

SALIVARY CHARACTERISTICS IN PATIENTS WITH FAMILIAL ALZHEIMER'S DISEASE DUE TO E280A MUTATION

CARACTERÍSTICAS SALIVARES EN PERSONAS CON ENFERMEDAD DE ALZHEIMER FAMILIAR POR LA MUTACIÓN E280A

SANTIAGO PALACIO G.¹, JHOANN MAURICIO MARÍN S.¹, ANDERSON ANDRÉS ECHEVERRY¹, KEVIN D. DUQUE¹,

GONZALO JARAMILLO², ERNESTO LUNA M.³

ABSTRACT. Introduction: Alzheimer's disease is a neurodegenerative disorder characterized by the loss of cognitive functions. The prevalence of this disease worldwide is high, and therefore it is important to have a better understanding of the oral health needs and conditions of individuals with this disorder. The present study was carried out in a population with E280A mutation for Alzheimer's disease. The goal was to describe the salivary characteristics of persons with early familial Alzheimer's disease, in order to detect changes in the oral microbiome that can guide the dental management of these patients. **Methods:** transversal study in 37 participants living in the Metropolitan Area of the city of Medellín, aged 53 ± 6 years in average, in different stages of the disease: mild: 8, moderate: 7, and severe: 22, and evaluated by neuropsychological tests. Salivary samples were collected, evaluating saliva secretion rate and saliva buffer capacity, and conducting microbial analysis of the species most commonly found in the mouth. **Results:** 45.9% of participants showed a decreased rate of stimulated salivary secretion; salivary buffer capacity was decreased in 83.87% of participants, with average pH values of 3.449 ± 0.89 after the Ericsson test. Buffer capacity was altered in participants with decreased secretion rate and in those with no alteration in salivary secretion rate. High levels of microbial growth were observed, mainly for *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. **Conclusions:** this study suggests that other factors besides the pharmacological ones, like age and disease severity, may affect the salivary rate flow in patients with early familial Alzheimer's disease.

Key words: familial Alzheimer's disease, xerostomia, buffer capacity, stimulated saliva

RESUMEN. Introducción: la enfermedad de Alzheimer es una alteración neurodegenerativa caracterizada por la pérdida de funciones cognitivas. Existe una alta prevalencia de esta enfermedad a nivel mundial, por lo que resulta oportuno tener una mayor comprensión de las necesidades y condiciones de salud bucal de los sujetos con este desorden. El presente estudio se llevó a cabo en una población con mutación E280A para la enfermedad de Alzheimer. El objetivo consistió en describir las características salivares de las personas con enfermedad de Alzheimer familiar precoz, con el fin de detectar cambios en el microbioma bucal que puedan orientar el manejo odontológico de estos pacientes. **Métodos:** estudio transversal en 37 participantes que habitan el Área Metropolitana de la ciudad de Medellín, con una edad promedio de 53 ± 6 años, en diferentes estadios de la enfermedad: leve: 8, moderada: 7 y grave: 22, evaluados mediante pruebas neuropsicológicas. Se tomaron muestras salivares, se evaluó la tasa de secreción salivar y la capacidad buffer de la saliva y se efectuó un análisis microbiano de las principales especies presentes en boca. **Resultados:** el 45,9% de los participantes presentaron una tasa disminuida de secreción salivar estimulada; la capacidad buffer salivar estuvo disminuida en el 83,87% de los participantes, con valores promedios de pH luego de la prueba de Ericsson de 3,449 ± 0,89. La capacidad buffer se encontró alterada tanto en los participantes con tasa de secreción disminuida como en aquellos con tasa de secreción salivar no alterada. Se observó alto crecimiento microbiano, principalmente de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*. **Conclusiones:** este estudio sugiere que pueden existir otros factores, además de los farmacológicos, que afectan la tasa de flujo salivar en los pacientes con enfermedad de Alzheimer familiar precoz, como la edad y la severidad de la enfermedad.

Palabras clave: enfermedad de Alzheimer familiar, xerostomía, capacidad buffer, saliva estimulada

Palacio S, Marín JM, Echeverry AA, Duque KD, Jaramillo G, Luna E. Salivary characteristics in patients with familial Alzheimer's disease due to E280A mutation. Rev Fac Odontol Univ Antioq. 2018; 29 (2): 343-361. DOI: <http://dx.doi.org/10.17533/udea.rfo.v29n2a6>

¹ DMD. School of Dentistry, Universidad de Antioquia
² DMD. MA in Education, PhD in Philosophy, Universidad de Antioquia
³ DMD. Specialist in Epidemiology. Universidad CES. MSc in Social Gerontology, Universidad de Barcelona

¹ Odontólogos. Facultad de Odontología, Universidad de Antioquia
² Odontólogo. Magister en Educación, PhD en Filosofía, Universidad de Antioquia
³ Odontólogo. Especialista en Epidemiología. Universidad CES. MSc en Gerontología Social, Universidad de Barcelona

INTRODUCTION

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder characterized by progressive loss of cognitive functions.¹ Its prevalence is high: about 10 to 12% of the world's population over 65 years suffer from the disorder, and this number is expected to grow exponentially.² As a result, the demand for dental services has increased, making it necessary to have a better understanding of the oral health needs and conditions of individuals with AD.

There are two forms of manifestation of the condition: sporadic (SAD) and familial (FAD) Alzheimer's disease. The pathological anatomy is similar in both forms and is characterized by neurofibrillary tangles, senile plaques, granulo-vascular degeneration, and gliosis. However, FAD develops at an earlier age than SAD (before the age of 65).³

Various chromosomes have been associated with early onset of familial Alzheimer's disease: 21, 14, 19 and 1.⁴ The Grupo de Neurociencias de Antioquia (GNA) has identified and studied the world's largest population with this disease, associated with the E280A mutation of chromosome 14. This cluster is composed of 42 extensive genealogies with more than 5,000 heirs, distributed throughout the department of Antioquia and the country. This mutation is caused by the substitution of glutamic acid by alanine in codon 280 of gene presenilin-1 on chromosome 14, and thus is known as mutation E280A, or *paisa* mutation (referring to the way people from Antioquia are called). This population has gained importance in the study of dementias worldwide, since it is the largest family group affected by FAD.⁵

The evidence reported in the literature regarding oral and dental health in people with AD identifies significant changes in oral conditions, such as hyposalivation, susceptibility to risk

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo caracterizado por una pérdida progresiva de las funciones cognitivas.¹ Es una enfermedad de alta prevalencia: cerca de un 10 a 12% de la población mundial mayor de 65 años padece el trastorno, y se cree que habrá un crecimiento exponencial de la cifra.² Como consecuencia, la demanda de servicios odontológicos se ha incrementado, por lo que se hace necesario una mayor comprensión de las necesidades y condiciones de salud bucal de los sujetos con EA.

Existen dos formas de presentación de la afección: enfermedad de Alzheimer esporádica (EAE) y familiar (EAF). La anatomía patológica es similar en ambas entidades, y se caracteriza por ovillos neurofibrilares, placas seniles, cambios granulo-vasculares y gliosis. No obstante, la EAF se desarrolla a edades más tempranas que la EAE (antes de los 65 años de edad).³

Diferentes cromosomas han sido asociados con la aparición de enfermedad de Alzheimer familiar precoz: 21, 14, 19 y 1.⁴ El Grupo de Neurociencias de Antioquia (GNA) ha identificado y estudiado la población más grande del mundo con esta entidad, asociada a la mutación E280A del cromosoma 14. Este foco está conformado por 42 extensas genealogías con más de 5.000 herederos, distribuidos por todo el departamento de Antioquia y el país. La causa de esta mutación es la sustitución del ácido glutámico por alanina, en el codón 280 del gen de la presenilina-1, en el cromosoma 14, por lo que se conoce como mutación E280A, o mutación *paisa*. Esta población ha adquirido importancia en el estudio de demencias a nivel mundial, dado que se constituye en el mayor grupo familiar afectado con EAF.⁵

Las evidencias reportadas en la literatura respecto a la salud buco-dental de las personas con EA han identificado cambios significativos en las condiciones bucales, como hiposalivación, susceptibilidad a riesgo

of infection, burning mucosa and tongue, taste alterations, dyslalia, swallowing alterations, dry mouth syndrome, fissures, and ulcerations in mucosa and tongue.⁶ However, all these findings have been identified in the sporadic form of the disease. No study has been conducted in FAD patients.

This study aimed to describe the salivary characteristics of people with early familial Alzheimer's disease, seeking to detect saliva alterations that can cause changes in the oral microbiome. This will enable the implementation of oral health care protocols in this population before the appearance of signs and symptoms of AD.

MATERIALS AND METHODS

A descriptive transversal study was used to contact all subjects registered in the Grupo de Neurociencias de Antioquia (GNA) databases. All subjects were residents in the Metropolitan Area of Valle de Aburrá. Initially, the study universe included 41 subjects (N = 41). One subject died before the sample was taken and three refused to participate in the study, leaving 37 subjects with familial Alzheimer's disease who were evaluated, most of them from Medellín and Angostura. A preliminary interview was made, recording the subjects' demographic data, like age, socioeconomic stratum, and years of schooling, as well as clinical aspects, such as prescribed medicines. Disease severity was diagnosed based on medical criteria and neuropsychological tests, such as Mini Mental State Examination (MMSE), family (FC) and patient memory complaints (PC), global deterioration scale (GDS), Functional Assessment Staging (FAST), and evocation. Table 1 shows the criteria for classification of disease stage.⁷

de infecciones, ardor de mucosas y lengua, alteraciones del gusto, dislalia, alteraciones en la deglución, síndrome de boca seca, fisuras y ulceraciones en mucosa y lengua.⁶ Sin embargo, todos estos hallazgos han sido identificados en la forma esporádica de la enfermedad. No se ha realizado ningún estudio en personas con EAF.

El propósito del presente estudio consistió en describir las características salivares de personas con enfermedad de Alzheimer familiar precoz, buscando detectar alteraciones en la saliva que podrían desencadenar cambios en el microbioma bucal. Esto permitirá implementar protocolos de atención en salud bucal en esta población, antes y después de que aparezcan signos y síntomas de la EA.

MATERIALES Y MÉTODOS

Mediante un estudio descriptivo transversal, se contactaron todos los sujetos registrados en las bases de datos del Grupo de Neurociencias de Antioquia, todos ellos residentes en el Área Metropolitana del Valle de Aburrá. En el estudio se incluyeron inicialmente 41 sujetos correspondientes al universo (N = 41). De ellos, un sujeto falleció antes de poder realizar la toma de la muestra, y tres rechazaron la participación en el estudio, por lo que se evaluaron 37 sujetos con enfermedad de Alzheimer familiar, la mayoría de ellos procedentes de Medellín y Angostura. Se hizo una entrevista preliminar, en la que se registraron datos sociodemográficos de los sujetos, como edad, estrato socioeconómico y años de escolaridad, y aspectos clínicos, como el uso de medicamentos. El diagnóstico de la severidad de la enfermedad se basó en criterios médicos y pruebas neuropsicológicas, como Mini Mental State Examination (MMSE), quejas de memoria familiar (QF) y del paciente (QP), escala de deterioro global (EDG), Functional Assessment Staging (FAST) y evocación. En la tabla 1 se muestran los criterios para la clasificación del estadio de la enfermedad.⁷

Table 1. Classification of Alzheimer's disease stage based on some neuropsychological tests.⁷

Stage	MMSE	GDS	FAST
Mild	30-23	1-3	1-3
Moderate	23-12	4-5	4-5
Severe	12-0	6-7	6a-7f

Participants and caregivers were contacted through the GNA. Home visits were made, explaining the purpose of the study and the freedom to participate in it. The informed consent was signed and approved by the Ethics Committee of the School of Dentistry of Universidad de Antioquia.

For saliva sampling, the caregivers were provided with the following instructions before samples were taken: avoid the consumption of solid foods one hour before the test and perform oral and dental hygiene half an hour before the evaluation. Sampling was performed between 09:00 h and 11:00 h to minimize the variations associated with the circadian cycle.

Clinical examination

Participants were asked to open the mouth to observe oral health status. The total number of teeth in the mouth and the use of dentures were recorded, establishing prosthesis type in three categories: fixed, removable, and full.

Salivary evaluation

Each participant was asked to chew a piece of sterile wax and tilt the head down, using the manual subtraction method with sterile plastic Pasteur pipettes to collect saliva from the floor of the mouth and bringing the sample to 50 mL Falcon® tubes (VWR International, Pennsylvania) for transportation. The amount of saliva was recorded (mL) for 5 minutes, calculating saliva secretion rate. Samples were collected until obtaining at least 5 mL of saliva,

Tabla 1. Clasificación del estadio de la enfermedad de Alzheimer basada en algunas pruebas neuropsicológicas.⁷

Estadio	MMSE	EDG	FAST
Leve	30-23	1-3	1-3
Moderado	23-12	4-5	4-5
Grave	12-0	6-7	6a-7f

Los participantes y cuidadores se contactaron a través del GNA; se realizaron visitas domiciliarias y se informó sobre la finalidad del estudio y su libertad para participar en esta investigación. Se firmó el consentimiento informado aprobado por el comité de ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquia.

Para la toma de muestra de saliva, se les dieron algunas indicaciones a los cuidadores antes de la toma de la muestra: evitar el consumo de alimentos sólidos una hora antes de la prueba y realizar la higiene bucal y de prótesis dentales media hora antes de la evaluación. La toma de las muestras se realizó entre 09:00 h y 11:00 h para minimizar las variaciones asociadas al ciclo circadiano.

Inspección clínica

Se le solicitó al participante abrir la boca para observar el estado de salud bucal. Se registró el número total de dientes presentes en la boca y el uso de prótesis dentales, estableciendo el tipo de prótesis usada en tres categorías: fija, removible y total.

Evaluación salivar

A cada participante se le pidió masticar un trozo de cera estéril e inclinar la cabeza hacia abajo, y por el método de sustracción manual con pipetas Pasteur plásticas estériles, se recolectó saliva del piso de la boca, la cual se llevó a tubos Falcon® de 50ml (VWR International, Pensilvania) para su transporte. Se registró la cantidad de saliva presente (mL) durante 5 minutos y se calculó la tasa de secreción salivar. Se continuó con la toma de las muestras hasta obtener por lo menos 5 mL de saliva,

and all the other tests were conducted in the Microbiology and Oral Histopathology Laboratory of Universidad de Antioquia School of Dentistry. The samples were transported in a portable icebox for analysis. The Ericsson method was used to evaluate salivary buffer capacity.⁸ To this end, the initial salivary pH of 1 mL of saliva was measured using a WTW 330 pH-meter (Weight Watchers International, Inc. New York). Immediately afterwards, each sample was added 3 mL of 0.005 N hydrochloric acid and mixed in magnetic stirrer, evaluating final pH 20 minutes later.

Microbial count

Microbial count was performed using the total saliva sample obtained from participants. Serial dilutions were made in glass vials (Thermo Fisher Science, Massachusetts, US) using the total saliva sample in Brain Heart Infusion (BHI) (Oxoid, Basingstoke, UK) with 0.9 mL of BHI, adding 0.1 mL of total saliva in 0.9 mL BHI for 10^{-1} dilution. Dilutions of 10^{-2} to 10^{-5} were prepared, adding 0.1 mL of the preceding dilution; the vials were stirred in vortex in between dilutions.

Streptococcus mutans was isolated taking 0.1 mL of dilutions 10^{-4} and 10^{-5} , using a sterile swab to spread in Petri boxes (Waldner Laboreinrichtungen GmbH & Co, Allgäu) with mitis salivarius agar (Beckton & Dickinson, NJ, US) prepared with 20% sucrose, 1% tellurite and 0.1% bacitracin. The boxes were incubated in a microaerophilic environment at 37 °C for 72 hours, interrupting the incubation at this time to count colony forming units. The culture for the search of *Candida albicans* was prepared in Saboureaud dextrose agar (Merck, Darmstadt), taking 0.1 mL of the total saliva sample with the surface planting technique. It was incubated in microaerophilic environment at 37 °C for 72 hours, recording the number of colonies afterwards.

para realizar las demás pruebas en el Laboratorio de Microbiología e Histopatología Oral de la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquia. Las muestras fueron transportadas para su análisis en una nevera portátil. Para evaluar la capacidad buffer salivar, se siguió el método de Ericsson.⁸ Para ello, se midió el pH salivar inicial de 1 mL de saliva, con el uso de pH-metro WTW 330 (Weight Watchers International, Inc. New York). Inmediatamente después, a la muestra se le agregaron 3 mL de ácido clorhídrico al 0,005 N, se mezcló en agitador magnético y a los 20 minutos se evaluó el pH final.

Recuento microbiano

El recuento de microorganismos se realizó con la muestra de saliva total obtenida de los participantes. De la muestra total de saliva, se realizaron diluciones seriadas en Brain Heart Infusion (BHI) (Oxoid, Basingstoke, UK) en viales de vidrio (Thermo Fisher Science, Massachusetts, US) con 0,9 mL de BHI, agregando 0,1 mL de saliva total en 0,9 mL de BHI para la dilución de 10^{-1} . Se prepararon diluciones de 10^{-2} a 10^{-5} , agregando 0,1 mL de la dilución inmediatamente anterior; en medio de cada dilución se agitaron los viales en vortex.

Para el aislamiento de *Streptococcus mutans*, se tomó 0,1 mL de las diluciones 10^{-4} y 10^{-5} y se extendió, con la ayuda de un hisopo estéril, en cajas de Petri (Waldner Laboreinrichtungen GmbH & Co, Allgäu) con agar mitis salivarius (Beckton & Dickinson, Nueva Jersey, US), preparado con 20% de sacarosa, 1% de telurito y 0,1% de bacitracina. Las cajas se incubaron en un ambiente microaerófilo a 37 °C durante 72 horas, momento en el cual se interrumpió la incubación y se realizó el recuento de las unidades formadoras de colonias. El cultivo para la búsqueda de *Candida albicans* se realizó en agar Saboureaud dextrosa (Merck, Darmstadt), tomando 0,1 mL de la muestra de saliva total con técnica de siembra en superficie. Se incubó en ambiente microaerófilo a 37 °C durante 72 horas; luego se registró la cantidad de colonias.

Lactobacillus Spp was isolated using 25 mL of Rogosa agar (Merck, Darmstadt) with the deep planting technique to simulate an anaerobic environment. To that end, 1 mL of dilution 10^{-3} was added, incubating for 72 hours in an anaerobic environment at 37 °C. The results were interpreted and recorded.

The number of colonies of each species was counted using a stereomicroscope MS-2 20x (Optika, Ponteranica BG, Italy) and a colony counter (Acequilabs, Bogotá, Colombia). These microorganisms were selected as they are an important part of the pathogenic flora associated with the most prevalent diseases in the mouth.

The results were analyzed 72 hours later using the Frost diagram. The number of bacteria was recorded according to the colony forming units by mL (CFU/mL); it was considered as a “negative culture” if no bacterial growth was present, and “uncountable” if the number of colonies in agar was too large to perform an accurate count.

Statistical analysis

Data were analyzed with version 23.0 of software IBM-SPSS Statistics for Windows (Armonk, NY: IBM Corp.), conducting descriptive analysis with summary measures (average, standard deviation, minimum and maximum) for all quantitative variables. Qualitative variables were described with absolute and relative frequencies expressed in percentages. An exploratory statistical analysis was conducted using the Shapiro-Wilk test to evaluate the normality of the salivary variables. The ANOVA test was used to compare the age and salivary variables of AD patients against disease stage. Student's *t*-test was used to compare the use of medications against salivary variables. In addition, the Pearson correlation coefficient was used to evaluate the relationship among salivary variables. A significance level of 0.05 was always used for all exploratory statistical analysis.

Para la obtención de *Lactobacillus spp* se utilizó agar ro-gosa 25 mL (Merck, Darmstadt) con la técnica de siembra en profundidad, para recrear el ambiente anaerobio. Para esto, se agregó 1 mL de la dilución 10^{-3} . Se incubó por 72 horas en un ambiente anaerobio a 37 °C. Se realizó lectura y se registraron los hallazgos.

Para el recuento de colonia de cada especie se utilizó estereomicroscopio MS-2 20x (Optika, Ponteranica BG, Italia) y contador de colonias (Acequilabs, Bogotá, Colombia). Se seleccionaron estos microorganismos como parte importante de la flora patógena asociada con las enfermedades más prevalentes en boca.

Los resultados se analizaron pasadas las 72 horas y se hizo la lectura utilizando la carta de Frost. Se registró el número de bacterias en función de las unidades formadoras de colonia por mL (UFC/mL); se reportó como “cultivo negativo” cuando no hubo crecimiento bacteriano, y como “incontable” cuando la cantidad de colonias en el agar fue muy grande y no permitía hacer un recuento con precisión.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron con el programa IBM-SPSS Statistics para Windows versión 23.0 (Armonk, NY: IBM corp.). Se hizo análisis descriptivo con las medidas de resumen (promedio, desviación estándar, mínimos y máximos) para todas las variables cuantitativas. Las variables cualitativas se describieron con las frecuencias absolutas y relativas expresadas de manera porcentual. Se utilizó un análisis estadístico exploratorio, para el cual se usó la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad de las variables salivares. Se usó la prueba de ANOVA para comparar la edad y las variables salivares de las personas con Alzheimer respecto al estadio de la enfermedad. Su utilizó la prueba *t* Student para comparar el uso o no de medicamentos respecto a las variables salivares. Adicionalmente, se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson para evaluar la relación entre las variables salivares. Siempre se utilizó un nivel de significancia del 0,05 para todo el análisis estadístico exploratorio.

RESULTS

Sociodemographic profile

We assessed 37 participants, 15 males (40.5%) and 22 females (59.5%), diagnosed with familial Alzheimer's disease due to E280A mutation in different stages: mild: 8 (21.6%), moderate: 7 (18.9%) and severe: 22 (59.5%). The average age of participants was 53 ± 6 years, with 54 ± 5 years in average for female and 51 ± 5 for male. Age distribution changes with respect to disease stage; average age was higher in the severe stage, with statistically significant differences with respect to the moderate and mild stages— p values < 0.04 and 0.05 respectively (Table 2).

Table 2. Summary of AD patients age according to dementia stage.

	N	\pm SD	Min	Max
Mild	8	48.8 ± 4.6	42	53
Moderate	7	48.1 ± 4.1	42	52
Severe	22	56.1 ± 5.8	49	69
Total	37	53.0 ± 6.4	42	69

Most participants (94.6%) were from socioeconomic strata 1, 2 and 3, and the others belonged to stratum 4. The participants' average schooling was 8.0 ± 4.7 years.

The clinical evaluation showed that participants had an average of 15.3 ± 10.8 teeth. The sample was heterogeneous in terms of this variable, since there were edentulous participants (18.9%) to participants with complete permanent dentition (5.4%). 24.3% of subjects used some type of prosthesis, mostly upper or lower removable partial prostheses (10.8%). In the mild, moderate and severe stages, participants had 23 ± 9.6 , 18 ± 10.6 and 12 ± 9.7 teeth, respectively, with a Pearson correlation coefficient of 0.45.

RESULTADOS

Perfil sociodemográfico

Se evaluaron 37 participantes, 15 hombres (40,5%) y 22 mujeres (59,5%), diagnosticados con enfermedad de Alzheimer familiar por la mutación E280A en diferentes estadios: leve: 8 (21,6%), moderada: 7 (18,9%) y severa: 22 (59,5%). La edad promedio de los participantes fue de 53 ± 6 años, con un promedio de edad de 54 ± 5 años (mujeres) y 51 ± 5 años (hombres). La distribución de la edad cambia con respecto al estadio de la enfermedad; el promedio de edad fue mayor en el estadio severo, con diferencias estadísticamente significativas con respecto a los estadios moderado y leve; valores $p < 0,04$ y $0,05$ respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Resumen de la edad de las personas con Alzheimer de acuerdo al estadio de la demencia.

	N	\pm DE	Min	Max
Leve	8	$48,8 \pm 4,6$	42	53
Moderado	7	$48,1 \pm 4,1$	42	52
Severo	22	$56,1 \pm 5,8$	49	69
Total	37	$53,0 \pm 6,4$	42	69

La mayoría de los participantes (94,6%) eran de los estratos socioeconómicos 1, 2 y 3, y los demás pertenecían al estrato 4. La escolaridad media de los participantes era de $8,0 \pm 4,7$ años.

En la evaluación clínica se encontró que los participantes tenían en promedio $15,3 \pm 10,8$ dientes. La muestra fue heterogénea en cuanto a esta variable, pues hubo desde participantes con edentulismo (18,9%) hasta participantes con dentición permanente completa (5,4%). El 24,3% de los sujetos utilizaba algún tipo de prótesis, en su mayoría (10,8%) prótesis parcial removible superior o inferior. En los estadios leve, moderado y severo, los participantes presentaron $23 \pm 9,6$, $18 \pm 10,6$ y $12 \pm 9,7$ dientes, respectivamente, con un coeficiente de correlación de Pearson de 0,45.

Full saliva test

1. Stimulated saliva secretion rate (SSSR)

The average stimulated saliva secretion rate was 0.59 ± 0.41 mL/min. 45.9% of the sample had decreased SSSR.⁹ With an average of 54.4 ± 7.7 years and consumption of 1.9 ± 1.2 medicines, these were in moderate to severe disease stage, while those with adequate secretion rate were 51.9 ± 6.9 years in average, took 2.3 ± 1.3 medicines, and were in mild to moderate disease stage. Table 3 shows the saliva secretion values according to disease stage, with statistically significant differences in salivary secretion rate between the mild and moderate stages and the mild and severe stages, with *p* values of 0.003 and 0.000 respectively.

2. Salivary buffering capacity (SBC)

An initial average pH of 7.0 ± 0.7 was found. SBC was decreased in 83.9% of participants, with an average pH of 3.5 ± 0.9 after subjected to hydrochloric acid, indicating a value below the critical salivary pH of 5.

Examen salivar completo

1. Tasa de secreción salivar estimulada (TSSE)

Se encontró que el promedio de la tasa de secreción salivar estimulada fue de $0,59 \pm 0,41$ mL/min. El 45,9% de la muestra tenía una TSSE disminuida.⁹ Con un promedio de $54,4 \pm 7,7$ años, y con un consumo de $1,9 \pm 1,2$ medicamentos, estos se encontraban en un estadio de la enfermedad de moderado a severo, mientras que aquellos con una tasa de secreción adecuada tenían una edad promedio de $51,9 \pm 6,9$ años, consumían $2,3 \pm 1,3$ medicamentos y presentaban un estadio de la enfermedad de leve a moderado. En la tabla 3 se muestran los valores de secreción salivar según el estadio de la enfermedad, con diferencias estadísticamente significativas en la tasa de secreción salivar entre el estadio leve y el moderado y el estadio leve y el severo, con valores de *p* de 0,003 y 0,000, respectivamente.

2. Capacidad buffer salivar (CBS)

Se encontró un pH inicial promedio de $7,0 \pm 0,7$. La CBS se observó disminuida en el 83,9% de los participantes, encontrándose un promedio de pH de $3,5 \pm 0,9$ luego de someterlo a ácido clorhídrico, lo que indica un valor por debajo del pH crítico salivar de 5.

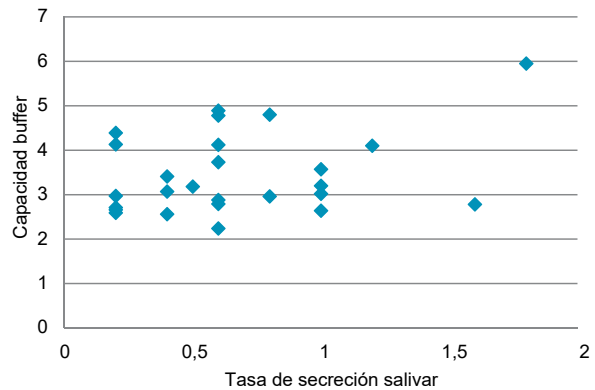
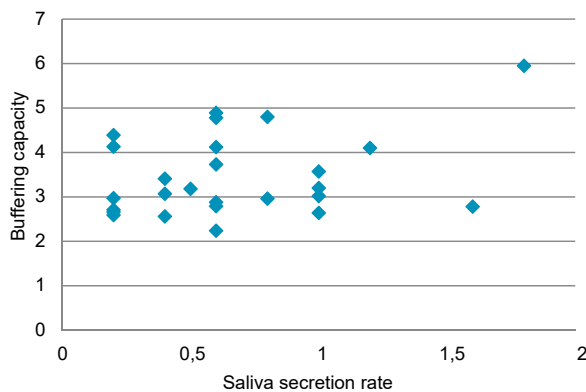


Figure 1. Correlation between buffering capacity and salivary secretion rate in Alzheimer's disease patients.

Figura 1. Correlación entre la capacidad buffer y la tasa de secreción salivar en personas con Alzheimer

Figure 1 presents a dot scatter plot showing the low correlation of the variables: salivary buffering capacity and salivary secretion rate with a Pearson correlation coefficient of 0.277, suggesting that secretion rate is independent of buffering capacity.

3. Microbial count

The evaluation of microbial counts in saliva showed that the average CFU's of *S. mutans* was 3.39×10^6 CFU/mL, with values ranging from 0 to 2.4×10^7 CFU/mL. The *Lactobacillus Spp* count yielded an average of 2.58×10^4 CFU/mL, with values ranging from 0 to 1.5×10^5 CFU/mL. On the other hand, the *C. albicans* culture showed a high average count ($> 10^2$ CFU/mL) in 73% of participants.

Table 3. Variables of the salivary analysis according to disease stage.

		n	X ± SD
Saliva secretion rate mL/min	Mild	8	1.14 ± 0.38
	Moderate	7	0.59 ± 0.21
	Severe	22	0.40 ± 0.28
	Total	37	0.59 ± 0.41
Buffering capacity	Mild	8	3.93 ± 1.21
	Moderate	7	3.47 ± 0.53
	Severe	16	3.20 ± 0.77
	Total	31	3.45 ± 0.89
<i>S. Mutans</i> count (CFU/mL)	Mild	8	$3.19 \times 10^6 \pm 5.89 \times 10^6$
	Moderate	7	$5.94 \times 10^6 \pm 9.23 \times 10^6$
	Severe	22	$2.65 \times 10^6 \pm 4.68 \times 10^6$
	Total	37	$3.39 \times 10^6 \pm 5.94 \times 10^6$
<i>Lactobacillus</i> count (CFU/mL)	Mild	8	$4.43 \times 10^4 \pm 3.96 \times 10^4$
	Moderate	7	$2.51 \times 10^4 \pm 5.52 \times 10^4$
	Severe	22	$1.93 \times 10^4 \pm 2.35 \times 10^4$
	Total	37	$2.58 \times 10^4 \pm 3.52 \times 10^4$

En la Figura 1 se presenta un gráfico de dispersión de puntos que muestra la poca correlación de las variables: capacidad buffer salivar y tasa de secreción salivar con un coeficiente de correlación de Pearson de 0,277, que sugiere que la tasa de secreción es independiente de la capacidad buffer.

3. Recuento microbiano

Durante la evaluación de los recuentos microbianos en saliva, se encontró que el promedio de UFC de *S. mutans* fue de $3,39 \times 10^6$ UFC/mL, con valores entre 0 y $2,4 \times 10^7$ UFC/mL. Al realizar el recuento de *Lactobacillus spp*, el promedio fue de $2,58 \times 10^4$ UFC/mL, con valores entre 0 y $1,5 \times 10^5$ UFC/mL. Por otra parte, para el cultivo de *C. albicans* se encontró un recuento promedio alto ($> 10^2$ UFC/mL) en el 73% de los participantes.

Tabla 3. Variables del análisis salivar según el estadió de la enfermedad.

		n	X ± D.E.
Tasa de secreción salivar mL/min	Leve	8	1,14 ± 0,38
	Moderado	7	0,59 ± 0,21
	Severo	22	0,40 ± 0,28
	Total	37	0,59 ± 0,41
Capacidad buffer	Leve	8	3,93 ± 1,21
	Moderado	7	3,47 ± 0,53
	Severo	16	3,20 ± 0,77
	Total	31	3,45 ± 0,89
Recuento de <i>S. Mutans</i> (UFC/mL)	Leve	8	$3,19 \times 10^6 \pm 5,89 \times 10^6$
	Moderado	7	$5,94 \times 10^6 \pm 9,23 \times 10^6$
	Severo	22	$2,65 \times 10^6 \pm 4,68 \times 10^6$
	Total	37	$3,39 \times 10^6 \pm 5,94 \times 10^6$
Recuento de <i>Lactobacillus</i> (UFC/mL)	Leve	8	$4,43 \times 10^4 \pm 3,96 \times 10^4$
	Moderado	7	$2,51 \times 10^4 \pm 5,52 \times 10^4$
	Severo	22	$1,93 \times 10^4 \pm 2,35 \times 10^4$
	Total	37	$2,58 \times 10^4 \pm 3,52 \times 10^4$

Types of medications and association with salivary variables

Table 4 shows the types of medication used by the participants and percentages of use. Most medications were anticonvulsants and antipsychotics, which are largely associated with decreased salivary secretion.

Tipos de medicamentos y asociación con variables salivares

En la tabla 4 se muestran los tipos de medicamentos utilizados por los participantes en este estudio y su porcentaje de uso. La mayor cantidad de medicamentos consumidos fueron los anticonvulsivantes y antipsicóticos, asociados ampliamente con la disminución de la secreción salivar.

Table 4. Summary of medications used by AD patients and percentages of use

Cholinesterase inhibitors		Anticonvulsants		Antipsychotics		Antidepressants		NMDA receptor antagonists	
	%		%		%		%		%
Rivastigmine	16.2	Valproic acid	48.6	Quetiapine	43.2	Trazodone	21.6	Memantine	13.5
Donepezil	10.8	Clonazepam	5.4	Olanzapine	16.2	Fluoxetine	8.1		
		Gabapentin	2.7	Clozapine	2.7	Sertraline	8.1		
		Carbamazepine	2.7	Haloperidol	2.7	Escitalopram	2.7		
		Levetiracetam	2.7	Levomepromazine	2.7				
		Phenytoin	2.7						
		Phenobarbital	2.7						

Tabla 4. Resumen de los medicamentos usados por las personas con Alzheimer y el porcentaje de uso

Inhibidores de colinesterasa		Anticonvulsivantes		Antipsicóticos		Antidepresivos		Antagonistas de los receptores NMDA	
	%		%		%		%		%
Rivastigmina	16,2	Ácido valproico	48,6	Quetiapina	43,2	Trazodona	21,6	Memantina	13,5
Donepezilo	10,8	Clonazepam	5,4	Olanzapina	16,2	Fluoxetina	8,1		
		Gabapentina	2,7	Clozapina	2,7	Sertralina	8,1		
		Carbamazepina	2,7	Haloperidol	2,7	Escitalopram	2,7		
		Levetiracetam	2,7	Levomepromazina	2,7				
		Fenitoina	2,7						
		Fenobarbital	2,7						

The salivary variables evaluated in this study showed a statistically significant difference ($p < 0.005$) between the use of antidepressants and salivary secretion rate, with no influence on the other salivary variables under analysis. On the other hand, a statistically significant difference was found between the use of anticonvulsants, salivary secretion rate ($P < 0.003$), and saliva buffering capacity ($p < 0.009$) (Table 5).

Las variables salivares evaluadas en este estudio mostraron una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,005$) entre el uso de antidepresivos y la tasa de secreción salivar, sin influir en las otras variables salivares analizadas. Por otra parte, también se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre el uso de anticonvulsivantes, la tasa de secreción salivar ($p < 0,003$) y la capacidad buffer de la saliva ($p < 0,009$) (tabla 5).

Table 5 shows the behavior of the salivary variables with the different groups of medicines taken by participants.

En la tabla 5 se observa el comportamiento de las variables salivares con los diferentes grupos de medicamentos consumidos por los participantes.

Table 5. Medications and association with salivary variables

Medications	Use	n	Salivary secretion rate		Buffering capacity		S. Mutans count		Lactobacillus count	
			\bar{X} SD	p	$\bar{X} \pm$ SD	p	$\bar{X} \pm$ SD	p	$\bar{X} \pm$ SD	p
Cholinesterase inhibitors	No	27	0.53 \pm 0.40	.005	3.40 \pm 0.88	.79	3.06*10 ⁶ \pm 5.87*10 ⁶	1.11	2.11*10 ⁴ \pm 2.87*10 ⁴	3.01
	Yes	10	0.75 \pm 0.43		3.57 \pm 0.96		4.26*10 ⁶ \pm 6.39*10 ⁶		3.84*10 ⁴ \pm 4.82*10 ⁴	
Anticonvulsants	No	16	0.69 \pm 0.40	.003	3.62 \pm 0.88	.009	3.69*10 ⁶ \pm 6.89*10 ⁶	.193	3.23*10 ⁴ \pm 3.51*10 ⁴	.905
	Yes	21	0.51 \pm 0.41		3.31 \pm 0.90		3.16*10 ⁶ \pm 5.28*10 ⁶		2.09*10 ⁴ \pm 3.53*10 ⁴	
Antipsychotics	No	16	0.59 \pm 0.37	.028	3.56 \pm 0.84	.071	2.67*10 ⁶ \pm 4.58*10 ⁶	1.26	2.57*10 ⁴ \pm 3.42*10 ⁴	.125
	Yes	21	0.60 \pm 0.45		3.36 \pm 0.95		3.93*10 ⁶ \pm 6.87*10 ⁶		2.59*10 ⁴ \pm 3.67*10 ⁴	
Antidepressants	No	23	0.51 \pm 0.32	.099	3.47 \pm 0.80	.510	3.74*10 ⁶ \pm 6.61*10 ⁶	.340	3.09*10 ⁴ \pm 3.94*10 ⁴	.132
	Yes	14	0.73 \pm 0.52		3.42 \pm 1.06		2.81*10 ⁶ \pm 4.82*10 ⁶		1.74*10 ⁴ \pm 2.61*10 ⁴	
NMDA receptor antagonists	No	32	0.61 \pm 0.43	.297	3.44 \pm 0.89	.220	3.45*10 ⁶ \pm 6.26*10 ⁶	.505	2.65*10 ⁴ \pm 3.62*10 ⁴	.174
	Yes	5	0.48 \pm 0.31		3.49 \pm 1.12		2.96*10 ⁶ \pm 3.70*10 ⁶		2.12*10 ⁴ \pm 3.04*10 ⁴	

Tabla 5. Medicamentos y asociación con variables salivares

Medicamentos	Uso	n	Tasa de secreción salivar		Capacidad buffer		Recuento de S. Mutans		Recuento de Lactobacillus	
			\bar{X} DE	p	$\bar{X} \pm$ DE	p	$\bar{X} \pm$ DE	p	$\bar{X} \pm$ DE	p
Inhibidores de Colinesterasa	No	27	0,53 \pm 0,40	,005	3,40 \pm 0,88	,79	3,06*10 ⁶ \pm 5,87*10 ⁶	1,11	2,11*10 ⁴ \pm 2,87*10 ⁴	3,01
	Sí	10	0,75 \pm 0,43		3,57 \pm 0,96		4,26*10 ⁶ \pm 6,39*10 ⁶		3,84*10 ⁴ \pm 4,82*10 ⁴	
Anticonvulsivantes	No	16	0,69 \pm 0,40	,003	3,62 \pm 0,88	,009	3,69*10 ⁶ \pm 6,89*10 ⁶	,193	3,23*10 ⁴ \pm 3,51*10 ⁴	,905
	Sí	21	0,51 \pm 0,41		3,31 \pm 0,90		3,16*10 ⁶ \pm 5,28*10 ⁶		2,09*10 ⁴ \pm 3,53*10 ⁴	
Antipsicóticos	No	16	0,59 \pm 0,37	,028	3,56 \pm 0,84	,071	2,67*10 ⁶ \pm 4,58*10 ⁶	1,26	2,57*10 ⁴ \pm 3,42*10 ⁴	,125
	Sí	21	0,60 \pm 0,45		3,36 \pm 0,95		3,93*10 ⁶ \pm 6,87*10 ⁶		2,59*10 ⁴ \pm 3,67*10 ⁴	
Antidepresivos	No	23	0,51 \pm 0,32	,099	3,47 \pm 0,80	,510	3,74*10 ⁶ \pm 6,61*10 ⁶	,340	3,09*10 ⁴ \pm 3,94*10 ⁴	,132
	Sí	14	0,73 \pm 0,52		3,42 \pm 1,06		2,81*10 ⁶ \pm 4,82*10 ⁶		1,74*10 ⁴ \pm 2,61*10 ⁴	
Antagonistas de los receptores NMDA	No	32	0,61 \pm 0,43	,297	3,44 \pm 0,89	,220	3,45*10 ⁶ \pm 6,26*10 ⁶	,505	2,65*10 ⁴ \pm 3,62*10 ⁴	,174
	Sí	5	0,48 \pm 0,31		3,49 \pm 1,12		2,96*10 ⁶ \pm 3,70*10 ⁶		2,12*10 ⁴ \pm 3,04*10 ⁴	

DISCUSSION

This study assessed 37 participants with the E280A mutation for early familial Alzheimer's disease. This and other genetic forms constitute about 1% of the disease worldwide.¹⁰ The sample

DISCUSIÓN

Se evaluaron 37 participantes portadores de la mutación E280A para enfermedad de Alzheimer familiar precoz. Esta y otras formas genéticas constituyen cerca del 1% de la enfermedad en el mundo.¹⁰ Por tanto,

studied is therefore representative, considering the low prevalence of this form of the disorder. Epidemiological AD studies report greater prevalence levels of this disease in women than in men.² The results of the present study show a similar behavior among the individuals studied, since 59.5% of the sample were women aged 2.6 years older than men in average.

The study's demographic analysis showed low socioeconomic and schooling levels.¹¹

The literature has suggested that there is an increased risk of Alzheimer's disease in the presence of lower schooling and socioeconomic levels.¹² However, the sociodemographic variables play a secondary role in the genetic form of the disease.^{13, 14}

Other studies analyzing oral health problems in people with AD fail to specify the type of Alzheimer's disease under study, and participants in those studies are usually over 60 years of age,^{15, 16} a time when the oral-dental health conditions may be more altered due to greater organic deterioration. This study is then valid as it indicates the type of Alzheimer's disease and assesses a sample of younger subjects.

The clinical examination evaluated the participants' number of natural teeth, finding out a prevalence of edentulism of 18.9%, which is a low value compared with other studies, ranging from 50 to 70%.^{17, 18} The present study suggests that there is a positive correlation between number of teeth and disease stage, with a lower proportion of teeth in subjects with moderate to severe familial AD. In a group of 60 patients (30 with AD and 30 in the control group) evaluated at Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (Brazil), Ribeiro et al (2012) found higher DMFT values among people in moderate and severe disease stages ($p = 0,0191$).¹⁵

la muestra estudiada es representativa, en contraste con la baja prevalencia del mal. Estudios epidemiológicos en EA han informado que existe una mayor prevalencia de esta entidad en mujeres que en hombres.² En los resultados de este estudio, se aprecia un comportamiento semejante en los individuos estudiados, pues se halló que el 59,5% de la muestra eran mujeres, quienes tenían en promedio 2,6 años más que los hombres.

En el análisis sociodemográfico del estudio se evidenció un bajo nivel socioeconómico y un bajo grado de escolaridad.¹¹

La literatura ha sugerido que hay un mayor riesgo de enfermar de Alzheimer cuando existe un menor nivel de escolaridad y un bajo nivel socioeconómico.¹² No obstante, las variables sociodemográficas cumplen un rol secundario en las formas de presentación genética de la enfermedad.^{13, 14}

Otros estudios que han analizado los problemas de salud bucal en personas con EA no especifican el tipo de enfermedad de Alzheimer estudiada, y en dichos estudios las edades promedio exceden los 60 años,^{15, 16} cuando las condiciones o el estado de salud buco-dental pueden presentar alteraciones mayores, inherentes a un mayor deterioro orgánico. Este estudio cobra validez, dado que da claridad sobre el tipo de enfermedad de Alzheimer y estudia sujetos con edades inferiores.

Durante la exploración clínica, se evaluó el número de dientes naturales presentes en los participantes y se encontró una prevalencia de edentulismo del 18,9%, el cual es un valor bajo si se compara con los resultados de otros estudios, que oscilan entre el 50 y el 70%.^{17, 18} Esta investigación sugiere que existe una correlación positiva entre el número de dientes y el estadio de la enfermedad, observándose una menor proporción de dientes en los sujetos con EA familiar de moderada a severa. En un grupo de 60 pacientes evaluados en la Universidad Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (Brasil), 30 con EA y 30 en el grupo control, Ribeiro et al (2012) encontraron valores de COP-D mayores en personas con estadio moderado y severo de la enfermedad ($p = 0,0191$).¹⁵

However, in a study conducted in the same country, Machado et al found no statistical significance between disease severity and number of natural teeth ($p = 0.346$).¹⁶

The saliva test showed that the average stimulated saliva secretion rate was 0.59 ± 0.41 mL/min. These findings are slightly lower than those by Leal et al in a study conducted in 40 volunteers (20 of them with senile dementia), in which the stimulated saliva secretion rate was 0.69 ± 0.39 .⁶ It has been reported that values from 0.5 to 0.7 mL/min of stimulated saliva flow are indicators of sialopenia or hyposalivation.^{9, 19} The results of the present study show that 45.9% of the sample has decreased salivary secretion rate. This decrease has been explained in some studies,²⁰⁻²² in which medicine intake in people with AD has been associated with reduced saliva flow. However, the present study showed that patients with reduced salivary secretion (in moderate to severe stages) were older and took less medicines than those with adequate salivary secretion (in a mild to moderate stage). Thus, in comparing participants with unaltered saliva rate with participants with reduced salivary flow, it may be suggested that other variables besides the pharmacological factors analyzed in this study, such as age and disease severity, can influence the behavior of the physiology of saliva.

Furthermore, Lopez-Jornet and Bermejo-Fenoll explain the influence of age on salivary flow, indicating that the parenchyma of the salivary glands undergoes degenerative changes with age, which may explain the low salivary flow in older people.²³ This assertion reinforces the findings of the present study, in which older participants showed reduced saliva flow. On the other hand, a study by the University of Oxford shows that non-medicated AD patients present hyposalivation, limited to the submandibular gland, of unconfirmed cause.²⁴ Therefore, the causes of such hyposalivation in AD patients might need new scientific corroboration.

Sin embargo, Machado et al, en un estudio realizado en el mismo país, no encontraron una significancia estadística entre la severidad de la enfermedad y el número de dientes naturales ($p = 0,346$).¹⁶

En el examen de la saliva, se encontró que el promedio de la tasa de secreción salivar estimulada fue de $0,59 \pm 0,41$ mL/min. Estos hallazgos son ligeramente inferiores a los encontrados por Leal et al en un estudio realizado en 40 voluntarios, 20 de ellos con demencia senil, en los que la tasa de secreción salivar estimulada fue de $0,69 \pm 0,39$.⁶ Se ha reportado que valores de 0,5 a 0,7 mL/min para el flujo salivar estimulado son indicadores de sialopenia o hiposalivación.^{9, 19} Los resultados de este estudio muestran que el 45,9% de la muestra tiene una tasa de secreción salivar disminuida. Dicha disminución ha sido explicada en algunos estudios,²⁰⁻²² en los que se ha relacionado el consumo de medicamentos en personas con EA con el flujo salivar reducido. Sin embargo, en este estudio se observó que las personas con secreción salivar reducida (en estadios moderado a severo) presentaron una mayor edad, junto a un menor consumo de medicamentos, que aquellos con secreción salivar adecuada (en estadio leve a moderado). De este modo, al comparar a los participantes con tasa salivar no alterada con los participantes con flujo salivar reducido, se puede sugerir que otras variables adicionales a los factores farmacológicos analizados en este estudio, como la edad y la severidad de la enfermedad, pueden influir en el comportamiento de la fisiología salivar.

Adicionalmente, Lopez-Jornet y Bermejo-Fenoll explican la influencia de la edad en el flujo salivar, indicando que el parénquima de las glándulas salivares sufre cambios degenerativos con la edad, lo que puede explicar un menor flujo salivar en personas mayores;²³ esta premisa refuerza los hallazgos de este estudio, que muestran una reducción del flujo salivar en los participantes de mayor edad. Por otra parte, un estudio de la Universidad de Oxford ha demostrado que personas con EA no medicadas presentan una hiposalivación, limitada a la glándula submandibular, de causa no demostrada.²⁴ Por tanto, las causas de dicha hiposalivación en las personas con EA son susceptibles de nuevas confrontaciones científicas.

In healthy conditions, it has been reported that the pH of saliva in rest remains at a narrow range, between 6.7 and 7.4.²⁵ In evaluating the initial pH of participants, values of 7.021 ± 0.743 were found, suggesting an adequate salivary pH. The buffering capacity of saliva was reduced in most participants, as an average pH of 3.449 ± 0.89 was found after submitting it to hydrochloric acid, a value that expresses a reduced SBC, unable to stabilize the critical pH of the mouth, which is 5.5.²⁶ There is a positive association between salivary flow reduction and decreased buffering capacity.²⁷ However, participants with no saliva flow alteration show a significant decrease in saliva buffering capacity, as shown in Figure 1—suggesting that the familial AD patients evaluated in this study have a decreased SBC, regardless of the saliva secretion rate.

Within the oral microbiota, *S. mutans* plays an important role in the onset of dental caries, being the most frequently isolated microorganism in human carious lesions.^{28, 29} Counts exceeding 10^5 CFU/mL of *S. mutans* indicate increased risk of tooth decay.³⁰ *Lactobacillus Spp* is another bacterium involved in the cariogenic process; normally, a low count of this microorganism is found in saliva but it increases when *S. mutans* is established in the oral cavity.³¹ Hidalgo et al have reported that the high level of lactobacilli infection ($> 10^6$ CFU/mL) is associated with high caries activity.³²

The present study shows that the average CFU of *S. mutans* was 3.3878×10^6 CFU/mL, with values ranging from 0 to 2.4×10^7 CFU/mL, indicating a high count of this microorganism in FAD patients. Edentulous participants (18.9%) showed low or negative growth of this bacterial species, which usually colonizes solid surfaces of the oral environment.³³ On the other hand, the average *Lactobacillus Spp* count was 2.5784×10^4 CFU/mL,

En condiciones de salud, se ha reportado que el pH de la saliva en reposo se mantiene en un estrecho rango, entre 6,7 y 7,4.²⁵ Al evaluar el pH inicial de los participantes se encontraron rangos de $7,021 \pm 0,743$, resultados que sugieren un pH salivar adecuado. La capacidad buffer de la saliva se observó disminuida en la mayoría de los participantes, pues se encontró un promedio de pH, luego de someterlo a ácido clorhídrico, de $3,449 \pm 0,89$, valor que expresa una CBS reducida, con incapacidad de estabilizar el pH crítico de la boca, que es de 5,5.²⁶ Existe una asociación positiva entre la reducción del flujo salivar y una disminución de la capacidad buffer.²⁷ Sin embargo, los participantes que no tienen alteración en el flujo salivar exhiben una disminución significativa de la capacidad buffer de la saliva, como puede observarse en la figura 1 —resultados que sugieren que las personas con EA familiar evaluadas en este estudio tienen una CBS disminuida, independientemente de la tasa de secreción salivar—.

Dentro de la microbiota oral, *S. mutans* cumple un importante rol en el inicio de la enfermedad de caries, siendo el microorganismo aislado con mayor frecuencia en lesiones cariosas en humanos.^{28, 29} Los recuentos superiores a 10^5 UFC/mL de *S. mutans* indican mayor riesgo de caries dental.³⁰ *Lactobacillus spp* es otra de las bacterias implicadas en el proceso cariogénico; normalmente, se encuentra bajo recuento de este microorganismo en saliva, pero aumenta al establecerse *S. mutans* en la cavidad oral.³¹ Hidalgo et al han reportado que el alto grado de infección por lactobacilos ($> 10^6$ UFC/mL) se relaciona con elevada actividad de caries.³²

El presente estudio muestra que el promedio de UFC de *S. mutans* fue de $3,3878 \times 10^6$ UFC/mL, con valores entre 0 y $2,4 \times 10^7$ UFC/mL, lo cual indica un recuento alto de este microorganismo en personas con EAF. Los participantes con edentulismo (18,9%) presentaron crecimiento bajo o negativo de esta especie bacteriana, que coloniza principalmente superficies sólidas del medio bucal.³³ Por otra parte, el recuento promedio de *Lactobacillus spp* fue de $2,5784 \times 10^4$ UFC/mL, con valores

with values ranging from 0 to $1.5 \cdot 10^5$ CFU/mL, in agreement with reference values.

The presence of dental bacterial plaque has been associated with high counts of *S. mutans* and *Lactobacillus*.³⁴ The decreased cognitive and motor capacity in AD patients hinders oral care practices and limits the effective removal of dental plaque deposits, a condition that undeniably predisposes to the development of dental caries in these people. However, the single colonization of these microorganisms, associated with cariogenic processes, is not a predictor of active lesions on its own, and therefore an individualized analysis should be carried out to confirm the presence of active lesions clinically.

Another species found in the microbiological analysis was *C. albicans*, a frequent colonizer of the oral cavity; values higher than 10^2 CFU/mL indicate a high count in the oral cavity.³⁵ This study found a high count of this species in 73% of participants; the use of fixed and removable prostheses was associated with high levels of growth of the fungus. This finding is comparable to that by Mújgan Güngör et al in a study conducted in Turkey by clinical inspection, detecting a high incidence of denture-associated stomatitis.³⁶ However, the present study shows that 56.7% of participants with no prosthesis present an increased count of *C. albicans*. Therefore, the use of these devices cannot be associated exclusively with the presence of *C. albicans* infections in FAD patients.

On the other hand, authors like Taybos report that low salivary flow velocity can explain the increased number of *S. mutans* and *Lactobacillus*, favoring the development of tooth decay. This can be explained because saliva is involved in dental integrity through its actions of mechanical cleaning, carbohydrate clearance, ionic medium regulation, and supply of remineralization capacity, being essential for the acid-base balance of dental plaque.³⁷ However, according

entre 0 y $1,5 \cdot 10^5$ UFC/mL, lo que coincide con valores de referencia.

La presencia de placa dento-bacteriana se ha asociado con altos recuentos de *S. mutans* y *Lactobacillus*.³⁴ La capacidad cognitiva y motriz disminuida en los pacientes con EA dificulta las prácticas de cuidado bucal y limita la remoción efectiva de los depósitos de placa dental, condición que indiscutiblemente predispone al desarrollo de caries dental en estas personas. Sin embargo, la sola colonización de estos microorganismos, asociados a procesos cariogénicos, no es un factor predictor de lesiones activas por sí solo, por lo que se debe realizar un análisis individualizado, para confirmar la presencia de lesiones activas clínicamente.

Otra especie encontrada en el análisis microbiológico fue *C. albicans*, colonizador frecuente de la cavidad bucal; valores superiores a 10^2 UFC/mL demuestran un alto recuento en cavidad oral.³⁵ Este estudio encontró un recuento alto de esta especie en el 73% de los participantes; el uso de prótesis fija y removible se asoció con un alto crecimiento del hongo. Este resultado es equiparable al encontrado por Mújgan Güngör et al en un estudio realizado en Turquía mediante inspección clínica, en el que se detectó una alta incidencia de estomatitis asociada a prótesis.³⁶ Sin embargo, este estudio demuestra que el 56,7% de los participantes no portadores de prótesis presentan un recuento aumentado de *C. albicans*. Por lo tanto, el uso de estos aparatos no puede asociarse de manera exclusiva con la presencia de infecciones por *C. albicans* en pacientes con EAF.

Por otra parte, autores como Taybos han reportado que una baja velocidad en el flujo salivar podría explicar un aumento en el número de *S. mutans* y *Lactobacillus*, favoreciendo la aparición de caries dental. Esto se puede explicar porque la saliva está comprometida con la integridad dentaria por medio de su acción de limpieza mecánica, despeje de carbohidratos, regulación del medio iónico y suministro de capacidad de remineralización, siendo esencial en el balance ácido-base de la placa dental.³⁷ Sin embargo, según

to Dowd, there is little evidence that variations in salivary flow can influence the development of new caries lesions.³⁸

When considering the type of medications and its association with salivary variables, it should be remembered that the first line of pharmacological management in AD patients is the use of cholinesterase inhibitors (CI's), because during the pathophysiology of this disease there is a reduction of brain levels of acetylcholine and loss of cholinergic neurons. These medications have shown to be effective in preserving cognitive functions in patients with mild to moderate AD. CI's have been associated with increased saliva production. However, when cognitive impairment has reached higher levels, the therapy with cholinesterase inhibitors does not offer additional benefits, so patients in more advanced stages of the disease do not often use CI's. The adjuvant therapy in AD seeks to minimize behavioral symptoms and mood disorders by using psychotropic medications such as antipsychotics, antidepressants, anxiolytics, and anticonvulsants. The most common oral side effect of this type of medication is xerostomia;²⁰ this could explain why people in more advanced stages of the disease show lower salivary deposits (Table 3). On the other hand, this study found a significant relationship between low salivary secretion rate and the use of antidepressants and anticonvulsants—which in some studies and systematic reviews have been associated with salivary reduction.^{6, 20-22}

The main limitation of this study is the lack of a control group, which could add analytical elements in the study variables. On the other hand, the sample size limits the statistical analysis to some extent. Similarly, the limited amount of scientific literature addressing the subject makes it difficult to establish parameters of comparison.

Dowd, existe poca evidencia acerca de que las variaciones del flujo salivar puedan influir en el desarrollo de nuevas lesiones de caries.³⁸

Al considerar el tipo de medicamentos y la asociación con las variables salivares, se debe recordar que la primera línea de manejo farmacológico en personas con EA es el uso de inhibidores de colinesterasa (IC), debido a que en la fisiopatología de esta enfermedad se experimenta una reducción de los niveles cerebrales de acetilcolina y pérdida de neuronas colinérgicas; estos medicamentos han demostrado ser efectivos en la preservación de las funciones cognitivas en pacientes con EA de leve a moderada. Los IC se han asociado con el aumento de la producción salivar. No obstante, cuando el deterioro cognitivo ha alcanzado niveles superiores, la terapia con los inhibidores de colinesterasa no ofrece ventajas adicionales, y es común que los pacientes en estadios más avanzados de la enfermedad no usen IC. La terapia coadyuvante en la EA busca minimizar los síntomas de comportamiento y trastornos en el estado de ánimo mediante el uso de medicamentos psicotrópicos, como antipsicóticos, antidepressivos, ansiolíticos y anticonvulsivantes. El efecto colateral de manifestación bucal más común de este tipo de medicamentos es la xerostomía;²⁰ esto podría explicar por qué las personas en estadios más avanzados de la enfermedad muestran depósitos salivares más bajos (Tabla 3). Por otra parte, este estudio encontró una relación significativa entre la tasa de secreción salivar baja y el uso de antidepressivos y anticonvulsivantes —medicamentos que en algunos estudios y revisiones sistemáticas han sido asociados con la reducción salivar—. ^{6, 20-22}

La principal limitación del presente estudio es la carencia de un grupo control, que pudiese agregar elementos analíticos en las variables de estudio. Por otra parte, el tamaño muestral limita en alguna medida el análisis estadístico. Así mismo, la cantidad limitada de literatura científica que aborda el tema dificulta el establecimiento de parámetros de comparación.

CONCLUSIONS

People with early familial AD who participated in this study showed altered salivary characteristics, such as salivary secretion rate, saliva buffering capacity, and an increase in oral bacterial flora. This reduction or alteration of salivary characteristics has been widely attributed to the consumption of medicines. However, this study suggests that other factors could explain the hyposalivation in FAD patients, like age and disease severity, which cause higher levels of dependency and therefore loss of self-care capabilities.

The literature review evidences the lack of oral health studies in this population, which constitutes the largest family group affected with FAD worldwide, so this article can be considered an innovation.

The present study recommends conducting research in non-diseased and unmedicated populations with the autosomal dominant gene for early familial AD, in order to detect early changes in the variables studied.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors express their gratitude to the contributions of the Grupo de Neurociencias de Antioquia, especially to Dr. Francisco Lopera, as well as the Universidad de Antioquia School of Dentistry and the Laboratory of Microbiology and Oral Histopathology of the same School.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflicts of interest.

CONCLUSIONES

Las personas con EA familiar precoz que participaron en este estudio presentaron características salivares alteradas, como la tasa de secreción salivar, la capacidad amortiguadora de la saliva y un aumento de la flora bacteriana bucal. Dicha reducción o alteración de las características salivares se ha atribuido ampliamente al consumo de medicamentos. Sin embargo, este estudio sugiere que otros factores podrían explicar la hiposalivación de los pacientes con EAF, como la edad y la severidad de la enfermedad, las cuales desencadenan unos estados mayores de dependencia y, por tanto, pérdida de las capacidades de autocuidado.

Según la revisión de la literatura, se evidencia que no hay estudios sobre salud bucal en esta población, que constituye el mayor grupo familiar afectado con EAF en el mundo, por lo que este artículo se establece como innovador.

El presente estudio sugiere que se realicen investigaciones en población no enferma y no medicada que sea portadora del gen autosómico dominante para EA familiar precoz, con el fin de detectar cambios tempranos en las variables estudiadas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen las contribuciones del Grupo de Neurociencias de Antioquia, en especial las del doctor Francisco Lopera, así como a la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquia y al Laboratorio de Microbiología e Histopatología Oral de la misma dependencia.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

CORRESPONDING AUTHOR

Santiago Palacio Gutiérrez
 Universidad de Antioquia
 (+57) 305 226 8586
 alzheimer.saludbucal@gmail.com
 Carrera 72 A # 73-45
 Medellín, Colombia

CORRESPONDENCIA

Santiago Palacio Gutiérrez
 Universidad de Antioquia
 (+57) 305 226 8586
 alzheimer.saludbucal@gmail.com
 Carrera 72 A # 73-45
 Medellín, Colombia

REFERENCES / REFERENCIAS

1. NCBI. Medical Subject Heading MeSH. Alzheimer disease [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68000544>
2. Alberca-Serrano R, López-Pousa S. Enfermedad de Alzheimer y otras demencias. 3 ed. Madrid: Médica Panamericana; 2006.
3. Lopera F, Ardilla A, Martínez A, Madrigal L, Arango-Viana JC, Lemere CA et al. Clinical features of early-onset Alzheimer disease in a large kindred with an E280A presenilin-1 mutation. *JAMA*. 1997; 277(10): 793–799.
4. Llibre-Rodríguez J de J, Guerra Hernández M. Actualización sobre la enfermedad de Alzheimer. *Rev Cubana Med Gen Integ*. 1999; 2002; 18(4): 264–269.
5. Lopera F, Arcos M, Madrigal L, Kosik K, Cornejo W, Ossa J. Demencia tipo Alzheimer con agregación familiar en Antioquia, Colombia. *Acta Neurol Colomb*. 1994; 10(4): 173–187.
6. Leal SC, Bittar J, Portugal A, Falcão DP, Faber J, Zanotta P. Medication in elderly people: its influence on salivary pattern, signs and symptoms of dry mouth. *Gerodontology*. 2010; 27(2) 129–133. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1741-2358.2009.00293.x>
7. Reisberg B, Ferris SH, De-Leon MJ, Crook T. The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. *Am J Psychiatry*. 1982; 139(9): 1136–1139. DOI: <https://doi.org/10.1176/ajp.139.9.1136>
8. Ericson D, Bratthall D. Simplified method to estimate salivary buffer capacity. *Eur J Oral Sci*. 1989; 97(5): 405–407. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1989.tb01453>.
9. López-Jornet P. Alteraciones de las glándulas salivales. Murcia: Universidad de Murcia; 2002.
10. Toledo-Atucha J. Epidemiología descriptiva y analítica de la enfermedad de Alzheimer. *Alzheimer Real Invest Demenc*. 2011; 47(7): 16–23.
11. Colombia. Ministerio de Educación. Niveles de la educación básica y media [Internet]. Bogotá: MinEducación; [update 2010 may 31]. [about 2 screen]. Available from: <http://www.mineducacion.gov.co/1759/w3-article-233834.html>
12. Karp A, Kåreholt I, Qiu C, Bellander T, Winblad B, Fratiglioni L. Relation of education and occupation-based socioeconomic status to incident Alzheimer's disease. *Am J Epidemiol*. 2004; 159(2): 175–183.
13. Lucatelli JF, Barros AC, Maluf SW, Andrade FM. Influencia genética sobre a doença de Alzheimer de início precoce. *Rev Psiquiatr Clín*. 2009; 36(1): 25–31. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-60832009000100004>
14. Lopera-Restrepo F. La peste de la memoria en Antioquia. Medellín: Universidad de Antioquia; 2002.
15. Ribeiro GR, Costa JL, Ambrosano GM, Garcia RC. Oral health of the elderly with Alzheimer's disease. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012; 114(3): 338–343. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2012.03.028>
16. Machado MC, Lopes GH, Marchini L. Oral health of Alzheimer's patients in São José dos Campos, Brazil. *Geriatr Gerontol Int*. 2012; 12(2): 265–270. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1447-0594.2011.00763.x>
17. Lund JP, Mojon P, Pho M, Feine JS. Alzheimer's disease and edentulism. *Age Ageing*. 2003; 32(2): 228–229.

18. Syrjälä AM, Ylöstalo P, Ruoppi P, Komulainen K, Hartikainen S, Sulkava R et al. Dementia and oral health among subjects aged 75 years or older. *Gerodontology*. 2012; 29(1): 36–42. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1741-2358.2010.00396.x>
19. Küstner EC, Marques SMS. Boca ardiente y saliva. *Med Oral B*. 2002; 7: 244–253.
20. Turner LN, Balasubramaniam R, Hersh EV, Stoopler ET. Drug therapy in Alzheimer disease: an update for the oral health care provider. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008; 106(4): 467–476. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2008.06.009>
21. Friedlander AH, Norman DC, Mahler ME, Norman KM, Yagiela JA. Alzheimer's disease: psychopathology, medical management and dental implications. *J Am Dent Assoc*. 2006; 137(9): 1240–1251.
22. Liu B, Dion MR, Jurasic MM, Gibson G, Jones JA. Xerostomia and salivary hypofunction in vulnerable elders: prevalence and etiology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012; 114(1): 52–60. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2011.11.014>
23. Lopez-Jornet MP, Bermejo-Fenoll A. Is there an age-dependent decrease in resting secretion of saliva of healthy persons? A study of 1493 subjects. *Braz Dent J*. 1994; 5(2): 93–98.
24. Ship JA, DeCarli C, Friedland RP, Baum BJ. Diminished submandibular salivary flow in dementia of the Alzheimer type. *J Gerontol*. 1990; 45(2): M61-M66.
25. Aframian DJ, Davidowitz T, Benoliel R. The distribution of oral mucosal pH values in healthy saliva secretors. *Oral Dis*. 2006; 12(4): 420–423. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2005.01217.x>
26. Núñez DP, García Bacallao L. Bioquímica de la caries dental. *Rev Haban Cienc Méd*. 2010; 9(2): 156–166.
27. Carolina C. El pH, Flujo salival y capacidad buffer en relación a la formación de la placa dental. *ODOUS Cient*. 2008; 9(1): 25-32
28. Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The microbiology of primary dental caries in humans. *J Dent Educ*. 2001; 65(10): 1028–1037
29. Marsh PD, Martin MV, Lewis M, Williams DW. *Oral microbiology*. 5 ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 2009.
30. Duque-de-Estrada RJ, Pérez-Quiñonez JA, Hidalgo-Gato-Fuentes I. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. *Rev Cubana Estomatol*. 1995, Editorial Ciencias médicas; 2006; 43(1).
31. Newbrun E. Preventing dental caries: breaking the chain of transmission. *J Am Dent Assoc*. 1992; 123(6): 55–59.
32. Pérez-Quiñones JA, Duque-de-Estrada-Riverón J, Hidalgo-Gato-Fuentes I. Asociación del *Streptococcus mutans* y lactobacilos con la caries dental en niños. *Rev Cubana Estomatol*. 2007; 44(4).
33. Carlsson J, Söderholm G, Almfeldt I. Prevalence of *Streptococcus sanguis* and *Streptococcus mutans* in the mouth of persons wearing full-dentures. *Arch Oral Biol*. 1969; 14(3): 243–249.
34. Ojeda-Garcés JC, Oviedo-García E, Salas LA. *Streptococcus mutans* and dental caries. *CES Odontol*. 2013; 26(1): 44–56.
35. Scully C, el-Kabir M, Samaranayake LP. *Candida* and oral candidosis: a review. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1994; 5(2): 125–157.
36. Hatipoglu MG, Kabay SC, Güven G. The clinical evaluation of the oral status in Alzheimer-type dementia patients. *Gerodontology*. 2011; 28(4): 302–306. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1741-2358.2010.00401.x>
37. Taybos GM. Xerostomia. Common patient complaint and challenging dental management problem. *Miss Dent Assoc J*. 1998; 54(3): 24–25.
38. Dowd FJ. Saliva and dental caries. *Dent Clin North Am*. 1999; 43(4): 579–597.