene oral. Tenemos que considerar que los pacientes con enfermedad de Alzheimer, presentan afectación de las glándulas salivales produciéndose una disminución de la secreción salival (Pearson A y cols, 2004) alterando el equilibrio ecológico oral .

El envejecimiento, es un problema de salud pública en el nos podemos encontrar con una serie de condiciones o enfermedades como son la fragilidad , la dependencia , polimedicación y deterioro cognitivo, repercutiendo estos factores en la salud oral (Gómez Jimenez E y cols, 2016). Las personas mayores están en riesgo de padecer enfermedades crónicas de la boca, incluidas infecciones dentales (por ejemplo, caries, periodontitis), pérdida de dientes, lesiones benignas de la mucosa y cáncer oral. Otras afecciones orales comunes en esta población son la xerostomía (boca seca) y la candidiasis oral, que pueden conducir a la candidiasis pseudomembranosa aguda, lesiones eritematosas (estomatitis de la prótesis) o queilitis angular (Gonsalves WC y cols, 2007; Gonsalves WC y cols, 2008) (Tabla 1.4).



Tabla 1.4. Condiciones Orales comunes en personas mayores (Gonsalves WC y cols 2007; Gonsalves WC y cols 2008).

Condición	Presentación clínica	Tratamiento	Comentario
<i>Caries dental</i>	Coronal o de raíz cavitación y dolorosa	Las caries radiculares pueden tratar con geles o barnices y flúor y vigilarlas	La infección se puede reducir con los cuidados de un profesional y con buena higiene bucal, evitando alimentos y bebidas azucaradas
<i>Gingivitis</i>	Encías rojas, hinchadas sangrantes	Buena higiene oral, incluido el cepillado dental y uso de seda dental a diario	
<i>Periodontitis</i>	Gingivitis, recesión gingival, pérdida de hueso y movilidad dentaria	Buena higiene oral, incluido el cepillado dental y uso de seda dental a diario, raspado y alisado radicular y antibiótico si fuera necesario	Asociado con enfermedad cardiovascular, empeoramiento de la diabetes y neumonía por aspiración de bacterias
<i>Xerostomía</i>	Lengua seca y roja, sensación de quemazón, dificultad para hablar y tragar, y disgeusia	Sustitutivos salivares, masticar chicles sin azúcar, caramelos, beber mucha agua, farmacológicos como la pilocarpina	
<i>Candidiasis Oral</i>	-Pseudomembranosa aguda : placa blanca adherente que se elimina al raspado -Eritematoso estomatitis: lesiones maculares rojas, a menudo con una sensación de ardor -Queilitis angular: fisuras eritematosas en las comisuras labiales	Antifúngicos tópicos como el mycostatín ó antifúngicos sistémicos como el Ketonocazol	El diagnóstico puede ser confirmado por citología exfoliativa oral
<i>Estomatitis por prótesis</i>	Eritema variado, ocasionalmente acompañado de petequias, localizado en el área de la prótesis removible, generalmente asintomático	Ajustar bien la prótesis para evitar que se mueve demasiado, y retirarla para dormir	Las prótesis deben ser retiradas de la boca y limpiadas por lo menos una vez al día
<i>Cáncer Oral</i>	Úlcera o masa que no cicatriza	Biopsia, estadificación, cirugía	



La mala salud oral afecta significativamente a la calidad de la vida de las personas mayores. Ello derivado, por un lado, de algunas de las secuelas de las enfermedades bucales como son el dolor agudo o crónico por la caries dental, el sangrado gingival, la recesión de encías, el mal aliento, la movilidad dentaria, la pérdida parcial o total de los dientes, el uso de prótesis desadaptadas, entre otras. Por otro lado, las distintas dimensiones de la calidad de vida en relación a la salud bucal también pueden comprometerse por los aspectos vinculados al envejecimiento y los efectos laterales de medicaciones para el tratamiento de otras enfermedades crónicas. Se pueden comprometer aspectos relacionados con la autoestima y las interacciones sociales, funcionales como el habla y la deglución, la capacidad de masticar, el estado nutricional y cambios de ánimo y comportamiento. La pérdida de dientes tiene ocasiona un impacto negativo en los pacientes esta pérdida dental puede ser consecuencia de caries dentales nuevas o recurrentes, enfermedad periodontal, traumatismo, abandono de hábitos orales, prótesis desajustadas, dolor e incapacidad funcional oral (Kandelman D y cols, 2008).

Los profesionales pueden ayudar a los pacientes mayores a mantener una buena salud bucal al evaluar el riesgo, reconocer los cambios normales y anormales del envejecimiento, realizar un examen oral centrado (Guggenheimer J y cols, 2003; Gonsalves WC y cols, 2008). Los pacientes con afecciones médicas crónicas e incapacitantes (por ejemplo, artritis, deterioro neurológico) pueden beneficiarse de ayudas para la salud oral, como cepillos de dientes eléctricos, cepillos de dientes manuales con empuñaduras de asa ancha y dispositivos para sostener el hilo dental (Gonsalves WC y cols, 2008), La mala salud oral en ocasiones se asocia con estado económico más bajo, estar confinado o institucionalizado, y la presencia de discapacidades físicas que limitan la buena higiene bucal, como la artritis y las alteración neurológicas (Estado de envejecimiento y Salud en América, 2007).

Los problemas comunes de salud bucal en las personas mayores son caries, periodontitis, flujo salival reducido, candida y lesiones de la mucosa (Gonsalves WC y cols, 2007). En los países desarrollados, la caries tiene una alta prevalencia en ancianos (Thomson WM, 2004; Petersen PE y col, 2005). La enfermedad periodontal se encuentra con frecuencia en adultos mayores. Específicamente, la periodontitis leve, con bolsas periodontales de 4 a 5 mm, está presente en 62 a 97% de las personas mayores (Boehm TK y cols, 2007; Affo RH y cols, 2015). La



periodontitis más severa, con bolsas de 6 mm o más, está presente en 20–48% de las personas mayores. Además, la prevalencia de sequedad oral aumenta con la edad, afectando aproximadamente al 30% de los adultos mayores. La disminución del flujo salival puede ocasionar dificultades con la deglución, la alimentación y la comunicación (Ship JA y cols, 2002; Boehm TK y cols, 2007; Affo RH y cols, 2015). La reducción del flujo salival puede causar halitosis, una mayor prevalencia de inflamación de la mucosa y parótida, candidiasis oral, caries dental en personas dentadas, y lesiones por fricción en portadores de prótesis. La mayoría de las enfermedades orales, incluido el cáncer oral, se presentan en adultos mayores (Ship JA y cols, 2002; Boehm TK y cols, 2007; Affo RH y cols, 2015). Entre las lesiones de la mucosa oral, encontramos lesiones relacionadas con la prótesis, estomatitis, queilitis angular, las úlceras y la hiperplasia que son las más comunes. Los problemas de salud bucal mencionados anteriormente no solo afectan a la salud bucal y su funcionamiento, también puede causar dolor o malestar orofacial, y puede tener un impacto negativo en la calidad de vida (Daniel Kandelman, 2008; Delwel S y cols, 2018).

En comparación con las personas mayores que son cognitivamente sanas, las personas que desarrollan demencia tienen un mayor riesgo de padecer problemas de salud bucal, como consecuencia del deterioro del autocuidado y las habilidades motrices (MacDonal DE, 2006; Delwel S y cols, 2018).

La pérdida de dientes y la periodontitis pueden ser factores de riesgo para el deterioro cognitivo, aunque la presencia exacta y causalidad de la asociación entre los problemas de salud bucal y el desarrollo de la demencia no está claro (Delwel S y cols, 2018).

1.3.3 Tratamiento dental

El tratamiento en este grupo de pacientes deberá realizarse en los estadios iniciales, ya que con el progreso de la enfermedad se observa un daño en la salud bucal del paciente, por lo que se está indicando realizar un programa de prevención, se aconseja con este programas que las citas sean cada 3 meses para evitar el desarrollo de cualquier patología oral que puede complicar la situación del paciente. Conforme progresa o evoluciona la enfermedad, el paciente es incapaz



de llevar unos hábitos orales adecuados lo que aumenta el riesgo de enfermedades orales. Se indica no utilizar las prótesis removibles en pacientes con la enfermedad en estadio avanzado, ya que puede implicar problemas por la posibilidad de accidentes relacionados con estas.

Los estudios de Gómez Jimenez E y cols, 2016 dan una serie de recomendaciones.

- A. Es muy importante realizar el cepillado dental y utilización de una pasta dental que tenga contenido en flúor.
- B. Se aconseja los cepillos eléctricos vibratorios o rotatorios ya que mejora el control de placa bacteriana se y se recomienda una frecuencia de cepillado mínimo de dos veces al día.
- C. Debemos de ser cuidadosos con el uso de colutorios de clorhexidina ya que presentan efectos secundarios: descamación mucosa, tinción dental y mucosa, irritación y disgeusia.
- D. Las prótesis removibles requieren una exhaustiva higiene, y deben quitarse durante la noche.
- E. La mucositis oral puede aparecer en pacientes que han sido tratados para su patología neoplásica; por lo que debemos aplicar los protocolos de prevención.
- F. En el caso que los pacientes presenten xerostomía se puede aplicar estimulantes de la secreción salival ya sea mediante estímulos masticatorios, gustativos o farmacológicos (Gómez Jimenez E y cols, 2016).

1.4. SALIVA

La saliva es una secreción exocrina clara, mucosa y ligeramente ácida (pH 6-7). Una mezcla compleja que proviene de las glándulas salivales mayores, menores y el líquido crevicular proveniente de la encía.

Las glándulas salivales mayores son, la glándula parótida, las glándulas submandibulares y las glándulas sublinguales, y las glándulas menores se encuentran en el labio inferior, lengua, paladar y mejillas (Humphrey SP y cols, 2001). Los tipos de células que se encuentran en las glándulas salivales son, células acinares, células serosas, células mucosas, células seromucosas y células mioepiteliales. La secreción se puede clasificar como serosa, mucosa o mixta; secreciones serosas son producidas principalmente a partir de la glándula parótida, secreciones mucosas de las glándulas menores y secreciones mixtas y mucosas de las glándulas sublinguales y submandibulares (Humphrey SP y cols, 2001) (Figuras 1.2 y 1.3).



Figura 1.2. Salida del conducto salival de Stenon de la glándula Parótida



Figura 1.3. Conducto sublingual de Wharton a ambos lado del frenillo lingual



El flujo promedio diario de saliva total varía entre 1 y 1.5 l. Las contribuciones porcentuales de las diferentes glándulas salivales durante el flujo no estimulado son las siguientes: 20% de parótida, 65% de submandibular, 7% a 8% de sublingual y menos de 10% de numerosas glándulas menores (Humphrey SP y cols, 2001).

La producción de saliva es indispensable para el adecuado funcionamiento. (Seifert G y cols, 1986) y la saliva presenta un papel importante en la protección de la cavidad oral.

Sus funciones principales son:

- Digestión de los alimentos
- Facilita la deglución
- Ayuda en la dicción
- Presenta acción preventiva sobre los agentes externos.

La saliva está compuesta por 99% de agua y 1% de proteínas y sustancias inorgánicas (Tabla 1.5). La saliva mantiene una variedad de electrolitos, incluyendo sodio, potasio, calcio, magnesio, bicarbonato y fosfatos. También se encuentran en la saliva inmunoglobulinas, proteínas, enzimas, mucinas, y productos nitrogenados, como la urea y el amoníaco. Cada uno de estos componentes tienen su función, en áreas generales: bicarbonatos, fosfatos y urea se encargan de modular el pH y la capacidad amortiguadora de la saliva; las proteínas, macromoléculas y mucinas sirven para limpiar y agregar microorganismos orales y contribuir al metabolismo de la placa dental; el calcio, el fosfato y las proteínas trabajan juntos como un factor de antisolubilidad y modulan la desmineralización y la remineralización; y por último las inmunoglobulinas, las proteínas y las enzimas brindan acción antibacteriana. Los componentes enumerados anteriormente generalmente ocurren en pequeñas cantidades, variando con los cambios en el flujo, sin embargo, proporcionan continuamente una serie de funciones importantes. Es importante destacar que la saliva, como un fluido biológico único, debe considerarse como un todo que es mayor que la suma de sus partes (Humphrey SP y cols, 2001).

El pH normal de la saliva es de 6 a 7, lo que significa que es ligeramente ácido. El pH en el flujo salival puede variar desde 5.3 cuando hay un flujo bajo, hasta 7.8 cuando hay un flujo máximo.



Existe una gran variabilidad en el rango del flujo salival individual, las tasas aceptadas para la saliva no estimulada son de 0'1 mL/min y para la saliva estimulada un mínimo de 0'2 ml/min. Cualquier caudal no estimulado que esté por debajo de 0'1ml/min se considera hipofunción (Humphrey SP y cols, 2001). Tres tipos de estímulos son los que desencadenan la salivación, el acto de masticar, el sentido del gusto y el olfatorio. Otros factores que afectan la secreción incluyen factores psíquicos como dolor, cierto tipo de medicamentos y diversas enfermedades locales o sistémicas que afectan a las glándulas en sí mismas (Humphrey SP y cols, 2001). Las glándulas salivales están inervadas tanto por el sistema simpático como por el parasimpático (Culp DJ y cols, 1991). Varios neurotransmisores y hormonas estimulan diferentes receptores, diferentes glándulas y diferentes respuestas. Cuando las inervaciones simpáticas dominan, las secreciones contienen más proteínas de las células acinares, mientras que cuando predominan las inervaciones parasimpáticas producen una secreción más acuosa (Humphrey SP y cols, 2001) (Tabla 1.5).



Tabla 1.5: Resumen de los componentes de la saliva (mg/100 ml) (Bagán JV y Jiménez Y, 2010)

	REPOSO		ESTIMULADA	
	Media	Gama de valores	Media	Gama de valores
Sólidos				
Cenizas	500	300 - 860	530	400 - 900
<u>Constituyentes orgánicos</u>			250	170 - 350
Proteínas				
Aminoácidos	220	140 - 640	280	170 - 420
	38		4	
Amilasa	22		11	0.4 - 62
Lisozima	19			
IgA	1			
IgG	0.2			
IgM	1		1	0.5 - 3
Glucosa				
Citrato			3	1 - 12
Amoniaco	20	12 - 70	13	0.6 - 30
Urea	1.5	0.5 - 3	3	1 - 21
Ácido úrico	0.1	0.05 - 0.2		
Creatinina	8	2.5 - 50		
Colesterol	7		50	
AMPc				
<u>Constituyentes inorgánicos</u>	15	0 - 20	60	
Sodio	80	60 - 100	80	
Potasio	2	1 - 3		
Tiocianato	5.8	2.2 - 11.3	6	
Calcio	16.8	6.1 - 71	12	
Fosfato	50		100	
Cloruro	0.02	0.015 - 0.045	0.011	0.007 - 0.021
Fluoruro(ppm)				



La disfunción, más comúnmente llamada hipofunción, es difícil de evaluar, debido a la existencia de una amplia gama de variaciones aceptadas como normales. El diagnóstico o valoración de la disfunción salival es relativamente subjetivo a menos que se haya establecido un registro de base individual de flujo salival. Alrededor del 30% de la población reporta algún grado de sequedad de boca, lo que indica que no es una queja infrecuente o una preocupación del paciente. El flujo salival reducido tiene dos consecuencias sobre la boca: por un lado, se reduce la preparación del bolo alimenticio para la digestión y el sabor, y por otro lado existe mayor susceptibilidad de las estructuras oral a padecer alguna enfermedad (Mandel ID y cols, 1989). Un conjunto de 4 parámetros clínicos ha sido descrito para que sea más fácil recoger los datos sobre hipofunción salival. Los parámetros incluyen evidencia de labios secos, sequedad de la mucosa bucal, falta de salivación a la palpación, y una alta puntuación total en el Índice de dientes cariados, ausentes u obturados. Cuando los 4 parámetros se califican colectivamente como positivos, los resultados pueden conducir a una evaluación diagnóstica adicional, como mediciones de la tasa de flujo salival, biopsia de glándula salival menor y/o sialografía (Navazesh M y cols, 1992). La hipofunción del flujo salival estimulado no es un cambio normal relacionado con la edad. Aunque se han encontrado concentraciones disminuidas de mucinas salivales con la edad en saliva humana total en reposo y estimulada (Denny PC y cols, 1991; Navazesh M y cols, 1992), investigaciones apuntan a que no hay cambios sustanciales relacionados con la edad en la capacidad de respuesta secretora de las células mucosas salivales (Aguirre A y cols, 1993; Culp DJ y cols, 1996). Muchas veces, el flujo reducido en pacientes de edad avanzada está vinculado a los efectos secundarios de los medicamentos (Ship JA y cols, 1995; Humphrey SP y cols, 2001). Los cambios y deficiencias nutricionales también pueden influir en la función salival. Se puede recomendar el uso de chicles sin azúcar o caramelos que contengan xilitol o sorbitol como un medio para estimular el flujo salival extra para ayudar a la lubricación y el manejo de la caries (Isokangas P y cols, 1989; Humphrey SP y cols, 2001).

Las recomendaciones por parte de profesionales deben ser tratamientos de flúor en el hogar para pacientes con disfunción salival, especialmente aquellos con altas tasas de caries y superficies radiculares expuestas



1.4.1 Métodos de recogida de saliva y determinación del flujo salival

La saliva es un producto de secreción glandular y nos ofrece la ventaja de ser un procedimiento no invasivo y fácil de recoger (Bagán JV y Jimenez Y, 2010).

La sialometría o medición del fluido salival nos proporciona una medida objetiva de disfunción o no salival (Bagán JV y Jimenez Y, 2010; Proctor GB, 2016; Llena - Puy C, 2006).

El flujo salival es muy sensible a los cambios debemos de considerar el ritmo circadiano si queremos medir por ejemplo cortisol ; el sujeto no debe haber realizado actividad física importante. (Proctor GB, 2016).

La saliva es una fuente valiosa de información clínica ya que contiene biomarcadores que podrían tener un valor diagnóstico al identificar pacientes con mayor susceptibilidad a la EA. (Tabla 1.6; Figura 1.4).

Tabla 1.6: Sialometria basal y estimulada (Bagán JV y Jiménez Y, 2010)

SALIVA TOTAL	SALIVA TOTAL ESTIMULADA	SALIVA PARCIAL
- Drenaje	-Mecánico: chicles	- Cánulas
- Expectoración	- Químico: ácido cítrico	- Cápsula de Lashey(parótida)
- Succión	- Farmacológico: pilocarpina	
- Terrón de azúcar	- Eléctrico	
- Test de Schirmer oral (TSG)		
- Salivette		



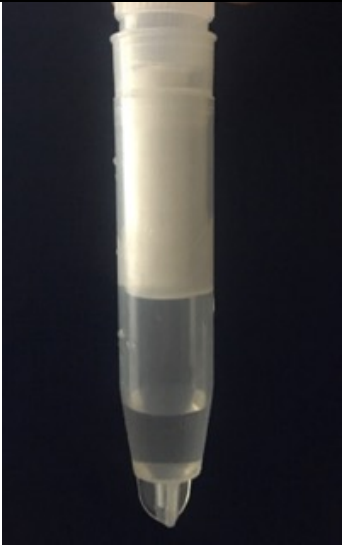
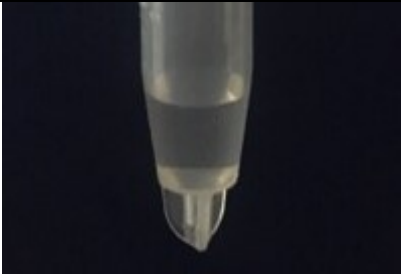
	
<p>A. Tubos de polietileno interior y exterior, algodón absorbente y tapa para la recogida de saliva.</p>	<p>B. Posteriormente se coloca el algodón en la boca.</p>
	
<p>C. Se puede observar la saliva después de ser centrifugada</p>	<p>D. la saliva puede ser analizada</p>

Figura 1.4: Método de recogida Salivette



1.4.2. Saliva en EA

Nos encontramos en una época de desarrollo de nuevos procedimientos de diagnóstico, el conocimiento de las nuevas tecnologías aplicadas a la saliva es cada vez mayor siendo mas accesibles y mucho más precisas; por lo se abren nuevas expectativas que nos ayudan a un diagnóstico y tratamiento precoz.

La saliva es un fluido oral compuesto por proteínas, anticuerpos, enzimas, microflora, etc; con un potencial informativo para la toma de decisiones clínicas. La posibilidad de poder controlar una enfermedad a través de un procedimiento no invasivo como es la saliva ofrece numerosas ventajas (Bermejo-Pareja F y cols 2010).

Se encontró que el ARNm de tau estaba altamente expresado en las glándulas salivales (Conrad C y cols, 2002), y la proteína precursora de β amiloide (A β PP). La proteína precursora de A β 42, también se encontró que se expresaba en células epiteliales salivales humanas (Oh YS y cols, 2006). En el presente estudio, se plantea si tau y A β están presentes en la saliva humana, un fluido corporal que es fácilmente accesible y se recolecta de una manera menos invasiva en comparación con el LCR o incluso con la sangre, y si es así, si se podrían usar como biomarcadores para el diagnóstico de la EA (Shi M y cols, 2011). La medida de las diferentes isoformas de la Tau fosforilada ha mostrado ser un potente marcador de EA. Un ensayo realizado en muestras de saliva detectaron un aumento significativo de alrededor de 25 a 30% en Tau fosforilado a relación Tau total en sujetos con EA en comparación con los controles (Shi M y cols, 2011). Bermejo-Pareja et al (2010) describieron que A β 42 y A β 40 eran detectables en la saliva humana y que los niveles de A β 42 en la saliva aumentaban en pacientes con EA leve (Bermejo-Pareja F y cols 2010).

Los niveles de sAPP α y sAPP β se correlacionan muy bien en pacientes con EA y controles (Zetterberg H y cols, 2008). Varios estudios han fracasado intentando demostrar diferencias en los niveles de estos biomarcadores entre pacientes con EA y controles (Olsson A y cols, 2003; Zetterberg H y cols, 2008; Hertze J y cols, 2010; Johansson P y cols, 2011). Uno estudio encontró niveles más altos de sAPP β en pacientes con deterioro cognitivo leve (MCI) en comparación con controles (Olsson A y cols, 2003) y otra investigación que los pacientes con



MCI que en el seguimiento habían desarrollado EA tenía niveles más altos de sAPP β que en pacientes que no desarrollaron EA (Pernecky R y cols, 2011). Sin embargo, otro estudio no encontró diferencias en los niveles de sAPP en pacientes con MCI y EA incipiente en comparación con pacientes con MCI estables o pacientes que desarrollaron otras demencias (Hertze J y cols, 2010). El valor diagnóstico de sAPP α y sAPP β parecen limitados. Sin embargo, las proteínas pueden ser utilizadas para estudiar los efectos sobre el metabolismo de la proteína precursora amiloide (APP) en ensayos clínicos (Blennow K y cols, 2010).



2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS



Con el aumento de la esperanza de vida, la enfermedad de Alzheimer (EA), es la causa más común de demencia, se trata de un problema importante socioeconómico y médico en rápido crecimiento. El diagnóstico de la demencia no es fácil requiere mucho tiempo y son necesarios una combinación exámenes de evaluación clínica, pruebas psicológicas, imágenes y exclusión de otros trastornos neurológicos.

Por ello es interesante y muy útil tener un biomarcador molecular que pueda identificar y clasificar la EA para confirmar el diagnóstico y poder identificar distintos grupos de pacientes, predecir el resultado de la enfermedad y monitorear su evolución, así como ver la progresión y su sensibilidad al tratamiento. De hecho, se ha sugerido que la falta de herramientas para detectar la enfermedad en los estadios iniciales es uno de los principales obstáculos para el desarrollo de nuevos tratamientos (Cummings JL, 2002; Dubois B y cols, 2007).

Se requieren urgentemente pruebas simples y no invasivas para la detección temprana de demencia degenerativa mediante el uso de biomarcadores. Sin embargo, hasta el presente, no hay disponibles marcadores diagnósticos extracerebrales validados para el diagnóstico temprano de la enfermedad de Alzheimer (EA). Es necesario, un marcador bioquímico que respaldaría el diagnóstico clínico y distinguiría la EA de otras causas de demencia sería de gran valor como prueba de detección (Semla TP, 2007; Bermejo-Pareja y cols, 2010).

La saliva como fluido biológico, es fácil de obtener. Además, los niveles de saliva pueden reflejar cambios en el LCR. La mayoría de los estudios de biomarcadores de EA aceptados hasta la fecha se han realizado utilizando muestras de LCR obtenidas mediante punción lumbar. Este es un procedimiento invasivo que es particularmente desagradable para el sujeto y para el cual se requiere un consentimiento explícito (Hulstaert F y cols, 1999; Tang BL y Kumar R, 2008).

El diagnóstico precoz de la EA representa un objetivo primordial, y el papel de los biomarcadores parece ser crucial en un entorno clínico de rutina. Se han encontrado depósitos de proteína beta-amiloide ($A\beta$) principalmente en el cerebro y también aparece en las regiones



periféricas, como piel, la mucosa nasal y lagrimal y las glándulas salivales (Sundelöf J y cols, 2008).

2.1 OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de la presente tesis doctoral es determinar el estado de salud oral y biomarcadores salivales en pacientes con deterioro cognitivo en una población mayor de 65 años de la comunidad Autónoma de la Región de Murcia.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Analizar el estado de salud general en los pacientes que presentan deterioro cognitivo.
2. Evaluar el impacto de deterioro cognitivo de población estudiada sobre los hábitos de higiene oral.
3. Conocer la posible asociación del número de dientes presentes en la cavidad oral y el grado de deterioro cognitivo.
4. Estudiar los biomarcadores salivales que puedan estar implicados en pacientes con distinto grado de deterioro cognitivo.



3. MATERIAL y MÉTODOS



3.1. TIPO DE ESTUDIO/ DISEÑO DEL ESTUDIO

El diseño del estudio fue descriptivo transversal y representativo de la Región de Murcia constituido por individuos de ambos sexos, con 65 o más años, que viven en la Región de Murcia.

Se realizaron informes previos y permisos correspondientes a los diferentes centros para poder acceder al mismo explicando el objetivo del estudio.

En el grupo de los Casos participaron un total de 115 personas con un rango de edad entre los 65 años y los 88 años, de los cuales 68 eran mujeres y 47 hombres, en las residencias privadas de las diferentes áreas de Salud de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia:

- *Los Almendros (Cartagena).*
- *Casa de Campo (Cartagena).*
- *Caser (Lorca) (Figura 3.1).*

También se realizó en las Asociaciones de Alzheimer:

- *AFADE Alcantarilla (Murcia) (Figura 3.2).*
- *AFAL Cartagena y comarca (Cartagena).*
- *AFA (Lorca).*

Y Departamento de Medicina Oral de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Murcia.



Figura 3.1. Residencia Caser, Lorca.



Figura 3.2. Asociación AFADe, Alcantarilla.

El grupo de los Controles estaba formado por 102 participantes con edades comprendidas entre los 65 años y 93 años de los cuales 64 eran mujeres y 38 hombres, estos datos se tomaron en el Departamento de Medicina Oral de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Murcia, en las residencias privadas para ancianos Los Almendros (Cartagena), Casa de Campo (Cartagena), Caser (Lorca).

El diagnóstico de Alzheimer fue facilitado por los propios pacientes o familiares en el caso de los que acudieron al Departamento de Medicina Oral de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Murcia, y por las entidades responsable de los pacientes ya fuera en Residencias privadas o Asociaciones de Alzheimer.

3.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Paciente mayor de 65 años.
- Pacientes con un diagnóstico firme de GSD o demencia de cualquier etiología o gravedad.
- Pacientes que han consentido participar en el estudio voluntariamente y con posibilidad de realizarles, entre otras exploraciones, la toma de una muestra de saliva y una exploración oral.
- Firmar el consentimiento informado.



3.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Paciente menor de 65 años.
- Pacientes que hayan recibido o estén recibiendo tratamiento con quimioterapia/radioterapia en zona de cabeza y cuello.
- Sujetos con trastornos de la personalidad, esquizofrenia o con consumo de drogas, y sujetos con patologías agudas o crónicas no controladas.
- Tratamiento crónico sistémico con corticoides, ciclosporina u otros inmunosupresores.

Todos los pacientes del grupo control eran activos funcionalmente, físicamente y socialmente; y tuvieron puntuaciones MMSE ≥ 28 .

3.4 COMITÉ DE ÉTICA

El presente estudio fue aprobado por el comité de Ética de la Universidad de Murcia (ID: 2287/2019). El estudio siguió la guía STROBE (Strengthening the Reporting of Observational studies in Epidemiology).

Todos los participantes del estudio y/o sus familiares- representantes legales fueron informados acerca del estudio antes de que comenzará y todos firmaron el Consentimiento Informado.

3.5 EXPLORACIÓN NEUROLÓGICA.

Los pacientes de Alzheimer fueron diagnosticados por los neurólogos y el estadiaje fue realizado según la Global Deterioration Scale de Reisberg (GSD) ó Escala de Deterioro Cognitivo.

La GSD es una escala global de deterioro Cognitivo que describe siete fases que van desde la normalidad hasta fases más graves. Es realizado por un clínico con conocimientos relevantes sobre el paciente y lo realiza en unos 2-3 minutos, si no es así se requiere de una entrevista dirigida.



La puntuación final nos describe el estado actual del paciente. Es una evaluación global que nos orienta sobre la clínica actual del paciente.

Se evalúa de 0 a 7, a mayor puntuación hay mayor afectación (Tabla 3.1).

Tabla 3.1: Grado de afectación cognitiva de la Escala GSD (Reisberg B y cols, 1982)

FASE / ESTADÍO	INDICA
<i>GSD 1</i>	Ausencia de afectación cognitiva
<i>GSD 2</i>	Disminución cognitiva muy leve
<i>GSD 3</i>	Defecto cognitivo leve
<i>GSD 4</i>	Defecto cognitivo leve- moderado
<i>GSD 5</i>	Defecto cognitivo moderado- grave
<i>GSD 6</i>	Defecto cognitivo grave
<i>GSD 7</i>	Defecto cognitivo muy grave

Todas las actividades realizadas fueron realizadas por una sola examinadora, debidamente entrenada y calibrada en condiciones similares (OMS 1997), siguiendo los principios éticos de la declaración de Helsinki sobre investigación en personas.

Se llevó a cabo un protocolo específico donde recogíamos una serie de parámetros: los socio-económicos fueron recogidos personalmente durante la entrevista, posteriormente se realizaba la exploración buco dental por parte de un odontólogo y pruebas complementarias como la toma de una muestra de saliva.



A.- Sociodemográficas y estilos de vida:

- Sexo: Hombre, Mujer.
- Estado civil: Soltero, Casado, Viudo, Separado.
- Edad: Número de años cumplidos, mínimo 65.
- Nivel de estudios:
- Consumo de tabaco: No fuma, Fuma esporádicamente y Fuma habitualmente.

B.- Antropométricos. Dentro de estos, se evaluaron los siguientes parámetros: Peso y Talla.

C.- Estado de salud general

- Enfermedades: Enfermedades generales como cardiovascular, endocrinas, neurológicas, locomotoras, hematológicas, gastrointestinales y urogenitales con el objetivo es poder registrar datos sobre la existencia de síntomas, en los distintos aparatos y sistemas.
- Consumo de Fármacos: Número de fármacos, principio activo, vía de administración, tiempo de consumo y tomas al día.

D.- Hábitos de Higiene Oral

Los sujetos sin patología neurodegenerativa y los familiares o cuidadores de los pacientes que padecían Alzheimer fueron entrevistados sobre los cuidados de la higiene oral la frecuencia de cepillado, tipo de cepillo, cepillos adaptados, hilo o seda dental, productos fluorados, utilización de colutorios y por ultimo si necesitaban o no ayuda.

3.6 EXPLORACIÓN BUCO-DENTAL

La exploración buco-dental se llevó a cabo de manera individualizada, con iluminación natural, y con el paciente sentado y con la cabeza apoyada. Fueron seguidas las recomendaciones metodológicas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para encuestas de salud oral, entre ellas: características de los materiales e instrumentos, medidas para el control de

infección, condiciones del local de examen (posición del examinador y del paciente, iluminación, etc.), secuencia de dientes/regiones para examen y estructura del formulario de recolección de datos.

El material que utilizamos para la exploración oral consistía en dos espejos bucales planos, sonda de exploración de caries, sonda periodontal, depresores de madera y las gasas esterilizadas, y una linterna en los casos que fuera necesario (Figuras 3.3 y 3.4).



Figuras 3.3 y 3.4: Se observa retracción de las encías y gingivitis descamativa.

En el diseño general fue la exploración se recogían datos como el número de dientes que presentaba el paciente, si era o no portador de algún tipo de prótesis dental, el estado de la misma y el estado periodontal a través de un periodontograma. Y por último se les pedía una muestra de saliva.

Todos los participantes fueron examinados por la misma operadora. La exploración se realizó con un espejo bucal, una sonda periodontal, depresores linguales y gasas.

Los participantes del estudio fueron examinados en una media de 30 minutos por paciente.

Se realizaron los siguientes índices:



3.6.1 Índice de placa

Se utilizó en índice de Silness y Løe que valora la cantidad de placa bacteriana existente sobre el área gingival de cada uno de los dientes presentes en boca, exceptuando los terceros molares, sin necesidad de agentes reveladores de placa. Se valoran cuatro superficies por diente (vestibular, mesial, palatino y distal) dando a cada una de las superficies una puntuación de 0 a 3 en función de la cantidad de placa que se visualiza: 0, no hay placa; 1, se puede reconocer la placa sólo al pasar la sonda a través de la superficie dental; 2, acumulación moderada de depósitos que se puede ver a simple vista; 3, abundancia de materia blanda y/o cálculo dental. La puntuación se obtiene sumando la puntuación obtenida en cada una de las superficies exploradas y dividiendo por el número de superficies exploradas (Llodra y cols, 2003) (Tabla 3.2).

Tabla 3.2: Criterios clínicos para el índice de placa de Løe y Silnes

Grado	Características
0	No hay placa
1	No hay placa a simple vista. Hay placa cuando se realiza el paso de sonda ó explorador por el área dentogingival
2	Hay placa bacteriana a simple vista
3	Hay placa bacteriana a simple vista rodeando el diente, incluso por espacios interdetales. Puede haber cálculos.

3.6.2 Índice gingival simplificado (GI-S)

Para evaluar la presencia de inflamación gingival .Para ello se evaluaron las cuatro superficies dentales (mesial, vestibular, distal y palatino) de todos los dientes presentes en boca y se utilizó una sonda periodontal.



Se anotó en cada superficie la presencia o ausencia de sangrado gingival tras el sondeo. La presencia de sangrado se marcaba con un signo “positivo” y la ausencia con un signo “negativo”. Se expresa porcentualmente calculándose mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{número de superficies con sangrado}}{\text{número de superficies exploradas}} \times 100$$

Se considera que el valor debe ser 0 para que exista salud gingival (Llodra y cols, 2003).

3.6.3 Profundidad de sondaje.

Se calculó la profundidad de sondeo de cada uno de los dientes presentes en boca con la ayuda de una sonda periodontal milimetrada. Se exploraron seis puntos en cada uno de los dientes. Se anotó en el sitio correspondiente los milímetros que existían desde el margen gingival al fondo de la bolsa periodontal. Se calculó el promedio del tamaño de las bolsas periodontales de cada paciente sumando los milímetros obtenidos en cada uno de los sitios explorados y dividiendo por el total de sitios.

3.6.4 Sialometría total no estimulada

Se indica al paciente que antes de la recogida de muestras de saliva no debía comer o fumar. La saliva era recogida en el mismo centro en un ambiente tranquilo. Se llevó a cabo a través de un protocolo estandarizado.

La saliva es recogida mediante la técnica de drenaje descrita por Navazesh y cols en 2008. El paciente se encuentra sentado relajado deja caer la saliva producida de forma pasiva a en un recipiente milimetrado durante 10 minutos evitando cualquier tipo de estímulo. Las muestras de saliva fueron transportadas en refrigeración al laboratorio Interlab-UMU donde se congelaron a -80 °C para posteriormente ser analizadas.

3.7 ANÁLISIS BIOQUÍMICO DE LA SALIVA

Se analizaron las proteínas A β 40, A β 42, Total Tau (tTau) y Tau Thr181 fosforilada (pTau181) utilizando un kit disponible comercialmente (MILLIPLEX MAP Human Amyloid Beta y Tau Magnetic Bead Panel - Ensayo Multiplex; Life Science, Darmstadt, Alemania) según las indicaciones del fabricante. Complemento C4 (CC4), α 1-Antitrypsin, CRP, MIP-4, PEDF, SAP se analizaron utilizando un kit disponible comercialmente (MILLIPLEX MAP Enfermedad magnética humana Magnetic Bead Panel 2 - Ensayo de multiplexación de neurociencia; Life Science, Darmstadt, Alemania) según las indicaciones del fabricante. En ambos casos, los valores se calcularon en base a una curva estándar construida para el ensayo. Los dos kits han sido medido en el equipo Luminex xMAP® xPONENT® 4.2 (Figura 3.5).



Figura 3.5: Luminex xMAP® xPONENT® 4.2.

La ADA total se midió utilizando un método automatizado espectrofotométrico que está disponible comercialmente (kit de ensayo de Adenosina Deaminasa, Diazyme Laboratories, Poway, CA, EE. UU.). Este método se basa en la desaminación enzimática de la adenosina a inosina que se convierte en hipoxantina por la nucleósido de purina fosforilasa. La hipoxantina se convierte luego en ácido úrico y peróxido de hidrógeno por la xantina oxidasa. La peroxidasa reacciona adicionalmente con N-etil-N- (2-hidroxi-3-sulfopropil) -3-metilnilina y 4-aminoantipirina en presencia de peroxidasa para generar un colorante de quinina que se controla cinéticamente a una longitud de onda de 550 nm (Delacour y cols, 2013).



La medición de FRAP (capacidad de reducción férrica del plasma) se basó en el método descrito por Benzie and Strain (1996) con algunas modificaciones. El método se basa en el principio de que los antioxidantes presentes en la muestra reducen el complejo ferrictripiridiltriazina ($Fe^{3+} + TPTZ$) a la tripiridiltriazina ferrosa ($Fe^{2+} + TPTZ$), que tiene un color azul. La intensidad del color es proporcional a la capacidad reductora de los antioxidantes principalmente no enzimáticos en el plasma (Benzie y Strain, 1996). En resumen, se pipetearon 300 μ l de reactivo FRAP recién preparado y se agregaron 10 μ l de muestra al reactivo. Las lecturas de absorbancia a 600 nm se tomaron antes y después de la adición de la muestra. La curva de calibración se obtuvo con concentraciones conocidas (0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 mmol / l) de solución de Fe (II).

La colinesterasa en saliva se analizó como se describió anteriormente (Tecles y cols, 2016). Brevemente, se agregaron a la cubeta de reactivos la muestra y el cromóforo 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB, Sigma-Aldrich Co, concentración final de 0,29 mM), seguido del sustrato de acetiltiococo yoduro (ATCI, Sigma-Aldrich Co, concentración final 16.18 Mm). La velocidad de aparición de ácido 5-tio-2-nitrobenzoico (producto de reacción entre DTNB y ATCI) por minuto se detectó a una longitud de onda de 405 nm. La actividad de la colinesterasa se expresó como nmol del sustrato hidrolizado / ml muestra / min en base a la capacidad de absorción del producto de reacción a 405 nm. El contenido total de proteínas se midió colorimétricamente con un kit comercial (Beckman Coulter OSR6132), de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

ADA, FRAP y colinesterasa en muestras de saliva han sido medidas con el analizador automático (Olympus AU600) (Imagen 3.6).



Figura 3.6: Olympus AU600.

3.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico descriptivo de la muestra se emplearon los métodos descriptivos básicos, de modo que, para las variables cualitativas, se obtuvo el número de casos presentes en cada categoría y el porcentaje correspondiente; y para las variables cuantitativas, los valores mínimo, máximo, media y desviación típica.

La comparación entre grupos para las variables cualitativas se realizó mediante la prueba Chi-cuadrado. En las variables cuantitativas, para la comparación de medias entre los grupos se emplearon el test t-Student o la prueba ANOVA, en función del número de grupos y una vez comprobados los supuestos de normalidad con el test de Kolmogorov-Smirnov y de homogeneidad de varianzas con el test de Levene. Las correlaciones entre variables se comprobaron mediante coeficiente de correlación Spearman o Pearson en función del tipo de variable.

El modelo de regresión logística binaria se realizó para determinar el efecto de las variables en los pacientes enfermos con respecto a los sanos, de forma univariante y multivariante. El modelo de regresión logística multinivel en los pacientes enfermos se realizó para determinar el efecto de las variables en el grado de enfermedad teniendo de referencia los pacientes de grado leve.

En relación al número de dientes presentes, se calcularon modelos de regresión logística multinivel (univariante), para determinar el efecto de las variables demográficas y clínicas en el



número de dientes presentes dejando como referencia el intervalo de dientes presentes de 20-32 piezas.

El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 23.0 para Windows. Las diferencias consideradas estadísticamente significativas son aquellas cuya $p < 0.05$.



4. RESULTADOS

4.1 ESTUDIO DESCRIPTIVO Y COMPARATIVO DE LA VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y HÁBITOS SEGÚN GRUPO DE CASOS Y CONTROLES

De acuerdo a la distribución de los pacientes según el grupo (Figura 4.1), el 54,6% son del grupo control y el 45,4% son pacientes enfermos.

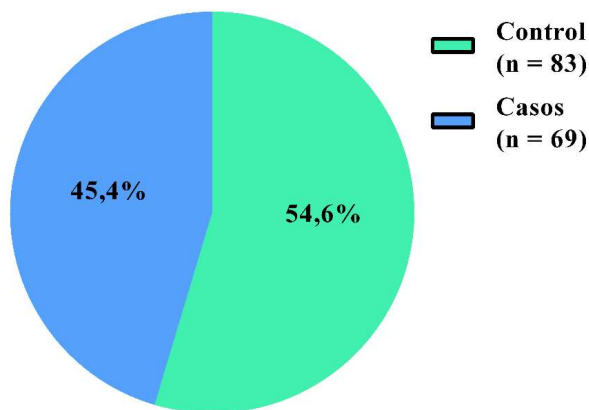


Figura 4.1: Distribución de pacientes según grupo

La muestra final del estudio se ha constituido con 152 pacientes de los cuales un 64,5% (n = 98) son mujeres y un 35,5% (n = 54) hombres, con edades comprendidas entre los 65 y 93 años con un promedio de $75,6 \pm 7,2$ años.

En la Tabla 4.1 se muestra el descriptivo de las variables demográficas y de hábitos según el grupo, así como los resultados de las pruebas realizadas para comparar dichas variables entre los pacientes del grupo control y los del grupo de enfermos.

Tabla 4.1: Descriptivo y comparativo de las variables demográficas y hábitos según grupo.

	Grupo		Prueba	p-valor
	Control	Experimental		
Edad	74,82 (8,17)	76,54 (5,65)	$t(150) = -1,476$	0,142
Sexo			$\chi^2(1) = 0,027$	0,868
Mujer	54 (65,1)	44 (63,8)		
Hombre	29 (34,9)	25 (36,2)		
Estudios			$\chi^2(3) = 9,855$	0,02
Sin estudios	16 (19,3) a	17 (24,6) a		
Primarios	28 (33,7) a	22 (31,9) a		
Secundarios	22 (26,5) a	27 (39,1) a		
Universitarios	17 (20,5) a	3 (4,3) b		
Tabaco			$\chi^2(2) = 5,503$	0,064
Sí	20 (24,1)	8 (11,6)		
No	43 (51,8)	35 (50,7)		
Exfumador	20 (24,1)	26 (37,7)		
Alcohol			$\chi^2(3) = 9,615$	0,022
No	51 (61,4) a	45 (65,2) a		
1 vez por semana	7 (8,4) a	5 (7,2) a		
Fin de semana	13 (15,7) a	18 (26,1) a		
Diario	12 (14,5) a	1 (1,4) b		

a-b. Comparaciones dos a dos

En la edad, el sexo y el consumo de tabaco, no se observaron diferencias estadísticamente significativas. En el nivel de estudios y el consumo de alcohol sí se mostraron diferencias. El porcentaje de pacientes con estudios universitarios es mayor en el grupo control (20,5%) que en el grupo de casos (4,3%). En el consumo de alcohol, el porcentaje de pacientes que consumen a diario es mayor en el grupo control (14,5%) que en el grupo de casos (1,4%).

Respecto al número total de dientes presentes en boca encontramos que entre 1-9 dientes son 18 pacientes (11,8%); entre 10-19 dientes 57 pacientes (37,5%) y 20-32 son 69 pacientes representando el 45,5%



4.2. ANÁLISIS DESCRIPTIVO Y COMPARATIVO DE LAS VARIABLES CLÍNICAS SEGÚN GRUPO

Con respecto a las variables clínicas, en la Tabla 4.2 se muestra el descriptivo y los resultados de las pruebas realizadas para comparar dichas variables entre los pacientes del grupo control y los del grupo de enfermos.

Respecto al GDS dividimos el grupo de pacientes en subgrupos, Leve: 2-3; Moderado: 4 y Severo: 5-7 y encontramos que la forma leve presenta 25 (50,7% de pacientes), moderado 18 (26,1% de pacientes) y severo 16 (23,2% de pacientes).

En presencia de las enfermedades respiratorias, gastrointestinales y urogenital se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos control y los que padecían deterioro cognitivo (Tabla 4.2).

El porcentaje de pacientes con enfermedades respiratorias fue menor en el grupo control (20,5%) que en el grupo de casos (37,7%), mientras que las gastrointestinales, el porcentaje de pacientes en el grupo control (36,1%) fue mayor que en el grupo de casos (21,7%), En la urogenital, el porcentaje de pacientes del grupo control (36,1%) fue menor que el del grupo de casos (60,9%). En el resto de variables no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.



Tabla 4.2: Descriptivo y comparativo variables clínicas según grupo.

	Grupo		Prueba	p-valor
	Control	Experimental		
Nº fármacos	4,81 (3,45)	5,39 (2,18)	$t(150) = -1,217$	0,225
BMI	26,95 (3,77)	28 (4,4)	$t(80) = -1,085$	0,281
Enf. Cardiovascular			$\chi^2(1) = 0,026$	0,871
Sí	48 (57,8)	39 (56,5)		
No	35 (42,2)	30 (43,5)		
Enf. Endocrina			$\chi^2(1) = 0,768$	0,381
Sí	48 (57,8)	35 (50,7)		
No	35 (42,2)	34 (49,3)		
Enf. Neurológica			$\chi^2(1) = 75,817$	< 0,001
Sí	26 (31,3)	69 (100)		
No	57 (68,7)			
Enf. Respiratoria			$\chi^2(1) = 5,494$	0,019
Sí	17 (20,5)	26 (37,7)		
No	66 (79,5)	43 (62,3)		
Enf. Locomotora			$\chi^2(1) = 2,691$	0,101
Sí	47 (56,6)	48 (69,6)		
No	36 (43,4)	21 (30,4)		
Enf. Gastrointestinal			$\chi^2(1) = 3,861$	0,049
Sí	30 (36,1)	15 (21,7)		
No	53 (63,9)	54 (78,3)		
Enf. Hematológica			$\chi^2(1) = 1,157$	0,282
Sí	29 (34,9)	30 (43,5)		
No	54 (65,1)	39 (56,5)		
Enf. Urogenital			$\chi^2(1) = 9,239$	0,002
Sí	30 (36,1)	42 (60,9)		
No	53 (63,9)	27 (39,1)		



4.3 EL ANÁLISIS DESCRIPTIVO Y COMPARATIVO DE LAS VARIABLES BUCO-DENTALES

En la Tabla 4.3 Los resultados de las pruebas estadísticas evidenciaron que el porcentaje de pacientes dependientes para poder cepillarse los dientes es mayor en los del grupo de casos que en el grupo control. Por tipo de cepillo, el manual es usado en mayor proporción en los pacientes del grupo de casos (100%) que en los del grupo control (69,9%). Por otra parte, el porcentaje de pacientes que se cepillan los dientes 3 o 4 veces al día fue significativamente superior en el grupo de casos que en el grupo control, mientras que el porcentaje de pacientes del grupo de casos con prótesis (47,8%) fue mayor que el de los pacientes del grupo control (21,7%). En cuanto a los niveles de Ps, placa y sangrado, los pacientes del grupo de casos mostraron unos valores medios significativamente superiores con respecto a los pacientes del grupo control, mientras que el número de dientes presentes de éstos fue significativamente inferior al de los pacientes del grupo control.



Tabla 4.3: Descriptivo y comparativo variables buco-dentales según grupo

	Grupo		Prueba	p-valor
	Control	Experimental		
Halitosis, n (%)			$\chi^2(5) = 7,262$	0,202
1	28 (33,7)	15 (21,7)		
2	18 (21,7)	20 (29)		
3	26 (31,3)	18 (26,1)		
4	8 (9,6)	12 (17,4)		
5	3 (3,6)	2 (2,9)		
6		2 (2,9)		
Independencia cepillado, n (%)			$\chi^2(2) = 15,432$	< 0,001
Solo	72 (86,7)	45 (65,2)		
Ayuda	11 (13,3)	14 (20,3)		
Dependiente		10 (14,5)		
Tipo cepillo, n (%)			$\chi^2(1) = 24,874$	< 0,001
Manual	58 (69,9)	69 (100)		
Eléctrico	25 (30,1)			
Nº cepillados día, n (%)			$\chi^2(4) = 11,522$	0,021
1	29a (34,9)	17a (24,6)		
2	24a (28,9)	23a (33,3)		
3	14a (16,9)	3b (4,3)		
4	14a (16,9)	22b (31,9)		
Nunca	2a (2,4)	4a (5,8)		
Prótesis, n (%)			$\chi^2(1) = 11,547$	0,001
No	65 (78,3)	36 (52,2)		
Sí	18 (21,7)	33 (47,8)		
Estado prótesis, n (%)			$\chi^2(1) = 1,203$	0,273
Bueno	12 (70,6)	18 (54,5)		
Malo	5 (29,4)	15 (45,5)		
Media PS, media (DT)	2,57 (0,98)	3,05 (0,99)	$t(142) = -2,939$	0,004
Placa bacteriana, media (DT)	44,85 (16,84)	57,75 (12,66)	$t(142) = -5,083$	< 0,001
Sangrado, media (DT)	54,72 (19,57)	70,97 (14,48)	$t(142) = -5,535$	< 0,001
Nº dientes presentes, media (DT)	19,23 (6,91)	14,2 (7,93)	$t(150) = 4,176$	< 0,001



4.4. ESTUDIO DEL EFECTO DE LAS VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS Y EN EL NÚMERO DE DIENTES PRESENTES

En relación al número de dientes presentes, en la Tabla 4.4 se muestra los resultados de los modelos de regresión logística multinivel calculados, a nivel univariante, para determinar el efecto de las variables demográficas y clínicas en el número de dientes presentes dejando como referencia el intervalo de dientes presentes de 20-32 piezas. Los pacientes con un grado de enfermedad severo tienen mayor probabilidad de tener un número de dientes presentes inferior a 20 con respecto a los pacientes del grupo control, en concreto tienen 11 veces más probabilidad de tener entre 1-9 dientes y 11,59 veces más de tener entre 10-19 que los pacientes del grupo control. El grado de dependencia a la hora del cepillado también mostró un efecto estadísticamente significativo de forma que, los pacientes totalmente dependientes tienen 33 veces más probabilidad de tener de 1-9 dientes siendo esta probabilidad de 13,38 en el caso de tener entre 10-19 dientes, con respecto a los pacientes que no necesitan ayuda para cepillarse. Por último, el porcentaje de placa bacteriana y el nivel de sangrado mostraron también un efecto estadísticamente significativo de forma que, un mayor nivel de placa y sangrado aumenta la probabilidad de tener menos de 20 dientes presentes.

Tabla 4.4: Efecto de las variables demográficas y clínicas en el número de dientes presentes.

	Número dientes presentes			
	1-9		10-19	
	OR (IC95%)	p-valor	OR (IC95%)	p-valor
GSD				
Control	Ref.			
Leve	8,62 (1,95 - 38,03)	0,004	1,53 (0,62 - 3,80)	0,361
Moderado	2,29 (0,21 - 25,15)	0,499	2,13 (0,72 - 6,33)	0,174
Severo	11,00 (1,28 - 23,22)	< 0,001	11,59 (1,36 - 29,01)	0,025
Sexo				
Hombre	Ref.			
Mujer	1,87 (0,55 - 6,30)	0,315	0,79 (0,38 - 1,63)	0,52
Estudios				
Universitarios	Ref.			
Sin estudios	6,92 (0,73 - 65,26)	0,091	2,60 (0,65 - 10,45)	0,179
Primarios	5,63 (0,60 - 52,37)	0,129	5,83 (0,79 - 22,41)	0,064
Secundarios	3,00 (0,32 - 28,19)	0,337	2,55 (0,72 - 9,02)	0,146
Tabaco				
No	Ref.			
Sí	2,55 (0,73 - 8,93)	0,142	1,62 (0,72 - 3,67)	0,247
Exfumador	0,29 (0,03 - 2,82)	0,286	0,58 (0,20 - 1,65)	0,306
Alcohol				
No	Ref.			
Ocasional	1,04 (0,91 - 2,04)	0,887	1,06 (0,84 - 2,55)	0,954
Diario	1,94 (1,21 - 4,04)	0,121	1,02 (0,87 - 1,91)	0,916
Independencia cepillado				
Solo	Ref.			
Ayuda	17,71 (3,69 - 25,96)	0,002	8,92 (1,23 - 19,25)	0,043
Dependiente	33,00 (5,71 - 45,66)	< 0,001	13,38 (2,90 - 21,74)	0,001
Nº cepillados				
Nunca	Ref.			
1-2	0,12 (0,01 - 2,09)	0,144	0,20 (0,02 - 2,00)	0,17



3-4	0,69 (0,04 - 12,20)	0,798	0,48 (0,05 - 5,03)	0,54
Placa bacteriana	1,39 (1,07 - 1,47)	< 0,001	1,18 (1,03 - 1,10)	< 0,001
Sangrado	1,26 (1,06 - 1,15)	< 0,001	1,15 (1,03 - 1,09)	< 0,001

OR: odds ratio. IC: intervalo de confianza.

4.5. ESTUDIO DE LAS VARIABLES SALIVALES ANALIZADAS

La saliva no estimulada fue recogida y analizada según el procedimiento descrito en material y métodos.

En la Tabla 4.5 se muestra el descriptivo de las variables salivales de los distintos grupos según el grupo de pacientes, así como los resultados de los modelos de regresión logística calculado a nivel univariante y multivariante, para determinar el efecto de las variables en los pacientes del grupo de casos. A nivel univariante, los pacientes con menor Ab42 (OR = 0,53, $p = 0,041$) y mayor complement_C4 (OR = 1,43, $p = 0,048$) tienen mayor probabilidad de pertenecer al grupo de casos. Una disminución en los valores de Ab42 hace que la probabilidad de que un paciente sea enfermo aumente en un 47%, mientras que un aumento en el valor del complement-C4 hace que las probabilidades de que un paciente sea enfermo sean 1,43 veces más probables. A nivel multivariante, es el complemet_C4 el que mantuvo su efecto significativo, siendo en este caso, las probabilidades de que un paciente sea enfermo sean 1,28 veces más probables por cada incremento de una unidad en su valor.



Tabla 4.5: Efecto de las variables salivales en el grupo de casos.

	Grupo, media (DT)		Univariante		Multivariante [†]	
	Control	Enfermos	OR (IC95%)	p-valor	OR (IC95%)	p-valor
FRAP, mmol/L	1,06 (0,74)	0,94 (0,55)	0,74 (0,43 - 1,27)	0,274	2,74 (0,12 - 11,29)	0,526
ADA, IU/L	8,62 (11,05)	7,61 (6,31)	0,99 (0,95 - 1,03)	0,529	0,97 (0,79 - 1,18)	0,75
ChE, μmol/mL/min	15,57 (11,48)	17,96 (16,48)	1,01 (0,99 - 1,04)	0,335	1,04 (0,96 - 1,14)	0,332
Hp, ng/mL	2252,91 (1510,63)	2098,62 (1225,68)	1,00 (1,00 - 1,00)	0,532	1,00 (1,00 - 1,00)	0,696
Ab40, pg/mL	19,97 (6,35)	21,98 (16,94)	1,01 (0,97 - 1,06)	0,515	1,13 (0,76 - 1,69)	0,543
Ab42, pg/mL	3,57 (0,93)	3,15 (0,72)	0,53 (0,29 - 0,97)	0,041	0,26 (0,04 - 1,81)	0,175
t-tau, pg/mL	21,15 (16,58)	21,57 (22,11)	1,00 (0,98 - 1,02)	0,923	1,01 (0,94 - 1,08)	0,839
p-tau181, pg/mL	42,5 (38,35)	40,33 (42,95)	1,00 (0,99 - 1,01)	0,813	1,00 (0,96 - 1,05)	0,946
CRP, pg/mL	57,38 (66,75)	73,59 (64,1)	1,00 (1,00 - 1,01)	0,311	0,99 (0,97 - 1,01)	0,306
α1 Antitrypsin, pg/mL	17,89 (34,01)	28,71 (108,62)	1,00 (1,00 - 1,01)	0,583	1,00 (0,99 - 1,01)	0,83
PEDF, pg/mL	22,86 (49,21)	31,41 (64,38)	1,00 (0,99 - 1,01)	0,52	1,02 (0,91 - 1,15)	0,764
SAP, pg/mL	1870,06 (3737,82)	1593,09 (2556,55)	1,00 (1,00 - 1,00)	0,699	1,00 (1,00 - 1,00)	0,545
MIP-4, pg/mL	0,4 (0,57)	0,49 (0,55)	1,33 (0,58 - 3,06)	0,496	5,24 (0,13 - 16,07)	0,38
CC4, pg/mL	15,37 (11,22)	22,95 (17,66)	1,43 (1,08 - 1,98)	0,048	1,28 (1,07 - 1,56)	0,028

[†] Modelo: $\chi^2 (14) = 24,06, p = 0,045, R^2$ Nagelkerke = 0,21



5. DISCUSIÓN



5.1 CARACTERÍSTICAS DEL ESTADO DE LA BOCA, LA HIGIENE BUCODENTAL Y EL DETERIORO COGNITIVO.

El deterioro cognitivo y la demencia son problemas importantes en las sociedades que envejecen. Encontramos que la salud oral en personas con demencia es mala y la gravedad de deterioro causada por la demencia desempeña un factor importante, así la forma severa tienen mayor probabilidad de tener menor número de dientes con respecto a los pacientes del grupo control. Estos datos de mala higiene oral se confirman con trabajos previos sobre salud oral en personas con demencia (Adam H Y cols, 2006), el subtipo de demencia, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer o la demencia vascular, no parece ser un determinante esencial de la salud oral (Syrjälä A-M H y cols, 2012). La gravedad del deterioro cognitivo si desempeña un papel en la salud oral de las personas mayores con demencia, con más placa y enfermedad oral en las personas con más deterioro cognitivo (Gil-Montoya J.A y cols, 2016; Chen J y cols, 2018; Fang WL y cols, 2018). El estudio de Stein y cols 2007 determina el riesgo de demencia con el número de dientes presentes, estableciendo que la pérdida dental podría ser un marcador temprano para deterioro cognitivo y físico.

Por otro lado, surge la pregunta de si, existe una asociación entre el estado de salud oral y el estado cognitivo, posiblemente a través de una vía inflamatoria común (Rogers J y cols, 2008; Syrjälä A-M H y cols, 2012). Existen varios mecanismos potenciales por los cuales la pérdida de dientes puede afectar negativamente la función cognitiva. La periodontitis es una de las principales causas de la pérdida de dientes, que es capaz de aumentar los niveles de mediadores proinflamatorios como la IL-1, la IL-6 y el TNF- α en el plasma, lo que contribuye al empeoramiento de los procesos neuroinflamatorios en el cerebro y, finalmente, lo que resulta en el deterioro cognitivo. Además, el trastorno masticatorio debido a la pérdida de dientes puede llevar a un mal estado nutricional y reducir el flujo sanguíneo cerebral, que puede estar relacionado con déficits de memoria (Rogers J. y cols, 2008; Kamer AR y cols, 2008; Otomo-Corgel J y cols, 2012; Noble JM y cols, 2013; Li J y cols, 2017). Estudios recientes de Kato H y cols 2019



encuentran que mantener la salud dental y/o utilizar dientes artificiales pueden ser una medida posible para ayudar a preservar la función cognitiva en el adulto mayor.

La pérdida de dientes refleja la historia de enfermedades, el cómo ha reaccionado la salud y la atención prestada a lo largo del curso de la vida de un individuo, por ello para una buena salud bucal es necesario la eliminación diaria de la placa bacteriana mediante cepillado, el cuidado de la higiene oral para las personas dependientes deben estar entre las principales actividades diarias de cuidado (Stein PS y cols, 2007; Arrivé E y cols, 2012; Gil-Montoya JA y cols, 2017; Delwel S y cols, 2018). El grado de dependencia a la hora del cepillado también mostró un efecto estadísticamente significativo de forma que, los pacientes totalmente dependientes tienen 33 veces más probabilidad de tener entre 1-9 dientes que el grupo control, pero la salud oral se puede mantener con una buena higiene oral asistida.

En los pacientes con demencia se produce un incremento de patología oral: por un lado está la higiene defectuosa que presentan ya que han perdido sus habilidades y por otro lado está su medicación que produce una disfunción salival incrementando la aparición de caries (Arrivé E y cols, 2012; Paganini-Hill A y cols, 2012; Takeuchi K y cols, 2017; Pillai R.S y cols, 2018). De la misma manera el porcentaje de placa bacteriana y el nivel de sangrado mostraron también un efecto estadísticamente significativo de forma que, un mayor nivel de placa bacteriana y sangrado aumenta la probabilidad de tener menos de 20 dientes presentes.

Es importante por razones médicas, minimizar las fuentes de microorganismos de la boca que luego pueden afectar a otras partes del organismo, la placa bacteriana es la causa principal de la gingivitis y, posteriormente, de la periodontitis (Ship J y cols, 1994; Rogers J y cols, 2008; Paganini-Hill A y cols, 2012; Otomo-Corgel J y cols, 2012; Stewart R y cols, 2013; Tsakos G y cols, 2015; Tonsekar PP y cols, 2017; Pillai R.S y cols, 2018; Oh B y cols, 2018). Por lo tanto, con una gran cantidad de placa bacteriana en las personas mayores con demencia, se podría esperar una alta prevalencia de gingivitis y periodontitis. La periodontitis se ha asociado con múltiples afecciones de la salud sistémica, la literatura que la respalda como un papel importante tiene mucho peso



para ser ignorada como mera coincidencia (Rogers J y cols, 2008; Kamer AR y cols, 2008; Otomo-Corgel J y cols, 2012; Li J y cols, 2017).

Los resultados contradictorios de demencia y pérdida dental se deben a problemas metodológicos, la calibración de la evaluación dental y la utilización de protocolos estandarizados de examen de salud oral, como el utilizado por este trabajo.

Tanto la demencia como la pérdida de dientes pueden tener un impacto significativo en la calidad de vida de las personas (Ship J y cols, 1994; Stewart R y cols, 2013; Tsakos G y cols, 2015; Tonsekar PP y cols, 2017; Takeuchi K y cols, 2017; Pillai R.S y cols, 2018). En la población general, la falta de conocimiento sobre la importancia de la salud bucal explica parcialmente la prevalencia de la pérdida de dientes (Kamer AR y cols, 2008). Dada la importancia de la pérdida de dientes en el riesgo de incidencia de deterioro cognitivo, los programas de educación sobre el conocimiento de la salud oral son necesarios.

Es importante destacar que los médicos deben conocer esta asociación y el examen oral tiene que formar parte de las evaluaciones integrales para aquellos pacientes con alto riesgo de demencia. La temprana intervención sobre la pérdida de dientes puede transmitir nuevas esperanzas de disminuir la incidencia de la demencia. (Ship J y cols, 1994; Stewart R y cols, 2013; Tonsekar PP y cols, 2017; Takeuchi K y cols, 2017; Pillai R.S y cols, 2018).

La higiene bucal y la salud bucal de las personas mayores con demencia, debería ser mejorada. Esto se podría lograr mediante el uso de herramientas de detección del estado de la salud oral por parte de los cuidadores, y asistencia de los profesionales dentales en el cuidado bucal, la planificación del tratamiento y el manejo del comportamiento de las personas con demencia, así como el aporte del equipo multidisciplinario de profesionales de la salud (Velasco Ortega E y cols, 1999; Ribeiro GR y cols, 2011; Hatipoglu MG y cols, 2011; Paganini-Hill A y cols, 2012; Tsakos G y cols, 2015; Oh B y cols, 2018).



Finalmente, existe la posibilidad de que la mala salud oral sea un marcador del estado general de salud, incluidos los posibles factores de riesgo para la demencia y en segundo lugar, la asociación entre la pérdida de dientes y el riesgo de demencia es una preocupación global importante para mantener la calidad de vida (Tabla 5.1).

**Tabla 5.1:** Características de los estudios sobre la asociación entre el estado de la boca, la higiene bucodental y el deterioro cognitivo.

Nombre País/ Año	Tipo de estudio	Muestra	Resultados de interés	Recomendaciones	Conclusiones
Pallavi P. USA Tonsekar 2017 y cols	Revisión bibliográfica	16 artículos	Existe asociación entre demencia y pérdida múltiple de dientes. La enfermedad periodontal crónica estaba asociada con demencia. Se demostró una asociación entre el deterioro cognitivo y la pérdida de dientes.	-	La periodontitis crónica y la pérdida múltiple de dientes como factores de riesgo para la demencia no son concluyentes. Se necesitan más pruebas clínicas con criterios uniformes de diagnóstico y evaluación.
Delwel S Amsterda y cols m 2018	Revisión bibliográfica	36 artículos	Las personas mayores con demencia presentan mayores niveles de placa bacteriana, sangrado gingival, bolsas periodontales y xerostomía	La salud oral y la higiene en pacientes con demencia no son suficientes y podrían mejorarse formando a los cuidadores y acudiendo al dentista a revisiones periódicas	Con el envejecimiento de la población hay mayor prevalencia de demencia y mayor aumento de problemas de salud oral
Bei WU yUSA cols 2016	Revisión bibliográfica	56 artículos	El número de dientes y la enfermedad periodontal, se asociaron con un mayor riesgo de deterioro cognitivo o demencia incidente, mientras que otros no encontraron la asociación. De manera similar, el deterioro	-	No está claro si la salud oral y el estado cognitivo están relacionados. Se necesitan más estudios en los que exista un mayor acuerdo sobre cómo se evalúan los estados cognitivos y la salud oral, a fin de examinar mejor los vínculos entre estos dos resultados de salud.



				cognitivo no se asoció sistemáticamente con una mayor pérdida de dientes o de caries. Las limitaciones metodológicas probablemente desempeñan un papel importante en la explicación de los hallazgos inconsistentes.		
Batty GD y cols	UK 2013	Prospectivo-Cohortes	11.140 hombres y mujeres	El hecho de no tener dientes se asoció con un mayor riesgo de demencia (índice de riesgo; intervalo de confianza del 95%: 1.48; 1.24, 1.78) y deterioro cognitivo (1.39; 1.21, 1.59). El número de sangrado gingival no estuvo relacionado con estos resultados.	-	La pérdida de dientes se asocia con mayor riesgo de demencia y deterioro cognitivo
Li J y cols	USA y CHINA 2017	Longitudinal	8.153 personas	Mayor número de dientes se asociaron con una mejor función cognitiva ($\beta = 0.01$, $P < .001$). La interacción del número de dientes y el tiempo fue significativa. ($\beta = 0.01$, $P < .001$), los participantes que tenían más dientes mostraron un ritmo más lento de deterioro cognitivo con el tiempo que aquellos con menos dientes después de controlar otras covariables.	-	La pérdida de dientes se asoció con un deterioro cognitivo entre los adultos mayores. Se necesitan estudios adicionales para examinar los vínculos entre el deterioro cognitivo y el estado de salud bucal utilizando datos de exámenes clínicos.



Lee YT y cols	Taiwan 2016	Prospectivo de cohortes	6.056 personas, N=3.028 controles=3,028	Se calculó que el riesgo de desarrollar demencia era mayor para los participantes con periodontitis (HR = 1.16, intervalo de confianza del 95% = 1.01–1.32, P = .03) que para los que no lo tenían.	-	La periodontitis se asocia con un mayor riesgo de desarrollar demencia. La infección periodontal es tratable, por lo que podría ser un factor de riesgo modificable para la demencia
Arrivé E y cols	Francia 2011	Longitudinal cohortes	3777 personas	2/3 de la muestra requirieron atención periodontal: se observó sangrado en 5.2%, 44.8% de cálculo, 17.8% de 4 a 5 mm de bolsas y 2.9% ‡ de 6 mm de bolsas La incidencia de la demencia durante una media de seguimiento de 10 años (RIC: 6,5–13,7) fue de 19 por 1000 personas-año	-	Tener once o más dientes perdidos parece estar asociado con un menor riesgo de demencia en personas con niveles bajos de estudios, posiblemente debido a la supresión de la fuente de inflamación crónica
Dewel S y cols	Amsterda m 2017	Revisión bibliográfica	37 artículos	Se encontró una prevalencia equivalente de dolor orofacial, número de dientes presentes, número de dientes perdidos, porcentaje de edentulismo y uso de dentaduras postizas en ambos grupos. Sin embargo, la presencia de caries y raíces retenidas fue mayor en personas mayores con demencia que sin demencia	La salud oral y la higiene en pacientes con demencia no son suficientes y podrían mejorarse formando a los cuidadores y acudiendo al dentista a revisiones periódicas	Las personas mayores con demencia tienen peor salud oral con más restos radiculares, caries coronales y de raíz en comparación con personas sin demencia



Debido a la heterogeneidad de la patología en la EA debemos señalar algunas limitaciones, entre ellas el diseño del estudio de corte transversal de casos y controles, y validar estos resultados relacionándolos con las concentraciones en LCR y con medidas de imagen como tomografía.

Los biomarcadores de imágenes y del líquido cefalorraquídeo (LCR) han sido implementados para proporcionar evidencia de un continuo proceso fisiopatológico de la EA y también es posible hacer un diagnóstico de demencia pre-demencia (Clifford JC Jr y cols, 2011; Rosén C y cols, 2013), Los biomarcadores incluidos en el LCR son la cantidad total de tau (T-tau), que refleja la intensidad de la degeneración neuroaxonal, P-tau, y la isoforma 42 del aminoácido de A β (A β 42), que se correlaciona inversamente con la patología de la placa (Rosén C y cols, 2013).

Lee M y cols (2017) mostró un aumento significativo en A β 1-42 solo en el grupo con EA, mientras que las concentraciones se mantuvieron sin cambios con la edad dentro del grupo con enfermedad de Parkinson, y dentro de los controles (Lee M y cols, 2017). Muchos estudios han examinado la asociación en plasma de los niveles de A β 40 y A β 42 con EA incipiente, pero los resultados no son claros. Algunas investigaciones han encontrado que los niveles elevados de A β 40 predijeron el desarrollo de EA, mientras que otros han encontrado lo contrario o ninguna asociación (Mayeux R y cols, 2003; Van Oijen M y cols, 2006; Sundelöf J y cols, 2008; Hansson O y cols, 2010; Rosén C y cols, 2013). Algunos trabajos encontraron que una relación baja entre A β 42:A β 40 predijo la posibilidad de padecer EA en el futuro mientras que otros informes predecían una relación elevada o ninguna diferencia significativa en el grupo con EA incipiente en comparación con sujetos que no desarrollaron EA (Mayeux R y cols, 1999; Mayeux R y cols, 2003; Van Oijen M y cols, 2006; Graff-Radford NR, y cols, 2007; Hansson O y cols, 2010; Yaffe K y cols, 2011; Rosén C y cols, 2013). Un meta-análisis sobre la literatura indicó que una baja relación A β 42: A β 40 podría predecir el desarrollo de la EA, pero tal asociación no fue encontrada para los péptidos individuales (Koyama A y cols, 2012). Estudios transversales que han comparado los niveles de A β en pacientes



con EA y los controles en su mayoría han encontrado niveles similares entre ambos grupos (Irizarry MC, 2004). Otras investigaciones han encontrado en el análisis del plasma proteínas como desmosterol , transtiretina, clusterina, proteína similar quitinasa 3 y matriz de la metaloproteínasa 2 pueden estar asociada con la EA (Choi J y cols, 2011; Lim NK y cols, 2011; Sato Y y cols, 2012; Velayudhan L y cols, 2012; Thambisetty M y cols, 2012). Es necesario corroborarlo en trabajos posteriores pero muchos de estos biomarcadores también se han asociado con EA cuando se han medido en LCR (Rosén C y cols, 2013).

Es bien sabido que los procesos patológicos en el cerebro de pacientes con EA comienza más de una década antes de que se presenten los primeros síntomas (Rosén C y cols, 2013).

5.1.1 Biomarcadores en la preclínica de EA

Se divide en 3 etapas:

- En la primera etapa, los pacientes tienen patología amiloide, se define por amiloide positivo en la tomografía de emisión de positrones (PET) o Líquido cefalorraquídeo (LCR) A β 42, pero no hay signos de degeneración neuronal (volumétrica normal en la resonancia magnética [RMN] del cerebro, y niveles de LCR T-tau) (Sperling R A y cols, 2011; Clifford J A Jr y cols, 2012; Rosén C y cols, 2013).
- En la segunda etapa, la degeneración es evidente y los pacientes han elevado el LCR T-tau o signos de lesión neuronal en los métodos de imagen además de los marcadores amiloides positivos (Sperling R A y cols, 2011; Clifford J A Jr y cols, 2012; Rosén C y cols, 2013).
- En la tercera etapa, los pacientes tienen que experimentar un sutil déficit cognitivo, aunque no lo suficientemente grave como para cumplir los criterios



para deterioro cognitivo leve (MCI) (Sperling R A y cols, 2011; Clifford J A Jr y cols, 2012; Rosén C y cols, 2013).

5.1.2 Biomarcadores para Deterioro Cognitivo Leve (MCI)

El patrón combinado de bajos niveles de A β 42 junto con altos niveles de T-tau y P-tau en el LCR puede discriminar con precisión la incipiente EA de los pacientes con MCI estable (Blennow K y cols, 2003; Rosén C y cols, 2013). La tasa de MCI que pasa a EA es de alrededor del 10-15% (Petersen RC, 2004) es importante tener largos períodos de seguimiento para identificar convertidores tardíos. Un estudio encontró que los niveles en el LCR de A β 42, T-tau y P-tau entre los pacientes con MCI podrían predecir la progresión a EA con buena precisión después de medir un período de seguimiento de 5,2 años (Hansson O y cols, 2006). La combinación de T-tau y A β 42 dio una sensibilidad del 95% y una especificidad del 83%. La población estudiada fue evaluada de nuevo después de un seguimiento prolongado (Buchhave P y cols, 2012). Un conjunto de pacientes del grupo MCI se habían convertido en pacientes con EA. La proporción de A β 42 y P-tau que presentaban los pacientes con MCI predijo el desarrollo de EA con una sensibilidad y especificidad de alrededor del 85-90% (Hansson O y cols, 2006; Buchhave P y cols, 2012).

5.1.3 Biomarcadores en EA con demencia

Los niveles en el LCR de T-tau son aproximadamente un 300% más altos en pacientes con EA que los sujetos control (Blennow K y cols, 2001). Este biomarcador no es específico para EA, y sus niveles aumentados se pueden encontrar en el LCR de pacientes que han sufrido un ictus agudo o traumatismo craneal (Hesse C y cols, 200; Zetterberg H y cols, 2006). Ya que T-tau no es un marcador específico para la degeneración axonal y neuronal de las demencias de tipo Alzheimer también pueden dar



un nivel elevado en el LCR (Blennow K, 2004). En el diagnóstico diferencial frente a otras demencias P-tau puede tener un mayor valor ya que es más específico de la EA (Hampel H y cols, 2010). Se han encontrado niveles elevados de P-tau en pacientes con EA en comparación con los pacientes que sufren de demencia fronto temporal, demencia vascular, demencia de los cuerpos de Lewy y enfermedad de Parkinson con demencia (Hampel H y cols 2004; Hall S y cols 2012).

Aunque los estudios clínicos informaron un excelente rendimiento diagnóstico de los biomarcadores existe una variabilidad que puede deberse a discrepancias en los procedimientos de selección de pacientes y los procedimientos utilizados y técnicas de laboratorio. Así estudios recientes brindan la esperanza de contar con herramientas de detección fácilmente accesibles y rentables en la evaluación diagnóstica temprana de pacientes con problemas cognitivos y sospecha de EA que requieren aún más desarrollo, incluyendo la saliva en estas pruebas de diagnóstico en la práctica clínica habitual.

La detección de EA desde una fase temprana caracterizada por un deterioro cognitivo leve es muy importante, ya que solo un diagnóstico temprano puede permitir el alivio de los síntomas a largo plazo. Por lo tanto, se necesitan urgentemente técnicas capaces de detectar el trastorno en sus primeras etapas (Blennow K y cols, 2003; Dubois B y Albert ML, 2004; Cummings JL, 2004).

Los biomarcadores de líquido cefalorraquídeo de la enfermedad de Alzheimer reflejan elementos clave de la fisiopatología de la enfermedad y ofrecen rendimientos de sensibilidad y especificidad del 90-95%. Como tales, estos biomarcadores ocupan una posición central en los nuevos criterios diagnósticos de la enfermedad de Alzheimer y en la reciente definición biológica de la enfermedad establecida por el Instituto Nacional del Envejecimiento y la asociación Alzheimer (Buerger K y cols, 2006; Blennow K y cols, 2010). Sin embargo, obtener muestras de LCR es un procedimiento altamente invasivo y estresante. En comparación, el muestreo de saliva no es invasivo y se usa cada vez más para diagnosticar y controlar una serie de enfermedades. Sin embargo, los



datos sobre el comportamiento de los biomarcadores salivales y la utilidad en la aplicación a la EA son escasos. Por esta razón, decidimos analizar un panel completo de biomarcadores relacionados con la cascada amiloide (Ab49, Ab42, SAP), el sistema inmunológico (ADA, CRP, Hp, MIP-4, alfa 1 antitripsina), el sistema adrenérgico (ChE), el sistema nervioso central (t-tau, p-tau181, PEDF) y el estrés oxidativo (FRAP) en la saliva de pacientes con EA.

El análisis univariado reveló que solo dos de los 14 biomarcadores considerados se alteraron significativamente en pacientes con EA en comparación con los controles, a saber, Ab42 y CC4. Amiloide- β 42 es la isoforma 42 de aminoácidos de amiloide β (Ab) y es el principal constituyente de las placas encontradas en el cerebro de un paciente con EA (Blennow y cols 2010). También es uno de los biomarcadores determinantes en el LCR para diagnosticar la EA, junto con la proteína tau total (t-tau) y la proteína tau fosforilada (p-tau). Específicamente, los niveles de Ab42 están disminuidos en estos pacientes. De la misma manera, en el presente estudio, se encontró que Ab42 era aproximadamente un 12% más bajo en la saliva de los pacientes con EA en comparación con los controles sanos. Se sugirió que las concentraciones más bajas de Ab42 en el LCR de los pacientes con EA se deben a una pérdida de neuronas que producen la proteína precursora de amiloide (APP), con acumulación de Ab42 en el cerebro y / o disminución de la depuración de Ab42, como consecuencia de una alteración de la barrera hematoencefálica (Bermejo-Pareja F y cols 2010). Los mecanismos exactos por los cuales Ab42 entra en la saliva y son responsables de los cambios en los niveles de Ab42 en la saliva en presencia de una enfermedad no están claros, aunque se planteó la hipótesis de que las glándulas salivales podrían liberar APP y Ab42, y también acumular estas últimas de la misma manera que Ab42 se acumula en el cerebro (Bermejo-Pareja F y cols 2010). Sin embargo, en nuestro análisis multivariado, Ab42 ya no mostró diferencias significativas entre los grupos. En cualquier caso, nuestros hallazgos están en contradicción con los informados por otros autores que detectaron niveles elevados de Ab42 en pacientes con EA (Lee y cols 2016;

Sabbagh y cols, 2018). Por otro lado, Bermejo-Pareja y cols (2010) detectaron una elevación de Ab42 en la saliva en etapas tempranas de la enfermedad, pero no en etapas moderadas o graves. La divergencia de los datos podría explicarse, al menos en parte, por los diferentes métodos utilizados, las diferentes condiciones de almacenamiento involucradas y las diferentes poblaciones estudiadas. En nuestro estudio, con el fin de minimizar los posibles efectos pre-analíticos, las muestras de saliva se recolectaron en las horas de la mañana con el paciente en condiciones relajadas (Tabla 5.2).

Tabla 5.2. Comparativa de los resultados encontrados por distintos autores en los niveles de Ab42.

Autor	Resultado
Blennow y cols 2010	Amiloide- β 42 es la isoforma 42 de aminoácidos de amiloide β (Ab) y es el principal constituyente de las placas encontradas en el cerebro de un paciente con EA
Bermejor -Pareja F y cols 2010	Las concentraciones más bajas de Ab42 en el LCR de los pacientes con EA se deben a una pérdida de neuronas que producen la proteína precursora de amiloide (APP), con acumulación de Ab42 en el cerebro y / o disminución de la depuración de Ab42, como consecuencia de una alteración de la barrera hematocefálica
Lee y cols 2016, Sabbagh y cols 2016	Detectaron niveles elevados de Ab42 en pacientes con EA
Bermejo- Pareja F y cols 2010	Detectaron una elevación de Ab42 en la saliva en etapas tempranas de la enfermedad, pero no en etapas moderadas o graves



Utilizamos la técnica de recolección pasiva, evitando el uso de hisopos de algodón, que pueden afectar la determinación de ciertas proteínas (Wang J y cols, 2015). Las muestras recolectadas se mantuvieron en hielo, se centrifugaron bajo refrigeración y se almacenaron a -80° C durante menos de dos meses. Esta metodología se eligió con cuidado para intentar minimizar la degradación de los biomarcadores salivales durante la recolección y almacenamiento de saliva. Sin embargo, las condiciones ideales para la recolección, el procesamiento y el almacenamiento de muestras de saliva deben ser estudiadas y definidas, y facilitarían la exclusión del error pre-analítico y, al mismo tiempo, permitirían una adquisición de datos más homogénea entre los diferentes estudios. Esto, a su vez, podría ayudar a establecer límites de referencia globales y valores de corte uniformes, lo que lleva a una aclaración del comportamiento de Ab42 en la saliva y su utilidad en el diagnóstico y monitoreo de la EA.

En el presente estudio, se observaron niveles salivales significativamente más altos de CC4 en pacientes con EA en comparación con los controles sanos, tanto en el análisis univariado como en el multivariado. Estos resultados están en línea con los de los estudios que informaron sobre las proteínas del sistema del complemento reguladas al alza, incluida la CC4, en pacientes con EA (Nerl C y cols, 1984; Eikelenboom P y cols, 1989; Bergamaschini L y cols, 2001; Daborg J y cols, 2012). Este incremento se debe a la activación de los primeros productos del sistema del complemento (C1q, C3 y C4) que están involucrados en el proceso de formación de placa (Eikelenboom P y cols, 1996). Los mecanismos propuestos que activan la vía clásica del sistema del complemento y dan como resultado la muerte neuronal posterior se basan en el paso de proteínas a través de una barrera hematoencefálica dañada, lo que lleva a la unión de anticuerpos a las neuronas (Bergamaschini L y cols, 2001). Además, (Bergamaschini y cols, 2001) observaron que los anticuerpos pueden activar directamente CC4 a través del sistema de contacto / cinina sin inicio clásico en C1q. Sin embargo, en el presente estudio, y de la misma manera que se observa en el LCR (AUC = 0.56) (Daborg y cols, 2012), la utilidad diagnóstica de CC4 en la saliva no fue confirmada por el análisis



ROC. Sin embargo, este es el primer estudio que evalúa el comportamiento de CC4 en la saliva en los casos de EA, y se requieren más estudios a gran escala para confirmar o negar estos hallazgos. En este sentido, los resultados obtenidos deben validarse y correlacionarse con las concentraciones de LCR y los hallazgos de la imagen (por ejemplo, tomografía por emisión de positrones [PET]). Aunque los estudios clínicos describen el excelente rendimiento diagnóstico de los biomarcadores, existe un grado de variabilidad que puede atribuirse a los procedimientos de detección de pacientes utilizados y las técnicas de laboratorio empleadas. En este sentido, si bien estudios recientes proporcionan esperanza para la introducción de herramientas de detección que son fácilmente accesibles y ofrecen un rendimiento óptimo en el diagnóstico temprano de pacientes con problemas cognitivos y sospecha de EA, aún se necesita un mayor desarrollo, incluidas pruebas de validez (reevaluaciones y validación en varios laboratorios) antes de que estas nuevas técnicas de diagnóstico en saliva puedan incorporarse a la práctica clínica habitual. En conclusión, se detectó una disminución en Ab42 y un aumento en CC4 en la saliva de pacientes con enfermedad de Alzheimer, pero los cambios fueron menores y, por lo tanto, no fueron útiles para el diagnóstico. Sin embargo, los cambios observados sugieren que la saliva puede ser útil para el diagnóstico y el seguimiento de la EA.

5.2. Limitaciones del estudio

Los resultados de este estudio demuestran y refuerzan la factibilidad de recolectar y analizar prospectivamente la saliva para la detección y cuantificación de biomarcadores, sin embargo, debemos considerar algunas limitaciones del estudio, se trata de una investigación transversal por lo que necesitaríamos validar con estudios de seguimiento o ensayos clínicos más amplios. Por otro lado, es interesante añadir al estudio determinaciones en otros fluidos biológicos como por ejemplo la sangre y aumentar el tamaño de la muestra; a pesar de las limitaciones, nuestra valoración sobre los marcadores salivales es bastante positiva.



Las líneas de investigación futuras se deberían centrar en la prevención y el diagnóstico precoz del deterioro cognitivo, aumentando la precisión de los marcadores y puesta a punto y desarrollo de la tecnología adecuada para la detección lo mas precozmente posible .



6. CONCLUSIONES



1. La toma de muestra de saliva para la determinación del deterioro cognitivo es un método fácil de realizar, no invasivo, muy bien aceptado por los pacientes y transferible a un uso clínico amplio.
2. Encontramos que los pacientes con deterioro cognitivo tienen un peor estado de salud general que los pacientes del grupo control.
3. La salud oral de los pacientes con deterioro cognitivo presenta unas peores puntuaciones en los índices de higiene oral.
4. En la exploración oral los pacientes con deterioro cognitivo tienen menos número de dientes que los pacientes del grupo control, por lo tanto, podría ser un marcador o factor de riesgo para deterioro cognitivo.
5. Los biomarcadores salivales AB42 y CC4 pueden tener un valor diagnóstico potente en los pacientes con deterioro cognitivo.



7. BIBLIOGRAFÍA



Abellán G^a A informes envejecimiento en red,nº17,Feb2018 Indicadores estadísticos básicos (CSIC) (CCHS)

Affo RH, McIsc, Norine Foley, Msc, Rushlee Garrick, Bsc, Walter L. Siqueira, DDS, PhD,Meta-Analysis of Salivary Flow Rates in Young and Older Adults. J Am Geriatr Soc 63:2142–2151, 2015

Aguirre A, L. A. Testa-Weintraub, J. A. Banderas, G. G. Haraszthy, M. S. Reddy, and M. J. Levine. Sialochemistry: A Diagnostic Tool?. Oral Biol Med 1993;4:343-50

Arrivé E , Letenneur L, Matharan F, Laporte C, Helmer C, Barberger-Gateau P, Miquel JL, Dartigues JF. Oral health condition of French elderly and risk of dementia: a longitudinal cohort study Oral health condition of French elderly and risk of dementia: a longitudinal cohort study. Community Dent Oral Epidemiol 2012 Jun;40(3):230-8

Bagán JV, Jimenez Y. Fisiopatología de las glándulas salivales. Medicina Oral S.L Valencia, 2010:5-85

Ballatore Carlo, Virginia M.-Y. Lee and John Q. Trojanowski. Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders. Nat Rev Neuroscience 2007, Vol 8, No.9, pp 663-672

Batty GD, Qiang Lib, Rachel Huxleyb, Sophia Zoungasb,e, Barbara A. Taylorf,Bruce Nealb, Bastiaan de Galanb,g, Mark Woodwardb, h, Stephen B. Harrapi, Stephen Colagiurij, Anushka Patelb, and John Chalmersb On behalf of the ADVANCE Collaborative group. Oral disease in relation to future risk of dementia and cognitive decline: prospective cohort study based on the ADVANCE (Action in Diabetes and Vascular Disease: Preterax and Diamicon Modified-Release Controlled Evaluation) trial .Eur Psychiatry 2013 Jan;28(1):49-52

Bei WU, PhDa, Gerda G. Fillenbaum, PhDb, Brenda L. Plassman, PhDb,c, and Liang Guo, Bsa. Association Between Oral Health and Cognitive Status: A Systematic Review. J Am Geriatr Soc 2016 April;64(4): 739-751

Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. Anal Biochem 1996; 239: 70–6



- Bergamaschini, L.; Donarini, C.; Gobbo, G.; Parnetti, L.; Gallai, V. Activation of complement and contact system in Alzheimer's disease. *Mech. Ageing Dev.* 2001, 122, 1971–1983
- Bermejo-Fenoll A. *Medicina bucal Vol.I. Síntesis* 1998; 22: 305-334
- Bermejo-Pareja F, Antequera D, Vargas T, Molina JA, Carro E. Saliva levels of Abeta1-42 as potential biomarker of Alzheimer's disease: a pilot study. *BMC Neurol.*2010;10:108
- Blennow K, Hampel H, Weiner M and Zetterberg H. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol.* 2010 Mar;6(3):131-44
- Blennow K, Hampel H. CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2003 Oct;2(10):605-13
- Blennow K, Vanmechelen E, Hampel H. CSF total tau, Abeta42 and phosphorylated tau protein as biomarkers for Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol* 2001 Aug-Dec;24(1-3):87-97
- Blennow K. *Cerebrospinal Fluid Protein Biomarkers for Alzheimer's Disease. Vol. 1,* 213–225, April 2004 © Am Soc for Experimental NeuroTherapeutics, Inc
- Boehm TK, DDS; Frank A. Scannapieco, DMD, PhD. The epidemiology, consequences and management of periodontal disease in older adults. *J Am Dent Assoc* 2007 Sep;138 Suppl:26S-33S
- Buchhave P, Minthon L, Zetterberg H, Wallin AK, Blennow K, Hansson O. Cerebrospinal fluid levels of β -amyloid 1-42, but not of tau, are fully changed already 5 to 10 years before the onset of Alzheimer dementia. *Arch Gen Psychiatry* 2012 Jan;69(1):98-106. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2011.155
- Buerger K, Ewers, M.; Pirtila, T.; Zinkowski, R.; Alafuzoff, I.; Teipel, S.J.; DeBernardis, J.; Kerkman, D.; McCulloch, C.; Soininen, H.; et al. CSF phosphorylated tau protein correlates with neocortical neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. *Brain* 2006, 129, 3035–3041



- Chen J ,Chang-Ju Ren¹, Lan Wu², Ling-Yun Xia, Jun Shao, Wei-Dong Leng and Xian-Tao Zeng. Tooth Loss Is Associated With Increased Risk of Dementia and With a Dose-Response Relationship. *Front Aging Neurosci.*2018 Dec 18,10:415
- Cheryl A. Hawkes and JoAnne McLaurin. Clinical immunotherapy trials in Alzheimer's disease. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies*,5(3),177-183. 2008
- Choi J, Lee HW, Suk K: Plasma level of chitinase 3-like 1 protein increases in patients with early Alzheimer's disease. *J Neurol* 2011, 258:2181–2185
- Clifford JC Jr , Marilyn Albert, David S. Knopman, Guy M. McKhann, Reisa A. Sperling, Maria Carillo, William Thies, and Creighton H. Phelps. Introduction to Revised Criteria for the Diagnosis of Alzheimer's Disease: National Institute on Aging and the Alzheimer Association Workgroups. *Alzheimers Dement.* 2011 May;7 (3):257-262
- Clifford R. Jack Jr., MD, David S. Knopman, MD, Stephen D. Weigand, MS, Heather J. Wiste, BA, Prashanthi Vemuri, PhD, Val Lowe, MD, Kejal Kantarci, MD, Jeffrey L. Gunter, PhD, Matthew L. Senjem, MS, Robert J. Ivnik, PhD, LP, Rosebud O. Roberts, MBBCh, Walter A. Rocca, MD, MPH, Bradley F. Boeve, MD, and Ronald C. Petersen, MD, PhD. An Operational Approach to NIA-AA Criteria for Preclinical Alzheimer's Disease. *Ann Neurol.* 2012 June ; 71(6): 765–775. doi:10.1002/ana.22628
- Conrad C, Cintia Vianna, Melissa Freeman, and Peter Davies. A polymorphic gene nested within an intron of the tau gene: Implications for Alzheimer's disease. *Proc. Natl Acad Sci USA.*2002;99:7751-7756
- Cuenca Sala, E, Manau Navarro, C. y Serra Majem, L. *Odontología Preventiva y Comunitaria.* 2da.ed. Barcelona: Masson S.A.: 2001
- Culp DJ and L.A. Richardson. Regulation of Mucous Acinar Exocrine Secretion with Age. *Am J of Physiology-Cell* 1991;260(6),C1233-C1244
- Culp DJ and L.A. Richardson. Regulation of Mucous Acinar Exocrine Secretion with Age. *J Dent Res* 1996;75:575-80



- Cummings JL, Cole G. Alzheimer disease. *JAMA*. 2002;287:2335–2338
- Cummings, J.L. Alzheimer's Disease. *N. Engl. J. Med.* 2004, 351, 56–67
- Daborg, J.; Andreasson, U.; Pekna, M.; Lautner, R.; Hanse, E.; Minthon, L.; Blennow, K.; Hansson, O.; Zetterberg, H. Cerebrospinal fluid levels of complement proteins C3, C4 and CR1 in Alzheimer's disease. *J. Neural Transm.* 2012, 119, 789–797
- Delacour H, Bousquet A, Fontan E, Ceppa F (2013) Ammonia does not interfere with the Diazyme adenosine deaminase test. *Clin Chem Lab Med* 51:e225–e226. <https://doi.org/10.1515/cclm-2013-0115>
- Delwel S, Tarik T. Binnekade & Roberto S. G. M. Perez & Cees M. P. M. Hertogh & Erik J. A. Scherder & Frank Lobbezoo. Oral hygiene and oral health in older people with dementia: a comprehensive review with focus on oral soft tissues *Clin Oral Investig* 2017 Jan;21(1):17-32
- Delwel S, Tarik T. Binnekade & Roberto S. G. M. Perez & Cees M. P. M. Hertogh & Erik J. A. Scherder & Frank Lobbezoo. Oral hygiene and oral health in older people with dementia: a comprehensive review with focus on oral soft tissues *Clin Oral Investig* 2018 Jan;22(1):93-108
- Denny PC, P.A. Denny, D.K. Klauser, S.H. Hong, M. Navazesh and L.A. Tabak. Age-related Changes in Mucins from Human Whole Saliva. *J Dent Res* 1991;70:1320-7
- Dubois B, Albert, M.L. Amnestic MCI or prodromal Alzheimer's disease? *Lancet Neurol.* 2004, 3, 246–248
- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Dekosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, Delacourte A, Galasko D, Gauthier S, Jicha G, Meguro K, O'Brien J, Pasquier F, Robert P, Rossor M, Salloway S, Stern Y, Visser PJ, Scheltens P. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol.* 2007;6:734–746
- Eikelenboom, P.; Hack, C.E.; Rozemuller, J.M.; Stam, F.C. Complement activation in amyloid plaques in Alzheimer's dementia. *Virchows Arch. B. Cell Pathol. Incl. Mol. Pathol.* 1989, 56, 259–62



- Eikelenboom, P.; Veerhuis, R. The role of complement and activated microglia in the pathogenesis of Alzheimer's disease. - PubMed - NCBI. *Neurobiol Aging* 1996, 17, 673–680
- Fang WL, Mu-jun Jiang, Bei-bei Gu, Ying-mei Wei, Sheng-nuo Fan, Wang Liao, Yu-qiu Zheng, Shao-wei Liao, Ying Xiong, Yi Li, Song-hua Xiao and Jun Liu Tooth loss as a risk factor for dementia: systematic review and meta-analysis of 21 observational studies. *BMC Psychiatry*. 2018 Oct 20;18(1):345
- Fassbender K, S. Walter, S. Kühn, R. Landmann, K. Ishii, T. Bertsch, A.K. Stalder, F. Muehlhauser, Y. Liu, A.J. Ulmer, S. Rivest, A. Lentschat, E. Gulbins, M. Jucker, M. Staufenbiel, K. Brechtel, J. Walter, G. Multhaup, B. Penke, Y. Adachi, T. Hartmann, and K. Beyreuther. The LPS receptor (CD14) links innate immunity with Alzheimer's disease. *The FASEB J express article* 10.1096/fj03-0364fje. 2003
- Gil-Montoya J.A, Ines Sanchez-Lara, PhD Student, Cristobal Carnero-Pardo, MD, PhD, Francisco Fornieles-Rubio, MD, PhD, Juan Montes, MD, PhD, Rocío Barrios, DDS, PhD, Miguel Angel Gonzalez-Moles, MD, PhD, and Manuel Bravo, MD, DDS, PhD. Oral Hygiene in the Elderly with Different Degrees of Cognitive Impairment and Dementia. *J Am Geriatrics Soc* 2016;65(3),642-647
- Gómez Jimenez E, Ceres Martínez R, Palazón Valcárcel L, Mas Romero M, Avendaño Céspedes A, Oliver Carbonell JL, Martínez Cuervo F, Polo Luque ML, García López MV, Martínez Sellares R, Cabot García MC. Higiene oral en el anciano. Serie de Documentos Técnicos SEEGG nº 6. Sociedad Española de Enfermería Geriátrica y Gerontología. Córdoba 2016
- Gonsalves Wanda C MD, A. Stevens Wrightson, MD, Robert G. Henry, DMD, MPH. Common Oral Conditions in Older Persons. *Am Fam Physician* 2008 Oct 1;78(7):845-52
- Gonsalves Wanda c md, angela c. chi, d.m.d, and brad w. neville, d.d.s. Common Oral Lesions: Part I Superficial Mucosal Lesions. *Am Fam Physician* 2007 Feb 15;75(4):501-7



- González VM, Martín C. Demencias en Atención Primaria. Guía para el diagnóstico temprano y el seguimiento. Salamanca 2002
- Graff-Radford NR, Crook JE, Lucas J, Boeve BF, Knopman DS, Ivnik RJ, Smith GE, Younkin LH, Petersen RC, Younkin SG: Association of low plasma Aβ42/Aβ40 ratios with increased imminent risk for mild cognitive impairment and Alzheimer disease. Arch Neurol 2007, 64:354–362
- Greabu M, Battino M, Mohora M, Totan A, Didilescu A, Spinu T, Totan C, Miricescu D, Radulescu R. Saliva-a diagnostic window to the body, both in health and in disease. J Med Life. 2009; 2: 124–132
- Gruden M. A, Tatyana B. Davidova , Mantas Mališauskas , Robert D.E. Sewell, Nina I. Voskresenskaya, Kristina Wilhelm, Elena I. Elistratova, Vladimir V. Sherstnev, Ludmilla A. Morozova-Rocheof. Differential neuroimmune markers to the onset of Alzheimer's disease neurodegeneration and dementia: Autoantibodies to Aβ(25–35) oligomers, S100b and neurotransmitters. Neuroimmunology 2007, 186(1-2),181-192
- Guggenheimer J, D.D.S.; PAUL A. MOORE, D.M.D., Ph.D., M.P.H. Xerostomia Etiology, recognition and treatment. J Am Dent Assoc 2003 Jan; 134(1):61-9
- Guy M. McKhann, David S. Knopman, Howard Chertkow, Bradley T. Hyman, Clifford R. Jack Jr, Claudia H. Kawas, William E. Klunk, Walter J. Koroshetz, Jennifer J. Manly, Richard Mayeux, Richard C. Mohs, John C. Morris, Martin N. Rossor, Philip Scheltens, Maria C. Carrillot, Bill Thies, Sandra Weintraub, and Creighton H. Phelps. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease Alzheimer's Association 2011 may;7 (3):263-269
- Hall S, Öhrfelt A, Constantinescu R, Andreasson U, Surova Y, Bostrom F, Nilsson C, Hakan W, Decraemer H, Nagga K, Minthon L, Londos E, Vanmechelen E, Holmberg B, Zetterberg H, Blennow K, Hasson O. Accuracy of a panel of 5



cerebrospinal fluid biomarkers in the differential diagnosis of patients with dementia and/or parkinsonian disorders. *Arch Neurol* 2012 Nov;69(11):1445-52

Hampel H, Buerger K, Zinkowski R, Teipel SJ, Goemitz A, Andreasen N, Sjoegren M, DeBernardis J, Kerman D, Ishiguro K, Ohno H, Vanmechelen E, Vanderstichele H, McCulloch C, Moller HJ, Davies P, Blennow K. Measurement of phosphorylated tau epitopes in the differential diagnosis of Alzheimer disease: a comparative cerebrospinal fluid study. *Arch Gen Psychiatry* 2004 Jan;61(1):95-102

Hampel H, Kaj Blennow, Leslie M. Shaw, Yvonne C. Hoessler, Henrik Zetterberg and John Q. Trojanowski. Total and Phosphorylated Tau Protein as Biological Markers of Alzheimer's Disease. *Exp Gerontol.* 2010 January; 45(1): 30. doi:10.1016/j.exger.2009.10.010

Hanisch U.K. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nature Neuroscience*,10(11),1387-1394. 1997

Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Londos E, Blennow K, Minthon L. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. *Lancet Neurol* 2006 Mar;5(3):228-34

Hansson O, Zetterberg H, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Andreasson U, Londos E, Wallin A, Minthon L, Blennow K. Evaluation of plasma Aβ(40) and Aβ(42) as predictors of conversion to Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Neurobiology* 2010;31(3),357-367

Hertze J, Minthon L, Zetterberg H, Vanmechelen E, Blennow K and Hansson O. Evaluation of CSF Biomarkers as Predictors of Alzheimer's Disease: A Clinical FollowUp Study of 4.7 Years. *J Alzheimer's Dis.*2010;21(4):119-28

Hesse C, Rosengren L, Andreasen N, Davidsson P, Vanderstichele H, Vanmechelen E, Blennow K. Transient increase in total tau but not phospho-tau in human cerebrospinal fluid after acute stroke. *Neurosci Lett* 001 Jan 19;297(3):187-90



- Hulstaert F, Blennow K, Ivanoiu A, Schoonderwaldt HC, Riemenschneider M, De Deyn PP, Bancher C, Cras P, Wiltfang J, Mehta PD, Iqbal K, Pottel H, Vanmechelen E, Vanderstichele H. Improved discrimination of AD patients using beta-amyloid(1–42) and tau levels in CSF. *Neurology*.1999;52:1555–1562
- Humphrey SP and Russell T. Williamson. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *J of Prosthetic Dent*,2001,85(2),162-169
- Irizarry MC: Biomarkers of Alzheimer disease in plasma. *NeuroRx J Am Soc Exper NeuroTherap* 2004, 1:226–234
- Isokangas P, Tiekso J, Alanen P, Makinen KK: Long-term effect of xylitol chewing gum on dental caries. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 1989;17(4),200-203
- Johansson P, Mattsson N, Hansson O, Wallin A, Johansson JO, Andreasson U, Zetterberg H, Blennow K and Svensson J. Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Alzheimer’s Disease: Diagnostic Performance in a Homogeneous Mono-Center Population. *J Alzheimer's Dis*.2011;24(3):537-46
- Kaldeman D, Petersen PE, Ueda H. Oral health, general health, and quality of life in older people. *Spec Care Dentist* 2008 Nov-Dec;28(6):224-36
- Kim Joong Soo, Chang Won Won, Byung Sung Kim, Hyun Rim Choi. Predictability of Various Serial Subtractions on Global Deterioration Scale According to Education Level. *Korean. J Fam Medicine* Vol.34,No.5 sep 2013
- Koyama A, Okereke OI, Yang T, Blacker D, Selkoe DJ, Grodstein F: Plasma amyloid-beta as a predictor of dementia and cognitive decline: a systematic review and meta-analysis. *Arch Neurol* 2012, 69:824–831
- Lee M, Jian-Ping Guo, Krista Kennedy, Edith G. McGeer and Patrick L. McGeer. A Method for Diagnosing Alzheimer’s Disease Based on Salivary Amyloid- Protein 42 Levels. *J Alzheimer’s dis* 2017;vol5,no.3,pp.1175-1182
- Lee YT MD, Hsin-Chien Lee, MD, MPH, Chaur-Jongh Hu, MD, Li-Kai Huang, MD, Shu-Ping Chao, MD, Chia-Pei Lin, MD, Emily Chia-Yu Su, PhD, Yi-Chen Lee, DrHS, and Chu-Chieh Chen, PhD. Periodontitis as a Modifiable Risk Factor for



- Dementia: A Nationwide Population-Based Cohort Study. *J Am Geriatr Soc* 2017 Feb;65(2):301-305
- Lee YT, Hsin-Chien Lee, MD, MPH, Chaur-Jongh Hu, MD, Li-Kai Huang, MD, Shu-Ping Chao, MD, Chia-Pei Lin, MD, Emily Chia-Yu Su, PhD, Yi-Chen Lee, DrHS, and Chu-Chieh Chen, PhD. Periodontitis as a Modifiable Risk Factor for Dementia: A Nationwide Population-Based Cohort Study. *J Am Geriatr Soc* 2017 Feb;65(2):301-305
- Legido B, Casas A. Educación y motivación para el control de placa mecánico. En Sanz M, editor. 1er Workshop Ibérico. Control de placa e higiene bucodental. Madrid: Ergón, 2003:277-310
- Li Juan , Hanzhang Xu, Wei Pan, Bei Wu. Association between tooth loss and cognitive decline: A 13-year longitudinal study of Chinese older adults .*J Plos One* DOI:10.1371 Feb 3,2017
- Lim NK, Villemagne VL, Soon CP, Laughton KM, Rowe CC, McLean CA, Masters CL, Evin G, Li QX: Investigation of matrix metalloproteinases, MMP-2 and MMP-9, in plasma reveals a decrease of MMP-2 in Alzheimer's disease. *J Alzheimer's dis JAD* 2011, 26:779–786
- Llena - Puy C. The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006;11:E449 -55
- Llodra JC, Bravo M. Evaluación crítica de los índices utilizados. En Sanz M. editor. 1er Workshop Ibérico. Control de placa e higiene bucodental. Madrid: Ergón: 2003:47-52
- López Mongil R, J. Antonio López Trigo, F. Javier Castrodeza Sanz, Sonia Tamames Gómez, Teresa León Colombo y Grupo de Trabajo de Atención Sanitaria en Residencias de Ancianos de la Sociedad Española de Geriatria y Gerontología. Prevalencia de demencia en pacientes institucionalizados: estudio RESYDEM. *Revista Española de Geriatria y Gerodontología* 2008,44(1),5-11



- Lopez OL, Kuller LH, Mehta PD, Becker JT, Gach HM, Sweet RA, Chang YF, Tracy R, DeKosky ST. Plasma amyloid levels and the risk of AD in normal subjects in the cardiovascular health study. *Neurology* 2008;70:1664-1671
- López-Jornet P, Camacho-Alonso F, Bermejo-Fenoll A. A simple test for salivary gland hypofunction using Oral Schirmer's test. *J Oral Pathol Med.* 2006; 35:244-8
- MacDonal DE. Principles of Geriatric Dentistry and Their Application to the Older Adult with a Physical Disability. *Clin Geriatr Med* 2006 May;22(2):413-34
- Mandel ID . The diagnostic uses of saliva, *J Oral Pathol Med* 1990; 19 :119–125
- Mandel ID. The role of saliva in maintaining oral homeostasis. *J Am Dent Assoc* 1989;199(2),298-304
- Mayeux R, Honig LS, Tang MX, Manly J, Stern Y, Schupf N, Mehta PD. Plasma A[beta]40 and A[beta]42 and Alzheimer's disease: relation to age, mortality, and risk. *Neurology* 2003;61(9),1185-1190
- Mayeux R, Tang MX, Jacobs DM, Manly J, Bell K, Merchant C, Small SA, Stern Y, Wisniewski HM, Mehta PD: Plasma amyloid beta-peptide 1–42 and incipient Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1999, 46:412–416
- Michel J Forster and Harbans LAL. Autoimmunity and Cognitive Decline in Aging and Alzheimer's Disease. *Psychoneuroimmunology*,709-748,1991
- Montiel Higuero Ines , M.^a Teresa Sánchez Montahud, Monserrat Asensio Asensio, Adela Alonso Gallegos. *DEMENCIAS*, 2013. Guía de Actualización clínica en A.P.
- Navazesh M, C. Christensen and V. Brightman. Clinical Criteria for the Diagnosis of Salivary Gland Hypofunction. *J Dent Res* 1992;71:1275-8
- Navazesh M, Kumar SK; University of Southern California School of dentistry. Measuring salivary flow: challenges and opportunities. *J Am Dent Assoc.* 2008;139 Suppl:35S-40S.
- Navazesh M, R.A. Mulligan, V. Kipnis, P.A. Denny and P.C. Denny. Comparison of Whole Saliva Flow Rates and Mucin Concentrations in Healthy Caucasian Young and Aged adult. *J Dent Res* 1992;71:1363-9



- Nerl, C.; Mayeux, R.; O'Neill, G.J. HLA-linked complement markers in Alzheimer's and Parkinson's disease: C4 variant (C4B2) a possible marker for senile dementia of the Alzheimer type. *Neurology* 1984, 34, 310-4
- Oh YS and R. James Turner. Effect of gamma secretase inhibitors on muscarinic receptor-mediated calcium signaling in human salivary epithelial cells. *J Am Physiol Cell Physiol*.2006;291:c76-c82
- Olsson A, Höglund K, Sjögren M, Andreasen N, Minthon L, Lannfelt L, Buerger K, Möller H-J, Hampel H, Davidsson P, and Blennow K. Measurement of β - and γ -secretase cleaved amyloid precursor protein in cerebrospinal fluid from Alzheimer patients. *Exp.Neurol*.2003 Sep;183(1):74-80
- OMS. Salud bucodental. WHO. 2015
- Otomo-Corgel J, Pucher JJ, Rethman MP, Reynolds MA. State of the science: chronic periodontitis and systemic health. *J Evid Based Dent Pract* 2012 Sep;12(3 Suppl):20-8. doi: 10.1016/S1532-3382(12)70006-4
- Pallavi P. Tonsekar, Shuying S, Gang Yue Periodontal disease, tooth loss and dementia: Is there a link? A systematic review. *Gerodontology* 2017;1-13
- Patel Nikunj S, Daniel Paris, Venkatarajan Mathura, Amita N Quadros, Fiona C Crawford and Michael J Mullan. Inflammatory cytokine levels correlate with amyloid load in transgenic mouse models of Alzheimer's disease. *J of Neuroinflammation* 2005,2:9
- Pearson A, RN PhD FRCNA FRCN and Jane Chalmers BDS MSc PhD. Oral hygiene care for adults with dementia in residential aged care facilities. *JBIR Reports* 2004, 2(3),65-113
- Pernecky R, A. Tsolakidou, PhD, A. Arnold, J. Diehl-Schmid, MD, T. Grimmer, MD, H. Förstl, MD, A. Kurz, MD, P. Alexopoulos, MD. CSF soluble amyloid precursor proteins in the diagnosis of incipient Alzheimer disease. *Neurology*.2011 Jul5;77(1):35-8



- Petersen PE, Yamamoto T. Improving the oral health of older people: the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 2005; 33: 81–92
- Petersen R. C. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J Internal Med* 2004; 256: 183–194
- Proctor GB. The physiology of salivary secretion. *Periodontol* 2000. 2016;70:11-25.
- Sánchez Martínez P. La saliva como fluido diagnóstico Ed. *Cont. Lab Clín* 2013; 16: 93 - 108
- Reisa A. Sperling, Paul S. Aisen, Laurel A. Beckett, David A. Bennett, Suzanne Craft, Anne M. Fagan, Takeshi Iwatsubo, Clifford R. Jack Jr., Jeffrey Kaye, Thomas J. Montine, Denise C. Park, Eric M. Reiman, Christopher C. Rowe, Eric Siemers, Yaakov Stern, Kristine Yaffe, Maria C. Carrillo, Bill Thies, Marcelle Morrison-Bogorad, Molly V. Wagster, and Creighton H. Phelps. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2011 May ; 7(3): 280–292
- Reisberg B, Emile H. Franssen, MD Liduïn E.M. Souren, RN, MSN Stefanie R. Auer, PhD Imran Akram, MD Sunnie Kenowsky, DVM. Evidence and mechanisms of retrogenesis in Alzheimer's and other dementias: Management and treatment import. *J Am of Alzheimer's dis and other dementias*, July/August 2002 17(4),202-21
- Reisberg B, Ferris S.H, de Leon M.J, and Crook, T. The global deterioration scale for assessment of primary degenerative dementia. *American Journal of Psychiatry*, 1982, 139: 1136-1139
- Rosén C, Oskar Hansson, Kaj Blennow and Henrik Zetterberg. Fluid biomarkers in Alzheimer's disease – current concepts. *Molecular. Neurodegeneration* 2013,8:20
- Sabbagh MN, Shi J, Lee M, Arnold L, Al-Hasan Y, Heim J, McGeer P. Salivary beta amyloid protein levels are detectable and differentiate patients with Alzheimer's



- disease dementia from normal controls: preliminary findings. *BMC Neurol.* 2018 Sep 26;18(1):155
- Sardi F, L. Fassina, L. Venturini, M. Inguscio, F. Guerriero, E. Rolfo, G. Ricevuti. Alzheimer's disease, autoimmunity and inflammation. The good, the bad and the ugly. *Autoimmunity Rev* 11 (2011) 149-153
- Sato Y, Suzuki I, Nakamura T, Bernier F, Aoshima K, Oda Y: Identification of a new plasma biomarker of Alzheimer's disease using metabolomics technology. *J Lipid Res* 2012, 53:567–576
- Seifert G, Michlke A, Haubrich J, Chilla R. Diseases of the salivary glands. Stuttgart; Georg Thieme Verlag. 1986;27-39:71-7
- Semla TP. Alzheimer's disease: will advances made in the past turn the tide? *Ann Pharmacother.* 2007;41:1494–1496
- Shay K, Root caries in the older patient: significance, prevention, and treatment. *Dent Clin North Am* 1997 Oct;41(4):763-93
- Ship JA, Nicholas E. Nolan, and Scott A. Puckett. Longitudinal Analysis of Parotid and Submandibular Salivary Flow Rates in Healthy, Different-Aged Adults *J Am Geriatr Soc* 2002 Mar;50(3): 535-43
- Ship JA, Stanley R. Pillemer, MD, and Bruce J. Baum, DMD, PhD. Xerostomia and the Geriatric Patient. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1995;50:M285-9
- Singh V.K and H. Hugh Fudenberg. Increase in immunoglobulin G3 Subclass Is related to brain autoantibody in Alzheimer's disease but not in Down's Syndrome. *Autoimmunity*, 3(2),95-101. 1989
- Singh V.K, Yi-Yuan Yang and Edith A. Singh. Immunoblot detection of antibodies to myelin basic protein in Alzheimer's disease patients. *Neuroscience Letters*,147(1),25-28. 1992
- Spielmann N, Wong DT. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives. *Oral Dis.* 2011;17:345-54



- Sreebny LM. Saliva in health and disease: an appraisal and update. *Int Dent J.* 2000 ;50: 140-61
- Stein PS, Mark Desrosiers, PhD; Sara Jean Donegan, SSND, DDS; Juan F. Yepes, DDS, MD, MPH; Richard J. Kryscio, PhD. Tooth loss, dementia and neuropathology in the Nun Study. *J Am Dent Assoc* 2007; 138(10),1314-1322
- Steinman L. Interconnections between Tissue Injury, Intermediary Metabolism Autoimmunity, and Chronic Degeneration. *Proc Am Thorac Soc Vol 3.* pp 484–488, 2006
- Sundelöf J, Giedraitis V, Irizarry MC, Sundstrom J, Ingelsson E, Ronnema E, Arnlov J, Gunnarsson MD, Hyman BT, Basun H, et al. Plasma beta amyloid and the risk of Alzheimer disease and dementia in elderly men: a prospective, population-based cohort study. *Arch Neurol* 2008;65(2):256-263
- Susan L. Mitchell, M.D., M.P.H. Advance Dementia. *N Engl J Med.* 2015 June 25; 372(26): 2533–2540. doi: 10.1056/NEJMcp1412652
- Syrjälä A-M H, Pekka Ylo stalo, Piia Ruoppi, Kaija Komulainen, Sirpa Hartikainen, Raimo Sulkava and Matti Knuuttila. Dementia and oral health among subjects aged 75 years or older. *Gerodontology.* 2012;29:36-42
- Tang BL, Kumar R. Biomarkers of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Ann Acad Med Singapore.* 2008;37:406–410
- Tecles F, D. Escribano, S. Martínez-Miró, et al. Cholinesterase in porcine saliva: analytical characterization and behavior after experimental stress *Res. Vet. Sci.,* 106 (2016), pp. 23-28
- Thambisetty M, An Y, Kinsey A, Koka D, Saleem M, Guntert A, Kraut M, Ferrucci L, Davatzikos C, Lovestone S, Resnick SM: Plasma clusterin concentration is associated with longitudinal brain atrophy in mild cognitive impairment. *NeuroImage* 2012, 59:212–217
- Toro Jaime. Lewy body dementia. *Acta Neurol Colomb* 2010;26:Sup (3:1):78-80



- Van Oijen M, Hofman A, Soares HD, Koudstaal PJ, Breteler MM. Plasma Abeta(1–40) and Abeta(1–42) and the risk of dementia: a prospective case-cohort study. *The Lancet Neurology* 2006;5(8),655-660
- Velayudhan L, Killick R, Hye A, Kinsey A, Guntert A, Lynham S, Ward M, Leung R, Lourdasamy A, To AW, et al: Plasma transthyretin as a candidate marker for Alzheimer's disease. *J Alzheimer's dis JAD* 2012, 28:369–375
- Wang J, Schipper HM, Velle AM, Mohit S, Gornitsky M (2015) Salivary biomarkers of oxidative stress: A critical review. *Free Radic Biol Med* 85:95-104
- Yaffe K, Weston A, Graff-Radford NR, Satterfield S, Simonsick EM, Younkin SG, Younkin LH, Kuller L, Ayonayon HN, Ding J, Harris TB: Association of plasma beta-amyloid level and cognitive reserve with subsequent cognitive decline. *JAMA J Am Med Assoc* 2011, 305:261–266
- Zetterberg H MD, PhD; Ulf Andreasson, PhD; Oskar Hansson, MD, PhD; Guoxin Wu, PhD; Sethu Sankaranarayanan, PhD; Malin E. Andersson, MSc; Peder Buchhave, MD; Elisabet Londos, MD, PhD; Robert M. Umek, PhD; Lennart Minthon, MD, PhD; Adam J. Simon, PhD; Kaj Blennow, MD, PhD. Elevated Cerebrospinal Fluid BACE1 Activity in Incipient Alzheimer Disease. *Arch Neurol.* 2008 Aug;65(8):1102-7
- Zetterberg H, Hietala MA, Jonsson M, Andreasen N, Styrd E, Karlsson I, Edman A, Popa C, Rasulzada A, Wahlund LO, Metha PD, Rosengren L, Blennow K, Wallin A. Neurochemical aftermath of amateur boxing. *Arch Neurol.* 2006 Sep;63(9):1277-80



8. TRABAJOS RELACIONADOS CON LA TESIS



8.1 COMUNICACIONES EN CONGRESOS.

Reunión conjunta internacional de la Sociedad Española de Disfunción craneo-
mandibular y Dolor orofacial y de la Sociedad Española de Medicina Oral.

Título: Biomarcadores Salivares en pacientes con deterioro cognitivo.

Autores: López Jornet P , Zamora C, Tvarijonaviciute A, Gomez-Garcia F, Guerreo
Sánchez Y, Pons-Fuster E.

Lugar: Bilbao, del 20 al 22 de Junio de 2019

8.2 PUBLICACIONES.

8.2.1 Artículo 1

Título: Salivary biomarkers in Alzheimer's disease

Autores: Asta Tvarijonaviciute , Carmen Zamora, Jose J Ceron, Antonio F. Bravo-
Cantero, Luis Pardo-Marín, Sandra Valverde, Pía López-Jornet. Clinical Oral
Investigation (Aceptado)

.

8.2.2 Artículo 2

Título: Oral hygiene and oral health. Tooth loss in older people with dementia: A case-
control study.

Autores: Asta Tvarijonaviciute , Carmen Zamora, Jose J Ceron, Antonio F. Bravo-
Cantero, Luis Pardo-Marín, Sandra Valverde, Pía López-Jornet (En evaluación).



9. ANEXOS



ANEXO I



HOJA DE INFORMACIÓN A LA PERSONA PARTICIPANTE

sobre el proyecto Demencia salud oral y saliva

Estimado Sr. o Sra.:

Le invitamos a participar en un estudio de investigación titulado "Demencia salud oral y saliva". El estudio busca relacionar el estado general sistémico con el estado salud oral. El proyecto cuenta con el informe favorable de la Comisión de Ética de Investigación de la Universidad de Murcia.

Promotor o financiador del proyecto: Tesis doctoral

Lugar: Clínica Odontológica Universitaria y residencias de mayores de la región de Murcia

Datos de los investigadores

Ante cualquier duda o renuncia que pueda surgir en relación con su participación en la presente investigación, pueden dirigirse a las personas responsable de la misma, cuyos datos son los siguientes:

Carmen Zamora Lavella, Medico estomatólogo
Dirección: Hospital Morales Meseguer . Adv Marques Velez s/n Murcia 30008
Teléfono: 620375461
Email: carmen.zl@hotmail.com

Pia Lopez Jornet, Medico estomatólogo
Dirección: Hospital Morales Meseguer . Adv Marques Velez s/n Murcia 30008
Teléfono: 868888588
Email: majornet@um.es

ASTA TVARIJONAVICIUTE, Investigadora
Dirección: InterLab-UMU, Ed. 16, Campus de Espinardo Universidad de Murcia
Teléfono: 868887168
Email asta@um.es

Información adicional:

- Usted es libre de participar, de modo que se puede negar a participar sin que ello le suponga ninguna merma en los potenciales beneficios a que tendría derecho en caso contrario.
- La participación consiste en responder a las preguntas sobre su salud general y bucal, revisión bucal y toma de muestra de saliva. Duración aproximada 30 minutos.
- Beneficios por su participación: Ud. obtendrá de forma totalmente gratuita una valoración general global de su estado de salud oral por medico estomatólogo.



Vicerrectorado de Investigación y Transferencia



Comisión de Ética de Investigación



INFORME DE LA COMISIÓN DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN DE LA UNIVERSIDAD DE MURCIA

Jaime Peris Riera, Catedrático de Universidad y Secretario de la Comisión de Ética de Investigación de la Universidad de Murcia,

CERTIFICA:

Que D.ª Carmen Zamora Lavella ha presentado la memoria de trabajo de la Tesis Doctoral titulada "Demencia, salud oral y saliva", dirigida por D.ª Pia Lopez Jornet y D.ª Asta Tvarijonaviciute, a la Comisión de Ética de Investigación de la Universidad de Murcia.

Que dicha Comisión analizó toda la documentación presentada, y de conformidad con lo acordado el día diez de abril de dos mil diecinueve¹, por unanimidad, se emite INFORME FAVORABLE, desde el punto de vista ético de la investigación.

Y para que conste y tenga los efectos que correspondan firmo esta certificación con el visto bueno del Presidente de la Comisión.

Vº Bº
EL PRESIDENTE DE LA COMISIÓN DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN DE LA UNIVERSIDAD DE MURCIA

Fdo.: Francisco Esquembre Martínez

ID: 2267/2019

¹A los efectos de lo establecido en el art. 19.5 de la Ley 40/2015 de 1 de octubre de Régimen Jurídico del Sector Público (B.O.E. 02-10), se advierte que el acta de la sesión citada está pendiente de aprobación

Francisco FRANCISCO ESQUEMBRE MARTÍNEZ. Función: SECRETARIO DE LA COMISIÓN DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA DE LA UNIVERSIDAD DE MURCIA. DNI: 46111111-1111. Dirección de correo: FESQUEMB@um.es. Oficina: 03002 Murcia, España. Teléfono: 968 88 11 11. Fax: 968 88 11 11. Email: f.esquembre@um.es



Código seguro de verificación: RUXPMsEL-41NdrGm-tDhtGFlo-H2uC314D COPIA ELECTRÓNICA - Página 1 de 1
esta es una copia auténtica imprimible de un documento administrativo electrónico archivado por la Universidad de Murcia, según el artículo 27.3 c) de la Ley 39/2010, de 2 de octubre. su autenticidad puede ser contrastada a través de la siguiente dirección: <https://sede.um.es/validador/>



ANEXO II



PROTOCOLO

DATOS DEL PACIENTE

- Edad: _____ : _____ años. Fecha de nacimiento
...../...../.....
- Sexo: 1. Femenino 2. Masculino
- Fumador: NO / SI ¿Cuántos cig/día? Exfumador tiempo
- ¿Toma bebidas alcohólicas? NO SI más de 1 al día
- Nivel educativo: Ninguno Primarios Secundarios Universitario
- PESO TALLA IMC

ENFERMEDADES Y MEDICACIÓN CONCOMITANTE:

	SI	/	NO
ENF. CARDIACA			
ENDOCRINO			
NEUROLÓGICO			
RESPIRATORIO			
LOCOMOTOR			
GASTROINTESTINAL			
HEMATOLÓGICO			
UROGENITAL			



Nº de Fármacos:
FÁRMACOS:

18 17 16 15 14 13 12 11	21 22 23 24 25 26 27 28
48 47 46 45 44 43 42 41	31 32 33 34 35 36 37 38

Odontograma

Nº total dientes presentes incluyendo cordales:

Habitos de higiene oral

Nº cepillados al día: una vez 1, dos veces 2, tres veces 3, de vez en cuando 4, nunca 5

Nivel de independencia para la higiene oral

Solo 1, ayuda 2, dependiente 3

Tipo de cepillado

Manual 1, eléctrico 2

Halitosis

Sin olor apreciable 1, olor apenas perceptible 2, olor pequeño pero notable 3, olor moderado 4, olor fuerte 5, olor extremo 6

.

Protesis No / Sí

Tipo de prótesis

Prótesis completa 1, Prótesis Parcial Removible 2, Prótesis completa+Parcial removible 3, Prótesis fija 4, Prótesis completa+ Prótesis fija 5, Parcial removible+ prótesis fija 6

Estado de las prótesis

Bueno 1, Malo 2



ANEXO III



Les adjuntamos más abajo la autorización que, en caso de estar conformes, deben entregar firmada.

Don/Doña

como hijo/hija/tutor/a legal AUTORIZO a _____

a que participe en el estudio que lleva a cabo la Universidad de Murcia, cuyo objetivo es determinar los factores predisponentes al babeo, y aquellos factores sobre los que se puede incidir para mejorar la calidad de vida de estos pacientes. Ello conlleva la toma de muestra de saliva, así como la realización de una exploración bucodental.

Atentamente.

Facultad de Medicina (Odontología)

Hospital General Universitario Morales Meseguer. 30008 Murcia

T.868 88 85 88- F.868 88 85 76



ANEXO IV.

Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos

Adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, junio 1964 y
enmendada por la

29ª Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón, octubre 1975

35ª Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, octubre 1983

41ª Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, septiembre 1989

48ª Asamblea General Somerset West, Sudáfrica, octubre 1996

52ª Asamblea General, Edimburgo, Escocia, octubre 2000

Nota de Clarificación del Párrafo 29, agregada por la Asamblea General de la AMM,
Washington 2002

Nota de Clarificación del Párrafo 30, agregada por la Asamblea General de la AMM,
Tokio 2004

59ª Asamblea General, Seúl, Corea, octubre 2008

A. INTRODUCCIÓN

1. La Asociación Médica Mundial (AMM) ha promulgado la Declaración de Helsinki como una propuesta de principios éticos para investigación médica en seres humanos, incluida la investigación del material humano y de información identificables.

La Declaración debe ser considerada como un todo y un párrafo no debe ser aplicado sin considerar todos los otros párrafos pertinentes.

2. Aunque la Declaración está destinada principalmente a los médicos, la AMM insta a otros participantes en la investigación médica en seres humanos a adoptar estos principios.



3. El deber del médico es promover y velar por la salud de los pacientes, incluidos los que participan en investigación médica. Los conocimientos y la conciencia del médico han de subordinarse al cumplimiento de ese deber.
4. La Declaración de Ginebra de la Asociación Médica Mundial vincula al médico con la fórmula "velar solícitamente y ante todo por la salud de mi paciente", y el Código Internacional de Ética Médica afirma que: "El médico debe considerar lo mejor para el paciente cuando preste atención médica".
5. El progreso de la medicina se basa en la investigación que, en último término, debe incluir estudios en seres humanos. Las poblaciones que están subrepresentadas en la investigación médica deben tener un acceso apropiado a la participación en la investigación.
6. En investigación médica en seres humanos, el bienestar de la persona que participa en la investigación debe tener siempre primacía sobre todos los otros intereses.
7. El propósito principal de la investigación médica en seres humanos es comprender las causas, evolución y efectos de las enfermedades y mejorar las intervenciones preventivas, diagnósticas y terapéuticas (métodos, procedimientos y tratamientos). Incluso, las mejores intervenciones actuales deben ser evaluadas continuamente a través de la investigación para que sean seguras, eficaces, efectivas, accesibles y de calidad.
8. En la práctica de la medicina y de la investigación médica, la mayoría de las intervenciones implican algunos riesgos y costos.
9. La investigación médica está sujeta a normas éticas que sirven para promover el respeto a todos los seres humanos y para proteger su salud y sus derechos



individuales. Algunas poblaciones sometidas a la investigación son particularmente vulnerables y necesitan protección especial. Estas incluyen a los que no pueden otorgar o rechazar el consentimiento por sí mismos y a los que pueden ser vulnerables a coerción o influencia indebida.

10. Los médicos deben considerar las normas y estándares éticos, legales y jurídicos para la investigación en seres humanos en sus propios países, al igual que las normas y estándares internacionales vigentes. No se debe permitir que un requisito ético, legal o jurídico nacional o internacional disminuya o elimine cualquiera medida de protección para las personas que participan en la investigación establecida en esta Declaración.

B. PRINCIPIOS BÁSICOS PARA TODA INVESTIGACION MÉDICA

11. En la investigación médica, es deber del médico proteger la vida, la salud, la dignidad, la integridad, el derecho a la autodeterminación, la intimidad y la confidencialidad de la información personal de las personas que participan en investigación.
12. La investigación médica en seres humanos debe conformarse con los principios científicos generalmente aceptados y debe apoyarse en un profundo conocimiento de la bibliografía científica, en otras fuentes de información pertinentes, así como en experimentos de laboratorio correctamente realizados y en animales, cuando sea oportuno. Se debe cuidar también del bienestar de los animales utilizados en los experimentos.
13. Al realizar una investigación médica, hay que prestar atención adecuada a los factores que puedan dañar el medio ambiente.



14. El proyecto y el método de todo estudio en seres humanos debe describirse claramente en un protocolo de investigación. Este debe hacer referencia siempre a las consideraciones éticas que fueran del caso y debe indicar cómo se han considerado los principios enunciados en esta Declaración. El protocolo debe incluir información sobre financiamiento, patrocinadores, afiliaciones institucionales, otros posibles conflictos de interés e incentivos para las personas del estudio y estipulaciones para tratar o compensar a las personas que han sufrido daños como consecuencia de su participación en la investigación. El protocolo debe describir los arreglos para el acceso después del ensayo a intervenciones identificadas como beneficiosas en el estudio o el acceso a otra atención o beneficios apropiados.

15. El protocolo de la investigación debe enviarse, para consideración, comentario, consejo y aprobación, a un comité de ética de investigación antes de comenzar el estudio. Este comité debe ser independiente del investigador, del patrocinador o de cualquier otro tipo de influencia indebida. El comité debe considerar las leyes y reglamentos vigentes en el país donde se realiza la investigación, como también las normas internacionales vigentes, pero no se debe permitir que éstas disminuyan o eliminen ninguna de las protecciones para las personas que participan en la investigación establecidas en esta Declaración. El comité tiene el derecho de controlar los ensayos en curso. El investigador tiene la obligación de proporcionar información del control al comité, en especial sobre todo incidente adverso grave. No se debe hacer ningún cambio en el protocolo sin la consideración y aprobación del comité.

16. La investigación médica en seres humanos debe ser llevada a cabo sólo por personas con la formación y calificaciones científicas apropiadas. La investigación en pacientes o voluntarios sanos necesita la supervisión de un médico u otro profesional de la salud competente y calificado apropiadamente. La responsabilidad



de la protección de las personas que toman parte en la investigación debe recaer siempre en un médico u otro profesional de la salud y nunca en los participantes en la investigación, aunque hayan otorgado su consentimiento.

17. La investigación médica en una población o comunidad con desventajas o vulnerable sólo se justifica si la investigación responde a las necesidades y prioridades de salud de esta población o comunidad y si existen posibilidades razonables de que la población o comunidad, sobre la que la investigación se realiza, podrá beneficiarse de sus resultados.
18. Todo proyecto de investigación médica en seres humanos debe ser precedido de una cuidadosa comparación de los riesgos y los costos para las personas y las comunidades que participan en la investigación, en comparación con los beneficios previsibles para ellos y para otras personas o comunidades afectadas por la enfermedad que se investiga.
19. Todo ensayo clínico debe ser inscrito en una base de datos disponible al público antes de aceptar a la primera persona.
20. Los médicos no deben participar en estudios de investigación en seres humanos a menos de que estén seguros de que los riesgos inherentes han sido adecuadamente evaluados y de que es posible hacerles frente de manera satisfactoria. Deben suspender inmediatamente el experimento en marcha si observan que los riesgos que implican son más importantes que los beneficios esperados o si existen pruebas concluyentes de resultados positivos o beneficiosos.
21. La investigación médica en seres humanos sólo debe realizarse cuando la importancia de su objetivo es mayor que el riesgo inherente y los costos para la



- persona que participa en la investigación.
22. La participación de personas competentes en la investigación médica debe ser voluntaria. Aunque puede ser apropiado consultar a familiares o líderes de la comunidad, ninguna persona competente debe ser incluida en un estudio, a menos que ella acepte libremente.
 23. Deben tomarse toda clase de precauciones para resguardar la intimidad de la persona que participa en la investigación y la confidencialidad de su información personal y para reducir al mínimo las consecuencias de la investigación sobre su integridad física, mental y social.
 24. En la investigación médica en seres humanos competentes, cada individuo potencial debe recibir información adecuada acerca de los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posibles conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados, riesgos previsibles e incomodidades derivadas del experimento y todo otro aspecto pertinente de la investigación. La persona potencial debe ser informada del derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerse a represalias. Se debe prestar especial atención a las necesidades específicas de información de cada individuo potencial, como también a los métodos utilizados para entregar la información. Después de asegurarse de que el individuo ha comprendido la información, el médico u otra persona calificada apropiadamente debe pedir entonces, preferiblemente por escrito, el consentimiento informado y voluntario de la persona. Si el consentimiento no se puede otorgar por escrito, el proceso para lograrlo debe ser documentado y atestiguado formalmente.
 25. Para la investigación médica en que se utilice material o datos humanos



identificables, el médico debe pedir normalmente el consentimiento para la recolección, análisis, almacenamiento y reutilización. Podrá haber situaciones en las que será imposible o impracticable obtener el consentimiento para dicha investigación o podría ser una amenaza para su validez. En esta situación, la investigación sólo puede ser realizada después de ser considerada y aprobada por un comité de ética de investigación.

26. Al pedir el consentimiento informado para la participación en la investigación, el médico debe poner especial cuidado cuando el individuo potencial está vinculado con él por una relación de dependencia o si consiente bajo presión. En una situación así, el consentimiento informado debe ser pedido por una persona calificada adecuadamente y que nada tenga que ver con aquella relación.
27. Cuando el individuo potencial sea incapaz, el médico debe pedir el consentimiento informado del representante legal. Estas personas no deben ser incluidas en la investigación que no tenga posibilidades de beneficio para ellas, a menos que ésta tenga como objetivo promover la salud de la población representada por el individuo potencial y esta investigación no puede realizarse en personas competentes y la investigación implica sólo un riesgo y costo mínimos.
28. Si un individuo potencial que participa en la investigación considerado incompetente es capaz de dar su asentimiento a participar o no en la investigación, el médico debe pedirlo, además del consentimiento del representante legal. El desacuerdo del individuo potencial debe ser respetado.
29. La investigación en individuos que no son capaces física o mentalmente de otorgar consentimiento, por ejemplo los pacientes inconscientes, se puede realizar sólo si la condición física/mental que impide otorgar el consentimiento informado es una característica necesaria de la población investigada. En estas circunstancias, el



médico debe pedir el consentimiento informado al representante legal. Si dicho representante no está disponible y si no se puede retrasar la investigación, el estudio puede llevarse a cabo sin consentimiento informado, siempre que las razones específicas para incluir a individuos con una enfermedad que no les permite otorgar consentimiento informado hayan sido estipuladas en el protocolo de la investigación y el estudio haya sido aprobado por un comité de ética de investigación. El consentimiento para mantenerse en la investigación debe obtenerse a la brevedad posible del individuo o de un representante legal.

30. Los autores, directores y editores todos tienen obligaciones éticas con respecto a la publicación de los resultados de su investigación. Los autores tienen el deber de tener a la disposición del público los resultados de su investigación en seres humanos y son responsables de la integridad y exactitud de sus informes. Deben aceptar las normas éticas de entrega de información. Se deben publicar tanto los resultados negativos e inconclusos como los positivos o de lo contrario deben estar a la disposición del público. En la publicación se debe citar la fuente de financiamiento, afiliaciones institucionales y conflictos de intereses. Los informes sobre investigaciones que no se ciñan a los principios descritos en esta Declaración no deben ser aceptados para su publicación.



C. PRINCIPIOS APLICABLES CUANDO LA INVESTIGACION MEDICA SE

COMBINA CON LA ATENCION MÉDICA

31. El médico puede combinar la investigación médica con la atención médica, sólo en la medida en que tal investigación acredite un justificado valor potencial preventivo, diagnóstico o terapéutico y si el médico tiene buenas razones para creer que la participación en el estudio no afectará de manera adversa la salud de los pacientes que toman parte en la investigación.
32. Los posibles beneficios, riesgos, costos y eficacia de toda intervención nueva deben ser evaluados mediante su comparación con la mejor intervención probada existente, excepto en las siguientes circunstancias:
33. El uso de un placebo, o ningún tratamiento, es aceptable en estudios para los que no hay una intervención probada existente.
34. Cuando por razones metodológicas, científicas y apremiantes, el uso de un placebo es necesario para determinar la eficacia y la seguridad de una intervención que no implique un riesgo, efectos adversos graves o daño irreversible para los pacientes que reciben el placebo o ningún tratamiento. Se debe tener muchísimo cuidado para evitar abusar de esta opción.
33. Al final de la investigación, todos los pacientes que participan en el estudio tienen derecho a ser informados sobre sus resultados y compartir cualquier beneficio, por ejemplo, acceso a intervenciones identificadas como beneficiosas en el estudio o a otra atención apropiada o beneficios.
34. El médico debe informar cabalmente al paciente los aspectos de la atención que tienen relación con la investigación. La negativa del paciente a participar en una investigación o su decisión de retirarse nunca debe perturbar la relación médico-



paciente.

35. Cuando en la atención de un enfermo las intervenciones probadas han resultado ineficaces o no existen, el médico, después de pedir consejo de experto, con el consentimiento informado del paciente o de un representante legal autorizado, puede permitirse usar intervenciones no comprobadas, si, a su juicio, ello da alguna esperanza de salvar la vida, restituir la salud o aliviar el sufrimiento. Siempre que sea posible, tales intervenciones deben ser investigadas a fin de evaluar su seguridad y eficacia. En todos los casos, esa información nueva debe ser registrada y, cuando sea oportuno, puesta a disposición del público.