



ESCUELA DE DOCTORADO
INTERNACIONAL DE LA USC

María
Fernández Casado

Tesis doctoral

Susceptibilidad genética a
la enfermedad periodontal
en personas con síndrome
de Down

Santiago de Compostela, 2023

Programa de Doctorado en Ciencias Odontológicas



ESCOLA DE DOUTORAMENTO
INTERNACIONAL DA USC

TESIS DOCTORAL

**SUSCETIBILIDAD GENÉTICA
A LA ENFERMEDAD
PERIODONTAL EN PERSONAS
CON SÍNDROME DE DOWN**

Autor

María Fernández Casado

Directores: Raquel Cruz Guerrero y Jacobo Limeres Posse

Tutor/a: María Jesús José Mora Bermúdez

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2023



DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Dña. **María Fernández Casado** declara no tener ningún conflicto de intereses en relación a la Tesis Doctoral titulada:

Susceptibilidad genética a la enfermedad periodontal en personas con síndrome de Down

En Santiago de Compostela, a 22 de diciembre de 2023

Fdo. María Fernández Casado

A mi madre y mis hermanos.

“Un buscador es alguien que busca, no necesariamente es alguien que encuentra. Tampoco es alguien que sabe lo que está buscando. Es simplemente alguien para quien su vida es una búsqueda”

Jorge Bucay

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría agradecer a mis directores de tesis, Raquel Cruz Guerrero y Jacobo Limeres, por darme esta oportunidad. Gracias Raquel por enseñarme el mundo de la genética y hacerme salir de mi mundo odontológico para aprender algo tan distinto. Gracias Jacobo por acogerme, no solo como doctoranda, sino como alumna del máster y compartir tantas enseñanzas.

A Pedro Diz Dios, por su paciencia y generosidad, gracias de corazón. Esta tesis jamás hubiera sido posible sin tu inestimable ayuda.

A Alicia de Co, creo que un gracias se queda muy corto, has sido una guía incuestionable en un ámbito totalmente desconocido para mí. Gracias por tu eterna paciencia y por el tiempo compartido. Ha sido un placer.

A todos los que forman parte del equipo de la Unidad de Odontología para Personas con Necesidades Especiales de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Santiago de Compostela, en especial a Eliane García, gracias por las risas, los lloros, por haber sido mi gran profe y enseñarme tanto del mundo de la Odontopediatría, y por supuesto, por convertirte en una amiga con todas las letras.

A mis compañeros de máster y amigos, Candela y Jorge, gracias por aguantarme durante mis peores momentos de este maravilloso viaje.

A todos los pacientes y familias que se han presentado voluntarias para formar parte de esta investigación, esto es gracias a vosotros.

A mi equipo de trabajo en Santiago: Elena, Cris, Carmen, Fani, Ángeles, Pablo y Antía. Especial mención para esta última, mi mano derecha en el día a día en clínica y que ha aguantado tardes enteras de desahogo con la capacidad siempre de hacerme reír. Y a mi equipo de Noia, liderado por dos grandes personas a las que tengo la suerte de considerar amigos, Hugo y Asmae. Gracias por creer en mí. Es una suerte trabajar con vosotros.

A mi madre, que siempre ha valido por dos y que ha sido toda mi vida el ejemplo perfecto de que son el esfuerzo y el trabajo los que te permiten conseguir tus recompensas.

A mis hermanos mayores, Rafa y Jaime, espejo en el que me miro día a día. No he podido tener mejor ejemplo de vida. Sois hermanos, confidentes y amigos. Gracias por todo. También a mis hermanas “políticas”: Patri y Sandra, gracias por ser familia.

A mi abuelo Rafa y a mi tío José, motores de que esto saliese adelante.

A mi querida Julia, la alegría que inunda mis días grises. La “tía María” siempre estará ahí para ti.

A mis amigas Iria, Lucía, Laura, Antía, Sara y Bea. Gracias por estar ahí desde que puedo recordar y por apostar que conseguiría lo que me proponía. También a los que forman *la peña de los piños*, porque nos unió la Odontología y ya no nos separa nadie. Y por supuesto, a mis *Cronopios*, gracias por ser esos “fueguitos” que me dan energía.

Y, por último, a mi compañero de vida, Dani, que ha soportado desde el principio mis mejores y peores días, has sido el apoyo incondicional que se necesitaba para sacar esto adelante, gracias siempre.

GRACIAS

Introducción

La enfermedad periodontal es una de las manifestaciones orales más prevalentes en el síndrome de Down (SD). Se ha sugerido que en su etiología multifactorial participan la flora bacteriana, la respuesta del huésped y determinados factores genéticos. El objetivo de este trabajo fue detectar variaciones génicas asociadas a la presencia de enfermedad periodontal en personas con SD, para identificar genes de susceptibilidad y biomarcadores que permitan predecir su riesgo de aparición y severidad.

Material y métodos

Entre los usuarios de los centros de terapia educativa y ocupacional de la Comunidad Autónoma de Galicia (España), a lo largo de los años 2017 y 2018, se recogieron muestras de saliva de 86 pacientes caucásicos con SD. La selección de los participantes se efectuó aplicando los criterios del “2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions”. Los componentes del grupo de estudio, se distribuyeron en pacientes con enfermedad periodontal (N= 50) y pacientes con periodonto sano (N= 36).

Para realizar un “Genome Wide Association Study (GWAS)”, todas las muestras fueron genotipadas con el array “Axiom Spanish Biobank” que contiene 757,836 marcadores. Los datos genéticos se sometieron a un procedimiento de control de calidad para garantizar la fiabilidad de los marcadores y de los individuos

genotipados. A continuación, se llevó a cabo un análisis de asociación a nivel de marcadores individuales mediante regresión logística, así como un análisis a nivel de gen aplicando el “Sequence Kernel Association Test (SKAT)”. Finalmente, los genes que mostraron los mejores resultados ($p < 1.55 \times 10^{-04}$) fueron incluidos en un análisis de vías de señalización a través del software libre “DAVID”.

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de Santiago-Lugo, España (Código de registro: 2018/510).

Resultados

En el análisis individual los 5 marcadores que mostraron una mejor probabilidad fueron: rs4315121, en el gen C12orf74 ($p = 9,85 \times 10^{-05}$; OR= 8,84), rs4814890, en LOC101930064 ($p = 9,61 \times 10^{-05}$; OR= 0,13), rs1549874 en KBTBD12 ($p = 8,27 \times 10^{-05}$; OR= 0,08), rs11060842 en PIWIL1 ($p = 7,82 \times 10^{-05}$; OR= 9,05) y rs62030877 en C16orf82 ($p = 8,92 \times 10^{-05}$; OR= 0,14). En el análisis a nivel de gen destacó nuevamente PIWIL1 junto con MIR9-2, LHCGR, TPR y BCR. A nivel de vías de señalización, resultaron de interés tres rutas metabólicas: la PI3K-Akt, la Long-term depression y la FoxO, todas ellas con significación nominal ($p = 1,3 \times 10^{-02}$, $p = 5,1 \times 10^{-03}$, $p = 1,2 \times 10^{-02}$, respectivamente).

Conclusiones

Este estudio sugiere que la patogénesis de la periodontitis en el SD y en la población general comparten rutas metabólicas, como la PI3K-Akt que regula la proliferación celular y tiene un papel primordial en la respuesta inflamatoria del huésped.

Introdución

A enfermidade periodontal é unha das manifestacións orais máis prevalentes na síndrome de Down (SD). Suxeriuse que a flora bacteriana, a resposta do hóspede e certos factores xenéticos participan na súa etiloxía multifactorial. O obxectivo deste traballo foi detectar variacións xenéticas asociadas á presenza de enfermidade periodontal en persoas con SD, identificar xenes de susceptibilidade e biomarcadores que permitan predecir o seu risco de aparición e gravidade.

Material e métodos

Entre os usuarios dos centros educativos e de terapia ocupacional da Comunidade Autónoma de Galicia (España), ao longo de 2017 e 2018 recolléronse mostras de saliva de 86 pacientes caucásicos con SD. A selección dos participantes realizouse aplicando os criterios do “World Workshop 2017 on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions”. Os compoñentes do grupo de estudo distribuíronse en pacientes con enfermidade periodontal (N= 50) e pacientes con periodonto san (N= 36).

Para realizar un “Genome Wide Association Study (GWAS)”, todas as mostras foron xenotipadas coa matriz “Axiom Spanish Biobank” que contén 757.836 marcadores. Os datos xenéticos foron sometidos a un procedemento de control de calidade para garantir a fiabilidade dos marcadores e dos individuos xenotipados. A continuación, realizouse unha análise de asociación a nivel de

marcadores individuais mediante regresión loxística, así como unha análise a nivel de xenes aplicando o “Sequence Kernel Association Test (SKAT)”. Finalmente, os xenes que mostraron os mellores resultados ($p < 1,55 \times 10^{-04}$) foron incluídos nunha análise das vías de sinalización a través do software libre “DAVID”.

Este estudo foi aprobado polo Comité de Ética da Investigación de Santiago-Lugo, España (Código de rexistro: 2018/510).

Resultados

Na análise individual, os 5 marcadores que mostraron unha mellor probabilidade foron: rs4315121 no xene C12orf74 ($p = 9,85 \times 10^{-05}$; OR= 8,84), rs4814890 en LOC101930064 ($p = 9,61 \times 10^{-05}$), OR= 05,13 = rs1549874 en KBTBD12 ($p = 8,27 \times 10^{-05}$; OR= 0,08), rs11060842 en PIWIL1 ($p = 7,82 \times 10^{-05}$; OR= 9,05) e rs62030877 en C16orf82 ($p = 8,92 \times 10^{-05}$; OR= 0,14). Na análise a nivel xenético, PIWIL1 volveu destacar xunto con MIR9-2, LHCGR, TPR e BCR. A nivel de vías de sinalización, foron de interese tres vías metabólicas: PI3K-Akt, Depresión a longo prazo e FoxO, todas elas con significación nominal ($p = 1,3 \times 10^{-02}$, $p = 5,1 \times 10^{-03}$, $p = 1,2 \times 10^{-02}$, respectivamente).

Conclusións

Este estudo suxire que a patoxénese da periodontite na SD e na poboación xeral comparte vías metabólicas, como PI3K-Akt, que regula a proliferación celular e ten un papel primordial na resposta inflamatoria do hóspede.

ABSTRACT

Background

Periodontal disease is one of the most prevalent oral manifestations in Down syndrome. It has been suggested that its multifactorial etiology includes the participation of bacterial flora, the host's response and certain genetic factors. The aim of this study was to detect the genetic variations associated with the presence of periodontal disease in individuals with DS and to identify susceptibility genes and biomarkers that can help predict its risk of onset and severity.

Material and Methods

We collected saliva samples from 86 caucasian patients with Down syndrome from the attendees of educational and occupational therapy centers in the Galician region (Spain) from 2018 to 2019. The participant selection process was performed by applying the criteria of the “2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions”. The study group was distributed into patients with periodontal disease (n=50) and patients with a healthy periodontium (N=36).

To perform a genome-wide association study (GWAS), all samples were genotyped with the “Axiom Spanish Biobank” array, which contains 757,836 markers. The genetic data were subjected to quality control procedure to ensure the reliability of the markers and the genotyped individuals. Subsequently, we performed an association analysis at the individual marker level using logistic

regression, as well as an analysis at the gene level applying the sequence kernel association test (SKAT). Lastly, the genes that showed the best results ($p < 1.55 \times 10^{-04}$) were included in a pathway analysis using the free DAVID software.

The study was approved by the Research Ethics Committee of Santiago-Lugo, Spain (Registration code: 2018/510).

Results

In the individual analysis, the following 5 markers showed a higher probability: rs4315121 in C12orf74 gen ($p = 9.85 \times 10^{-05}$; OR, 8.84), rs4814890 in LOC101930064 ($p = 9.61 \times 10^{-05}$; OR, 0.13), rs1549874 in KBTBD12 ($p = 8.27 \times 10^{-05}$; OR, 0.08), rs11060842 in PIWIL1 ($p = 7.82 \times 10^{-05}$; OR, 9.05) and rs62030877 in C16orf82 ($p = 8.92 \times 10^{-05}$; OR, 0.14). The analysis at the gene level once again highlighted PIWIL1 along with MIR9-2, LHCGR, TPR and BCR. At the signaling pathway level, there were 3 metabolic pathways of interest: PI3K-Akt, long-term depression and FoxO, all of which had nominal significance ($p = 1.3 \times 10^{-02}$, $p = 5.1 \times 10^{-03}$, $p = 1.2 \times 10^{-02}$, respectively).

Conclusions

The results of this study suggest that different metabolic pathways are involved in the pathogenesis of periodontitis in DS, among which PI3K-Akt stands out, which regulates cell proliferation and has a primary role in the host's inflammatory response.

ABREVIATURAS

Aa:	<i>aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
DM:	diabetes mellitus
EA:	enfermedad de Alzheimer
EP:	enfermedad periodontal
GWAS:	estudio de asociación del genoma completo (<i>genome-wide association study</i> , por sus siglas en inglés)
MAF:	alelo de menor frecuencia (<i>minor allele frequency</i> , por sus siglas en inglés)
PC:	componentes principales
PRS:	puntuación de riesgo poligénico (<i>polygenic risk score</i> , por sus siglas en inglés)
SD:	síndrome de Down
SNP:	polimorfismo de un solo nucleótido (<i>single-nucleotide polymorphism</i> , por sus siglas en inglés)

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	11
RESUMEN.....	13
RESUMO	15
ABSTRACT.....	17
ABREVIATURAS	19
1. INTRODUCCIÓN	25
1.1 GENERALIDADES DEL SÍNDROME DE DOWN	25
1.2 MANIFESTACIONES ORALES EN EL SÍNDROME DE DOWN	28
1.3 LA ENFERMEDAD PERIODONTAL EN LA POBLACIÓN GENERAL Y EN EL SÍNDROME DE DOWN.....	33
1.3.1 <i>Definición</i>	33
1.3.2 <i>Prevalencia</i>	34
1.3.3 <i>Etiopatogenia</i>	37
1.4 PUNTUACIÓN DE RIESGO POLIGÉNICO.....	50
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	57
3. MATERIAL Y MÉTODOS	61
3.1. GRUPO DE ESTUDIO	61
3.2 EXPLORACIÓN ORAL	62
3.3 RECOGIDA Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE SALIVA.....	63
3.3.1 <i>Extracción y cuantificación del ADN</i>	64
3.3.2 <i>Genotipado de las muestras</i>	66
3.4 ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DE GENOMA COMPLETO	67
3.4.1 <i>Control de calidad</i>	67
3.4.2 <i>Análisis de asociación</i>	68
3.5 PUNTUACIÓN DE RIESGO POLIGÉNICO.....	70
3.5.1 <i>Modelo de riesgo poligénico</i>	70

3.5.2 <i>Imputación</i>	72
3.5.3 <i>Cálculo de puntuaciones de riesgo poligénico</i>	72
4. RESULTADOS	75
4.1. HISTORIA CLÍNICA Y EXPLORACIÓN ORAL	75
4.2 ANÁLISIS DE DATOS	76
4.2.1 <i>Control de calidad</i>	76
4.3 ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DE GENOMA COMPLETO	77
4.3.1 <i>Análisis a nivel de SNP</i>	77
4.3.2 <i>Análisis a nivel de gen</i>	78
4.3.3 <i>Análisis de vías de señalización</i>	80
4.4 MODELO DE RIESGO POLIGÉNICO	86
5. DISCUSIÓN	89
5.1. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	89
5.2 PREVALENCIA DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL	91
5.3. HALLAZGOS GENÉTICOS	95
5.4 VÍAS DE SEÑALIZACIÓN	98
6. CONCLUSIONES	105
7. BIBLIOGRAFÍA	109
8. ARTÍCULOS DERIVADOS DE LA TESIS	147
9. ANEXOS	169
ANEXO I: FICHA DE REGISTRO DE DATOS PERIODONTALES	169
ANEXO II: FICHA DE REGISTRO DEL HISTORIAL CLÍNICO GENERAL	171
ANEXO III: INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA	173
ANEXO IV: DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO PARA LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO	175
ANEXO V: ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	181

1

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 GENERALIDADES DEL SÍNDROME DE DOWN

El síndrome de Down (SD) es la cromosomopatía más común, con una prevalencia estimada de 1 caso cada 800 nacidos vivos (Bull, 2020). Se caracteriza por un grado variable de discapacidad intelectual y por un conjunto de alteraciones sistémicas que incluyen entre otras problemas cardíacos, anomalías hematológicas y endocrinopatías (Whooten et al., 2018). La prevalencia del SD no está relacionada con la ancestralidad, el origen geográfico, el contexto religioso/cultural o el nivel socioeconómico (Agarwal Gupta & Kabra, 2014).

En la población general, cada célula del cuerpo humano presenta 46 cromosomas, pero en el caso del SD, todas o algunas de sus células presentan una copia extra en el par 21, y esta sobrecarga cromosómica es responsable de las características físicas y cognitivas que presentan estos individuos. Según el tipo de anomalía cromosómica que origina el cromosoma 21 adicional, el SD se puede clasificar en 3 categorías:

- La trisomía completa del 21. Es el tipo más común, ya que se identifica en el 95% de los casos. Se caracteriza porque en cada célula corporal hay 47 cromosomas, por un fallo en la segregación cromosómica normal durante la meiosis que conduce a la producción de un gameto que contiene 2 copias del cromosoma 21. A pesar de que esto pueda

ocurrir durante la formación del óvulo o del espermatozoide, se considera que más del 90% de las trisomías del cromosoma 21 son de origen materno (Agarwal Gupta & Kabra, 2014; Coppedè, 2016).

- Entre un 3 y un 4% de los casos de SD se producen por una translocación, en la que el cromosoma 21 adicional se adhiere a otro cromosoma acrocéntrico, generalmente el 13, 14, 15 o 21. Las translocaciones más comunes involucran a los cromosomas 14 y 21. En estas situaciones, se estima que en 2 de cada 3 casos la translocación es de *novo*, mientras que en 1 caso de cada 3 uno de los padres es portador (Agarwal Gupta & Kabra, 2014; Flores-Ramírez et al., 2015).
- El mosaicismo se define como la presencia de 2 o más líneas celulares en un individuo a partir de un solo óvulo fertilizado. En estos casos de mosaicismo en el SD, no todas las células tienen una copia extra del cromosoma 21, algunas conservan la línea celular normal de 46 cromosomas y otros tienen líneas celulares de 47 cromosomas con un cromosoma 21 adicional. Estos individuos pueden tener un fenotipo más leve, dependiendo de la extensión y de la distribución tisular de la línea celular normal. Se han descrito 2 mecanismos patogénicos para explicar el mosaicismo en el SD: La primera propuesta es que después de la fertilización, un cigoto normal con 46 cromosomas sufre un error mitótico temprano que resulta en una fracción de células con trisomía del 21; otra posibilidad que se sostiene es que sea un embrión de SD el que sufre el error mitótico, lo que permite que algunas células conserven un cariotipo normal (Agarwal Gupta & Kabra, 2014; Papavassiliou et al., 2015).

En definitiva, la mayoría de los casos de SD no son hereditarios, sino consecuencia de errores en la división celular durante el desarrollo del óvulo, del espermatozoide o del embrión; en el 88% de los casos se confirma el origen maternal, lo que explica que en la mayor parte de la literatura que aborda los factores de riesgo del SD se hable principalmente de los factores de riesgo maternos (Karmiloff-Smith et al., 2016).

La asociación entre la edad de la madre en el momento de la concepción y la trisomía completa del 21 se ha replicado en varias poblaciones y en distintos períodos de tiempo, por lo que se considera el único factor de riesgo confirmado en la gran mayoría de los embarazos de SD (Morris et al., 2003). Los principales mecanismos que se han propuesto para explicar este aumento de la aneuploidía en función de la edad de la gestante fueron compendiados por Rowsey et al. (Rowsey et al., 2013) e incluyen:

- Eventos que ocurren en el ovario fetal cuando el ovocito entra en la profase meiótica, como los errores de recombinación.
- Eventos ocurridos durante la ovogénesis, como el deterioro progresivo del ADN relacionado con la edad o la degradación de proteínas como la cohesina, necesarias para la separación de los cromosomas durante la mitosis.
- Eventos que ocurren durante las divisiones celulares meióticas, como los condicionados por las variaciones hormonales relacionadas con la edad.
- Una combinación de eventos ocurridos en diferentes etapas de la meiosis, como fallos de recombinación en etapas fetales de la ovogénesis, que harían que los cromosomas fueran menos susceptibles a separarse.

Teniendo en cuenta la compleja interacción entre factores genéticos y ambientales, y dado que los errores pueden ocurrir en diferentes etapas de la ovogénesis, se ha formulado una hipótesis más compleja que sostiene que la formación, el desarrollo y la supervivencia de un individuo con SD debe considerarse un evento complejo que involucra modificaciones epigenéticas inducidas, factores genéticos, interacciones entre genes y nutrientes, y una selección de procesos que abarcan al menos 3 generaciones diferentes, como son la abuela materna, la madre y el propio individuo trisómico (Coppedè, 2009, 2015).

En las últimas décadas, han mejorado sustancialmente tanto el manejo de las complicaciones médicas inherentes al síndrome como la calidad de vida de las personas con SD, aunque todavía persisten algunos desafíos como esclarecer definitivamente el mecanismo biológico que secunda cada componente fenotípico del síndrome (Antonarakis et al., 2020).

1.2 MANIFESTACIONES ORALES EN EL SÍNDROME DE DOWN

El SD, además de generar discapacidad intelectual y un retraso madurativo, también puede afectar al crecimiento y el desarrollo craneofacial, dando lugar al fenotipo característico de estos pacientes (de Campos Gomes et al., 2020). Entre las manifestaciones orofaciales más prevalentes se incluyen la macroglosia, las maloclusiones dentarias, la erupción dental retardada y la enfermedad periodontal (Mubayrik, 2016).

Una de las características predominantes en el SD es la presencia de maloclusiones, en especial de clase III (prognatismo), posiblemente como consecuencia de la hipoplasia maxilar que presentan, tanto en el plano horizontal como en el vertical, ya que

su crecimiento tiende a interrumpirse a edades más tempranas que en la población general (Alió et al., 2011; Alkawari, 2021). Asimismo, estos pacientes suelen presentar con mayor frecuencia mordida abierta anterior y posterior que los individuos sin discapacidad intelectual, y además, aunque no es un hallazgo específico del SD, en estos individuos se ha observado un aumento en la frecuencia de mordida cruzada y de sobremordida (AlSarheed, 2015; Ghaith et al., 2019). Según un estudio publicado recientemente en el que se analizaron las necesidades de tratamiento ortodóncico en un colectivo de personas con SD, se concluyó que el 82% de los individuos evaluados requerían de un tratamiento precoz de ortopedia/ortodoncia con el fin de mejorar su funcionalidad oral (Alkawari, 2021).

Uno de los factores comunes que podría favorecer la elevada prevalencia de maloclusiones en personas con SD es la respiración oral, que se ha relacionado reiteradamente con la falta de desarrollo maxilar y con la consecuente alteración del patrón de oclusión (D'Onofrio, 2019; Oliveira et al., 2011). Se ha sugerido que uno de los motivos por los que en el SD son especialmente frecuentes los respiradores orales es la hipertrofia de las adenoides y de las amígdalas palatinas, un hallazgo que también se ha corroborado en estudios efectuados en la población general no sindrómica (Morais-Almeida et al., 2019; Ruy Carneiro et al., 2020).

Otro de los rasgos fenotípicos de estos pacientes que suele referirse en la literatura es la morfología del paladar duro. En un estudio que se llevó a cabo en la Universidad de Santiago de Compostela, en el que se analizaron diferentes dimensiones del paladar duro de un grupo de personas con SD frente a un grupo control no sindrómico -utilizando imágenes obtenidas mediante tomografía computarizada de haz cónico (CBCT, por sus siglas en inglés), se concluyó que el paladar duro en el SD era más estrecho

que en el grupo control, pero la longitud anteroposterior y la altura de la bóveda palatina eran similares en ambos grupos (Abeleira et al., 2015). En otro trabajo en el que los investigadores midieron el paladar duro de bebés edéntulos con SD y lo compararon con un grupo control no sindrómico, también concluyeron que el paladar en el SD era considerablemente más pequeño en las 3 dimensiones que en el grupo control (Klingel et al., 2017).

La hipotonía muscular, particularmente de la musculatura intrínseca de la lengua y de los músculos periorales y masticatorios, también constituye una característica habitual de la trisomía (Guimaraes et al., 2008; Skrinjarić et al., 2004). En un estudio publicado recientemente en el que se analizaron mediante electromiografía de superficie los músculos masticatorios de pacientes con SD y de controles neurotípicos, se concluyó que los niños con SD tenían menores potenciales de actividad en los músculos temporal y masetero durante las maniobras de apretamiento (Szyszka-Sommerfeld et al., 2022). La lengua es grande y está protruida (macroglosia), aunque en ocasiones corresponde a una pseudomacroglosia, cuando la lengua conserva unas dimensiones normales pero su inserción en el suelo de la boca está anteriorizada o parece mayor de lo que es por las dimensiones craneofaciales reducidas. La hipotonía, junto con la macroglosia se consideran causas secundarias en la conformación de un paladar alto y estrecho, y en el desarrollo de mordidas abiertas (Kaczorowska et al., 2019). Además, estas anomalías pueden derivar en complicaciones como la dificultad para hablar o incluso la obstrucción de la vía aérea, por lo que está especialmente indicado iniciar un tratamiento temprano de fisioterapia y/o con aparatología ortopédica/ortodóncica, para ampliar las dimensiones de la cavidad oral y permitir que la lengua se mantenga dentro de

los límites que determinan las arcadas dentarias (Kaczorowska et al., 2019b).

En un artículo focalizado en el análisis de los labios y los tejidos blandos orales de los niños con SD, se confirmó que la anomalía más frecuente era la lengua fisurada (prevalencia del 78%), seguida de las fisuras labiales (64%); se identificaron diferentes patrones de fisuras en la superficie dorsal de los dos tercios anteriores de la lengua; según los autores de este estudio, la aparición de estas fisuras posiblemente está relacionada con el desarrollo, y en la mayoría de los casos la sequedad de la superficie lingual es consecuencia de un hábito de respiración oral (Al-Maweri et al., 2015).

También son muy habituales las anomalías dentarias como el taurodontismo, la presencia de dientes conoides e impactados, así como una elevada prevalencia de agenesias dentales (Moraes et al., 2007). En un metaanálisis publicado en 2016 (Palaska & Antonarakis, 2016), se determinó que la prevalencia de agenesias dentales en los individuos con SD era del 54,6-58,5%; además, estas suelen ser más severas que en la población general, lo cual conduce a menudo a la existencia de oligodoncia (ausencia de 6 o más dientes en el mismo paciente); las agenesias más habituales incluyen los incisivos laterales maxilares, los segundos premolares maxilares y mandibulares, y los incisivos mandibulares. Esta hipodoncia puede ser un factor contributivo al desarrollo de la hipoplasia maxilar mencionada con anterioridad, ya que en estudios efectuados en la población general se ha confirmado que las personas con agenesias dentarias tienen acortada la longitud de la base del cráneo y un maxilar hipoplásico, lo que favorece la tendencia a la clase III esquelética y a una reducción de la altura facial (Palaska & Antonarakis, 2016). Esta relación entre

hipodoncia y maloclusión de clase III de Angle también se ha constatado en niños con SD (van Marrewijk et al., 2016).

En las personas con SD todos estos rasgos específicos pueden derivar en problemas de salud general, produciendo dificultades en la masticación, la comunicación o incluso en la respiración, condicionando su calidad de vida y ampliando los requerimientos de cuidados especializados (Scalioni et al., 2018). Asimismo, muchas de las características médicas y fisiológicas de los pacientes con SD mencionadas previamente tienen conexión directa con la salud oral de los sujetos afectados (Shapira et al., 1996; Elrefadi et al., 2022).

En cuanto al nivel de higiene oral de estos pacientes, en una revisión sistemática publicada en 2016 se observó que, en la mayoría de los estudios, el nivel de higiene oral era peor en los pacientes con diversidad funcional (SD o parálisis cerebral) que en el grupo control (Diéguez-Pérez et al., 2016). En un trabajo publicado recientemente, se confirmó que el estado de higiene oral de los niños con SD era extremadamente pobre y estaba condicionado por factores como la edad del paciente, su coeficiente intelectual y el nivel educativo de los padres (Goud et al., 2021). Estos individuos suelen necesitar supervisión durante las prácticas de higiene oral, y generalmente cuanto menor es el nivel de colaboración para el cepillado dental en casa, también es menor el grado de cooperación en la clínica dental para someterse a una exploración oral o cualquier procedimiento odontológico (Stensson et al., 2021).

En un metaanálisis publicado en 2015, en el que se comparaba la prevalencia de caries entre pacientes con SD y controles no sindrómicos, se concluyó que los individuos con SD tenían menos lesiones de caries que la población general (Deps et al., 2015). Sin embargo, en otra revisión sistemática del 2016, no se

identificaron diferencias en la prevalencia de caries entre ambos grupos poblacionales (Moreira et al., 2016). En general, todas las revisiones publicadas en los últimos años coinciden en que los niños y adolescentes con SD tienen significativamente menos caries que los individuos no sindrómicos, aunque sus autores señalan algunos sesgos potenciales de sus propias investigaciones como el diseño transversal de la mayoría de los estudios seleccionados (Silva et al., 2020), la gran variabilidad en la prevalencia entre unas series y otras (Bhoopathi et al., 2021), o la heterogeneidad en la distribución geográfica de los participantes (Martins et al., 2022).

Aun asumiendo que en la literatura científica persiste cierta controversia residual en cuanto a la frecuencia de caries en la población con SD, existe prácticamente una opinión unánime de que los individuos con SD presentan una mayor susceptibilidad a las enfermedades periodontales (Frydman, 2012).

1.3 LA ENFERMEDAD PERIODONTAL EN LA POBLACIÓN GENERAL Y EN EL SÍNDROME DE DOWN

1.3.1 Definición

La enfermedad periodontal (EP) es una condición crónica que se manifiesta como una respuesta inflamatoria del tejido gingival que afecta a todos los tejidos de soporte del diente, incluyendo el ligamento periodontal, el cemento radicular y el hueso alveolar; en muchos pacientes esto puede resultar en la destrucción del periodonto y, por lo tanto, en la pérdida prematura de los dientes (Highfield, 2009). Las características principales de la EP incluyen la inflamación gingival, la pérdida de inserción clínica, la existencia de bolsas gingivales con una profundidad de

sondaje patológica, la evidencia radiográfica de pérdida ósea, la movilidad dentaria, el sangrado al sondaje y la migración dentaria patológica (Papapanou et al., 2018).

En general, la EP crónica suele afectar a adultos y está relacionada principalmente con la presencia de placa bacteriana y el acúmulo de cálculo; su progresión es lenta, aunque puede presentar períodos de exacerbación. Además, determinados factores de riesgo ambientales como fumar, un estilo de vida sedentario o la presencia de enfermedades sistémicas como la diabetes, pueden impactar en la severidad de la EP. Por el contrario, existe una forma más agresiva de EP que acostumbra a verse en pacientes jóvenes (< 25 años), tiene un patrón de agregación familiar y su característica primordial es la rápida destrucción del tejido de inserción y del hueso de soporte, sin la exigencia de depósitos bacterianos relevantes, detectándose en muchas ocasiones en individuos sanos y sin patología sistémica (Kumar, 2019). Esta diferenciación principal entre EP crónica y agresiva, así como otras formas de presentación como las enfermedades periodontales necrotizantes o los abscesos periodontales, fueron categorías taxonómicas definidas rigurosamente por Armitage en 1999 (Armitage, 1999); sin embargo, en el año 2017 se llevó a cabo una reunión de consenso entre las Asociaciones Americana y Europea de Periodontitis, donde propusieron una nueva clasificación en la que la periodontitis crónica y la agresiva se consideraron EP con diferentes grados de severidad (Papapanou et al., 2018).

1.3.2 Prevalencia

A nivel mundial se calcula que la prevalencia de la EP crónica es del 45-50%, mientras que su forma más grave se ha diagnosticado en el 11,2% de la población, considerándose en 2014 la sexta enfermedad humana más común (Kassebaum et al., 2014).

En EEUU se han descrito cifras similares, ya que se estima que la EP afecta a más del 40 % de los adultos y su forma más severa se puede observar en un porcentaje en torno al 11% (Kwon et al., 2021). En un estudio epidemiológico publicado en 2020, concluyeron que la prevalencia global de la EP aumentaba con la edad, y que esto podía deberse a que la población longeva acostumbra a tener una higiene oral pobre, en buena parte como consecuencia de la escasez de programas específicos para la promoción de la salud oral dirigidos específicamente a este grupo de personas (Nazir et al., 2020).

En cuanto a los factores de riesgo confirmados, existe una estrecha relación entre EP y consumo de tabaco, estimándose que este hábito nocivo incrementa un 85% la incidencia de EP (Alwithanani, 2023). En numerosos estudios se ha confirmado que los pacientes fumadores experimentan una progresión más rápida de la enfermedad, así como la pérdida de un mayor número de dientes que los no fumadores, y además las tasas de éxito del tratamiento de la EP -tanto quirúrgico como no quirúrgico- son peores en los pacientes que fuman, mientras se incrementa la probabilidad de recurrencias (Kanmaz et al., 2021).

Otro factor de riesgo relacionado con la EP es la diabetes mellitus (DM), la enfermedad sistémica más prevalente e investigada entre las que predisponen a la EP e incrementan su severidad, especialmente en personas con DM de larga duración y, en particular, en pacientes con un control pobre de esta endocrinopatía (Wu et al., 2015). Los efectos negativos de la DM sobre el periodonto pueden manifestarse a edades tempranas, afectando incluso a niños y adolescentes con DM tipo 1 o 2 (Lalla et al., 2007). La relación entre EP y DM es bidireccional, ya que la EP crónica también puede tener un efecto negativo sobre el control metabólico en individuos con DM, al aumentar la carga

inflamatoria y la resistencia a la insulina (Lalla & Papapanou, 2011). En una revisión sistemática publicada en 2020, se concluyó que un tratamiento periodontal adecuado mediante tartrectomía y raspado y alisado radiculares, tenía un impacto sustancial en los pacientes con DM tipo 2, tanto en el grado de control metabólico como en la reducción de la inflamación sistémica (Baeza et al., 2020).

La investigación periodontal ha avanzado en muchos frentes, particularmente en el contexto de la relación entre la periodontitis y las enfermedades sistémicas. Este estrecho vínculo aboga por una intervención precoz y universal para combatir la periodontitis; un tratamiento temprano, sencillo y de bajo costo, podría contribuir a controlarla, aunque habría que evaluar su eficacia para reducir la incidencia y la severidad de la EP en grandes poblaciones de personas médicamente comprometidas como, por ejemplo, los individuos con SD. La posibilidad de que la EP intervenga en la etiopatogenia de enfermedades cardiovasculares, cáncer, enfermedad de Alzheimer, resultados adversos del embarazo y otras enfermedades graves, proporciona un argumento convincente para tratar a todos los pacientes con EP (Slots, 2019).

Los individuos con SD tienen una prevalencia de periodontitis mayor que la observada en la población general y en otros colectivos con discapacidad intelectual, ya que en algunas series se describe en más del 90% de los pacientes con SD menores de 30 años (Cutress, 1971). La periodontitis en estos pacientes debuta a una edad temprana y es generalizada, de progresión rápida y severa (Ferreira, et al., 2016).

1.3.3 Etiopatogenia

Al analizar la etiopatogenia de la EP en el SD, se ha sugerido que podrían estar implicadas algunas causas locales como una higiene oral pobre, la macroglosia, la morfología dentaria, determinadas anomalías del tejido gingival y las particularidades de la saliva (Amano et al., 2008). Sin embargo, estos argumentos han sido desplazados de forma progresiva por la disbiosis bacteriana, por factores inflamatorios e inmunológicos, y por una especial susceptibilidad genética.

1.3.3.1 Disbiosis bacteriana

El desarrollo de la EP se inicia por la acción de los microorganismos presentes en la placa dental, en la que ya se han identificado más de 800 especies bacterianas (Lourenço et al., 2014). A día de hoy no se conoce con exactitud qué especies periodontopatógenas -particularmente entre los anaerobios Gram-negativos - pueden llegar a ser más virulentas, y se ha señalado que probablemente ninguno de estos microorganismos pueda considerarse causal *per se*, sino que provocan un desequilibrio o disbiosis de la biopelícula microbiana (Pérez-Chaparro et al., 2014).

Las bolsas periodontales que caracterizan a la EP pueden actuar como reservorios de patógenos microbianos y de sus productos, así como de mediadores inflamatorios e inmunocomplejos que pueden diseminarse a otras localizaciones del cuerpo humano por la proximidad anatómica entre la biopelícula periodontal y los capilares sanguíneos (Han & Wang, 2013). Además, estas bolsas periodontales proporcionan un ambiente de crecimiento anaeróbico y rico en nutrientes que favorece la supervivencia y la proliferación de los patógenos periodontales (Wolf & Lamster, 2011).

La microbiota periodontal es altamente compleja y juega un papel importante en el establecimiento de la salud periodontal y en el desarrollo de periodontitis. Esta microbiota comprende principalmente especies bacterianas residentes comensales, que han coevolucionado para colonizar la cavidad oral humana (Aas et al., 2005). Sin embargo, la existencia de una gran variedad de determinantes ecológicos en el ecosistema oral, puede proporcionar condiciones óptimas para el establecimiento de microorganismos que no se consideran residentes habituales de la microbiota bucal. Este tema es controvertido, ya que hasta la fecha no se ha dilucidado definitivamente si estas especies son meramente contaminantes o miembros transitorios, pero definitivamente se ha demostrado que pueden colonizar la microbiota oral (Ohara-Nemoto et al., 2008; Vieira Colombo et al., 2016; Zuanazzi et al., 2010).

A diferencia de las infecciones bacterianas clásicas, en la mayoría de los casos de EP la diversidad de la microbiota aumenta a medida que progresa la enfermedad. Las bacterias más virulentas dañan los tejidos solo si están presentes en concentraciones elevadas y durante períodos de tiempo considerables. En un estudio publicado por Mombelli en 2018, se concluyó que una excepción la representaba una determinada subespecie de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*), que podría ser considerado como un verdadero patógeno en individuos particularmente susceptibles (Mombelli, 2018).

Los patógenos periodontales pueden tener un impacto sistémico a través de una variedad de mecanismos, entre los que se incluyen la bacteriemia causada por la incorporación de patógenos periodontales a la circulación sistémica, o las endotoxinas (lipopolisacáridos) que forman parte integral de la pared de las bacterias periodontopatógenas (Madianos et al., 2013). Los agentes

bacterianos considerados como los principales responsables del desarrollo de EP en la población general son *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* y *Aa*, aunque en estudios metagenómicos se ha señalado que en la EP puede estar involucrada una amplia variedad de microbiota (Hajishengallis et al., 2012).

El desencadenante inicial de la periodontitis es el acúmulo de placa bacteriana, en la que se ha demostrado de forma irrefutable la presencia de *Porphyromonas gingivalis*, un anaerobio Gram-negativo que es un patógeno subyacente clave en la etiología de la EP crónica (Parahitiyawa et al., 2010). Se considera un patógeno oportunista generalmente escaso, pero las respuestas inflamatoria e inmunitaria del huésped ante la presencia de determinadas comunidades bacterianas, tienen la capacidad de modificar el entorno subgingival, lo que hace que estos patógenos poco abundantes se conviertan en las bacterias dominantes de la película microbiana, alterando la homeostasis entre los microorganismos simbióticos y el huésped, y promoviendo el desarrollo de la EP (Abdi et al., 2017).

En estudios de carácter prospectivo, se ha confirmado que las formas más agresivas de EP en la población general se asocian con una colonización por determinados subtipos de *Aa*, a los que se atribuye un papel principal tanto en la aparición como en la progresión de la periodontitis (Haubek et al., 2008). En algunos estudios se ha identificado un perfil de microbiota relativamente constante en sujetos con EP agresiva, en contraste con la forma crónica de la periodontitis (Haubek, 2010). En un estudio publicado por Monteiro et al., se concluyó que los niños con formas agresivas de EP, además de exhibir condiciones clínicas peores derivadas de una higiene oral más deficiente, presentaban mayores concentraciones de *Aa* y un mayor grado de inflamación gingival

marginal (Monteiro et al., 2015). Otra de las especies bacterianas aislada con mayor frecuencia en la EP severa es *Porphyromonas gingivalis* (Amaliya et al., 2015). Asimismo, otros patógenos como *Parvimonas micra* y *Filifactor alocis*, se han identificado como colonizadores habituales en niños con una destrucción periodontal severa (Shaddox et al., 2012), y la asociación de *Aa*, *Filifactor alocis* y *Streptococcus parasanguis* se ha relacionado con la aparición de EP agresiva y pérdida ósea alveolar (Fine et al., 2013). Por el contrario, otros estudios no han confirmado el predominio de *Aa* en pacientes con EP agresiva, por lo que, a pesar de los esfuerzos para determinar la importancia de cada especie bacteriana en la etiopatogenia de la EP, el papel de los microorganismos todavía no se ha esclarecido definitivamente (Faveri et al., 2008). A pesar de todas estas contribuciones microbiológicas, algunos autores han señalado que las formas crónica y agresiva de EP no se pueden diferenciar en base a patógenos periodontales específicos, sugiriendo que la composición de la biopelícula microbiana es similar en ambas formas de presentación de la periodontitis (Mombelli et al., 2002).

El papel de los virus en la etiología de la EP todavía es más controvertido, ya que se ha comprobado que la terapia antiviral reduce la profundidad de las bolsas y la inflamación, pero en los ensayos publicados se combinó con el tratamiento mecánico convencional (Fu et al., 2014). Se ha demostrado que el *herpesvirus* puede modificar la evolución de la periodontitis y ejercer su potencial patogénico a través de diferentes mecanismos, bien operando solo o bien en combinación con bacterias; esta interacción entre virus y bacterias puede ser bidireccional, ya que se han reconocido algunas enzimas y otros productos inductores de inflamación de origen bacteriano que a su vez activan a los *herpesvirus* (Tonoyan et al., 2019).

Con respecto a la etiopatogenia de la EP en individuos con SD, se considera un factor esencial la presencia de una flora subgingival diferente de la que exhibe la población general, por ejemplo con una mayor presencia de *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mitis* y *S. Streptococcus oralis* -microorganismos precursores que inician la colonización temprana- o de *Treponema socranskii* -una especie bacteriana asociada con la destrucción severa del tejido periodontal- (Khocho et al., 2012). Recientemente, se ha sugerido que en el microbioma subgingival de los pacientes con SD con periodontitis son particularmente abundantes *Porphyromonas* spp. y *Tannerella* spp., pero también nuevos patógenos que han sido poco estudiados hasta la fecha como los géneros *Filifactor*, *Fretibacterium* y *Desulfobulbus* (Nóvoa et al., 2020).

Se ha demostrado que los pacientes con SD tienen índices clínicos de salud/enfermedad periodontal significativamente peores que otros sujetos con discapacidad intelectual, así como una composición diferente en cuanto a bacterias periodontopatógenas, siendo *Tannerella forsythia* y *Actinomyces naeslundii* significativamente más prevalentes en todas las edades, mientras que *Porphyromonas gingivalis*, *Aa*, *Campylobacter rectus*, *Prevotella intermedia* y *Capnocytophaga sputigena* se detectan con mayor frecuencia en adolescentes y adultos jóvenes (Contaldo et al., 2021)

Finalmente, independientemente de si se estudia en la población general o en individuos con SD, la etiopatogenia de la EP no parece depender únicamente de la composición bacteriana subgingival, sino también de la respuesta inflamatoria e inmunitaria que provoca la colonización bacteriana a nivel del surco gingival (Page & Kornman, 1997).

1.3.3.2 Factores inflamatorios e inmunológicos

En la actualidad, la EP se considera una enfermedad inflamatoria crónica compleja, con progresión no lineal, en cuya etiopatogenia participan varios factores que desempeñan roles específicos e interactúan entre sí, condicionando la respuesta inmunológica del individuo (Loos & Van Dyke, 2020). El huésped mantiene una relación simbiótica con el microbioma oral para conservar la homeostasis, cuya alteración puede generar una hiperrespuesta inflamatoria que provoca cambios en la ecología del entorno subgingival, estableciendo unas condiciones especialmente favorables para el sobrecrecimiento bacteriano que potenciaría la evolución de la EP (Loos & Van Dyke, 2020).

La cavidad oral es un entrono microbiológico muy rico, colonizado por una gran diversidad de especies bacterianas, que en condiciones de salud mantienen un equilibrio dinámico con el sistema inmunitario del huésped. Cuando este equilibrio se perturba, los patógenos oportunistas, incluidos los periodontales, se vuelven dominantes (Wolf & Lamster, 2011).

Como ya hemos señalado, uno de los patógenos que se considera especialmente relevante en la infección del tejido periodontal es *Porphyromonas gingivalis*, una especie bacteriana que puede destruir directamente el periodonto al secretar agentes tóxicos como lipopolisacáridos, gingipainas y pili. Estos factores de virulencia contribuyen a evadir el sistema de defensa inmunitario del huésped, alterando la regulación de las células inmunitarias innatas, las citoquinas y otros factores solubles y, como hemos comentado, destruyendo los tejidos periodontales. (Mysak et al., 2014). Específicamente, estos factores de virulencia pueden activar una amplia gama de células inmunitarias del huésped a nivel de los tejidos periodontales, desencadenando una respuesta inmunitaria local y provocando que las células defensivas liberen numerosos

mediadores inflamatorios que ocasionarán daños secundarios en el tejido periodontal (Jia et al., 2019).

En diversos estudios se ha demostrado que la gingipaína secretada por *P. gingivalis* puede regular a la baja la producción de interleuquina-2 y atenuar la proliferación de células T. Además, también es capaz de degradar los receptores celulares CD4 y CD8, y de minimizar la activación de estas células (Hajishengallis et al., 2013; Khalaf & Bengtsson, 2012).

La respuesta inflamatoria del huésped como elemento esencial en la etiopatogenia de la EP, está mediada principalmente por leucocitos polimorfonucleares -especialmente neutrófilos-, monocitos, macrófagos, y linfocitos T y B (Campbell et al., 2016). La caracterización de los linfocitos T en el tejido gingival sano ha permitido corroborar un predominio de células T colaboradoras CD4+, seguidas de las células T citotóxicas CD8+. Estas células desempeñan un papel fundamental en las respuestas inmunitarias adaptativas y realizan actividades reguladoras importantes para el mantenimiento de la integridad del tejido gingival, al mantener bajos niveles de inflamación en condiciones homeostáticas (Jia & Wu, 2014). Cuando las células T se activan son responsables de la producción de moléculas efectoras, como citoquinas proinflamatorias o antiinflamatorias y moléculas citotóxicas; estas células pueden además producir citoquinas como IL-10 y TGF- β , que tienen la capacidad de suprimir la osteoclastogénesis (Dutzan et al., 2016). En algunos estudios se ha sugerido que en niños con SD ya se detectan altos niveles de citoquinas implicadas en procesos de inflamación sistémica, con efectos importantes en la regulación de la respuesta inmune como TNF- α e IFN- γ (Nateghi Rostami et al., 2012).

Hace más de 50 años se advirtió que las bacterias orales estimulaban la activación de los linfocitos en pacientes con EP

leve, mientras que esa activación se suprimía en pacientes con formas más graves de periodontitis (Ivanyi & Lehner, 1970). Posteriormente, se observó que las células T de los pacientes con EP expresaban una capacidad de proliferación reducida, lo que sugiere una respuesta deficiente de las células T durante el desarrollo de la enfermedad (Cole et al., 1987). En artículos posteriores se sugirió que un subtipo de células T CD4+, las denominadas células Treg, se asociaba a homeostasis ósea incluso en presencia de inflamación local, por lo que se insinuó que este tipo celular podía estar relacionado con la falta de progresión de las lesiones de gingivitis, incluso después de largos períodos de exposición a biopelículas de naturaleza bacteriana (Arizon et al., 2012). Otro tipo de células T, las células T $\gamma\delta$ epiteliales, representan la principal población de células T en los tejidos epiteliales y son cruciales para mantener la homeostasis tisular; estas células producen una citoquina llamada anfirregulina, que se ha relacionado con los procesos de cicatrización de heridas y que también podría limitar el desarrollo de la EP (Krishnan et al., 2018); se ha sugerido que este tipo de células puede regular la producción de osteoclastos, y su supresión se ha relacionado con un aumento de la inflamación gingival y con alteraciones en la composición del biofilm, favoreciendo la diversidad microbiana (Wilharm et al., 2019).

Los linfocitos B o células B, forman parte del componente humoral del sistema inmunitario adaptativo y están especializados en la secreción de anticuerpos y citoquinas, así como en la presentación de antígenos (Cerutti et al., 2012). Su relevancia en la patogenia de la periodontitis y en particular de la pérdida ósea, ha sido bien establecida en la literatura (Chen et al., 2022).

Algunos hallazgos apuntan a que los linfocitos T y B activados representan una de las principales fuentes de expresión

de RANKL en el tejido periodontal enfermo; RANKL es una proteína de membrana perteneciente a la familia TNF -factor de necrosis tumoral- que desempeña un papel importante en la resorción ósea de etiología inflamatoria y cuya expresión suele estar aumentada en las diferentes formas de periodontitis (Hienz et al., 2015).

Se ha confirmado que los individuos con SD presentan defectos inmunitarios, lo que favorece la aparición de infecciones más severas en este colectivo; aunque la afectación de los componentes del sistema inmune es variable, las alteraciones más contrastadas son la quimiotaxis defectuosa de los neutrófilos y la exigua respuesta de la inmunidad humoral. Además, en este tipo de pacientes se ha descrito una reducción cuantitativa de determinadas subpoblaciones linfocitarias como las células T y B, que se sitúan por debajo del percentil 10 en casi el 90% de los niños con SD y por debajo del percentil 5 en el 60% de ellos, lo que puede llegar a condicionar la concentración total de linfocitos, resultando en una linfopenia leve o incluso moderada, que hace que estos pacientes sean particularmente propensos a la aparición de infecciones atribuibles a defectos en el sistema inmunitario, como la EP (Ram & Chinen, 2011a). En un estudio en el que se analizaron los diferentes estadios de maduración de las células B de sangre periférica de individuos con SD y en un grupo control no sindrómico, se confirmó que existía una disminución del número de células B en todas las etapas madurativas en las personas con SD, particularmente de las células B vírgenes (Verstegen et al., 2010).

Los neutrófilos también desempeñan un papel primordial en el desarrollo de la EP y representan la principal subpoblación de leucocitos que se reclutan en el surco gingival y en las bolsas periodontales (Delima & Van Dyke, 2003). Históricamente, los polimorfonucleares neutrófilos se han asociado con actividades

antimicrobianas en infecciones agudas, pero recientemente se ha confirmado que también son células con funciones críticas en los procesos inflamatorios crónicos (Hajishengallis, 2020). Su presencia contribuye a la preservación de un periodonto sano, mientras que en los casos de periodontitis se ha confirmado que existe una desregulación de los neutrófilos que puede ocasionar daño tisular a través de la liberación de moléculas tóxicas, agentes inflamatorios o proteasas que degradan los tejidos (Ryder, 2010).

En una revisión publicada en 2020, se demostró que la presencia de los neutrófilos era necesaria para llevar a cabo importantes funciones inmunomoduladoras, mientras que su ausencia en el periodonto conducía a una sobreproducción desregulada de interleuquina-17, provocando un proceso inflamatorio que desembocaba en la pérdida ósea; en este mismo estudio, se confirmó que las formas agresivas de EP se relacionaban con una deficiencia de adhesión leucocitaria de tipo 1, que expresaba una desregulación de la respuesta inmunológica del huésped (Hajishengallis, 2020).

En un estudio publicado hace más de 30 años por Izumi et al., ya se apuntaba que en pacientes con SD y EP la quimiotaxis de los neutrófilos estaba significativamente alterada cuando se comparaba con la de un grupo de controles sanos (Izumi et al., 1989). Este hallazgo se confirmó en publicaciones posteriores, lo que permitió sugerir que podía contribuir al agravamiento de determinadas condiciones orales de etiología infecciosa y a la progresión temprana de la EP en este tipo de pacientes (Yavuzylmaz et al., 1993). Años más tarde, se ratificó que en las personas con SD existía frecuentemente un defecto en la funcionalidad de los neutrófilos, que se traducía en una menor actividad fagocítica en comparación con la exhibida por individuos no sindrómicos (Licastro et al., 2005).

En definitiva, se considera que en el SD hay un menoscabo del sistema inmunitario con una desregulación que afecta tanto al sistema innato como al adaptativo, con defectos en la maduración de las células T y en la funcionalidad de las células B, y con un estado pro-oxidativo con altos niveles de especies reactivas del oxígeno; este sistema inmunitario debilitado podría favorecer la colonización por patógenos periodontales y resultar en una tímida respuesta por parte de las células de defensa -con niveles de anticuerpos subóptimos-, conduciendo a una disbiosis bacteriana y a respuestas inflamatorias locales graves que favorecen el desarrollo de la EP con fenotipos más severos en este tipo de pacientes (Huggard et al., 2020; Khocht & Albandar, 2014).Huggard et al., 2020;Huggard et al., 2020;

En las últimas décadas, se ha confirmado que los individuos con SD son particularmente proclives a desarrollar una demencia prematura que remeda la enfermedad de Alzheimer (EA) (Zigman et al., 2008). Se ha sugerido que las infecciones crónicas -en particular en base a la carga bacteriana- y el estado inflamatorio que provocan, podrían estar implicados en la patogenia del Alzheimer, aunque los mecanismos intrínsecos que gestionan esta relación aún no se han aclarado definitivamente. Kamer et al. propusieron que la EP podría afectar a la progresión de la demencia en personas con SD, ya que los pacientes con esta afectación suelen presentar formas severas y agresivas de periodontitis, que ocasionan una importante inflamación local y esta a su vez podría derivar en neuroinflamación y deterioro cognitivo (Kamer et al., 2016). Recientemente, se ha confirmado que algunos marcadores inflamatorios son particularmente sensibles para discriminar el deterioro cognitivo leve en adultos con SD, y para distinguir a las personas con SD y demencia de las cognitivamente estables (Petersen et al., 2020).

Por último, también se ha especulado que puede existir cierta asociación entre la presencia de EP y el riesgo de cáncer. Algunos autores han sugerido que esta relación podría deberse a que en muchas ocasiones la EP se acompaña de edentulismo prematuro, condicionando la masticación de alimentos duros y fibrosos como las frutas y las verduras, que son ricos en agentes antioxidantes, y que en consecuencia pueden llegar a excluirse de la dieta (Wiseman, 2008). Además, las frutas y las verduras sin almidón están asociadas con un menor riesgo de ciertos tipos de cáncer, como los de la cavidad oral, faringe, esófago, estómago y pulmón, mientras que las dietas altas en calorías se consideran proinflamatorias, ya que se relacionan con niveles más altos de proteína C reactiva e interleuquina-6 (Namazi et al., 2018). Otros factores relevantes en la etiopatogenia del cáncer son los cambios epigenéticos de la E-caderina y de la ciclooxigenasa-2, que se han constatado en la EP crónica, que expresan inflamación crónica y que podrían reflejar una destrucción tisular irreversible similar a los efectos del cáncer. Por lo tanto, en cierta medida, la EP crónica podría estar asociada con una hipermetilación del ADN, que a su vez está implicada en los procesos de carcinogénesis (Loo et al., 2010).

1.3.3.3 Susceptibilidad genética

En la actualidad, la EP se considera una enfermedad compleja caracterizada por su etiología multifactorial en la que participan agentes ambientales, microbiológicos, inmunológicos y de susceptibilidad genética (Sedghi et al., 2021). En el ámbito de los factores genéticos, una de las hipótesis más refrendadas, es que la variabilidad genética humana ocasiona una respuesta inflamatoria no protectora que interactúa con la biopelícula

comensal normal, provocando cambios microbianos disbióticos y signos clínicos característicos de la EP (Offenbacher et al., 2016).

Como resultado de varios estudios de asociación de genoma completo (GWAS) -que permiten testar miles de polimorfismos en todo el genoma-, se ha sugerido que en la población general existen variantes (alelos) en algunos genes particularmente asociadas con la periodontitis, aunque muy pocos se consideran verdaderos factores etiopatogénicos. En el único estudio de GWAS realizado hasta la fecha en población general española en el que se estudió la periodontitis en su fenotipo más agresivo según la vigente clasificación de EP (Papapanou et al., 2018), no se identificaron polimorfismos de nucleótido único (SNP) que satisficieran criterios de significación, pero se identificaron 8 marcadores con un grado de evidencia sugestivo de asociación con la periodontitis (de Coo et al., 2021). Uno de ellos, el gen SIGLEC5, ya había sido reportado en estudios de GWAS previos y se había relacionado con formas agresivas de EP (Munz et al., 2017).

Por el contrario, aunque en la población con SD se especula que el factor genético podría estar estrechamente relacionado con la gran prevalencia de EP y su presentación más agresiva, hasta la fecha no se ha publicado ningún estudio de GWAS que aborde esta temática en este colectivo de pacientes, y en consecuencia no se conocen con exactitud qué variantes o genes podrían estar involucrados. En un estudio de genes candidatos realizado en 2020 en el que se analizaron 92 genes relacionados con procesos inflamatorios para estudiar la pérdida de implantes en un grupo de pacientes con SD, 6 genes (PLCG2, ALOX5, LTAH4, VCAM1, PLA2G2A y PLA2G10) alcanzaron significación estadística al comparar el genoma de pacientes con EP que habían perdido algún implante frente al de los pacientes que no habían perdido ninguno; sin embargo, en este mismo estudio, ninguno de esos mismos genes

alcanzó significación estadística al comparar a los individuos con SD y EP frente a los SD sin EP (Baus-Domínguez et al., 2020).

En otro trabajo más reciente, también de genes candidatos, se compararon pacientes con SD y EP que habían perdido algún implante frente a pacientes con SD y periodonto sano cuyos implantes habían permanecido intactos; de los 93 genes analizados que guardaban relación con la respuesta inflamatoria y el mecanismo de osteointegración, 5 tenían una expresión alterada; todos ellos formaban parte de alguna de las vías de señalización que participan en el metabolismo óseo, lo que podría explicar la importante tasa de pérdida de implantes observada en los pacientes con SD (Baus-Domínguez et al., 2023).

Aunque la predisposición genética parece ser un factor determinante tanto para la aparición como para la progresión de la EP, con estimaciones de heredabilidad de hasta un 50% en la población general, las bases genéticas de esta enfermedad compleja común todavía no se han determinado completamente y se ha sugerido que deberían analizarse con más profundidad en poblaciones particularmente susceptibles (de Coe et al., 2021; Michalowicz et al., 2000).

1.4 PUNTUACIÓN DE RIESGO POLIGÉNICO

Como venimos hablando, el SD ha sido relacionado con múltiples enfermedades sistémicas como cardiopatías, la DM, la EA, problemas hematológicos como mayor predisposición a presentar leucemia, hipotiroidismo, etc. Es decir, estos individuos presentan mayor probabilidad de presentar estas patologías, al igual que sucede con la EP. (Abanto et al., 2011)

La esperanza de vida de las personas con SD ha aumentado considerablemente gracias a la mejora de la atención médica, superando los 60 años de edad. Debido a esto han surgido comorbilidades relacionadas con la edad en este grupo, particularmente la EA. El riesgo de padecer esta enfermedad a lo largo de la vida en personas con SD es ahora superior al 90% y es una de las principales causas de muerte en esta población. (Dubois et al., 2014)

La fuerte asociación entre el SD y la EA tiene una base genética a través del gen de la proteína precursora del amiloide β ($A\beta$), que se encuentra en el cromosoma 21 y se sobreexpresa en personas con SD. En consecuencia, el SD ahora se conceptualiza como una forma de EA determinada genéticamente, similar a su forma autosómica dominante. (Dubois et al., 2014)

A su vez la EA se ha visto relacionada con la EP y existe una hipótesis que explica que la precipitación de β -amiloide podría ser causada por procesos inflamatorios, tanto con contextos subinflamatorios locales como con contextos inflamatorios periféricos, especialmente cuando es estimulada por bacterias gramnegativas como las que representan los factores etiológicos de la periodontitis. (Dioguardi et al., 2020)

Los GWAS han revolucionado el estudio de enfermedades complejas y la heredabilidad de rasgos al identificar loci genéticos significativos en todo el genoma asociados con fenotipos específicos. Actualmente, decenas de miles de asociaciones genéticas están implicadas en enfermedades o rasgos con importancia para todo el genoma y se han descubierto asociaciones adicionales a través de meta-análisis. (Buniello et al., 2019)

Los estudios de GWAS son eficaces para identificar asociaciones de locus y rasgos genéticos individuales. Sin embargo,

los resultados de GWA por sí solos no pueden determinar la responsabilidad genética total de un rasgo determinado en un genoma de interés. Para ello, una herramienta interesante son las puntuaciones de riesgo poligénico, (PRS, por sus siglas en inglés *Polygenic Risk Scores*) que utilizan estadísticas resumidas de GWAS para cuantificar el riesgo genético agregado de una enfermedad o rasgo en función de todas las variantes genéticas asociadas presentes en un genoma. (Choi et al., 2020; Page et al., 2022)

Las puntuaciones de riesgo poligénico son la suma ponderada del riesgo conferido por múltiples SNPs asociados a enfermedades, es decir, puede estimar la predisposición genética que presenta un sujeto a padecer una enfermedad o un rasgo concretos. (O'Sullivan et al., 2022). Para la construcción de una PRS se requiere una muestra descubrimiento, en la que se realiza un GWAS; los resultados de dicho análisis aportan el listado de SNPs y sus pesos (tamaño de efecto, el coeficiente de regresión del análisis de asociación realizado) para construir el PRS. Como muestra descubrimiento se puede usar un conjunto de datos propio o, más frecuentemente, los resultados de un GWAS (o meta-análisis) ya publicado. El PRS diseñado se aplica entonces a la muestra diana, un conjunto de individuos genotipados en los que se calcula el valor cuantitativo de dicho PRS. Es decir, la muestra descubrimiento permitirá estimar el efecto individual y el nivel de asociación de las variantes que se incluirán en la PRS y la muestra diana aportará la información genotípica necesaria para generar una PRS para cada uno de los sujetos de estudio. Estas dos muestras son diferentes ya que se obtienen a partir de individuos distintos. (Lewis & Vassos, 2020)

Las PRS se calculan individualmente para cada sujeto de la muestra diana utilizando la suma de los alelos de riesgo que porta

cada uno, ponderados por su correspondiente efecto. Los sujetos de la muestra control presentarán 0, 1 o 2 alelos de riesgo según sean homocigotos para el alelo protector, heterocigotos u homocigotos para el alelo de riesgo. En estudios con fenotipo caso-control, el tamaño del efecto de cada SNP incluido en el modelo se define como el logaritmo natural de la OR obtenida en la muestra descubrimiento, normalmente a partir de un GWAS o un meta-análisis. Es decir, para cada individuo la PRS se calculará utilizando la siguiente fórmula, donde "i" hace referencia al individuo concreto en el que realizamos el cálculo, "j" es un SNP de un conjunto de "m" SNPs asociados con el fenotipo de interés, "g" es el número de alelos de riesgo para un determinado SNP que porta el individuo y "β" es el tamaño de efecto del SNP en cuestión (lnOR):

$$PRS_i = \sum_{j=1}^m g_{ji} \beta_j$$

Un PRS puede ser aplicado (incluso en la práctica clínica) para inferir el riesgo del mismo fenotipo a partir del cual se creó. Pero, especialmente en investigación, también puede aplicarse un PRS de riesgo de un fenotipo sobre una muestra diana en la que se evalúa el riesgo de un fenotipo distinto; de esta forma se analiza la base genética compartida de ambos fenotipos/enfermedades.

2

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La EP es una enfermedad compleja particularmente prevalente entre las personas con SD, en las que con frecuencia se expresa con un fenotipo agresivo. Además de la consabida repercusión de la EP en la cavidad oral, se ha especulado que este estado inflamatorio crónico puede acarrear consecuencias en otras localizaciones de la economía, participando incluso en procesos de neurodegeneración o de carcinogénesis epigenética.

Aun asumiendo la etiología multifactorial de la EP, en la que tradicionalmente han acaparado especial protagonismo la disbiosis bacteriana, la respuesta inmunológica y los mediadores inflamatorios, en los últimos años ha cobrado un especial interés la susceptibilidad genética. Las bases genéticas de la EP todavía no se han determinado completamente en la población general y la mayoría de los estudios publicados hasta la fecha se limitan al análisis de genes candidatos y/o incorporan sesgos metodológicos sustanciales.

Tras determinar la prevalencia de EP en un colectivo de pacientes con SD, el objetivo principal de este trabajo es detectar variaciones génicas asociadas a la presencia de periodontitis en personas con SD realizando un estudio de asociación del genoma completo (en inglés, GWAS), para identificar genes de susceptibilidad y biomarcadores que permitan predecir su riesgo de aparición, lo que además podría proporcionar nueva información sobre los mecanismos moleculares y genéticos que influyen en el inicio y la progresión de la periodontitis agresiva.

3

MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. GRUPO DE ESTUDIO

El grupo de estudio lo constituyeron 139 individuos con SD, 75 hombres y 64 mujeres, con un rango de edad de entre 12 y 53 años, pertenecientes a la “Federación Galega de Institucións para a síndrome de Down - Down Galicia” (España). Todos ellos satisfacían los siguientes criterios de inclusión:

- Diagnóstico de SD confirmado genéticamente.
- Edad ≥ 12 años.
- Grado de colaboración suficiente para realizar la exploración y la toma de muestras orales.
- Disponer de un consentimiento informado firmado por los participantes o, en su caso, por sus tutores legales.

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación de Santiago-Lugo (referencia 2018/510, ver Anexo III) y se llevó a cabo entre noviembre del 2018 y diciembre del 2019. Todos los participantes fueron informados de la naturaleza y objetivo del estudio y se solicitó la firma del preceptivo consentimiento informado para su participación en el mismo (ver Anexo IV). Si el participante era menor de edad o presentaba un grado de dependencia ≥ 1 , fueron los progenitores o en su defecto el tutor legal, los encargados de autorizar su participación en el estudio y firmar dicho consentimiento. Todos los participantes se incorporaron al estudio de forma voluntaria.

3.2 EXPLORACIÓN ORAL

Se recogió información relacionada con la demografía (asociación de procedencia, edad y sexo), hábitos nocivos, comorbilidades y farmacoterapia; asimismo se realizó una anamnesis y una exploración odontológica básica, incluyendo un periodontograma. La exploración clínica fue realizada por un único examinador utilizando una fuente de luz artificial, un espejo intraoral y una sonda periodontal CP-11 (aplicada ejerciendo una fuerza no superior a los 20-25g). Para recopilar todos estos datos se utilizaron las hojas de registro incluidas en el apartado de Anexos de este documento (ver Anexo I).

Para minimizar la duración de la exploración esta se limitó a los 6 “dientes de Ramfjord” (Ramfjord, 1959). Los dientes seleccionados incluyen: los primeros molares definitivos maxilar derecho y mandibular izquierdo, los primeros premolares maxilar izquierdo y mandibular derecho, y los incisivos centrales maxilar izquierdo y mandibular derecho. En estos dientes se determinó la presencia de placa bacteriana, la profundidad de las bolsas, el sangrado al sondaje y las recesiones. Estas determinaciones se efectuaron en las 4 superficies de cada uno de los dientes mencionados (vestibular, palatino/lingual, mesial y distal). En caso de no estar presentes en boca se recurría a uno de los dientes adyacentes en el mismo sextante.

El estado periodontal se evaluó en base a los registros de los 6 dientes propuestos por Ramfjord, cuya utilidad para determinar el denominado “índice de enfermedad periodontal” ya se ha confirmado previamente (Rams et al., 1993). Para poder establecer el diagnóstico de periodontitis, se registraron las siguientes variables clínicas:

- La presencia de placa dental visible se empleó para determinar el índice de placa (IP) (O`Leary, 1972).

- La recesión (RC). Se definió como la distancia desde el margen gingival a la línea amelo-cementaria.
- La profundidad de sondaje (PS) se consideró la distancia en milímetros desde el margen gingival al fondo de la bolsa periodontal.
- El sangrado al sondaje (SS) se registró de forma dicotómica a los 15-30 segundos de retirar la sonda periodontal del fondo de la bolsa (Ainamo & Bay, 1975).

Para clasificar a los participantes por su biotipo periodontal se aplicaron los criterios del “2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions”(Papapanou et al., 2018; Albandar et al., 2018) que definen la periodontitis como una pérdida de inserción clínica en la zona vestibular de ≥ 3 mm con bolsas de > 3 mm en 2 o más dientes o una pérdida de inserción clínica interdientaria en 2 o más dientes no adyacentes.

Para poder aplicar un diseño de estudio de casos y controles, se seleccionaron solo los participantes con un fenotipo periodontal extremo, bien con un diagnóstico claro de periodontitis -que representaron los casos- o bien con un periodonto sano -que representaron los controles-. El resto de los participantes fueron finalmente excluidos, ya que exhibían cierto grado de gingivitis que hacía imposible incluirlos de forma concluyente en alguno de los dos grupos definidos.

3.3 RECOGIDA Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE SALIVA

A todos los participantes se les tomó una muestra de saliva no estimulada utilizando el sistema ORAcollect® DNA system OCR-100 (DNA Genotek Inc., Kanata, Ontario, Canada). Para ello se

aplicó el siguiente protocolo, que reproduce las instrucciones del fabricante:

1. Colocar el hisopo en la boca.
2. Frotar 10 veces las encías inferiores hacia delante y atrás.
3. Repetir estos movimientos en el lado opuesto de la boca.
4. Sostener el tubo en posición vertical y desenroscar el tapón del tubo.
5. Invertir el tapón, insertar el hisopo en el tubo y cerrarlo herméticamente.
6. Invertir el tubo tapado y agitarlo enérgicamente 15 veces.
7. Conservación a temperatura ambiente hasta la realización de la extracción de ADN.

3.3.1 Extracción y cuantificación del ADN

Las muestras se mantuvieron estables y se almacenaron a temperatura ambiente, hasta que se trasladaron a la Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica (Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, Spain), donde se realizó la extracción del ADN aplicando protocolos estándar (DNA Genotek, 2018):

1. Incubar las muestras a 50°C en una incubadora de aire durante 2 horas.
2. Transferir 500 µL de la muestra mezclada a un tubo de microcentrifugado de 1,5 mL.
3. Añadir 20 µL de PT-L2P al tubo y mezclar durante unos segundos usando un agitador.
4. Incubar en hielo durante 10 minutos.

5. Centrifugar a temperatura ambiente durante 5 minutos a 13.000 rpm.
6. Transferir con cuidado el sobrenadante claro con una pipeta a un tubo de microcentrifuga limpio. Desechar las impurezas.
7. Añadir 600 μL de etanol al 100% a temperatura ambiente. Mezclar suavemente invirtiendo 10 veces.
8. Dejar la muestra a temperatura ambiente durante 10 minutos para permitir la precipitación completa del ADN.
9. Colocar el tubo en la micocentrifugadora y centrifugar a temperatura ambiente durante 2 minutos a 13.000 rpm.
10. Retirar el sobrenadante con cuidado ayudándose de una pipeta y desecharlo.
11. Añadir 250 μL etanol al 70% para eliminar los inhibidores residuales. Dejarlo durante 1 minuto a temperatura ambiente y después retirar el etanol sin agitar la pastilla.
12. Añadir 50 μL de agua MQ para disolver la pastilla de ADN. Mezclar mediante un agitador durante 5 segundos.
13. Congelación del ADN.

Pasadas aproximadamente 24 horas se realizó la cuantificación del ADN de cada una de las muestras para conocer la concentración de ADN y la pureza del mismo.

A continuación, se prepararon las placas de genotipado. Para ello se normalizan las muestras a $10\text{mg}/\mu\text{l}$ y luego se toman 20 μl de cada muestra. En cada placa caben 96 pocillos donde se incluyen las muestras al azar.

3.3.2 Genotipado de las muestras

Se denomina genotipado de SNPs a la serie de procedimientos utilizados para analizar el ADN de una persona con el propósito de inferir el genotipo (la combinación de alelos) que presenta en cada uno de los SNPs incluidos en el array. Ya que la gran mayoría de los SNPs genotipados son bialélicos (alelo A, alelo B, siendo A y B cualquiera de los 4 posibles nucleótidos, A, G, C o T), el genotipo que puede presentar un individuo en esa posición es homocigoto para el alelo A (dos copias del alelo A, genotipo AA) o B (BB) o heterocigoto (una copia de cada alelo, AB). Tras el proceso de genotipado se obtendrá una matriz de datos (individuos x SNPs) cuyo contenido será el genotipo que muestra cada individuo del estudio en cada uno de las posiciones genotipadas.

El genotipado de estas muestras se llevó a cabo utilizando el Axiom Spain Biobank Array (ThermoFisher Scientific), aplicando el protocolo del fabricante (Axiom™ 2.0 Assay Manual Workflow). Este array es un panel que contiene 757,836 marcadores e incluye 50,536 variantes raras seleccionadas en la población española. Esto fue realizado en la misma Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica en base al protocolo de Axiom de Affymetrix, el cual es consultable a través de su página web:

https://www.affymetrix.com/support/downloads/manuals/axiom_assay_user_manual.pdf

3.4 ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DE GENOMA COMPLETO

3.4.1 Control de calidad

Para realizar el control de calidad de los marcadores genéticos, al tratarse de personas con SD, se excluyó del análisis el cromosoma 21 para evitar resultados difícilmente interpretables. Además, también se decidió eliminar el cromosoma 14, ya que, tal y como comentamos en introducción, algunos casos de SD se deben a la translocación de material genético entre los cromosomas 14 y 21; si bien esta traslocación no es tan frecuente como la trisomía, al no conocer el cariotipo de los individuos incluidos en el estudio y teniendo en cuenta la baja N se prefirió evitar el ruido y los artefactos técnicos que estos individuos podría meter en el análisis.

Posteriormente, se efectuó un control de calidad estándar de los datos de genotipado utilizando el software Plink v1.90p (Purcell et al., 2007) y se excluyeron del análisis los marcadores con una tasa de genotipado inferior al 98% y aquellos que se desviaban del equilibrio Hardy Weinberg ($p < 0.001$). No se excluyeron marcadores en función de la MAF (*minor allele frequency*) porque se utilizarán en algunos análisis posteriores. De las 139 muestras genotipadas todas mostraron una tasa de valores perdidos inferior al 2%.

También se evaluó la existencia de estratificación en la población de estudio mediante el análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés *Principal Components Analysis*). (Price et al., 2006) Este es un método estadístico multivariante que en el contexto de un estudio GWAS se realiza para evaluar (y corregir si es el caso) la existencia de diferencias genéticas de base entre la población de casos y de controles. Consiste en crear nuevas variables no correlacionadas a partir de un subconjunto de SNPs independientes. Los componentes resumen

la mayor cantidad posible de varianza original, de mayor a menor proporción, en orden decreciente. Todas las muestras de individuos que se desviaron más de 5 desviaciones típicas del valor medio del componente principal 1(PC1) o del componente principal 2 (PC2) fueron eliminadas. De esta manera se puede comprobar que no existan diferencias genético – poblacionales entre casos y controles. En este estudio tras realizar el análisis de componentes principales se eliminaron 9 muestras (2 de las cuales resultaron formar parte de los casos).

Aplicando estos criterios de control de calidad se seleccionaron finalmente el total de 86 muestras que fueron incluidas en el estudio (50 de casos y 36 de controles) y 695,612 marcadores.

3.4.2 Análisis de asociación

3.4.2.1 Análisis a nivel de SNP

La asociación genética para cada SNP (marcador con $MAF > 1\%$) se analizó mediante regresión logística utilizando el software estadístico R v2.8. (R CoreTeam, 2018). Se empleó como variable dependiente el status caso/control, codificándose como 1 para casos y 0 para los controles, y se incluyó en el modelo de regresión el SNP codificado bajo el modelo genético dominante, en el que se agrupan los heterocigotos y homocigotos para el alelo menor y se comparan con el genotipo homocigoto frecuente. Sólo se testó este modelo genético debido al limitado número de muestras disponibles ya que, al agrupar en una categoría a todos los portadores del alelo de menor frecuencia, los recuentos observados no son tan bajos como en otros modelos, lo cual daría problemas a nivel estadístico. Como covariables en el modelo de regresión logística se emplearon el sexo y la edad (caso/control= $SNP_x + edad + sexo$).

3.4.2.2 Análisis a nivel de gen

Los análisis de asociación a nivel de gen se realizaron en R con la librería SKAT. Para evaluar el efecto combinado de variantes comunes y variantes raras se utilizó el Sequence Kernel Association Test (SKAT) (Ionita-Laza et al., 2013), con 3 enfoques diferentes: adjudicando el mismo peso para todas las variables (SKAT w1), adjudicando el peso de las variables que se propone defecto, un peso que es inversamente proporcional a la MAF de las variantes, (SKAT), y aplicando un método de colapso más simple, el burden test (BURDEN).

Todas las alternativas del análisis SKAT se ajustaron para las covariables sexo y edad. Además, se aplicó una corrección multitest utilizando un umbral de Bonferroni conservador, que garantizaba un nivel de significación de $\alpha=0.05$.

3.4.2.3 Análisis a nivel de pathway

El análisis de vías de señalización o *pathways* es un método utilizado actualmente para el análisis de datos genómicos y, si bien se ha utilizado con frecuencia en estudios de expresión, también se ha popularizado su uso a partir de resultados de GWAS, priorizando un lista de genes en función de los resultados de los análisis a nivel de gen.

Para efectuar el análisis de *pathways* en este estudio se empleó la herramienta *The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery v6.8* (DAVID), que permite el análisis e integración de datos biológicos, permitiendo la identificación de interacciones entre genes.

Se testaron todos los “*focus genes*” con significación nominal ($p<0.05$) en los análisis a nivel de gen. Para ello se incluyó una lista con estos genes obtenida a partir del análisis a nivel de gen y como

resultado se obtiene una lista de las vías enriquecidas en los genes de interés, clasificadas por su p-valor y por el número de genes de la lista implicados, es decir, el software identifica en qué rutas hay una sobre-representación de los genes del listado, para así poder entender la patogenia de la periodontitis.

3.5 PUNTUACIÓN DE RIESGO POLIGÉNICO

3.5.1 Modelo de riesgo poligénico

En el presente trabajo se llevó a cabo un solo modelo de riesgo poligénico, para comprobar la asociación de nuestra muestra con un listado de SNPs, obtenidos a partir de un meta-análisis donde estudiaron la EA, enfermedad que se ha visto altamente asociada y con una gran prevalencia en individuos con SD.

Como muestra descubrimiento se utilizaron los datos del trabajo llevado a cabo por Kunkle et al en 2019. Este estudio fue llevado a cabo en tres fases pero en el presente trabajo se utilizaran los resultados del meta-análisis de las fases 1 y 2. En la fase 1 la muestra de individuos total era de 63.926 procedentes del *International Genomics of Alzheimer Project* (IGAP) y la fase 2 incluía 18.845 individuos procedentes de diversos centros presentes en 10 países (España, Italia, Suecia, Reino Unido, Alemania, Grecia, Bélgica, Finlandia, Hungría y Estados Unidos). Por lo tanto, la muestra total suponía 82,771 individuos de los cuales 30.344 eran casos con EA y 52.427 controles. En total fueron empelados 21 marcadores con significación identificados en este meta-análisis. (Tabla 1)

Como muestra diana se utilizó la serie utilizada en esta tesis formada por 50 casos (con EP) y 36 controles (sin EP) de individuos con SD. Para evaluar la capacidad del PRS de EA de predecir el

riesgo de periodontitis en la muestra diana se realiza, de forma análoga al estudio de asociación, una regresión logística (caso/control) incluyendo en el modelo la variable PRS y las covariables.

Tabla 1. Lista de los 21 SNPs seleccionados para el cálculo de la PRS

SNP	Chr	Posición (bp)*	Gen	AE	P-valor	OR (IC, 95%)
rs4844610	1	207802552	CR1	A	$3,6 \times 10^{-24}$	1,17 (1,13 - 1,21)
rs6733839	2	127892810	BIN1	T	$2,1 \times 10^{-44}$	1,20 (1,17 - 1,23)
rs10933431	2	233981912	INPP5D	G	$3,4 \times 10^{-09}$	0,91 (0,88 - 0,94)
rs9271058	6	32575406	HLA-DRB1	A	$1,4 \times 10^{-10}$	1,10 (1,07 - 1,13)
rs75932628	6	41129252	TREM2	T	$2,7 \times 10^{-15}$	2,08 (1,73 - 2,49)
rs9473117	6	47431284	CD2AP	C	$1,2 \times 10^{-10}$	1,09 (1,06 - 1,12)
rs12539172	7	100091795	NYAP1	T	$9,3 \times 10^{-10}$	0,92 (0,90 - 0,95)
rs10808026	7	143099133	EPHA1	A	$1,3 \times 10^{-10}$	0,90 (0,88 - 0,93)
rs73223431	8	27219987	PTK2B	T	$6,3 \times 10^{-14}$	1,10 (1,07 - 1,13)
rs9331896	8	27467686	CLU	C	$4,6 \times 10^{-24}$	0,88 (0,85 - 0,90)
rs7920721	10	11720308	ECHDC3	G	$2,3 \times 10^{-09}$	1,08 (1,05 - 1,11)
rs3740688	11	47380340	SPI1	G	$5,4 \times 10^{-13}$	0,92 (0,89 - 0,94)
rs7933202	11	59936926	MS4A2	C	$1,9 \times 10^{-19}$	0,89 (0,87 - 0,92)
rs3851179	11	85868640	PICALM	T	$6,0 \times 10^{-25}$	0,88 (0,86 - 0,90)
rs11218343	11	121435587	SORL1	C	$2,9 \times 10^{-12}$	0,80 (0,75 - 0,85)
rs593742	15	59045774	ADAM10	G	$1,3 \times 10^{-07}$	0,93 (0,91 - 0,96)
rs7185636	16	19808163	IQCK	C	$8,4 \times 10^{-08}$	0,92 (0,89 - 0,95)
rs62039712	16	79355857	WWOX	A	$3,7 \times 10^{-08}$	1,16 (1,10 - 1,23)
rs138190086	17	61538148	ACE	A	$7,5 \times 10^{-09}$	1,32 (1,20 - 1,45)
rs3752246	19	1056492	ABCA7	G	$3,1 \times 10^{-16}$	1,15 (1,11 - 1,18)
rs6024870	20	54997568	CASS4	A	$3,5 \times 10^{-08}$	0,88 (0,85 - 0,92)

Abreviaturas: SNP: polimorfismo de un único nucleótido; chr: cromosoma; bp: pares de bases; AE: alelo de efecto; OR: *odds ratio*; IC: intervalo de confianza,

*Posición cromosómica basada en la versión del genoma hg19/GRCh37

3.5.2 Imputación

Para el cálculo de la PRS se empleó como muestra diana las 86 muestras de nuestro estudio. Lo primero que realizamos para poder llevarlo a cabo fue imputar los marcadores que se quieren incluir en el cálculo y no se encontraban presentes en el *Axion Spanish Biobank Array*.

La inferencia de los haplotipos de cada muestra (*phasing*) fue realizada con SHAPEIT v2.r904 (Delaneau & Zagury, 2012). La imputación fue llevada a cabo utilizando la herramienta IMPUTE2 v2.3.2 (Howie et al., 2011) empleando como panel de referencia la fase 3b37 del proyecto 1000 Genomas (Sudmant et al., 2015). La imputación fue realizada siguiendo las recomendaciones de uso de IMPUTE2: tamaño de *chunk*^c de 5Mb con un *buffer*^d de 1 Mb y un tamaño efectivo de la población (N_e)^e de 2×10^4 . Tras la imputación solo se tuvieron en cuenta para los análisis posteriores las asignaciones de genotipo (*calls*) con porcentaje de llamada $\geq 90\%$ y las variantes imputadas con una puntuación de calidad de imputación (INFO, *imputation quality score*) mayor a 0,8.

El proceso de imputación implicaba un gran coste computacional por lo que se llevó a cabo gracias al sistema FinisTerra-II del Centro Tecnológico de Supercomputación de Galicia (CESGA).

3.5.3 Cálculo de puntuaciones de riesgo poligénico

Para el cálculo de las puntuaciones de riesgo poligénico de nuestro modelo se utilizó la función “-- score” de PLINK v1.90 (Purcell et al., 2007).. Las variantes que fueron imputadas y obtuvieron una puntuación de calidad de imputación (INFO) inferior a 0,8 no fueron incluidas en la PRS.

4

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. HISTORIA CLÍNICA Y EXPLORACIÓN ORAL

En la tabla 2 se recogen los diferentes datos demográficos y las condiciones sistémicas de todos los participantes en el estudio, incluyendo los que posteriormente fueron excluidos por no presentar un fenotipo periodontal extremo. Las patologías con mayor prevalencia en el grupo de estudio en su conjunto fueron el hipotiroidismo (n= 19) y las cardiopatías (n= 9) -donde se incluyeron casos de cardiopatía congénita, soplos no filiados e insuficiencia cardiaca-. Otras enfermedades menos prevalentes fueron la leucemia, la diabetes y la enfermedad de Hirschprung.

Tabla 2. Características demográficas y condiciones sistémicas del grupo de estudio, en base al fenotipo periodontal.

		Grupo total	Fenotipo periodontal		
			Con EP	Sin EP	Gingivitis
Edad en años (media±d.e.)		24,9±7,4	27,2±7,2	26,8±7,1	21,4±5,5
Sexo n (%)	Mujeres	64 (46)	18 (34,6)	17 (47,2)	29 (56,9)
	Hombres	75 (54)	34 (65,4)	19 (52,8)	22 (43,1)
Condición sistémica n (%)	Cualquiera	24 (17,3)	10 (19,2)	11 (30,5)	3 (5,9)
	Cardiopatía	9 (6,5)	5 (9,6)	1 (2,8)	3 (5,9)
	Hipotiroidismo	19 (13,7)	2 (3,8)	10 (27,8)	7 (13,7)
	Otras	8 (5,8)	3 (5,8)	3 (8,3)	2 (3,9)

Abreviaturas: d.e., desviación estándar; EP, enfermedad periodontal

En la tabla 3 se detallan los registros relativos al estado periodontal. Todos los valores resultaron más elevados en los casos con EP. Finalmente, considerando fenotipos periodontales extremos, 52 individuos (37,4%) cumplían criterios de EP y 36 (25,8%) tenían un periodonto sano; los 51 individuos restantes (36,6%) se excluyeron por tener un fenotipo periodontal menos definido (gingivitis).

Tabla 3. Diagnóstico periodontal.

	Grupo total	Fenotipo periodontal		
		Con EP	Sin EP	Gingivitis
PS	2,39	2,72	2,07	2,13
RC	0,08	0,14	0,02	0,02
IP	59,5	71,2	41,8	68,3
SS	21,9	32,2	7,7	25,3

Abreviaturas: PS, profundidad de sondaje; RC, recesión gingival; IP, índice de placa; SS, sangrado al sondaje

4.2 ANÁLISIS DE DATOS

4.2.1 Control de calidad

Partimos de un total de 139 muestras de individuos con SD, de los cuales se pudo obtener datos con fenotipos extremos de periodontitis en 52 de ellos y otros 36 presentaban claramente un periodonto sano, según los criterios del “2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions” (Papapanou et al., 2018),(Albandar et al., 2018). El número de variantes del *array* inicial era de 757836 marcadores.

Una de las muestras fue eliminada por estar duplicada y 9 muestras fueron eliminadas por desviarse más de 5sd del valor medio del PC1 o PC2 y tras ello las muestras no mostraron evidencias de estratificación y se obtuvo una población lo más homogénea posible. (Fig. 1)

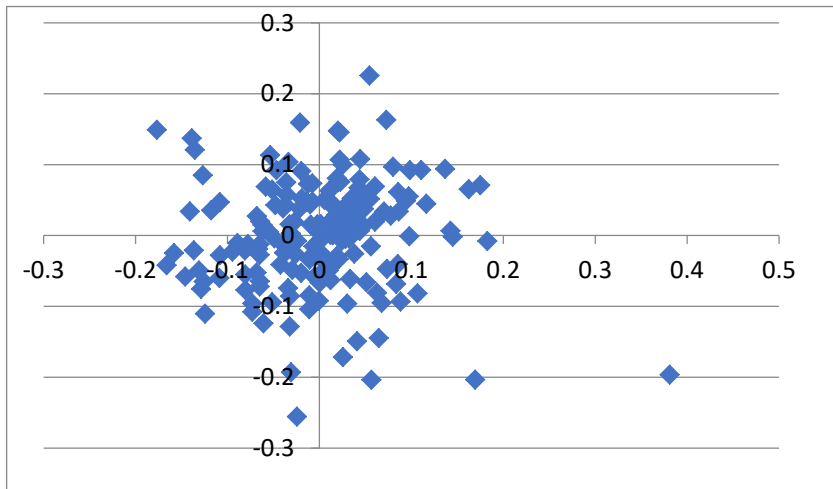


Figura 1: Plot PC1*PC2 identificado utilizando el software estadístico R v2.8

Tras el control de calidad realizado con PLINK, el número de variantes y de individuos se redujo a 86 muestras (50 de casos y 36 de controles) y 695,612 marcadores.

4.3 ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DE GENOMA COMPLETO

4.3.1 Análisis a nivel de SNP

En la tabla 4 se detallan los resultados de los SNPs que mostraron una mayor asociación con periodontitis ($p < 5 \times 10^{-4}$) obtenidos con el modelo dominante. De estos “top SNPs”, en base

a los valores del odds ratio (referido siempre al alelo de menor frecuencia), dos serían considerados de riesgo (rs4315121 y rs11060842) y los otros tres protectores (rs4814890, rs14497874 y rs6203877). Sin embargo, ninguno de estos SNPs llegó a alcanzar un valor de asociación significativo a nivel de GWAS ($p < 5 \times 10^{-8}$), ni tampoco evidencia clara de asociación ($p < 5 \times 10^{-6}$).

Tabla 4. Top SNPs asociados

Marcador	Gen	CHR	Alelo menor	N total	P valor	OR (CI 95%)	Genotipos (Dd+dd/DD)
rs4315121	C12orf74	12	T	87	9.85×10^{-5}	8.84 (3.03-25.77)	PD: 42/9 HP: 15/21
rs4814890	LOC101930064	20	T	87	9.61×10^{-5}	0.13 (0.05-0.35)	PD: 18/33 HP: 29/7
rs1549874	KBTBD12	3	G	87	8.27×10^{-5}	0.08 (0.02-0.29)	PD: 4/47 HP: 18/18
rs11060842	PIWIL1	12	C	86	7.82×10^{-5}	9.05 (2.99-27.33)	PD: 44/7 HP: 16/19
rs6203877	C16orf82(upstr)	16	C	87	8.92×10^{-5}	0.14 (0.05-0.38)	PD: 10/41 HP: 23/13

CHR: cromosoma, OR: odds ratio, CI: intervalo de confianza, DD: homocigotos frecuentes, (Dd+dd): portadores del alelo raro, PD: enfermedad periodontal (casos), HP: periodonto sano (controles).

4.3.2 Análisis a nivel de gen

En la tabla 5 se muestran los resultados de los genes que mostraron mejor resultado en el análisis a nivel de gen ($p < 5 \times 10^{-4}$) y el modelo de test y pesos con el que se obtiene. Tras efectuar la corrección multitest, ninguno de estos *focus genes* alcanzó el umbral de significación de 2.7×10^{-6} para 18,520 genes analizados.

Tabla 5. Genes con mayor significación tras los resultados de SKAT

Gen	N marcadores (test)	P valor	SKAT
PIWIL1	47 (44)	1.90×10^{-5}	SKAT w1
MIR9-2	22(22)	3.76×10^{-5}	Burden
LOC101929147	26(25)	3.93×10^{-5}	SKAT w1
LHCGR	42 (35)	1.04×10^{-4}	SKAT
LOC101928304	38 (35)	1.33×10^{-4}	SKAT
TPR	32 (15)	1.51×10^{-4}	SKAT w1
BCR	43 (30)	1.55×10^{-4}	Burden
DERL2	8 (3)	1.76×10^{-4}	SKAT
CLRN1-AS1	37 (32)	1.97×10^{-4}	Burden
LOC285501	32 (32)	1.97×10^{-4}	SKAT
ACVRL1	14 (4)	2.07×10^{-4}	Burden
PLCXD3	52 (49)	2.50×10^{-4}	SKAT w1
MIR15A	7 (7)	2.61×10^{-4}	Burden
AKR1D1	33 (24)	3.03×10^{-4}	SKAT w1
CDHR4	16 (6)	3.07×10^{-4}	Burden
LSM8	28 (27)	3.21×10^{-4}	SKAT w1
CCDC60	96 (86)	3.30×10^{-4}	SKAT w1
CDCA2	76 (61)	3.32×10^{-4}	SKAT w1
GNA12	50 (49)	3.34×10^{-4}	Buden
LOC646762	11 (10)	3.57×10^{-4}	SKAT w1
COA4	3 (3)	3.70×10^{-4}	SKAT
MCHR1	17 (15)	4.48×10^{-4}	SKAT
CACNG8	25 (23)	4.91×10^{-4}	SKAT
BBS12	44 (23)	4.92×10^{-4}	SKAT

SKAT: SKAT con valores por defecto SKAT w1: SKAT con los mismos pesos para todas las variantes; BURDEN: Burden test.

4.3.3 Análisis de vías de señalización

En la tabla 6 se detalla la lista de *pathways* o vías de señalización resultante tras el análisis con el software DAVID de todos los genes que mostraron un valor $p < 0.05$ en el análisis SKAT a nivel de gen (N=2464 genes). Se obtuvieron 22 rutas donde existía una sobre-representación ($p < 0.05$) de los genes incluidos en el análisis; las que resultaron de mayor interés fueron *Long-term depression* (15 genes de los incluidos en el análisis sobreexpresados), *Fox O signaling pathway* (25 genes de los incluidos en el análisis sobreexpresados) y especialmente *PI3K-Akt signaling pathway*, con 53 genes de los incluidos en el análisis.

Tabla 6. *Pathways* con significancia nominal tras el análisis con el software DAVID

Pathway	Genes (N)	P valor
Long-term depression	15	5.1×10^{-3}
FoxO signaling pathway	25	1.2×10^{-2}
PI3K-Akt signaling pathway	53	1.3×10^{-2}
Glutamatergic synapse	22	1.3×10^{-2}
Rap1 signaling pathway	35	1.5×10^{-2}
VEGF signaling pathway	14	1.5×10^{-2}
Platelet activation	24	1.6×10^{-2}
Malaria	12	1.7×10^{-2}
Eph kinases and ephrins support platelet aggregation	5	1.7×10^{-2}
Fat digestion and absorption	10	2.4×10^{-2}
Ras signaling pathway	36	2.5×10^{-2}
T cell receptor signaling pathway	19	2.6×10^{-2}
Hepatitis B	25	2.9×10^{-2}
Wnt signaling pathway	24	3.0×10^{-2}
Circadian entrainment	18	3.1×10^{-2}
Primary bile acid biosynthesis	6	3.3×10^{-2}
Fc epsilon RI signaling pathway	14	3.4×10^{-2}
Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells	24	3.4×10^{-2}
Rho-selective Guanine Exchange Factor AKAP13 Mediates Stress Fiber Formation	5	3.6×10^{-2}
Fatty acid degradation	10	3.8×10^{-2}
Oxytocin signaling pathway	25	4.1×10^{-2}
TGF-beta signaling pathway	16	4.2×10^{-2}

A continuación, se muestran las 3 vías de señalización con mayor significación con los genes involucrados marcados: *Long-term depression* (figura 2), *FoxO signaling pathway* (figura 3) y *PI3K-Akt signaling pathway* (figura 4).

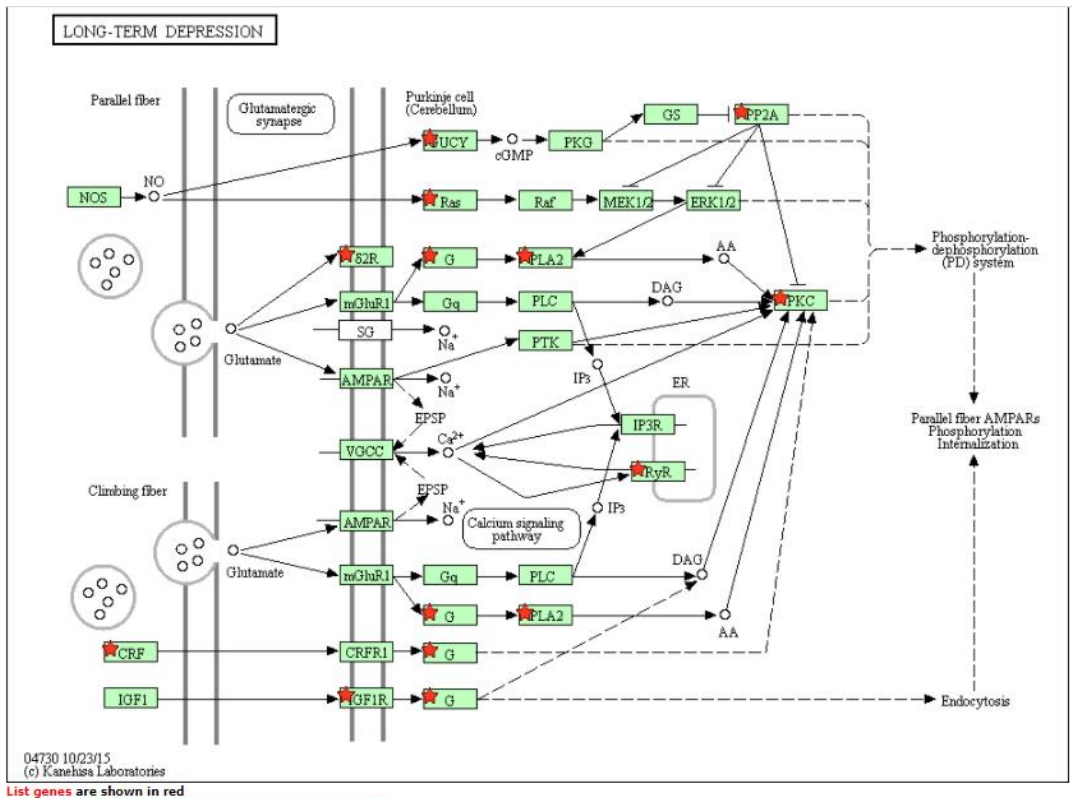


Figura 2. Pathway de Long-term depression identificada mediante el software DAVID. Los genes destacados con estrella señalan los genes del pathway que están sobrerrepresentados en nuestro análisis.

CRF codifica un miembro de la familia del factor liberador de corticotropina. **82R** codifica una proteína asociada a la unión adhesiva de la superfamilia beta-catenina y está implicado en el desarrollo del cerebro y los ojos y en la formación de cáncer. **IGF1R** se une al factor de crecimiento similar a la insulina con alta afinidad y tiene actividad tirosina quinasa. **GUCY** codifica una guanilato ciclasa específica de la retina, que es miembro de la familia de las guanilil ciclasas de membrana. **Ras** hace referencia a un

conjunto de interruptores-reguladores moleculares muy importantes en una gran variedad de rutas de transmisión de señales celulares que controlan diferentes fenómenos: integridad del citoesqueleto; proliferación, diferenciación, adhesión y migración celular y la apoptosis. **G** se expresa en células placentarias derivadas del feto. **PLA2** Cataliza la hidrólisis del enlace éster acilo del ácido graso sn-2 de los fosfoglicéridos, liberando ácidos grasos libres y lisofosfolípidos, y se cree que participa en la regulación del metabolismo de los fosfolípidos en las biomembranas. **PP2A** está implicado en el control negativo del crecimiento y la división celular. **RyR** codifica un receptor de rianodina que se encuentra en el músculo esquelético. **PKC** es una familia de proteínas quinasas específicas de serina y treonina y sirven como receptores principales de ésteres de forbol, una clase de promotores tumorales.

TGFβR codifica una proteína quinasa de serina/treonina, las mutaciones en este gen se han asociado con el síndrome de aneurisma aórtico de Loeys-Dietz. **IGF1R** se une al factor de crecimiento similar a la insulina con alta afinidad y tiene actividad tirosina quinasa. **Homer** codifica un miembro de la familia homérica de proteínas dendríticas, las cuales regulan la función del receptor metabotrófico de glutamato del grupo 1. **IRS** codifica una proteína que es fosforilada por la tirosina quinasa del receptor de insulina. **PI3K** es oncogénico y se le ha implicado en el cáncer de cuello uterino. **Ras** hace referencia a un conjunto de interruptores-reguladores moleculares muy importantes en una gran variedad de rutas de transmisión de señales celulares que controlan diferentes fenómenos: integridad del citoesqueleto; proliferación, diferenciación, adhesión y migración celular y la apoptosis. **AMPK** es un sensor del estado energético celular. **MST1** tiene un receptor que es la tirosina quinasa RON, que tras su activación estimula la motilidad ciliar de las células pulmonares epiteliales ciliadas. **CK1** activa la actividad de la proteína serina/treonina quinasa. **P38** desempeña un papel importante en las cascadas de respuestas celulares provocadas por estímulos extracelulares, como las citocinas proinflamatorias o el estrés físico. **FOXO** participa en el crecimiento y la diferenciación miogénica. **SKP2** se establece como un protooncogén causalmente implicado en la patogénesis de los linfomas. **SMAD3** forma un complejo con otras proteínas SMAD y se une al ADN, funcionando como factor de transcripción y supresor de tumores.

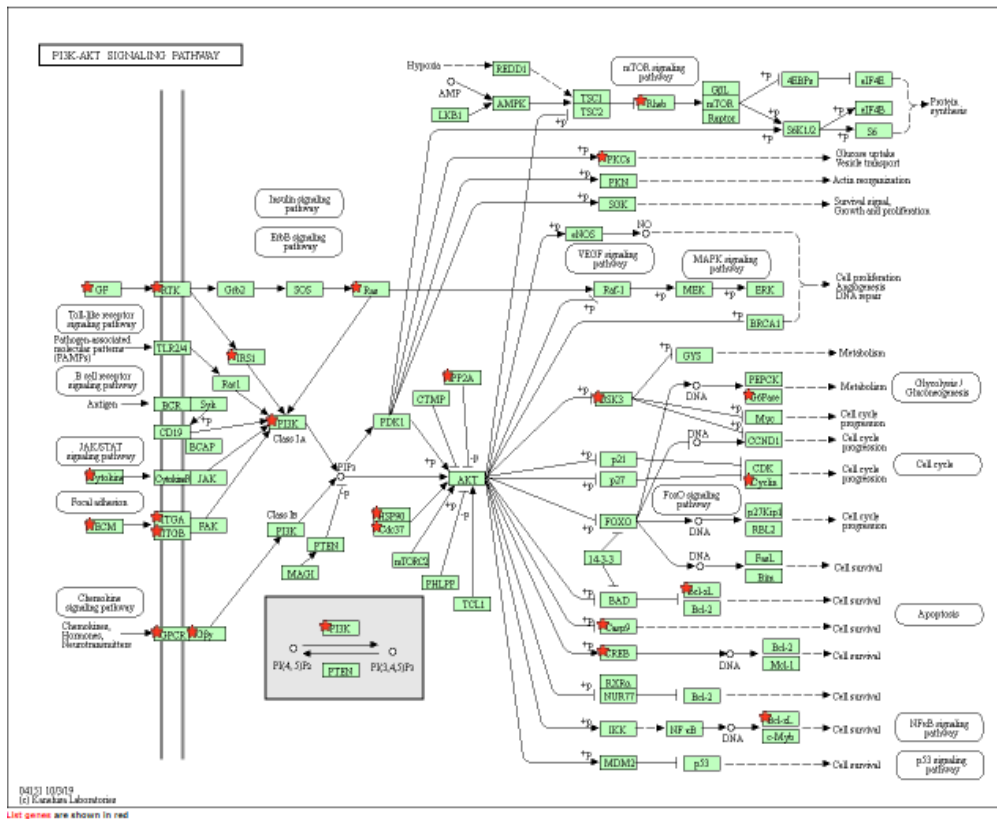


Figura 4. Pathway de PI3K-Akt signaling pathway identificada mediante el software DAVID. Los genes destacados con estrella señalan los genes del pathway que están sobrerrepresentados en nuestro análisis.

RTK está implicado en la regulación negativa de la vía de señalización apoptótica intrínseca. **IRS** codifica una proteína que es fosforilada por la tirosina quinasa del receptor de insulina. **ECM** codifica una proteína de la matriz extracelular. **GPCR** funciona como receptor de L- α -aminoácidos, cationes, osteocalcina, y esteroides. **PI3K** es oncogénico y se le ha implicado en el cáncer de cuello uterino. **Ras** hace referencia a un conjunto de interruptores-reguladores moleculares muy importantes en una gran variedad de rutas de transmisión de señales celulares que controlan diferentes fenómenos: integridad del citoesqueleto; proliferación, diferenciación, adhesión y migración celular y la apoptosis. **PP2A** está implicado en el control negativo del crecimiento y la división celular. **Rheb** es miembro de la pequeña superfamilia GTPasa y codifica una proteína de membrana celular anclada a lípidos con cinco repeticiones de la región de unión a GTP relacionada con RAS.

4.4 MODELO DE RIESGO POLIGÉNICO

La tabla 7 muestra el promedio y rango de valores del PRS aplicado al conjunto de casos y controles con SD del presente estudio.

Tabla 7. PRS en casos y controles

Controles (n=36)	Casos (n=50)
Min: 0,3919	Min: 0,04067
Media: 0,05542	Media: 0,05828
Máx: 0,07004	Máx: 0,07481
P valor= 0,15	

Aunque los valores de la tabla 7 muestran que en los casos el “score” es algo mayor, es decir, exista mayor riesgo de que los individuos con SD y EP padezcan EA, lo cierto es que la PRS basada en los 21 SNPs de Kungle et al. no fue capaz de diferenciar entre casos y controles, ya que mostró un valor de $p=0,15$ en el análisis de regresión, evidenciando así que no existe este riesgo por parte de los pacientes con SD y EP de padecer EA con respecto a aquellos que no tienen EP (Tabla 7).

5

DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

5.1. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

En algunos estudios en los que se aplicaron técnicas de GWAS diseñados para analizar el riesgo genético de EP en la población general, se reclutaron miles de participantes (Shimizu et al., 2015). Sin embargo, en otro estudio de GWAS que se llevó a cabo en individuos con SD para analizar el riesgo de defectos septales atrioventriculares, el tamaño de la muestra fue limitado a 210 casos (Ramachandran et al., 2015). Estas diferencias tan relevantes de los tamaños muestrales se derivan de la propia prevalencia del SD y confirman la dificultad que entraña reclutar a este tipo de participantes, como sucedió en el presente estudio. La aplicación estricta de fenotipos periodontales bien definidos - excluyendo la gingivitis- provocó una pérdida sustancial de individuos del grupo de estudio inicial (n= 139). Esta merma del tamaño muestral evidentemente repercute en la potencia del estudio, lo que podría justificar por qué ninguno de los SNPs analizados alcanzó un valor de asociación significativo a nivel de GWAS.

Cabe añadir que debido que hablamos de una población con SD se decidió retirar del estudio los cromosomas 14 y 21 para evitar errores de interpretación debido a la alta carga genética que pueden presentar en el caso de estos individuos.

A la hora de recoger muestras para realizar estudios genéticos, se prioriza la sangre periférica para la posterior

extracción de ADN. Sin embargo, en este estudio la extracción del ADN se efectuó a partir de muestras de saliva, dado que en ocasiones los individuos con SD presentan un nivel de colaboración limitado, particularmente en los entornos sanitarios, por lo que la utilización de un hisopo permitió agilizar la recogida de las muestras en términos de tiempo y evitar maniobras más invasivas como la venopunción. Si bien tanto las muestras de saliva como las de sangre proporcionan un ADN genómico con resultados de genotipado de alta calidad, se ha señalado que la cantidad de marcadores obtenidos con las muestras de saliva puede ser significativamente menor (Hu et al., 2012). La ventaja inherente al muestreo de saliva es que facilita el reclutamiento de participantes y reduce los recursos de organización necesarios para la recolección de muestras cuando se realizan estudios de carácter multicéntrico (Abraham et al., 2012). Además, la saliva se puede almacenar a 37 ° durante 18 meses, sin comprometer su calidad ni su idoneidad para someterse a análisis genéticos (Anthonappa et al., 2013).

En este estudio se decidió utilizar el índice de Ramfjord, examinando solo 6 dientes de referencia. Aunque el análisis completo de todos los dientes presentes en la boca se considera el “gold standard” para el registro de la EP, por las restricciones de tiempo y logística que esto conlleva resulta poco práctico para recolectar datos a nivel multicéntrico, sobre todo en pacientes cuya colaboración puede ser limitada y que probablemente no consigan tolerar el examen completo. En varios estudios se ha ratificado el uso de los dientes de Ramfjord para evaluar la progresión de la EP, concluyendo que esta es una buena herramienta epidemiológica que permite reclutar un gran número de individuos en entornos con un número reducido de profesionales de la odontología (Najah et al., 2018; Rams et al., 1993). Sin embargo, se ha sugerido que el

examen periodontal limitado a los dientes de Ramfjord, puede infraestimar sustancialmente la detección de bolsas periodontales mayores de 4 mm y, en consecuencia, la prevalencia de EP (Relvas et al., 2014).

Con respecto a los resultados del estudio genético, cabe señalar que la corrección múltiple de Bonferroni es un test excesivamente conservador y dado que en los análisis a nivel de gen el nivel de significación alcanzado no quedó lejos del umbral, este resultado podría llegar a ser estadísticamente significativo, especialmente si consideramos que este tipo de análisis introduce el efecto acumulado de variantes raras o de baja frecuencia.

Otras limitaciones potenciales son la heterogeneidad del grupo de estudio en términos de edad, y la distribución categórica de los participantes en casos y controles, ya que no se puede garantizar que alguno de los controles no desarrolle una periodontitis en el futuro. Asumiendo estas limitaciones, algunos resultados merecen ser comentados ya que podrían ser relevantes y ser confirmados en futuros estudios.

Por último, en cuanto a la realización del PRS cabe destacar que una gran limitación que nos encontramos al realizarlo es la comparativa de una muestra descubrimiento de una población general sin patologías genéticas asociadas contra una muestra diana de una población con un diagnóstico genético de SD, pero se decidió realizar de esta manera ante la ausencia de estudios de GWAS sobre la EA en población con SD.

5.2 PREVALENCIA DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

En la presente serie, la prevalencia de EP en el SD - considerando solo los casos con un fenotipo inequívoco de periodontitis- fue del 27%. En EE.UU. la frecuencia de EP en la

población general en su forma más severa se estima en torno al 11%, coincidiendo con el 11,2% de los registros de estimación observados a nivel global (Kassebaum et al., 2014; Kwon et al., 2021). En una revisión sistemática más reciente realizada a nivel mundial en población general y específicamente para la forma agresiva de la EP, encontraron una prevalencia del 1,6%, aunque existen diferencias geográficas relevantes, ya que en África y Sudamérica esta aumentaba hasta el 4%, mientras que por ejemplo en Europa se limitaba al 0,1% (Bouziane et al., 2020).

En un estudio publicado por Cheng et al., se señaló que aproximadamente entre el 33% y el 49% de los pacientes evaluados presentaban problemas periodontales severos, aunque no se especificaba si se trataba de formas agresivas de periodontitis; además, el colectivo de estudio era de origen asiático, y se ha demostrado que este es particularmente susceptible a la EP comparado con los individuos caucásicos, especialmente en relación a la periodontitis agresiva (Cheng et al., 2007). En otro estudio se constató que entre los individuos con SD había más pérdida de inserción periodontal que en un grupo control de población general, lo que sugiere un mayor índice de destrucción periodontal en los individuos sindrómicos; en consonancia con los hallazgos del presente estudio, la pérdida media de inserción reportada en el grupo con SD fue de 2,7 mm (Khocht et al., 2010).

La prevalencia de la EP en el SD muestra cierto grado de controversia en la literatura, ya que algunos autores sugieren que no existen diferencias significativas entre los individuos con SD y la población general. Según un estudio transversal publicado en 2019 de Amira et al., sólo el 8,6% de los 174 pacientes con SD que integraban el grupo de estudio tenían gingivitis severa, mientras que la mayoría presentaban formas leves o moderadas de gingivitis y una higiene oral regular (Amira et al., 2019). Sin embargo, en

líneas generales se sugiere que los pacientes con SD presentan una elevada prevalencia de EP con respecto a la que se observa en la población general, mostrando además un fenotipo agresivo de EP que cursa con gran destrucción tisular.

Una de las hipótesis que se ha esgrimido para justificar esta propuesta, es que por definición se trata de individuos con un cierto grado de discapacidad intelectual, lo que en la mayoría de ocasiones conlleva un déficit de higiene oral tanto por parte del propio paciente como de sus cuidadores, debido a que su limitada colaboración convierte los procedimientos de higiene oral en una tarea difícil (Stein Duker et al., 2020). En una revisión sistemática publicada en 2010 en la que se incluyeron 27 estudios, se concluyó que las personas con discapacidad intelectual tenían peor higiene bucal, y una mayor prevalencia y severidad de la EP; sin embargo, la frecuencia de caries (activas e inactivas) en estos individuos era igual o incluso menor que en la población general, aunque al considerar solo las caries no tratadas su número era mayor entre las personas con discapacidad intelectual (O'Keefe et al., 2010). Unos años más tarde, en una revisión sistemática publicada por Diéguez-Pérez et al., los autores concluyeron que aunque en los distintos estudios seleccionados se aplicaron criterios heterogéneos de evaluación, la higiene oral era peor en los pacientes con parálisis cerebral y SD que en la población general, y que la inflamación gingival era particularmente importante entre los individuos con SD (Diéguez-Pérez et al., 2016).

Por ello, este colectivo debe recibir atención odontológica temprana y periódica, para evitar la aparición y el avance de otras complicaciones orales; además, algunos hallazgos como la prevalencia de caries no tratadas en las personas con discapacidad, justifican la importancia de la existencia de Unidades de Odontología para personas con Necesidades Especiales que puedan

contribuir a mejorar la salud oral de este colectivo y su estado periodontal en particular (van de Wiel et al., 2018).

Una higiene oral deficiente, por sí sola, no explica el grado de destrucción periodontal tan severo y generalizado que observamos en estos individuos. Se trata de pacientes que, en general, tiene una mayor susceptibilidad a presentar infecciones, debido a que una de las características del síndrome es la deficiencia de su sistema inmunitario (Barkin et al., 2008). Los pacientes con SD presentan recuentos de linfocitos T y B reducidos de forma leve a moderada, con un déficit de la proliferación leucocitaria normal en la infancia, respuestas subóptimas de los anticuerpos a las inmunizaciones, disminución de los niveles de inmunoglobulina A en la saliva y alteraciones en la quimiotaxis de los neutrófilos (Ram & Chinen, 2011). Todas estas características del sistema inmunitario facilitan la aparición y la cronificación de procesos inflamatorios en toda la economía, que les hacen especialmente propensos a la EP (Ferreira et al., 2016).

Por otro lado, son individuos con un alto porcentaje de maloclusiones, en particular la presencia de clase III de Angle, que pueden dificultar la higiene oral por parte de los cuidadores y de los propios pacientes (Al Habashneh et al., 2012). Esto, unido a la elevada prevalencia de respiradores orales en este colectivo y a la macroglosia -o pseudomacroglosia-, ayuda a que la placa se acumule a mayor velocidad y se genere la inflamación de los tejidos orales circundantes, ya que la apertura prolongada de la boca reduce el efecto tampón y de autoclisis de la saliva, y favorece la colonización bacteriana de todas las superficies orales.

5.3. HALLAZGOS GENÉTICOS

Los SNPs son pequeñas modificaciones en el ADN que ocurren naturalmente y pueden diferenciar a un individuo del siguiente (Walter et al., 2008). Existen millones de SNPs a lo largo de todo el genoma humano y el desarrollo de tecnologías avanzadas de genotipado de alto rendimiento ha producido una mejora en la identificación de todos ellos. (Roy et al., 2020) La mayoría de los SNPs son bialélicos, es decir, solo tiene dos alelos, uno menor menos frecuente y un alelo mayor más común. La frecuencia de un SNP a menudo se denota como la frecuencia del alelo menor (MAF, *minor allele frequency*).

En este estudio ningún SNP alcanzó lo que se considera un valor de asociación significativo a nivel GWAS ($p\text{-valor} = < 5 \times 10^{-8}$). Esto podría ser debido a que, como veíamos en un apartado anterior, el tamaño muestral de esta serie no se corresponde con lo que suele ser habitual en este tipo de estudios donde se analizan un gran número de muestras.

El marcador aparentemente más interesante en los resultados a nivel de SNP fue el rs11060842, que forma parte del gen *PIWIL1*, que a su vez es el gen que presenta mayor asociación en el análisis a nivel de gen. En varios estudios se ha demostrado que *PIWIL1* está sobreexpresado en diferentes tipos de cáncer, como el de pulmón o el de endometrio (Z. Chen et al., 2015; Xie et al., 2018). Además, este gen pertenece a la familia PIWIL, un grupo de proteínas que interactúan con una clase de pequeños ARN específicamente expresado en los testículos durante la espermatogonia (Aravin & Hannon, 2008), y se ha relacionado este gen con la infertilidad masculina (Cheung et al., 2019; Friemel et al., 2014). Recientemente, se ha sugerido que en las personas con SD la fertilidad puede estar comprometida (Parizot et al., 2019).

El ARN con el que interactúa la familia de proteínas PIWIL se conoce como piARN, una clase joven de ARN no codificante. Se ha observado la presencia de una expresión aberrante de piARN en diversas enfermedades como la EA, el cáncer o la esquizofrenia (Roy et al., 2020).

Otro marcador interesante, el rs11060842, forma parte del gen *KBTBD12*. Este gen se ha visto relacionado con la expresión del adenoma colorrectal y pólipos hiperplásicos del colon (B. Wang et al., 2021). Curiosamente, en el estudio de Wang et al. del 2022 demostraron que *P. gingivalis*, uno de los periodontopatógenos más habituales en el SD, puede promover la tumorigénesis colorrectal mediante el reclutamiento de células mieloides y la creación de un ambiente tumoral proinflamatorio (X. Wang et al., 2022). En la literatura, podemos encontrar otro artículo interesante donde identificaron el gen *KBTBD12* como uno de los genes que podría tener función en el concepto de fragilidad. Este concepto se utiliza en el ámbito clínico y científico desde hace dos décadas y es descrito como un estado clínico de mayor vulnerabilidad a una mala resolución de la homeostasis después de un evento estresante, lo que podría aumentar el riesgo de resultados adversos tales como caídas, delirio, discapacidad y mortalidad (Mekli et al., 2018).

El segundo gen con mayor nivel de asociación fue el *MIR9-2*. Aunque en la literatura no se ha relacionado con la enfermedad periodontal u otras enfermedades orales, se ha descrito una estrecha asociación entre este gen y la enfermedad de Alzheimer, cuya prevalencia es especialmente elevada entre las personas con SD (Carmona-Iragui et al., 2019). El *MIR9-2* se dirige a dos de las proteínas más importantes en la etiopatogenia de la enfermedad de Alzheimer: la proteína precursora amiloide- β (APP) que transporta el péptido amiloide- β ($A\beta$) que precipita en las placas amiloides, y la BACE1 que escinde la APP para originar $A\beta$. Además, *MIR9-2* se expresa de forma diferente en regiones cerebrales que están

significativamente asociadas con la progresión de la enfermedad (Villela et al., 2016).

En otro estudio del 2015 donde investigaron acerca del gen *MIR9* obtuvieron como resultado que la metilación de dicho gen, especialmente de *MIR9-2* es un evento frecuente en casos de linfoma de Hodgkin (Ben Dhiab et al., 2015). Aunque este no resulta ser uno de los cánceres más frecuentes en los sujetos con SD, como por ejemplo la leucemia mieloide aguda o especialmente la leucemia linfocítica aguda, que sí que se ha sugerido numerosas veces en la literatura que los SD presentan un elevado riesgo de padecerlos (Hasle et al., 2016), se han documentado casos de pacientes con SD con linfoma Hodgkin a edades tempranas (Vonasek et al., 2020).

Recientemente, se ha sugerido que este gen *MIR9-2* pueda jugar un papel importante en la susceptibilidad a padecer trastornos psiquiátricos, como por ejemplo el trastorno del espectro autista (Tovo-Rodrigues et al., 2019). Aunque no ha sido muy estudiado, existe una prevalencia que varía entre el 12 y el 49 % de los individuos con SD de presentar este trastorno asociado (Diniz et al., 2022), lo que podría suponer una prevalencia mayor con respecto a la que encontramos en la población general (Zeidan et al., 2022).

Otro de los genes con asociación es *LHCGR*, que codifica el receptor tanto de la hormona luteinizante como de la coriogonadotropina. Las mutaciones en este gen pueden provocar trastornos en el desarrollo de carácter sexual como pubertad precoz, hipogonadismo hipogonadotrópico o adenoma de Leydig (Costagliola, 2002). Existe evidencia de que este gen está regulado a la baja en embarazos con trisomías del 21 (Banerjee et al., 2005) y se ha visto que las formas séricas de LHCGR podrían servir como un marcador independiente para el SD y aumentar significativamente la eficiencia del programa de detección prenatal (Chambers et al., 2014).

También tenemos que hacer mención al gen *TPR* (*Translocated Promoter Region*), ya que entre las enfermedades asociadas con este gen se encuentra la degeneración de la pulpa (Toyono et al., 1997), y se ha sugerido que la periodontitis crónica puede afectar la estructura de la pulpa dental (Fatemi et al., 2012).

5.4 VÍAS DE SEÑALIZACIÓN

De igual manera que ocurría antes, en cuanto a la asociación de *pathways* si bien la probabilidad obtenida no pasa el umbral de corrección múltiple, sí que se observa significación nominal en varios *pathways* interesantes.

La vía que mayor evidencia obtiene es la *Long-term depression*, la cual está involucrada en fenómenos neurofisiológicos y presenta una gran relevancia en el desarrollo del cerebro, la función cognitiva y las enfermedades del sistema nervioso humano. (Malenka & Bear, 2004). Uno de los rasgos característicos de diversas enfermedades neurodegenerativas, como podría ser la demencia, es la pérdida de sinapsis y la reducción de la densidad de la columna dendrítica de ciertas neuronas (Paolicelli et al., 2011), algo en lo que se ha visto involucrado el *pathway Long-term depression* (Sheng & Ertürk, 2014). En cuanto a demencia en pacientes con SD, según estudios longitudinales se estima que su riesgo a lo largo de la vida de estas personas es superior al 90% a partir de los 40 años, llegando a alcanzar cerca del 100% en personas con SD mayores de 65 años (Fortea et al., 2021).

La segunda vía con mayor asociación es la *FoxO signaling pathway*. Esta vía está involucrada en una amplia gama de funciones celulares tales como la diferenciación celular, la apoptosis, la proliferación celular, el daño y reparación del ADN y como mediadores del estrés oxidativo. Estas propiedades son

fundamentales para la biología celular del cáncer, por lo que existe evidencia que relaciona la desregulación del funcionamiento de las proteínas FOXO con la progresión del cáncer y la tumorigénesis (Myatt & Lam, 2007). Además, según la literatura, esta vía está regulada negativamente por la *PI3K-Akt signaling pathway*, la tercera vía con mayor asociación en este estudio y que resulta de gran interés en el proyecto. Como tal, los factores de transcripción FOXO parecen desempeñar un papel esencial en muchos de los efectos de AKT sobre la proliferación y supervivencia de celular (Kops & Burgering, 1999).

Entre otras cosas, existen pruebas de que la vía de señalización PI3K/AKT/FOXO está implicada en estados de inflamación crónica, como puede ser la psoriasis (Zhang & Zhang, 2019), que se caracteriza por la hiperproliferación de queratinocitos y se ha visto asociada con menor calidad de vida y mayor riesgo de artritis y enfermedades cardiovasculares (Rendon & Schäkel, 2019).

En cuanto a la psoriasis y el SD, se sabe que los pacientes con SD producen un exceso de interferón gamma, uno de los principales culpables de la formación y gravedad de la psoriasis. Esto podría aumentar el riesgo de sufrir eventos cardiovasculares importantes (Sismour & D'Acunto, 2019), cuando la prevalencia de cualquier complicación cardiovascular ya es de por sí alta en este tipo de individuos, especialmente la cardiopatía congénita, que está presente en el 50% de este tipo de sujetos, según ha sido analizado por expertos (Dimopoulos et al., 2023).

Además, algo que resulta muy interesante para este trabajo es que se ha visto que FOXO está activado por bacterias o sus productos en varias subclases de células como linfocitos o queratinocitos, las cuales son importante en la inmunidad de las mucosas. Se ha sugerido de FOXO tiene potencial para desempeñar un papel importante en la homeostasis en los tejidos periodontales

y en la respuesta al desafío bacteriano, por lo que alteraciones en el funcionamiento de FOXO podrían tener un efecto significativo en la susceptibilidad a la EP debido a la desregulación de estas células (Graves & Milovanova, 2019).

El tercer *pathway* con mayor asociación, la vía de señalización de la fosfatidil inositol 3-quinasa (PI3K-Akt), es el que despierta mayor interés. Esta vía participa en diversas funciones celulares _incluida la supervivencia celular_, en el metabolismo de la glucosa, y juega un papel importante en determinadas enfermedades infecciosas (Song et al., 2005). *Porphyromonas gingivalis* produce una proteína, la gingipaina, que actúa como una proteasa tóxica que destruye las células gingivales provocando la periodontitis crónica. Se ha demostrado que las gingipainas atenúan la actividad de PI3K, favoreciendo la destrucción de los tejidos periodontales mediada por *P. gingivalis* en las enfermedades periodontales (Nakayama et al., 2015; Nakayama & Ohara, 2017).

Recientemente, también se ha confirmado que los lipopolisacáridos de la membrana de *P. gingivalis*, al suprimir la vía de señalización PI3K/Akt/mTOR, tienen un impacto significativo en la autofagia de los fibroblastos gingivales (Liu et al., 2018). Esta vía participa en la regulación de la actividad de los leucocitos polimorfonucleares, ya que un aumento de la señalización de PI3K afecta gravemente a la quimiotaxis y la polarización de los neutrófilos (McCormick et al., 2019). En estudios muy recientes realizados en población española, también se ha confirmado que existe una relación entre la periodontitis de progresión rápida y la vía de señalización PIK-Akt (de Coe et al., 2021).

La desregulación de la vía PI3K es uno de los eventos patológicos más frecuentes en el cáncer (Lawrence et al., 2014), particularmente se ha relacionado con la leucemia y sus dianas

terapéuticas (Bortul et al., 2005; Guarente & Sportoletti, 2021). Los niños con SD tienen un riesgo de desarrollar leucemia notablemente mayor que la población general, de modo que esta cromosomopatía se considera el factor de riesgo más común para el desarrollo de leucemia linfoblástica aguda y leucemia mieloide aguda (Whitlock, 2006).

Como ya se ha mencionado, la vía PI3K-Akt participa en el metabolismo de la glucosa, activándose durante la hiperglucemia (Alsadat & Khorami, 2015). En esta misma línea, también existe un mayor riesgo de diabetes tipo 1 en personas con SD que en la población general, y a menudo esta alteración metabólica se diagnostica a edades más tempranas en este colectivo (Alexander et al., 2016).

La actividad de la vía PI3K-Akt-mTOR suprime el proceso de autofagia, mientras que la supresión de mTOR la promueve y protege el tejido neuronal; esto indica la existencia de un mecanismo coordinado de neuroprotección, que está alterado en determinadas patologías neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer o el Parkinson (Heras-Sandoval et al., 2014). A partir de los 40 años, la mayoría de los adultos con SD desarrollan una neuropatología compatible con la enfermedad de Alzheimer y a los 55-60 años al menos el 90% desarrollará una demencia (Hartley et al., 2015). La periodontitis es más frecuente en los ancianos y puede ser especialmente prevalente y severa cuando se reduce la capacidad para mantener una higiene oral adecuada, como ocurre en las personas con EA (Gaur & Agnihotri, 2015). La proliferación de bacterias periodontales provoca un incremento de las citocinas proinflamatorias séricas, y este estado de inflamación sistémica se ha asociado con una mayor tasa de deterioro cognitivo en la enfermedad de Alzheimer (Ide et al., 2016).

Otra vía que en otras ocasiones se ha visto relacionada con el SD es la vía de señalización Wnt ($p < 3 \times 10^{-2}$), encontrándonos en

la literatura que la trisomía del cromosoma 21 regula a la baja esta vía y esto podría contribuir a la desregulación cardiogénica en el SD (Chi et al., 2023). Curiosamente, en este estudio genético el cromosoma 21 fue retirado del análisis y aún así, esta vía sale señalada con 24 de sus genes implicados. En cuanto a la EP, se ha demostrado que los niveles de expresión de esta vía estaban elevados en casos con periodontitis apical en comparación con los del grupo sano. (Guan et al., 2021)

Además, cabe añadir que dos vías que salen destacadas en nuestra lista son la de la Hepatitis B y la de la enfermedad tiroidea autoinmune, patologías que han sido señaladas en la literatura por su elevada prevalencia en individuos con SD con respecto a la población general. (Dicks & Dennis, 1987; Whooten et al., 2018)

6

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

Asumiendo las limitaciones de este estudio, sus resultados permiten establecer las siguientes conclusiones:

- Se confirma que la EP en individuos con SD se desarrolla precozmente y su prevalencia en adultos jóvenes es superior a la reportada en la población general.
- Aunque en el análisis a nivel de SNP y a nivel de gen se identificaron varios marcadores y genes con un grado de evidencia sugestivo de asociación con periodontitis, ninguno de ellos alcanzó el umbral de significación tras realizar corrección multitest.
- En la patogénesis de la EP en el SD están involucradas diferentes rutas metabólicas, entre las que destaca la PI3K-Akt, que regula la proliferación celular y tiene un papel primordial en la respuesta inflamatoria del huésped. En la población general, esta vía de señalización también se ha asociado con un patrón agresivo de EP, clínicamente similar al de los pacientes con SD.

7

BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

- Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I., & Dewhirst, F. E. (2005). Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *Journal of Clinical Microbiology*, *43*(11), 5721–5732. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.11.5721-5732.2005>
- Abanto, J., Ciamponi, A. L., Francischini, E., Murakami, C., de Rezende, N. P. M., & Gallottini, M. (2011). Medical problems and oral care of patients with Down syndrome: a literature review. *Special Care in Dentistry*, *31*(6), 197–203. <https://doi.org/10.1111/j.1754-4505.2011.00211.x>
- Abdi, K., Chen, T., Klein, B. A., Tai, A. K., Coursen, J., Liu, X., Skinner, J., Periasamy, S., Choi, Y., Kessler, B. M., Palmer, R. J., Gittis, A., Matzinger, P., Duncan, M. J., & Singh, N. J. (2017). Mechanisms by which Porphyromonas gingivalis evades innate immunity. *PLOS ONE*, *12*(8), e0182164. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182164>
- Abeleira, M. T., Outumuro, M., Diniz, M., Limeres, J., Ramos, I., & Diz, P. (2015). Morphometry of the hard palate in Down's syndrome through CBCT-image analysis. *Orthodontics & Craniofacial Research*, *18*(4), 212–220. <https://doi.org/10.1111/ocr.12097>
- Abraham, J. E., Maranian, M. J., Spiteri, I., Russell, R., Ingle, S., Luccarini, C., Earl, H. M., Pharoah, P. P., Dunning, A. M., & Caldas, C. (2012). Saliva samples are a viable alternative to

- blood samples as a source of DNA for high throughput genotyping. *BMC Medical Genomics*, 5(1), 19. <https://doi.org/10.1186/1755-8794-5-19>
- Agarwal Gupta, N., & Kabra, M. (2014). Diagnosis and management of Down syndrome. *Indian Journal of Pediatrics*, 81(6), 560–567. <https://doi.org/10.1007/s12098-013-1249-7>
- Al Habashneh, R., Al-Jundi, S., Khader, Y., & Nofel, N. (2012). Oral health status and reasons for not attending dental care among 12- to 16-year-old children with Down syndrome in special needs centres in Jordan. *International Journal of Dental Hygiene*, 10(4), 259–264. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5037.2012.00545.x>
- Albandar, J. M., Susin, C., & Hughes, F. J. (2018). Manifestations of systemic diseases and conditions that affect the periodontal attachment apparatus: Case definitions and diagnostic considerations. In *Journal of periodontology* (Vol. 89, pp. S183–S203). NLM (Medline). <https://doi.org/10.1002/JPER.16-0480>
- Alexander, M., Petri, H., Ding, Y., Wandel, C., Khwaja, O., & Foskett, N. (2016). Morbidity and medication in a large population of individuals with Down syndrome compared to the general population. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 58(3), 246–254. <https://doi.org/10.1111/dmcn.12868>
- Alió, J., Lorenzo, J., Iglesias, M. C., Manso, F. J., & Ramírez, E. M. (2011). Longitudinal maxillary growth in Down syndrome patients. *Angle Orthodontist*, 81(2), 253–259. <https://doi.org/10.2319/040510-189.1>

- Alkawari, H. (2021). Down Syndrome Children, Malocclusion Characteristics and the Need for Orthodontic Treatment Needs (IOTN): A Cross-Sectional Study. *Children*, 8(10), 888. <https://doi.org/10.3390/children8100888>
- Alsadat, S., & Khorami, H. (2015). PI3K / AKT pathway in modulating glucose homeostasis and its alteration in Diabetes. *Annals of Medical and Biomedical Sciences*, 1(2), 46–55. <http://ambs-journal.co.uk/articles/8> AMBS46-55-20151.pdf
- AlSarheed, M. (2015). A comparative study of oral health amongst trisomy 21 children living in Riyadh, Saudi Arabia: Part 1 caries, malocclusion, trauma. *The Saudi Dental Journal*, 27(4), 220–223. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2015.03.003>
- Amaliya, A., Laine, M. L., Delanghe, J. R., Loos, B. G., Van Wijk, A. J., & Van der Velden, U. (2015). Java project on periodontal diseases: periodontal bone loss in relation to environmental and systemic conditions. *Journal of Clinical Periodontology*, 42(4), 325–332. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12381>
- Amano, A., Murakami, J., Akiyama, S., & Morisaki, I. (2008). Etiologic factors of early-onset periodontal disease in Down syndrome. In *Japanese Dental Science Review* (Vol. 44, Issue 2, pp. 118–127). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2008.07.001>
- Amira, S., Fauziah, E., & Suharsini, M. (2019). Occurrence of Gingivitis and Oral Hygiene in Individuals with Down Syndrome. *Pesquisa Brasileira Em Odontopediatria e Clínica Integrada*, 19(1), 1–7. <https://doi.org/10.4034/PBOCI.2019.191.145>
- Anthonappa, R. P., King, N. M., & Rabie, A. B. M. (2013). Evaluation of the long-term storage stability of saliva as a

- source of human DNA. *Clinical Oral Investigations*, 17(7), 1719–1725. <https://doi.org/10.1007/s00784-012-0871-5>
- Antonarakis, S. E., Skotko, B. G., Rafii, M. S., Strydom, A., Pape, S. E., Bianchi, D. W., Sherman, S. L., & Reeves, R. H. (2020). Down syndrome. *Nature Reviews Disease Primers*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0143-7>
- Aravin, A. A., & Hannon, G. J. (2008). Small RNA silencing pathways in germ and stem cells. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 73, 283–290. <https://doi.org/10.1101/sqb.2008.73.058>
- Arizon, M., Nudel, I., Segev, H., Mizraji, G., Elnekave, M., Furmanov, K., Eli-Berchoer, L., Clausen, B. E., Shapira, L., Wilensky, A., & Hovav, A.-H. (2012). Langerhans cells down-regulate inflammation-driven alveolar bone loss. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(18), 7043–7048. <https://doi.org/10.1073/pnas.1116770109>
- Armitage, G. C. (1999). Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. *Annals of Periodontology*, 4(1), 1–6. <https://doi.org/10.1902/annals.1999.4.1.1>
- Baeza, M., Morales, A., Cisterna, C., Cavalla, F., Jara, G., Isamitt, Y., Pino, P., & Gamonal, J. (2020). Effect of periodontal treatment in patients with periodontitis and diabetes: systematic review and meta-analysis. *Journal of Applied Oral Science*, 28. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2019-0248>
- Banerjee, S., Smallwood, A., Chambers, A. E., Papageorghiou, A., Loosfelt, H., Spencer, K., Campbell, S., & Nicolaidis, K. (2005). A link between high serum levels of human chorionic gonadotrophin and chorionic expression of its mature functional receptor (LHCGR) in Down's syndrome

- pregnancies. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 3(1), 25. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-3-25>
- BARKIN, R. M., WESTON, W. L., HUMBERT, J. R., & MAIKE, F. (2008). PHAGOCYTIC FUNCTION IN DOWN SYNDROME-I. CHEMOTAXIS. *Journal of Intellectual Disability Research*, 24(4), 243–249. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2788.1980.tb00078.x>
- Baus-Domínguez, M., Gómez-Díaz, R., Corcuera-Flores, J.-R., Torres-Lagares, D., Ruiz-Villandiego, J.-C., Machuca-Portillo, G., Gutiérrez-Pérez, J.-L., & Serrera-Figallo, M.-A. (2020). Using Genetics in Periodontal Disease to Justify Implant Failure in Down Syndrome Patients. *Journal of Clinical Medicine*, 9(8), 2525. <https://doi.org/10.3390/jcm9082525>
- Baus-Domínguez, M., Gómez-Díaz, R., Torres-Lagares, D., Gutiérrez-Pérez, J.-L., Machuca-Portillo, G., & Serrera-Figallo, M.-Á. (2023). Retrospective Case-Control Study Genes Related to Bone Metabolism That Justify the Condition of Periodontal Disease and Failure of Dental Implants in Patients with down Syndrome. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(9), 7723. <https://doi.org/10.3390/ijms24097723>
- Ben Dhiab, M., Ziadi, S., Louhichi, T., Ben Gacem, R., Ksaa, F., & Trimeche, M. (2015). Investigation of miR9-1, miR9-2 and miR9-3 Methylation in Hodgkin Lymphoma. *Pathobiology*, 82(5), 195–202. <https://doi.org/10.1159/000432402>
- Bortul, R., Tazzari, P. L., Billi, A. M., Tabellini, G., Mantovani, I., Cappellini, A., Grafone, T., Martinelli, G., Conte, R., & Martelli, A. M. (2005). Deguelin, A PI3K/AKT inhibitor, enhances chemosensitivity of leukaemia cells with an active

- PI3K/AKT pathway. *British Journal of Haematology*, 129(5), 677–686. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2005.05504.x>
- Bouziane, A., Hamdoun, R., Abouqal, R., & Ennibi, O. (2020). Global prevalence of aggressive periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 47(4), 406–428. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13266>
- Bull, M. J. (2020). Down Syndrome. *New England Journal of Medicine*, 382(24), 2344–2352. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1706537>
- Buniello, A., MacArthur, J. A. L., Cerezo, M., Harris, L. W., Hayhurst, J., Malangone, C., McMahon, A., Morales, J., Mountjoy, E., Sollis, E., Suveges, D., Vrousitou, O., Whetzel, P. L., Amode, R., Guillen, J. A., Riat, H. S., Trevanion, S. J., Hall, P., Junkins, H., ... Parkinson, H. (2019). The NHGRI-EBI GWAS Catalog of published genome-wide association studies, targeted arrays and summary statistics 2019. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D1005–D1012. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1120>
- Bush, W. S., & Moore, J. H. (2012). Chapter 11: Genome-Wide Association Studies. *PLoS Computational Biology*, 8(12), e1002822. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002822>
- Campbell, L., Millhouse, E., Malcolm, J., & Culshaw, S. (2016). T cells, teeth and tissue destruction – what do T cells do in periodontal disease? *Molecular Oral Microbiology*, 31(6), 445–456. <https://doi.org/10.1111/omi.12144>
- Carmona-Iragui, M., Videla, L., Lleó, A., & Fortea, J. (2019). Down syndrome, Alzheimer disease, and cerebral amyloid angiopathy: The complex triangle of brain amyloidosis. In *Developmental Neurobiology* (Vol. 79, Issue 7, pp. 716–737). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/dneu.22709>

- Cerutti, A., Cols, M., & Puga, I. (2012). Activation of B cells by non-canonical helper signals. *EMBO Reports*, *13*(9), 798–810. <https://doi.org/10.1038/embor.2012.111>
- Chambers, A. E., Mills, W. E., Mercadé, I., Crovetto, F., Crispi, F., Bodi, L. R.-R., Pugia, M., Mira, A., Lasalvia, L., Banerjee, S., Casals, E., & Gratacos, E. (2014). The utility of circulating LHCGR as a predictor of Down's syndrome in early pregnancy. *BMC Pregnancy and Childbirth*, *14*(1), 197. <https://doi.org/10.1186/1471-2393-14-197>
- Chen, Y., Wang, H., Yang, Q., Zhao, W., Chen, Y., Ni, Q., Li, W., Shi, J., Zhang, W., Li, L., Xu, Y., Zhang, H., Miao, D., Xing, L., & Sun, W. (2022). Single-cell RNA landscape of the osteoimmunology microenvironment in periodontitis. *Theranostics*, *12*(3), 1074–1096. <https://doi.org/10.7150/thno.65694>
- Chen, Z., Che, Q., Jiang, F. Z., Wang, H. H., Wang, F. Y., Liao, Y., & Wan, X. P. (2015). Piwil1 causes epigenetic alteration of PTEN gene via upregulation of DNA methyltransferase in type i endometrial cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *463*(4), 876–880. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.06.028>
- Cheng, R. H. W., Leung, W. K., Corbet, E. F., & King, N. M. (2007). Oral health status of adults with Down syndrome in Hong Kong. *Special Care in Dentistry*, *27*(4), 134–138. <https://doi.org/10.1111/j.1754-4505.2007.tb00335.x>
- Cheung, S., Parrella, A., Rosenwaks, Z., & Palermo, G. D. (2019). Genetic and epigenetic profiling of the infertile male. *PLoS ONE*, *14*(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214275>
- Chi, C., Knight, W. E., Riching, A. S., Zhang, Z., Tatabosian, R., Zhuang, Y., Moldovan, R., Rachubinski, A. L., Gao, D., Xu,

- H., Espinosa, J. M., & Song, K. (2023). Interferon hyperactivity impairs cardiogenesis in Down syndrome via downregulation of canonical Wnt signaling. *IScience*, 26(7), 107012. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.107012>
- Choi, S. W., Mak, T. S.-H., & O'Reilly, P. F. (2020). Tutorial: a guide to performing polygenic risk score analyses. *Nature Protocols*, 15(9), 2759–2772. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-0353-1>
- Cole, K. L., Seymour, G. J., & Powell, R. N. (1987). Phenotypic and Functional Analysis of T Cells Extracted from Chronically Inflamed Human Periodontal Tissues. *Journal of Periodontology*, 58(8), 569–573. <https://doi.org/10.1902/jop.1987.58.8.569>
- Contaldo, M., Lucchese, A., Romano, A., Della Vella, F., Di Stasio, D., Serpico, R., & Petruzzi, M. (2021). Oral Microbiota Features in Subjects with Down Syndrome and Periodontal Diseases: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9251. <https://doi.org/10.3390/ijms22179251>
- Coppedè, F. (2009). The complex relationship between folate/homocysteine metabolism and risk of Down syndrome. In *Mutation Research - Reviews in Mutation Research* (Vol. 682, Issue 1, pp. 54–70). <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.001>
- Coppedè, F. (2015). The genetics of folate metabolism and maternal risk of birth of a child with Down syndrome and associated congenital heart defects. In *Frontiers in Genetics* (Vol. 6, Issue JUN). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00223>

- Coppedè, F. (2016). Risk factors for Down syndrome. In *Archives of Toxicology* (Vol. 90, Issue 12, pp. 2917–2929). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1843-3>
- Costagliola, S. (2002). Tyrosine sulfation is required for agonist recognition by glycoprotein hormone receptors. *The EMBO Journal*, 21(4), 504–513. <https://doi.org/10.1093/emboj/21.4.504>
- Cutress, T. W. (1971). Periodontal disease and oral hygiene in trisomy 21. *Archives of Oral Biology*, 16(11), 1345–1355. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(71\)90036-7](https://doi.org/10.1016/0003-9969(71)90036-7)
- de Campos Gomes, F., de Melo-Neto, J. S., Goloni-Bertollo, E. M., & Pavarino, C. (2020). Trends and predictions for survival and mortality in individuals with Down syndrome in Brazil: A 21-year analysis. *Journal of Intellectual Disability Research*, 64(7), 551–560. <https://doi.org/10.1111/jir.12735>
- de Coo, A., Cruz, R., Quintela, I., Herrera, D., Sanz, M., Diz, P., Grandío, S. R., Vallcorba, N., Ramos, I., Oteo, A., Serrano, C., Esmatges, A., Enrile, F., Mateos, L., García, R., Álvarez-Novoa, P., Noguerol, B., Zabalegui, I., Blanco-Moreno, J., ... Blanco, J. (2021). Genome-wide association study of stage III/IV grade C periodontitis (former aggressive periodontitis) in a Spanish population. *Journal of Clinical Periodontology*. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13460>
- Delaneau, O., & Zagury, J.-F. (2012). *Haplotype Inference* (pp. 177–196). https://doi.org/10.1007/978-1-61779-870-2_11
- Delima, A. J., & Van Dyke, T. E. (2003). Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontology* 2000, 31(1), 55–76. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2003.03105.x>

- Deps, T. D., Angelo, G. L., Martins, C. C., Paiva, S. M., Pordeus, I. A., & Borges-Oliveira, A. C. (2015). Association between dental caries and down syndrome: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*, *10*(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127484>
- Dicks, J. L., & Dennis, E. S. (1987). Down's syndrome and hepatitis: an evaluation of carrier status. *The Journal of the American Dental Association*, *114*(5), 637–639. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.1987.0146>
- Dimopoulos, K., Constantine, A., Clift, P., Condliffe, R., Moledina, S., Jansen, K., Inuzuka, R., Veldtman, G. R., Cua, C. L., Tay, E. L. W., Opotowsky, A. R., Giannakoulas, G., Alonso-Gonzalez, R., Cordina, R., Capone, G., Namuyonga, J., Scott, C. H., D'Alto, M., Gamero, F. J., ... Jansen, K. (2023). Cardiovascular Complications of Down Syndrome: Scoping Review and Expert Consensus. *Circulation*, *147*(5), 425–441. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.122.059706>
- Diniz, N. L. F., Parlato-Oliveira, E., Pimenta, P. G. A., Araújo, L. A. de, & Valadares, E. R. (2022). Autism and Down syndrome: early identification and diagnosis. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, *80*(6), 620–630. <https://doi.org/10.1590/0004-282x-anp-2021-0156>
- Dioguardi, M., Crincoli, V., Laino, L., Alovise, M., Sovereto, D., Mastrangelo, F., Lo Russo, L., & Lo Muzio, L. (2020). The Role of Periodontitis and Periodontal Bacteria in the Onset and Progression of Alzheimer's Disease: A Systematic Review. *Journal of Clinical Medicine*, *9*(2), 495. <https://doi.org/10.3390/jcm9020495>

- D'Onofrio, L. (2019). Oral dysfunction as a cause of malocclusion. *Orthodontics & Craniofacial Research*, 22(S1), 43–48. <https://doi.org/10.1111/ocr.12277>
- Dubois, B., Feldman, H. H., Jacova, C., Hampel, H., Molinuevo, J. L., Blennow, K., DeKosky, S. T., Gauthier, S., Selkoe, D., Bateman, R., Cappa, S., Crutch, S., Engelborghs, S., Frisoni, G. B., Fox, N. C., Galasko, D., Habert, M.-O., Jicha, G. A., Nordberg, A., ... Cummings, J. L. (2014). Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *The Lancet Neurology*, 13(6), 614–629. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70090-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70090-0)
- Dutzan, N., Konkel, J. E., Greenwell-Wild, T., & Moutsopoulos, N. M. (2016). Characterization of the human immune cell network at the gingival barrier. *Mucosal Immunology*, 9(5), 1163–1172. <https://doi.org/10.1038/mi.2015.136>
- Elrefadi, R., Beayou, H., Herwis, K., & Musrati, A. (2022). Oral health status in individuals with Down syndrome. *Libyan Journal of Medicine*, 17(1). <https://doi.org/10.1080/19932820.2022.2116794>
- Fatemi, K., Disfani, R., Zare, R., Moeintaghavi, A., Ali, S. A., & Boostani, H. R. (2012). Influence of moderate to severe chronic periodontitis on dental pulp. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 16(4), 558–561. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.106911>
- Faveri, M., Mayer, M. P. A., Feres, M., de Figueiredo, L. C., Dewhirst, F. E., & Paster, B. J. (2008). Microbiological diversity of generalized aggressive periodontitis by 16S rRNA clonal analysis. *Oral Microbiology and Immunology*, 23(2), 112–118. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2007.00397.x>

- Ferreira, R., Michel, R. C., Greggi, S. L. A., De Resende, M. L. R., Sant'Ana, A. C. P., Damante, C. A., & Zangrando, M. S. R. (2016). Prevention and periodontal treatment in Down syndrome patients: A systematic review. In P. C. Trackman (Ed.), *PLoS ONE* (Vol. 11, Issue 6, p. e0158339). Public Library of Science. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158339>
- Ferreira, R., Michel, R. C., Greggi, S. L. A., Resende, M. L. R. de, Sant'Ana, A. C. P., Damante, C. A., & Zangrando, M. S. R. (2016). Prevention and Periodontal Treatment in Down Syndrome Patients: A Systematic Review. *PLOS ONE*, *11*(6), e0158339. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158339>
- Fine, D. H., Markowitz, K., Fairlie, K., Tischio-Bereski, D., Ferrendiz, J., Furgang, D., Paster, B. J., & Dewhirst, F. E. (2013). A Consortium of Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Streptococcus parasanguinis, and Filifactor alocis Is Present in Sites Prior to Bone Loss in a Longitudinal Study of Localized Aggressive Periodontitis. *Journal of Clinical Microbiology*, *51*(9), 2850–2861. <https://doi.org/10.1128/JCM.00729-13>
- Flores-Ramírez, F., Palacios-Guerrero, C., García-Delgado, C., Morales-Jiménez, A. B., Arias-Villegas, C. M., Cervantes, A., & Morán-Barroso, V. F. (2015). Cytogenetic Profile in 1,921 Cases of Trisomy 21 Syndrome. *Archives of Medical Research*, *46*(6), 484–489. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2015.08.001>
- Fortea, J., Zaman, S. H., Hartley, S., Rafii, M. S., Head, E., & Carmona-Iragui, M. (2021). Alzheimer's disease associated with Down syndrome: a genetic form of dementia. *The Lancet*

- Neurology*, 20(11), 930–942. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00245-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00245-3)
- Friemel, C., Ammerpohl, O., Gutwein, J., Schmutzler, A. G., Caliebe, A., Kautza, M., Von Otte, S., Siebert, R., & Bens, S. (2014). Array-based DNA methylation profiling in male infertility reveals allele-specific DNA methylation in PIWIL1 and PIWIL2. *Fertility and Sterility*, 101(4), 1097-1103.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.12.054>
- Frydman A, N. H. (2012). Down syndrome-associated periodontitis: a critical review of the literature. *Compend Contin Educ Dent.*, 33(5), 356–361.
- Fu, Y., Li, X., Gong, Y., & Xu, H. (2014). [Valacyclovir as an adjunct to full-mouth scaling and root planing of advanced chronic periodontitis:a randomized clinical trail]. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue = Shanghai Journal of Stomatology*, 23(1), 103–106.
- Gaur, S., & Agnihotri, R. (2015). Alzheimer’s disease and chronic periodontitis: Is there an association? In *Geriatrics and Gerontology International* (Vol. 15, Issue 4, pp. 391–404). Blackwell Publishing. <https://doi.org/10.1111/ggi.12425>
- Ghaith, B., Al Halabi, M., Khamis, A., & Kowash, M. (2019). Oral health status among children with Down syndrome in Dubai, United Arab Emirates. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*, 9(3), 232. https://doi.org/10.4103/jispcd.JISPCD_396_18
- Goud, EV. S. S., Gulati, S., Agrawal, A., Pani, P., Nishant, K., Pattnaik, S., & Gupta, S. (2021). Implications of Down’s syndrome on oral health status in patients: A prevalence-based study. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 10(11), 4247. https://doi.org/10.4103/jfmpc.jfmpc_885_21

- Graves, D. T., & Milovanova, T. N. (2019). Mucosal Immunity and the FOXO1 Transcription Factors. *Frontiers in Immunology*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02530>
- Guan, X., He, Y., Wei, Z., Shi, C., Li, Y., Zhao, R., Pan, L., Han, Y., Hou, T., & Yang, J. (2021). Crosstalk between Wnt/ β -catenin signaling and NF- κ B signaling contributes to apical periodontitis. *International Immunopharmacology*, *98*, 107843. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107843>
- Guarente, V., & Sportoletti, P. (2021). Lessons, Challenges and Future Therapeutic Opportunities for PI3K Inhibition in CLL. *Cancers*, *13*(6), 1280. <https://doi.org/10.3390/cancers13061280>
- Guimaraes, C. V. A., Donnelly, L. F., Shott, S. R., Amin, R. S., & Kalra, M. (2008). Relative rather than absolute macroglossia in patients with Down syndrome: implications for treatment of obstructive sleep apnea. *Pediatric Radiology*, *38*(10), 1062–1067. <https://doi.org/10.1007/s00247-008-0941-7>
- Hajishengallis, G. (2020). New developments in neutrophil biology and periodontitis. *Periodontology 2000*, *82*(1), 78–92. <https://doi.org/10.1111/prd.12313>
- Hajishengallis, G., Abe, T., Maekawa, T., Hajishengallis, E., & Lambris, J. D. (2013). Role of complement in host–microbe homeostasis of the periodontium. *Seminars in Immunology*, *25*(1), 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2013.04.004>
- Hajishengallis, G., Darveau, R. P., & Curtis, M. A. (2012). The keystone-pathogen hypothesis. *Nature Reviews Microbiology*, *10*(10), 717–725. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2873>

- Han, Y. W., & Wang, X. (2013). Mobile Microbiome. *Journal of Dental Research*, 92(6), 485–491. <https://doi.org/10.1177/0022034513487559>
- Hartley, D., Blumenthal, T., Carrillo, M., DiPaolo, G., Esralew, L., Gardiner, K., Granholm, A. C., Iqbal, K., Krams, M., Lemere, C., Lott, I., Mobley, W., Ness, S., Nixon, R., Potter, H., Reeves, R., Sabbagh, M., Silverman, W., Tycko, B., ... Wisniewski, T. (2015). Down syndrome and Alzheimer's disease: Common pathways, common goals. *Alzheimer's and Dementia*, 11(6), 700–709. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.10.007>
- Hasle, H., Friedman, J. M., Olsen, J. H., & Rasmussen, S. A. (2016). Low risk of solid tumors in persons with Down syndrome. *Genetics in Medicine*, 18(11), 1151–1157. <https://doi.org/10.1038/gim.2016.23>
- HAUBEK, D. (2010). The highly leukotoxic JP2 clone of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: evolutionary aspects, epidemiology and etiological role in aggressive periodontitis. *APMIS*, 118, 1–53. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2010.02665.x>
- Haubek, D., Ennibi, O.-K., Poulsen, K., Væth, M., Poulsen, S., & Kilian, M. (2008). Risk of aggressive periodontitis in adolescent carriers of the JP2 clone of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* in Morocco: a prospective longitudinal cohort study. *The Lancet*, 371(9608), 237–242. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60135-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60135-X)
- Heras-Sandoval, D., Pérez-Rojas, J. M., Hernández-Damián, J., & Pedraza-Chaverri, J. (2014). The role of PI3K/AKT/mTOR pathway in the modulation of autophagy and the clearance of protein aggregates in neurodegeneration. In *Cellular*

- Signalling* (Vol. 26, Issue 12, pp. 2694–2701). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2014.08.019>
- Hienz, S. A., Paliwal, S., & Ivanovski, S. (2015). Mechanisms of Bone Resorption in Periodontitis. *Journal of Immunology Research*, 2015, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2015/615486>
- Highfield, J. (2009). Diagnosis and classification of periodontal disease. *Australian Dental Journal*, 54, S11–S26. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2009.01140.x>
- Howie, B., Marchini, J., & Stephens, M. (2011). Genotype Imputation with Thousands of Genomes. *G3 Genes/Genomes/Genetics*, 1(6), 457–470. <https://doi.org/10.1534/g3.111.001198>
- Hu, Y., Ehli, E. A., Nelson, K., Bohlen, K., Lynch, C., Huizenga, P., Kittlelsrud, J., Soundy, T. J., & Davies, G. E. (2012). Genotyping Performance between Saliva and Blood-Derived Genomic DNAs on the DMET Array: A Comparison. *PLoS ONE*, 7(3), e33968. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033968>
- Huggard, D., Doherty, D. G., & Molloy, E. J. (2020). Immune Dysregulation in Children With Down Syndrome. *Frontiers in Pediatrics*, 8. <https://doi.org/10.3389/fped.2020.00073>
- Ide, M., Harris, M., Stevens, A., Sussams, R., Hopkins, V., Culliford, D., Fuller, J., Ibbett, P., Raybould, R., Thomas, R., Puenter, U., Teeling, J., Perry, V. H., & Holmes, C. (2016). Periodontitis and cognitive decline in Alzheimer’s disease. *PLoS ONE*, 11(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151081>
- Ionita-Laza, I., Lee, S., Makarov, V., Buxbaum, J. D., & Lin, X. (2013). Sequence kernel association tests for the combined

- effect of rare and common variants. *American Journal of Human Genetics*, 92(6), 841–853. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.04.015>
- Ivanyi, L., & Lehner, T. (1970). Stimulation of lymphocyte transformation by bacterial antigens in patients with periodontal disease. *Archives of Oral Biology*, 15(11), 1089–1096. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(70\)90121-4](https://doi.org/10.1016/0003-9969(70)90121-4)
- Izumi, Y., Sugiyama, S., Shinozuka, O., Yamazaki, T., Ohyama, T., & Ishikawa, I. (1989). Defective Neutrophil Chemotaxis in Down's Syndrome Patients and Its Relationship to Periodontal Destruction. *Journal of Periodontology*, 60(5), 238–242. <https://doi.org/10.1902/jop.1989.60.5.238>
- Jia, L., Han, N., Du, J., Guo, L., Luo, Z., & Liu, Y. (2019). Pathogenesis of Important Virulence Factors of Porphyromonas gingivalis via Toll-Like Receptors. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9, 262. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00262>
- Jia, L., & Wu, C. (2014). *The Biology and Functions of Th22 Cells* (pp. 209–230). https://doi.org/10.1007/978-94-017-9487-9_8
- Kaczorowska, N., Kaczorowski, K., Laskowska, J., & Mikulewicz, M. (2019a). Down syndrome as a cause of abnormalities in the craniofacial region: A systematic literature review. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 28(11), 1587–1592. <https://doi.org/10.17219/acem/112785>
- Kaczorowska, N., Kaczorowski, K., Laskowska, J., & Mikulewicz, M. (2019b). Down syndrome as a cause of abnormalities in the craniofacial region: A systematic literature review. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 28(11), 1587–1592. <https://doi.org/10.17219/acem/112785>

- Kamer, A. R., Fortea, J. O., Videla, S., Mayoral, A., Janal, M., Carmona-Iragui, M., Benezam, B., Craig, R. G., Saxena, D., Corby, P., Glodzik, L., Annam, K. R. C., Robbins, M., & Leon, M. J. (2016). Periodontal disease's contribution to Alzheimer's disease progression in Down syndrome. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*, 2(1), 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.dadm.2016.01.001>
- Karmiloff-Smith, A., Al-Janabi, T., D'Souza, H., Groet, J., Massand, E., Mok, K., Startin, C., Fisher, E., Hardy, J., Nizetic, D., Tybulewicz, V., & Strydom, A. (2016). The importance of understanding individual differences in Down syndrome. *F1000Research*, 5. <https://doi.org/10.12688/f1000research.7506.1>
- Kassebaum, N. J., Bernabé, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C. J. L., & Marcenes, W. (2014). Global Burden of Severe Periodontitis in 1990-2010. *Journal of Dental Research*, 93(11), 1045–1053. <https://doi.org/10.1177/0022034514552491>
- Khalaf, H., & Bengtsson, T. (2012). Altered T-Cell Responses by the Periodontal Pathogen *Porphyromonas gingivalis*. *PLoS ONE*, 7(9), e45192. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045192>
- Khocht, A., & Albandar, J. M. (2014). Aggressive forms of periodontitis secondary to systemic disorders. *Periodontology 2000*, 65(1), 134–148. <https://doi.org/10.1111/prd.12015>
- Khocht, A., Janal, M., & Turner, B. (2010). Periodontal health in Down syndrome: Contributions of mental disability, personal, and professional dental care. *Special Care in Dentistry*, 30(3), 118–123. <https://doi.org/10.1111/j.1754-4505.2010.00134.x>

- Khocht, A., Yaskell, T., Janal, M., Turner, B. F., Rams, T. E., Haffajee, A. D., & Socransky, S. S. (2012). Subgingival microbiota in adult Down syndrome periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 47(4), 500–507. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2011.01459.x>
- Klingel, D., Hohoff, A., Kwiecien, R., Wiechmann, D., & Stamm, T. (2017). Growth of the hard palate in infants with Down syndrome compared with healthy infants—A retrospective case control study. *PLOS ONE*, 12(8), e0182728. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182728>
- Kops, G. J. P. L., & Burgering, B. M. T. (1999). Forkhead transcription factors: new insights into protein kinase B (c-akt) signaling. *Journal of Molecular Medicine*, 77(9), 656–665. <https://doi.org/10.1007/s001099900050>
- Krishnan, S., Prise, I. E., Wemyss, K., Schenck, L. P., Bridgeman, H. M., McClure, F. A., Zangerle-Murray, T., O’Boyle, C., Barbera, T. A., Mahmood, F., Bowdish, D. M. E., Zaiss, D. M. W., Grainger, J. R., & Konkel, J. E. (2018). Amphiregulin-producing $\gamma\delta$ T cells are vital for safeguarding oral barrier immune homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(42), 10738–10743. <https://doi.org/10.1073/pnas.1802320115>
- Kumar, S. (2019). Evidence-Based Update on Diagnosis and Management of Gingivitis and Periodontitis. *Dental Clinics of North America*, 63(1), 69–81. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2018.08.005>
- Kunkle, B. W., Grenier-Boley, B., Sims, R., Bis, J. C., Damotte, V., Naj, A. C., Boland, A., Vronskaya, M., van der Lee, S. J., Amlie-Wolf, A., Bellenguez, C., Frizatti, A., Chouraki, V., Martin, E. R., Slegers, K., Badarinarayan, N., Jakobsdottir,

- J., Hamilton-Nelson, K. L., Moreno-Grau, S., ... Pericak-Vance, M. A. (2019). Genetic meta-analysis of diagnosed Alzheimer's disease identifies new risk loci and implicates A β , tau, immunity and lipid processing. *Nature Genetics*, 51(3), 414–430. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0358-2>
- Kwon, T., Lamster, I. B., & Levin, L. (2021). Current Concepts in the Management of Periodontitis. *International Dental Journal*, 71(6), 462–476. <https://doi.org/10.1111/idj.12630>
- Lalla, E., Cheng, B., Lal, S., Kaplan, S., Softness, B., Greenberg, E., Goland, R. S., & Lamster, I. B. (2007). Diabetes mellitus promotes periodontal destruction in children. *Journal of Clinical Periodontology*, 34(4), 294–298. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2007.01054.x>
- Lalla, E., & Papapanou, P. N. (2011). Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. *Nature Reviews Endocrinology*, 7(12), 738–748. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2011.106>
- Lawrence, M. S., Stojanov, P., Mermel, C. H., Robinson, J. T., Garraway, L. A., Golub, T. R., Meyerson, M., Gabriel, S. B., Lander, E. S., & Getz, G. (2014). Discovery and saturation analysis of cancer genes across 21 tumour types. *Nature*, 505(7484), 495–501. <https://doi.org/10.1038/nature12912>
- Lewis, C. M., & Vassos, E. (2020). Polygenic risk scores: from research tools to clinical instruments. *Genome Medicine*, 12(1), 44. <https://doi.org/10.1186/s13073-020-00742-5>
- Licastro, F., Melotti, C., Parente, R., Davis, L. J., Chiricolo, M., Zannotti, M., & Barboni, F. (2005). Derangement of non-specific immunity in Down syndrome subjects: Low leukocyte chemiluminescence activity after phagocytic activation.

- American Journal of Medical Genetics*, 37(S7), 242–246.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.1320370749>
- Liu, J., Wang, X., Zheng, M., & Luan, Q. (2018). Lipopolysaccharide from *Porphyromonas gingivalis* promotes autophagy of human gingival fibroblasts through the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Life Sciences*, 211, 133–139. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.09.023>
- Loo, W. T., Jin, L., Cheung, M. N., Wang, M., & Chow, L. W. (2010). Epigenetic change in e-cardherin and COX-2 to predict chronic periodontitis. *Journal of Translational Medicine*, 8(1), 110. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-8-110>
- Loos, B. G., & Van Dyke, T. E. (2020). The role of inflammation and genetics in periodontal disease. *Periodontology 2000*, 83(1), 26–39. <https://doi.org/10.1111/prd.12297>
- Lourenço, T. G. B., Heller, D., Silva-Boghossian, C. M., Cotton, S. L., Paster, B. J., & Colombo, A. P. V. (2014). Microbial signature profiles of periodontally healthy and diseased patients. *Journal of Clinical Periodontology*, 41(11), 1027–1036. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12302>
- Madianos, P. N., Bobetsis, Y. A., & Offenbacher, S. (2013). Adverse pregnancy outcomes (APOs) and periodontal disease: pathogenic mechanisms. *Journal of Periodontology*, 84(4 Suppl), S170-80. <https://doi.org/10.1902/jop.2013.1340015>
- Malenka, R. C., & Bear, M. F. (2004). LTP and LTD. *Neuron*, 44(1), 5–21. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.09.012>
- McCormick, B., Chu, J. Y., & Vermeren, S. (2019). Cross-talk between Rho GTPases and PI3K in the neutrophil. *Small GTPases*, 10(3), 187–195. <https://doi.org/10.1080/21541248.2017.1304855>

- Mekli, K., Stevens, A., Marshall, A. D., Arpawong, T. E., Phillips, D. F., Tampubolon, G., Lee, J., Prescott, C. A., Nazroo, J. Y., & Pendleton, N. (2018). Frailty Index associates with GRIN2B in two representative samples from the United States and the United Kingdom. *PLOS ONE*, *13*(11), e0207824. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207824>
- Michalowicz, B. S., Diehl, S. R., Gunsolley, J. C., Sparks, B. S., Brooks, C. N., Koertge, T. E., Califano, J. V., Burmeister, J. A., & Schenkein, H. A. (2000). Evidence of a Substantial Genetic Basis for Risk of Adult Periodontitis. *Journal of Periodontology*, *71*(11), 1699–1707. <https://doi.org/10.1902/jop.2000.71.11.1699>
- Mombelli, A. (2018). Microbial colonization of the periodontal pocket and its significance for periodontal therapy. *Periodontology* *2000*, *76*(1), 85–96. <https://doi.org/10.1111/prd.12147>
- Mombelli, A., Casagni, F., & Madianos, P. N. (2002). Can presence or absence of periodontal pathogens distinguish between subjects with chronic and aggressive periodontitis? A systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, *29*, 10–21. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051X.29.s3.1.x>
- Monteiro, M. de F., Casati, M. Z., Taiete, T., do Vale, H. F., Nociti, F. H., Sallum, E. A., Silvério, K. G., & Casarin, R. C. V. (2015). Periodontal clinical and microbiological characteristics in healthy *versus* generalized aggressive periodontitis families. *Journal of Clinical Periodontology*, *42*(10), 914–921. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12459>
- Montserrat Diéguez-Pérez, de Nova-García, M. J., Mourelle-Martínez, M. R., & Bartolomé-Villar, B. (2016). Oral health in children with physical (Cerebral Palsy) and intellectual (Down

- Syndrome) disabilities: Systematic review I. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 8(3), e337–e343. <https://doi.org/10.4317/jced.52922>
- Moraes, M. E. L. de, Moraes, L. C. de, Dotto, G. N., Dotto, P. P., & Santos, L. R. de A. dos. (2007). Dental anomalies in patients with down syndrome. *Brazilian Dental Journal*, 18(4), 346–350. <https://doi.org/10.1590/S0103-64402007000400014>
- Morais-Almeida, M., Wandalsen, G. F., & Solé, D. (2019). Growth and mouth breathers. *Jornal de Pediatria*, 95, 66–71. <https://doi.org/10.1016/j.jped.2018.11.005>
- Moreira, M. J. S., Schwertner, C., Jardim, J. J., & Hashizume, L. N. (2016). Dental caries in individuals with Down syndrome: A systematic review. In *International Journal of Paediatric Dentistry* (Vol. 26, Issue 1, pp. 3–12). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/ipd.12212>
- Morris, J. K., Wald, N. J., Mutton, D. E., & Alberman, E. (2003). Comparison of models of maternal age-specific risk for Down syndrome live births. *Prenatal Diagnosis*, 23(3), 252–258. <https://doi.org/10.1002/pd.568>
- Mubayrik, A. Bin. (2016). The Dental Needs and Treatment of Patients with Down Syndrome. In *Dental Clinics of North America* (Vol. 60, Issue 3, pp. 613–626). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2016.02.003>
- Munz, M., Willenborg, C., Richter, G. M., Jockel-Schneider, Y., Graetz, C., Staufenbiel, I., Wellmann, J., Berger, K., Krone, B., Hoffmann, P., van der Velde, N., Uitterlinden, A. G., de Groot, L. C. P. G. M., Sawalha, A. H., Direskeneli, H., Saruhan-Direskeneli, G., Guzeldemir-Akcanan, E., Keceli, H. G., Laudes, M., ... Schaefer, A. S. (2017). A genome-wide association study identifies nucleotide variants at SIGLEC5

- and DEFA1A3 as risk loci for periodontitis. *Human Molecular Genetics*, 26(13), 2577–2588. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx151>
- Myatt, S. S., & Lam, E. W.-F. (2007). The emerging roles of forkhead box (Fox) proteins in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 7(11), 847–859. <https://doi.org/10.1038/nrc2223>
- Mysak, J., Podzimek, S., Sommerova, P., Lyuya-Mi, Y., Bartova, J., Janatova, T., Prochazkova, J., & Duskova, J. (2014). *Porphyromonas gingivalis*: Major Periodontopathic Pathogen Overview. *Journal of Immunology Research*, 2014, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2014/476068>
- Najah, Dr. A. N., Seham, Dr. S. S., & Fadhil, Dr. R. F. (2018). The usefulness of Ramfjord teeth to represent the full-mouth pocket depth in epidemiological study. *Mustansiria Dental Journal*, 7(2), 272–275. <https://doi.org/10.32828/mdj.v7i2.411>
- Nakayama, M., Inoue, T., Naito, M., Nakayama, K., & Ohara, N. (2015). Attenuation of the phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt signaling pathway by porphyromonas gingivalis gingipains RgpA, RgpB, and Kgp. *Journal of Biological Chemistry*, 290(8), 5190–5202. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.591610>
- Nakayama, M., & Ohara, N. (2017). Molecular mechanisms of Porphyromonas gingivalis-host cell interaction on periodontal diseases. In *Japanese Dental Science Review* (Vol. 53, Issue 4, pp. 134–140). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2017.06.001>
- Namazi, N., Larijani, B., & Azadbakht, L. (2018). Association between the dietary inflammatory index and the incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Public Health*, 164, 148–156. <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2018.04.015>

- Nateghi Rostami, M., Douraghi, M., Miramin Mohammadi, A., & Nikmanesh, B. (2012). Altered serum pro-inflammatory cytokines in children with Down's syndrome. *European Cytokine Network*, 23(2), 64–67. <https://doi.org/10.1684/ecn.2012.0307>
- Nazir, M., Al-Ansari, A., Al-Khalifa, K., Alhareky, M., Gaffar, B., & Almas, K. (2020). Global Prevalence of Periodontal Disease and Lack of Its Surveillance. *The Scientific World Journal*, 2020, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2020/2146160>
- Nóvoa, L., Sánchez, M. D. C., Blanco, J., Limeres, J., Cuenca, M., Marín, M. J., Sanz, M., Herrera, D., & Diz, P. (2020). The subgingival microbiome in patients with down syndrome and periodontitis. *Journal of Clinical Medicine*, 9(8), 1–11. <https://doi.org/10.3390/jcm9082482>
- Offenbacher, S., Divaris, K., Barros, S. P., Moss, K. L., Marchesan, J. T., Morelli, T., Zhang, S., Kim, S., Sun, L., Beck, J. D., Laudes, M., Munz, M., Schaefer, A. S., & North, K. E. (2016). Genome-wide association study of biologically informed periodontal complex traits offers novel insights into the genetic basis of periodontal disease. *Human Molecular Genetics*, 25(10), 2113–2129. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw069>
- Ohara-Nemoto, Y., Haraga, H., Kimura, S., & Nemoto, T. K. (2008). Occurrence of staphylococci in the oral cavities of healthy adults and nasal–oral trafficking of the bacteria. *Journal of Medical Microbiology*, 57(1), 95–99. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.47561-0>
- Oliveira, A. C., Paiva, S. M., Martins, M. T., Torres, C. S., & Pordeus, I. A. (2011). Prevalence and determinant factors of malocclusion in children with special needs. *The European*

Journal of Orthodontics, 33(4), 413–418.
<https://doi.org/10.1093/ejo/cjq094>

O’Sullivan, J. W., Raghavan, S., Marquez-Luna, C., Luzum, J. A., Damrauer, S. M., Ashley, E. A., O’Donnell, C. J., Willer, C. J., & Natarajan, P. (2022). Polygenic Risk Scores for Cardiovascular Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*, 146(8).
<https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001077>

Page, M. L., Vance, E. L., Cloward, M. E., Ringger, E., Dayton, L., Ebbert, M. T. W., Weiner, M. W., Aisen, P., Petersen, R., Jack, C. R., Jagust, W., Trojanowki, J. Q., Toga, A. W., Beckett, L., Green, R. C., Saykin, A. J., Morris, J. C., Perrin, R. J., Shaw, L. M., ... Kauwe, J. S. K. (2022). The Polygenic Risk Score Knowledge Base offers a centralized online repository for calculating and contextualizing polygenic risk scores. *Communications Biology*, 5(1), 899.
<https://doi.org/10.1038/s42003-022-03795-x>

PAGE, R. C., & KORNMAN, K. S. (1997). The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000*, 14(1), 9–11. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1997.tb00189.x>

Palaska, P. K., & Antonarakis, G. S. (2016). Prevalence and patterns of permanent tooth agenesis in individuals with Down syndrome: a meta-analysis. *European Journal of Oral Sciences*, 124(4), 317–328. <https://doi.org/10.1111/eos.12282>

Paolicelli, R. C., Bolasco, G., Pagani, F., Maggi, L., Scianni, M., Panzanelli, P., Giustetto, M., Ferreira, T. A., Guiducci, E., Dumas, L., Ragozzino, D., & Gross, C. T. (2011). Synaptic Pruning by Microglia Is Necessary for Normal Brain

- Development. *Science*, 333(6048), 1456–1458.
<https://doi.org/10.1126/science.1202529>
- Papapanou, P. N., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D. H., Flemmig, T. F., Garcia, R., Giannobile, W. V., Graziani, F., Greenwell, H., Herrera, D., Kao, R. T., Kebschull, M., Kinane, D. F., Kirkwood, K. L., Kocher, T., Kornman, K. S., Kumar, P. S., ... Tonetti, M. S. (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Periodontology*, 89, S173–S182.
<https://doi.org/10.1002/JPER.17-0721>
- Papavassiliou, P., Charalsawadi, C., Rafferty, K., & Jackson-Cook, C. (2015). Mosaicism for trisomy 21: A review. In *American Journal of Medical Genetics, Part A* (Vol. 167, Issue 1, pp. 26–39). Wiley-Liss Inc. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36861>
- Parahitiyawa, N., Scully, C., Leung, W., Yam, W., Jin, L., & Samaranayake, L. (2010). Exploring the oral bacterial flora: current status and future directions. *Oral Diseases*, 16(2), 136–145. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2009.01607.x>
- Parizot, E., Dard, R., Janel, N., & Vialard, F. (2019). Down syndrome and infertility: what support should we provide? In *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* (Vol. 36, Issue 6, pp. 1063–1067). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01457-2>
- Pérez-Chaparro, P. J., Gonçalves, C., Figueiredo, L. C., Faveri, M., Lobão, E., Tamashiro, N., Duarte, P., & Feres, M. (2014). Newly Identified Pathogens Associated with Periodontitis. *Journal of Dental Research*, 93(9), 846–858.
<https://doi.org/10.1177/0022034514542468>

- Petersen, M. E., Zhang, F., Schupf, N., Krinsky-McHale, S. J., Hall, J., Mapstone, M., Cheema, A., Silverman, W., Lott, I., Rafii, M. S., Handen, B., Klunk, W., Head, E., Christian, B., Foroud, T., Lai, F., Rosas, H. D., Zaman, S., Ances, B. M., ... O'Bryant, S. (2020). Proteomic profiles for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment among adults with Down syndrome spanning serum and plasma: An Alzheimer's Biomarker Consortium–Down Syndrome (ABC–DS) study. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*, 12(1). <https://doi.org/10.1002/dad2.12039>
- Price, A. L., Patterson, N. J., Plenge, R. M., Weinblatt, M. E., Shadick, N. A., & Reich, D. (2006). Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nature Genetics*, 38(8), 904–909. <https://doi.org/10.1038/ng1847>
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A. R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., De Bakker, P. I. W., Daly, M. J., & Sham, P. C. (2007). PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American Journal of Human Genetics*, 81(3), 559–575. <https://doi.org/10.1086/519795>
- Ram, G., & Chinen, J. (2011a). Infections and immunodeficiency in Down syndrome. *Clinical and Experimental Immunology*, 164(1), 9–16. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2011.04335.x>
- Ram, G., & Chinen, J. (2011b). Infections and immunodeficiency in Down syndrome. *Clinical and Experimental Immunology*, 164(1), 9–16. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2011.04335.x>

- Ramachandran, D., Zeng, Z., Locke, A. E., Mulle, J. G., Bean, L. J. H., Rosser, T. C., Dooley, K. J., Cua, C. L., Capone, G. T., Reeves, R. H., Maslen, C. L., Cutler, D. J., Feingold, E., Sherman, S. L., & Zwick, M. E. (2015). Genome-Wide Association Study of Down Syndrome-Associated Atrioventricular Septal Defects. *G3 Genes/Genomes/Genetics*, 5(10), 1961–1971. <https://doi.org/10.1534/g3.115.019943>
- Rams, T. E., Oler, J., Listgarten, M. A., & Slots, J. (1993a). Utility of Ramfjord index teeth to assess periodontal disease progression in longitudinal studies. *Journal of Clinical Periodontology*, 20(2), 147–150. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1993.tb00330.x>
- Rams, T. E., Oler, J., Listgarten, M. A., & Slots, J. (1993b). Utility of Ramfjord index teeth to assess periodontal disease progression in longitudinal studies. *Journal of Clinical Periodontology*, 20(2), 147–150. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1993.tb00330.x>
- Rendon, A., & Schäkel, K. (2019). Psoriasis Pathogenesis and Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(6), 1475. <https://doi.org/10.3390/ijms20061475>
- Rowsey, R., Kashevarova, A., Murdoch, B., Dickenson, C., Woodruff, T., Cheng, E., Hunt, P., & Hassold, T. (2013). Germline mosaicism does not explain the maternal age effect on trisomy. *American Journal of Medical Genetics, Part A*, 161(10), 2495–2503. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36120>
- Roy, J., Anand, K., Mohapatra, S., Nayak, R., Chattopadhyay, T., & Mallick, B. (2020). Single nucleotide polymorphisms in piRNA-pathway genes: an insight into genetic determinants of human diseases. *Molecular Genetics and Genomics*, 295(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s00438-019-01612-5>

- Ruy Carneiro, N. C., de Castro Souza, I., Duda Deps Almeida, T., Serra-Negra, J. M. C., Almeida Pordeus, I., & Borges-Oliveira, A. C. (2020). Risk factors associated with reported bruxism among children and adolescents with Down Syndrome. *Cranio - Journal of Craniomandibular Practice*, 38(6), 365–369. <https://doi.org/10.1080/08869634.2018.1557430>
- Ryder, M. I. (2010). Comparison of neutrophil functions in aggressive and chronic periodontitis. *Periodontology 2000*, 53(1), 124–137. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2009.00327.x>
- Scalioni, F., Carrada, C. F., Abreu, L., Ribeiro, R. A., & Paiva, S. M. (2018). Perception of parents/caregivers on the oral health of children/adolescents with Down syndrome. *Special Care in Dentistry*, 38(6), 382–390. <https://doi.org/10.1111/scd.12321>
- Sedghi, L. M., Bacino, M., & Kapila, Y. L. (2021). Periodontal Disease: The Good, The Bad, and The Unknown. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.766944>
- Shaddox, L. M., Huang, H., Lin, T., Hou, W., Harrison, P. L., Aukhil, I., Walker, C. B., Klepac-Ceraj, V., & Paster, B. J. (2012). Microbiological Characterization in Children with Aggressive Periodontitis. *Journal of Dental Research*, 91(10), 927–933. <https://doi.org/10.1177/0022034512456039>
- Sheng, M., & Ertürk, A. (2014). Long-term depression: a cell biological view. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1633), 20130138. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0138>
- Shimizu, S., Momozawa, Y., Takahashi, A., Nagasawa, T., Ashikawa, K., Terada, Y., Izumi, Y., Kobayashi, H., Tsuji,

- M., Kubo, M., & Furuichi, Y. (2015). A Genome-wide Association Study of Periodontitis in a Japanese Population. *Journal of Dental Research*, 94(4), 555–561. <https://doi.org/10.1177/0022034515570315>
- Sismour, B., & D'Acunto, K. (2019). Down syndrome, severe psoriasis, and increased risk for cardiovascular events. *JAAPA*, 32(12), 31–33. <https://doi.org/10.1097/01.JAA.0000604860.71819.c1>
- Skrinjarić, T., Glavina, D., & Jukić, J. (2004). Palatal and dental arch morphology in Down syndrome. *Collegium Antropologicum*, 28(2), 841–847.
- Slots, J. (2019). Focal infection of periodontal origin. *Periodontology* 2000, 79(1), 233–235. <https://doi.org/10.1111/prd.12258>
- Song, G., Ouyang, G., & Bao, S. (2005). The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival. In *Journal of Cellular and Molecular Medicine* (Vol. 9, Issue 1, pp. 59–71). *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2005.tb00337.x>
- Stein Duker, L. I., Richter, M., Lane, C. J., Polido, J. C., & Cermak, S. A. (2020). Oral Care Experiences and Challenges for Children with Down Syndrome: Reports From Caregivers. *Pediatric Dentistry*, 42(6), 430–435.
- Stensson, M., Norderyd, J., Van Riper, M., Marks, L., & Björk, M. (2021). Parents' perceptions of oral health, general health and dental health care for children with Down syndrome in Sweden. *Acta Odontologica Scandinavica*, 79(4), 248–255. <https://doi.org/10.1080/00016357.2020.1824015>

- Sudmant, P. H., Rausch, T., Gardner, E. J., Handsaker, R. E., Abyzov, A., Huddleston, J., Zhang, Y., Ye, K., Jun, G., Hsi-Yang Fritz, M., Konkil, M. K., Malhotra, A., Stütz, A. M., Shi, X., Paolo Casale, F., Chen, J., Hormozdiari, F., Dayama, G., Chen, K., ... Korbil, J. O. (2015). An integrated map of structural variation in 2,504 human genomes. *Nature*, 526(7571), 75–81. <https://doi.org/10.1038/nature15394>
- Szyszkka-Sommerfeld, L., Sycińska-Dziarnowska, M., Machoy, M., Wilczyński, S., Maglitta, M., Cerner, M., Spagnuolo, G., & Woźniak, K. (2022). Electromyographic Study of Masticatory Muscle Function in Children with Down Syndrome. *Journal of Clinical Medicine*, 11(3), 506. <https://doi.org/10.3390/jcm11030506>
- Tonoyan, L., Vincent-Bugnas, S., Olivieri, C.-V., & Doglio, A. (2019). New Viral Facets in Oral Diseases: The EBV Paradox. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(23), 5861. <https://doi.org/10.3390/ijms20235861>
- Tovo-Rodrigues, L., Quinte, G., Brum, C., Ghisleni, G., Bastos, C., Oliveira, I., Barros, F., Barros, A., Santos, I., Rohde, L., Hutz, M., & Matijasevich, A. (2019). The Role of MIR9-2 in Shared Susceptibility of Psychiatric Disorders during Childhood: A Population-Based Birth Cohort Study. *Genes*, 10(8), 626. <https://doi.org/10.3390/genes10080626>
- Toyono, T., Nakashima, M., Kuhara, S., & Akamine, A. (1997). Expression of TGF- β superfamily receptors in dental pulp. *Journal of Dental Research*, 76(9), 1555–1560. <https://doi.org/10.1177/00220345970760090701>
- van de Wiel, B., van Loon, M., Reuland, W., & Bruers, J. (2018). Periodontal disease in Down's syndrome patients. A

- retrospective study. *Special Care in Dentistry*, 38(5), 299–306. <https://doi.org/10.1111/scd.12314>
- van Marrewijk, D. J. F., van Stiphout, M. A. E., Reuland-Bosma, W., Bronkhorst, E. M., & Ongkosuwito, E. M. (2016). The relationship between craniofacial development and hypodontia in patients with Down syndrome. *European Journal of Orthodontics*, 38(2), 178–183. <https://doi.org/10.1093/ejo/cjv054>
- Verstegen, R. H. J., Kusters, M. A. A., Gemen, E. F. A., & De Vries, E. (2010). Down Syndrome B-Lymphocyte Subpopulations, Intrinsic Defect or Decreased T-Lymphocyte Help. *Pediatric Research*, 67(5), 563–569. <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e3181d4ecc1>
- Vieira Colombo, A. P., Magalhães, C. B., Hartenbach, F. A. R. R., Martins do Souto, R., & Maciel da Silva-Boghossian, C. (2016). Periodontal-disease-associated biofilm: A reservoir for pathogens of medical importance. *Microbial Pathogenesis*, 94, 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.09.009>
- Villela, D., Ramalho, R. F., Silva, A. R. T., Brentani, H., Suemoto, C. K., Pasqualucci, C. A., Grinberg, L. T., Krepischi, A. C. V., & Rosenberg, C. (2016). Differential DNA Methylation of MicroRNA Genes in Temporal Cortex from Alzheimer's Disease Individuals. *Neural Plasticity*, 2016, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2016/2584940>
- Vonasek, J., Edslev, P. W., d'Amore, F., & Hasle, H. (2020). Brentuximab vedotin monotherapy is an effective treatment in a frail pediatric patient with Down syndrome and classical Hodgkin lymphoma. *Pediatric Blood & Cancer*, 67(2). <https://doi.org/10.1002/pbc.28082>

- Walter, N. A. R., McWeeney, S. K., Peters, S. T., Belknap, J. K., Hitzemann, R., & Buck, K. J. (2008). Single-nucleotide polymorphism masking. *Alcohol Research & Health: The Journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism*, 31(3), 270–271.
- Wang, B., Wang, X., Tseng, Y., Huang, M., Luo, F., Zhang, J., & Liu, J. (2021). Distinguishing colorectal adenoma from hyperplastic polyp by WNT2 expression. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 35(10).
<https://doi.org/10.1002/jcla.23961>
- Wang, X., Jia, Y., Wen, L., Mu, W., Wu, X., Liu, T., Liu, X., Fang, J., Luan, Y., Chen, P., Gao, J., Nguyen, K.-A., Cui, J., Zeng, G., Lan, P., Chen, Q., Cheng, B., & Wang, Z. (2022). Correction: Porphyromonas Gingivalis Promotes Colorectal Carcinoma by Activating the Hematopoietic NLRP3 Inflammasome. *Cancer Research*, 82(11), 2196–2196.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-22-1136>
- Whitlock, J. A. (2006). Down syndrome and acute lymphoblastic leukaemia. *British Journal of Haematology*, 135(5), 595–602.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2006.06337.x>
- Whooten, R., Schmitt, J., & Schwartz, A. (2018a). Endocrine manifestations of Down syndrome. In *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity* (Vol. 25, Issue 1, pp. 61–66). Lippincott Williams and Wilkins.
<https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000382>
- Whooten, R., Schmitt, J., & Schwartz, A. (2018b). Endocrine manifestations of Down syndrome. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*, 25(1), 61–66.
<https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000382>

- Wilharm, A., Tabib, Y., Nassar, M., Reinhardt, A., Mizraji, G., Sandrock, I., Heyman, O., Barros-Martins, J., Aizenbud, Y., Khalaileh, A., Eli-Berchoer, L., Elinav, E., Wilensky, A., Förster, R., Bercovier, H., Prinz, I., & Hovav, A.-H. (2019). Mutual interplay between IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells and microbiota orchestrates oral mucosal homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *116*(7), 2652–2661. <https://doi.org/10.1073/pnas.1818812116>
- Wiseman, M. (2008). The Second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research Expert Report. *Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective. Proceedings of the Nutrition Society*, *67*(3), 253–256. <https://doi.org/10.1017/S002966510800712X>
- Wolf, D. L., & Lamster, I. B. (2011). Contemporary Concepts in the Diagnosis of Periodontal Disease. *Dental Clinics of North America*, *55*(1), 47–61. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2010.08.009>
- Wu, Y.-Y., Xiao, E., & Graves, D. T. (2015). Diabetes mellitus related bone metabolism and periodontal disease. *International Journal of Oral Science*, *7*(2), 63–72. <https://doi.org/10.1038/ijos.2015.2>
- Xie, K., Zhang, K., Kong, J., Wang, C., Gu, Y., Liang, C., Jiang, T., Qin, N., Liu, J., Guo, X., Huo, R., Liu, M., Ma, H., Dai, J., & Hu, Z. (2018). Cancer-testis gene *PIWIL1* promotes cell proliferation, migration, and invasion in lung adenocarcinoma. *Cancer Medicine*, *7*(1), 157–166. <https://doi.org/10.1002/cam4.1248>
- YAVUZYILMAZ, E., ERSOY, F., SANAL, Ö., TEZCAN, I., & ERÇAL, D. (1993). Neutrophil Chemotaxis and Periodontal

- Status in Down's Syndrome Patients. *The Journal of Nihon University School of Dentistry*, 35(2), 91–95. <https://doi.org/10.2334/josnusd1959.35.91>
- Zeidan, J., Fombonne, E., Scolah, J., Ibrahim, A., Durkin, M. S., Saxena, S., Yusuf, A., Shih, A., & Elsabbagh, M. (2022). Global prevalence of autism: A systematic review update. *Autism Research*, 15(5), 778–790. <https://doi.org/10.1002/aur.2696>
- Zhang, M., & Zhang, X. (2019). The role of PI3K/AKT/FOXO signaling in psoriasis. *Archives of Dermatological Research*, 311(2), 83–91. <https://doi.org/10.1007/s00403-018-1879-8>
- Zigman, W. B., Devenny, D. A., Krinsky-McHale, S. J., Jenkins, E. C., Urv, T. K., Wegiel, J., Schupf, N., & Silverman, W. (2008). *Chapter 4 Alzheimer's Disease in Adults with Down Syndrome* (pp. 103–145). [https://doi.org/10.1016/S0074-7750\(08\)00004-9](https://doi.org/10.1016/S0074-7750(08)00004-9)
- Zuanazzi, D., Souto, R., Mattos, M. B. A., Zuanazzi, M. R., Tura, B. R., Sansone, C., & Colombo, A. P. V. (2010). Prevalence of potential bacterial respiratory pathogens in the oral cavity of hospitalised individuals. *Archives of Oral Biology*, 55(1), 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2009.10.005>

8

**ARTÍCULOS
DERIVADOS DE LA TESIS**

8. ARTÍCULOS DERIVADOS DE LA TESIS

Al tratarse de una tesis con reproducción parcial de publicaciones derivadas de la investigación desarrollada por esta doctoranda durante la etapa de formación, confirmo que mi contribución en esta aportación fue fundamentalmente de carácter clínico (fase de diseño de protocolo de exploración, captación de pacientes, exploración odontológica y recogida de muestras). y analítico (recogida de datos y análisis de resultados).


Este artículo consiste en una síntesis de todos los contenidos que se reflejan en la tesis en cada uno de sus capítulos.

Todos los autores del artículo que se detalla a continuación están en posesión del grado de doctor.

- Fernández M, De Coa A, Quintela I, García E et al. “Genetic susceptibility to periodontal disease in Down syndrome: a case - control study”. Int J Mol Sci. 2021 Jun 10;22(12):6274. doi: 10.3390/ijms22126274. PMID: 34200970; PMCID: PMC8230717.

Categoría: Biochemistry & Molecular Biology; Primer Cuartil (posición 69 de 297)

Factor de impacto: 6,208




[Journals](#) [Topics](#) [Information](#) [Author Services](#) [Initiatives](#) [About](#)

[Sign In / Sign Up](#) [Submit](#)

Search for Articles:

[Search](#) [Advanced](#)

Journals / [IJMS](#)



International Journal of
Molecular Sciences

[Submit to IJMS](#)

[Review for IJMS](#)


[Twitter](#) [Facebook](#) [LinkedIn](#)

Journal Menu

- [IJMS Home](#)
- [Aims & Scope](#)
- [Editorial Board](#)
- [Reviewer Board](#)
- [Topical Advisory Panel](#)
- [Instructions for Authors](#)
- [Special Issues](#)
- [Topics](#)
- [Sections & Collections](#)
- [Article Processing Charge](#)
- [Indexing & Archiving](#)
- [Most Cited & Viewed](#)
- [Journal Statistics](#)
- [Journal History](#)
- [Journal Awards](#)
- [Society Collaborations](#)
- [Conferences](#)
- [Editorial Office](#)

Journal Browser

[> Forthcoming Issue](#)
[> Current Issue](#)



ZNF643/ZFP69B Exerts Oncogenic Properties and Associates with Cell Adhesion and Immune Processes

International Journal of Molecular Sciences

International Journal of Molecular Sciences is an international, peer-reviewed, open access journal providing an advanced forum for biochemistry, molecular and cell biology, molecular biophysics, molecular medicine, and all aspects of molecular research in chemistry, and is published semimonthly online by MDPI, The Australian Society of Plant Scientists (ASPS), Epigenetics Society, European Calcium Society (ECS), European Chitin Society (EUCHS), Spanish Society for Cell Biology (SEBC) and others are affiliated with IJMS and their members receive a discount on the article processing charges.

- **Open Access** — free for readers, with article processing charges (APC) paid by authors or their institutions.
- **High Visibility:** indexed within Scopus, SCIE (Web of Science), PubMed, PMC, MEDLINE, Embase, CAPus / SciFinder, and other databases.
- **Journal Rank:** JCR - Q1 (Biochemistry & Molecular Biology) / CiteScore - Q1 (Inorganic Chemistry)
- **Rapid Publication:** manuscripts are peer-reviewed and a first decision is provided to authors approximately 16.3 days after submission; acceptance to publication is undertaken in 2.6 days (median values for papers published in this journal in the second half of 2023).
- **Recognition of Reviewers:** reviewers who provide timely, thorough peer-review reports receive vouchers entitling them to a discount on the APC of their next publication in any MDPI journal, in appreciation of the work done.
- **Testimonials:** See what our editors and authors say about the IJMS.
- **Companion journals for IJMS include:** *Biophysics*, *Obesities*, *Stresses* and *Lymphatics*.

Impact Factor: 5.6 (2022); 5-Year Impact Factor: 6.2 (2022)

[≡ Imprint Information](#) [↓ Journal Flyer](#) [🔓 Open Access](#) [ISSN: 1422-0067](#)


IMPACT FACTOR
5.6
Indexed in
PubMed
CITESCORE
7.8

E-Mail Alert

Add your e-mail address to receive forthcoming issues of this journal:

News

6 February 2024
Meet Us at the 34th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID 2024), 27–30 April 2024, Barcelona, Spain



31 January 2024
Acknowledgment of the Reviewers of International Journal of Molecular Sciences in 2023

31 January 2024
MDPI Insights: The CEO's Letter #8 - Athletic and Flat Fee Agreement

[More News & Announcements...](#)

Topics



International Journal of
Molecular Sciences



Article

Genetic Susceptibility to Periodontal Disease in Down Syndrome: A Case-Control Study

María Fernández, Alicia de Coó, Inés Quintela, Eliane García, Márcio Diniz-Freitas, Jacobo Limeres,
Pedro Diz, Juan Blanco, Ángel Carracedo and Raquel Cruz

Special Issue

Molecular Links between Periodontitis and Systemic Diseases

Edited by
Prof. Dr. Kenichi Imai



<https://doi.org/10.3390/ijms22126274>



Article

Genetic Susceptibility to Periodontal Disease in Down Syndrome: A Case-Control Study

María Fernández ¹, Alicia de Coó ², Inés Quintela ^{2,3}, Eliane García ¹, Márcio Diniz-Freitas ^{1,*}, Jacobo Limeres ¹, Pedro Diz ¹, Juan Blanco ¹, Ángel Carracedo ^{2,3,4,5} and Raquel Cruz ^{2,4}

- Grupo de Investigación en Odontología Médico-Quirúrgica (OMEQUI), Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain; maria.fernandez.casado@rai.usc.es (M.F.); eliane.garma@gmail.es (E.G.); jacobolimeres@usc.es (J.L.); pedrodiz@usc.es (P.D.); juanblanco@usc.es (J.B.)
- Grupo de Medicina Xenómica, Centro Singular de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas (CIMUS), Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain; alicia4coo@hotmail.com (A.d.C.); ines.quintela@usc.es (I.Q.); angel.carracedo@usc.es (Á.C.); raquel.cruz@usc.es (R.C.)
- Centro Nacional de Genotipado, Plataforma de Recursos Biomoleculares, Instituto de Salud Carlos III (CeGen-PRB3-ISCIII), Universidade de Santiago de Compostela, 15706 Santiago de Compostela, Spain
- Centro Singular de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas (CIMUS), CIBERER-Instituto de Salud Carlos III, Universidade de Santiago de Compostela, 15706 Santiago de Compostela, Spain
- Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica—SERGAS, 15706 Santiago de Compostela, Spain
- * Correspondence: marcio.diniz@usc.es; Tel.: +34-981563100 (ext. 12344)



Citation: Fernández, M.; de Coó, A.; Quintela, I.; García, E.; Diniz-Freitas, M.; Limeres, J.; Diz, P.; Blanco, J.; Carracedo, Á.; Cruz, R. Genetic Susceptibility to Periodontal Disease in Down Syndrome: A Case-Control Study. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 6274. <https://doi.org/10.3390/ijms22126274>

Academic Editor: Gaetano Isola

Received: 10 May 2021

Accepted: 8 June 2021

Published: 10 June 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Severe periodontitis is prevalent in Down syndrome (DS). This study aimed to identify genetic variations associated with periodontitis in individuals with DS. The study group was distributed into DS patients with periodontitis ($n = 50$) and DS patients with healthy periodontium ($n = 36$). All samples were genotyped with the “Axiom Spanish Biobank” array, which contains 757,836 markers. An association analysis at the individual marker level using logistic regression, as well as at the gene level applying the sequence kernel association test (SKAT) was performed. The most significant genes were included in a pathway analysis using the free DAVID software. C12orf74 (rs4315121, $p = 9.85 \times 10^{-5}$, OR = 8.84), LOC101930064 (rs4814890, $p = 9.61 \times 10^{-5}$, OR = 0.13), KBTBD12 (rs1549874, $p = 8.27 \times 10^{-5}$, OR = 0.08), PIWIL1 (rs11060842, $p = 7.82 \times 10^{-5}$, OR = 9.05) and C16orf82 (rs62030877, $p = 8.92 \times 10^{-5}$, OR = 0.14) showed a higher probability in the individual analysis. The analysis at the gene level highlighted PIWIL1, MIR9-2, LHCGR, TPR and BCR. At the signaling pathway level, PI3K-Akt, long-term depression and FoxO achieved nominal significance ($p = 1.3 \times 10^{-2}$, $p = 5.1 \times 10^{-3}$, $p = 1.2 \times 10^{-2}$, respectively). In summary, various metabolic pathways are involved in the pathogenesis of periodontitis in DS, including PI3K-Akt, which regulates cell proliferation and inflammatory response.

Keywords: Down syndrome; periodontitis; genome-wide association study

1. Introduction

Down syndrome (DS) is the most common chromosomal condition, occurring in approximately one of every 800 live births [1]. DS is associated with intellectual disability and systemic disorders that include heart problems, hematological disorders and endocrinopathies [2]. DS is also characterized by various orofacial manifestations, such as macroglossia, dental malocclusions, delayed tooth eruption and periodontal disease [3].

Individuals with DS have a higher prevalence of periodontitis than that observed in the general population and in other groups with intellectual disability [4], given that a number of studies have reported the condition in more than 90% of patients with DS younger than 30 years [5]. Periodontitis in these patients debuts at an early age and is

generalized, progresses rapidly and is severe [6]. The local causes that have been linked to this process include poor oral hygiene, macroglossia, tooth morphology, gingival tissue abnormalities and the characteristics of the saliva [7].

Another important factor that has been related to the etiopathogenesis of periodontal disease in patients with DS is the presence of a subgingival flora different from that exhibited by the general population, such as an increased presence of *Streptococcus gordonii*, *S. mitis* and *S. oralis*, pioneer organisms that start an early microbial colonization, and *Treponema socranskii*, a bacterial species associated with severe destruction of periodontal tissue [8]. It has recently been suggested that *Porphyromonas* spp. and *Tannerella* spp. are particularly abundant in the subgingival microbiome of individuals with DS and periodontitis, as well as new pathogens that have been scarcely studied to date, such as *Filifactor*, *Fretibacterium* and *Desulfobulbus* genera [9].

Moderate B-cell and T-cell lymphopenia, and the reduced response of specific antibodies and neutrophil chemotaxis dysfunction make individuals with DS particularly susceptible to infections attributable to immune system dysfunction, such as periodontal disease [10]. Some studies have suggested that high levels of cytokine involved in systemic inflammation are already detected in children with DS, with significant effects on the immune response regulation, such as tumor necrosis factor alpha, IL-1 β and interferon gamma [11,12]. The concentration in the gingival crevicular fluid of some of these cytokines particularly involved in the development of periodontitis is also higher among individuals with DS than in the general population [13].

Other biomarkers have been described that might play a role in periodontal inflammation, such as soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR), galectin, NOD-like receptor family pyrin domain-containing protein-3 (NLRP3) inflammasome complex, matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) and MMP-9 [14–16]. These biological markers might help accelerate the development of other systemic inflammatory conditions, such as coronary heart disease [17,18] and diabetes [19], through periodontitis. However, the levels of these biomarkers in the saliva and serum of patients with DS and periodontal disease is still unknown.

Certain genetic factors also play a relevant role in the onset and development of periodontitis, especially in the rapidly progressive presentations, although the genetic bases of this common complex disease have still not been completely determined [20]. However, it has been suggested that the development of periodontitis in individuals with DS responds to a combination of immune system abnormalities that predispose the individual to infections [10] and to an increased migration of T cells towards the periodontium in response to an increase in matrix metalloproteinase levels [21]. Accordingly, the established null hypothesis is that, among individuals with DS, there are no genetic risk factors that favor the onset of periodontitis.

The aim of this study was to detect the genetic variations associated with the presence of periodontitis in individuals with DS and to identify the susceptibility genes and biomarkers that can help predict its risk of onset. Moreover, it could also provide new information on the molecular and genetic mechanisms that affect the start and progression of aggressive periodontitis (stages III/IV, grade C periodontitis) [22].

2. Results

Table 1 details the results of the SNPs that showed a greater association with periodontitis ($p < 5 \times 10^{-4}$) in the logistic regression analysis performed for each SNP (under the dominant model) adjusting for covariates. Of these “top SNPs” and based on the odds ratio values, two would be considered risk SNPs (rs4315121 and rs11060842), and the other three would be considered protective (rs4814890, rs14497874 and rs6203877). However, none of these SNPs reached a significant association value at the genome-wide association study level ($p < 5 \times 10^{-8}$), and none presented clear evidence of association ($p < 5 \times 10^{-6}$).

Table 2 shows the results of the genes with greater significance ($p < 5 \times 10^{-4}$). After conducting the multitest correction, none of these focus genes reached the significance threshold of 2.7×10^{-6} for 18,520 analyzed genes.

Table 1. Results of individual (SNP by SNP) logistic regression analysis for the top associated SNPs adjusting for covariates.

Marker	Gene	CHR	Minor Allele	N Total	<i>p</i>	OR (95% CI)	Genotypes (Dd + dd/DD)
rs4315121	C12orf74	12	T	87	9.85×10^{-5}	8.84 (3.03–25.77)	PD: 42/9 HP: 15/21
rs4814890	LOC101930064	20	T	87	9.61×10^{-5}	0.13 (0.05–0.35)	PD: 18/33 HP: 29/7
rs1549874	KBTD12	3	G	87	8.27×10^{-5}	0.08 (0.02–0.29)	PD: 4/47 HP: 18/18
rs11060842	PIWIL1	12	C	86	7.82×10^{-5}	9.05 (2.99–27.33)	PD: 44/7 HP: 16/19
rs62030877	C16orf82(upstr)	16	C	87	8.92×10^{-5}	0.14 (0.05–0.38)	PD: 10/41 HP: 23/13

CHR, chromosome; OR, odds ratio; CI, confidence interval; DD, frequent homozygotes; (Dd + dd), carriers of the rare allele; PD, periodontal disease (cases); HP, healthy periodontium (controls).

Table 2. Genes with major significance after the sequence kernel association test results.

Gene	N Markers (Test)	<i>p</i>	SKAT
PIWIL1	47 (44)	1.90×10^{-5}	SKAT w1
MIR9-2	22 (22)	3.76×10^{-5}	Burden
LOC101929147	26 (25)	3.93×10^{-5}	SKAT w1
LHCGR	42 (35)	1.04×10^{-4}	SKAT
LOC101928304	38 (35)	1.33×10^{-4}	SKAT
TPR	32 (15)	1.51×10^{-4}	SKAT w1
BCR	43 (30)	1.55×10^{-4}	Burden
DERL2	8 (3)	1.76×10^{-4}	SKAT
CLRN1-AS1	37 (32)	1.97×10^{-4}	Burden
LOC285501	32 (32)	1.97×10^{-4}	SKAT
ACVRL1	14 (4)	2.07×10^{-4}	Burden
PLCXD3	52 (49)	2.50×10^{-4}	SKAT w1
MIR15A	7 (7)	2.61×10^{-4}	Burden
AKRID1	33 (24)	3.03×10^{-4}	SKAT w1
CDHR4	16 (6)	3.07×10^{-4}	Burden
LSM8	28 (27)	3.21×10^{-4}	SKAT w1
CCDC60	96 (86)	3.30×10^{-4}	SKAT w1
CDCA2	76 (61)	3.32×10^{-4}	SKAT w1
GNA12	50 (49)	3.34×10^{-4}	Burden
LOC646762	11 (10)	3.57×10^{-4}	SKAT w1
COA4	3 (3)	3.70×10^{-4}	SKAT
MCHR1	17 (15)	4.48×10^{-4}	SKAT
CACNG8	25 (23)	4.91×10^{-4}	SKAT
BBS12	44 (23)	4.92×10^{-4}	SKAT

SKAT, SKAT with “beta” weights; SKAT w1, SKAT with the same weights for common and rare variants; BURDEN, Burden test.

Table 3 details the list of resulting pathways after the analysis (with DAVID software) of all the genes that showed a $p < 0.05$ in the SKAT analysis at the gene level ($N = 2464$ genes). We obtained 22 pathways ($p < 0.05$) where there was an overexpression of the genes included in the analysis. Those of greatest interest were long-term depression (15 overexpressed genes of those included in the analysis), FoxO signaling pathway (25 overexpressed genes of those included in the analysis) and especially the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K-Akt) signaling pathway (53 overexpressed genes of those included in the analysis) (Figures 1–3).

Table 3. Pathways with nominal significance after the analysis with DAVID software.

Pathway	Genes (N)	p
Long-term depression pathway	15	5.1×10^{-3}
FoxO signaling pathway	25	1.2×10^{-2}
PI3K-Akt signaling pathway	53	1.3×10^{-2}
Glutamatergic synapse	22	1.3×10^{-2}
Rap1 signaling pathway	35	1.5×10^{-2}
VEGF signaling pathway	14	1.5×10^{-2}
Platelet activation	24	1.6×10^{-2}
Malaria	12	1.7×10^{-2}
Eph kinases and ephrins support platelet aggregation	5	1.7×10^{-2}
Fat digestion and absorption	10	2.4×10^{-2}
Ras signaling pathway	36	2.5×10^{-2}
T-cell receptor signaling pathway	19	2.6×10^{-2}
Hepatitis B	25	2.9×10^{-2}
Wnt signaling pathway	24	3.0×10^{-2}
Circadian entrainment	18	3.1×10^{-2}
Primary bile acid biosynthesis	6	3.3×10^{-2}
Fc epsilon RI signaling pathway	14	3.4×10^{-2}
Signaling pathways regulating stem cell pluripotency	24	3.4×10^{-2}
Rho-selective Guanine Exchange Factor AKAP13 Mediates Stress Fiber Formation	5	3.6×10^{-2}
Fatty acid degradation	10	3.8×10^{-2}
Wnt signaling pathway	25	4.1×10^{-2}
TGF-beta signaling pathway	16	4.2×10^{-2}

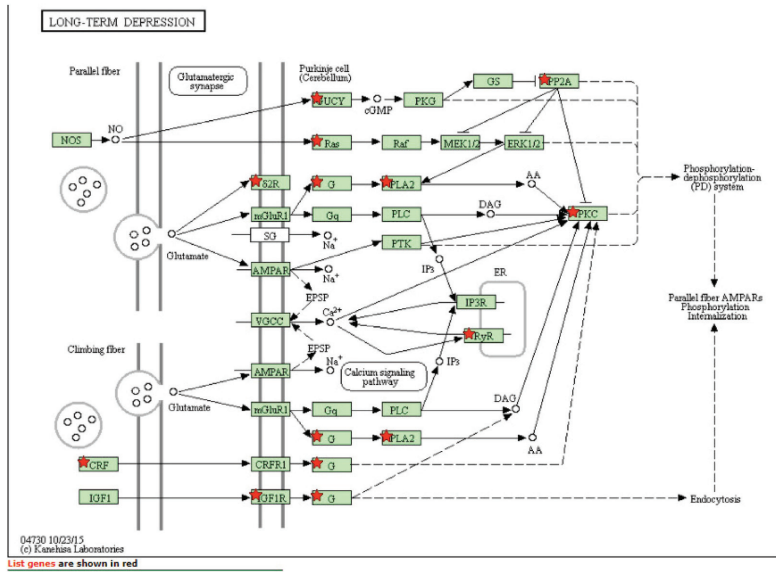


Figure 1. Long-term depression pathway.

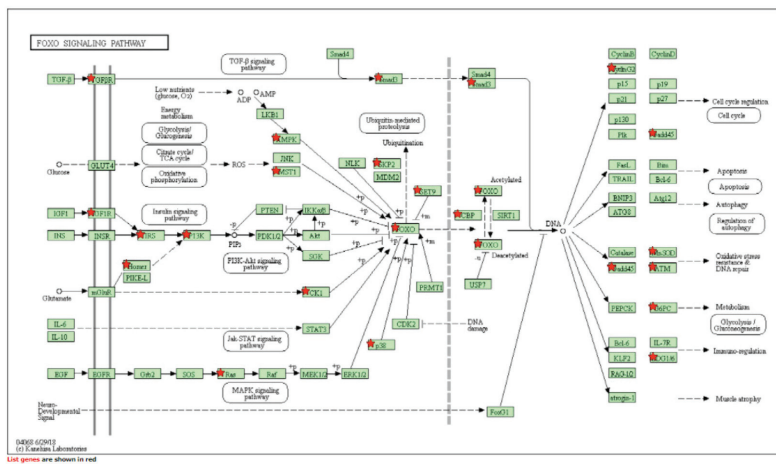


Figure 2. FoxO signaling pathway.

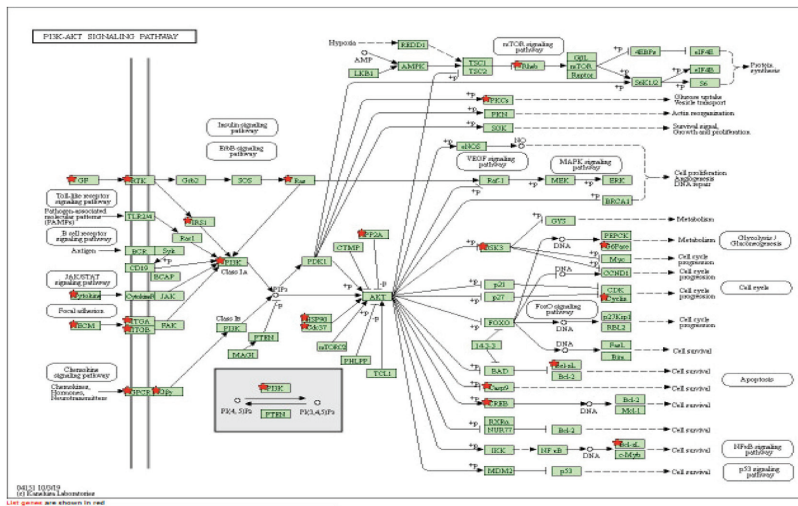


Figure 3. PI3K-Akt signaling pathway.

3. Discussion

In this study, none of the analyzed SNPs reached a statistically significant association value at the genome-wide association level, probably due to the lack of potency resulting from the small sample size. It should be noted that although we analyzed samples from only 86 participants, the initial study group consisted of 183 individuals with DS, which confirms the strict application of the inclusion criteria and the quality control of the processed samples. In addition, the multiple Bonferroni correction is an excessively conservative test. Given that the significance level reached in the analyses at the gene level was not far from the threshold, this result could be substantial, especially if we consider that this type of analysis introduces the cumulative effect of rare or low frequency variants. Other potential limitations are the heterogeneity of the study group in terms of age and the categorical distribution of the participants in cases and controls, given that we cannot ensure that none of the controls develop periodontitis in the future. Assuming these limitations, certain results deserve commenting because they might be relevant if confirmed in future studies.

Apparently, the most interesting marker at the SNP level was rs11060842, which is part of gene *PIWIL1*, which in turn is the gene that presents a greater association in the analysis at the gene level. Several studies have shown that *PIWIL1* is overexpressed in various types of cancer, such as lung and endometrial cancer [23,24]. In addition, this gene belongs to the PIWI family, a group of proteins that interact with a class of small RNA specifically expressed in the testicles during spermatogenesis [25], and this gene has been linked with male infertility [26,27]. It has recently been suggested that fertility might be compromised in individuals with DS [28].

The second gene with the greatest level of association was *MIR9-2*. Although *MIR9-2* has not been related to periodontal disease or other oral diseases in the literature, a close association has been reported between this gene and Alzheimer’s disease, whose prevalence is especially high among individuals with DS [29]. *MIR9-2* is directed at two of the most important proteins in the etiopathogenesis of Alzheimer’s disease: the amyloid-

beta precursor protein (APP), which transports the amyloid- β peptide that precipitates in amyloid plaques, and β -Site APP cleaving enzyme 1 (BACE1), which cleaves the APP to originate amyloid beta. In addition, *MIR9-2* is expressed differently in brain regions that are significantly associated with the disease's progression [30].

We should also mention the translocated promoter region (*TPR*) gene, given that the diseases associated with this gene include pulp degeneration [31] and that it has been suggested that chronic periodontitis can affect the dental pulp structure [32].

The pathway that raises the most interest is the PI3K-Akt signaling pathway, which participates in various cell functions, including cell survival and in glucose metabolism, playing an important role in certain infectious diseases [33]. *Porphyromonas gingivalis* produces gingipain, a protein that acts as a toxic protease that destroys the gingival cells, causing chronic periodontitis. Gingipain has been shown to attenuate PI3K activity, favoring the destruction of periodontal tissues mediated by *P. gingivalis* in periodontal diseases [34,35]. It has also been recently confirmed that lipopolysaccharides of the *P. gingivalis* protein have a significant impact on the autophagy of gingival fibroblasts by suppressing the PI3K-Akt-mTOR signaling pathway [36], which participates in the regulation of polymorphonuclear leukocyte activity, given that an increase in PI3K signaling seriously affects chemotaxis and the polarization of neutrophils [37]. Very recent studies conducted with Spanish populations have also confirmed a relationship between rapidly progressive periodontitis and the PI3K-Akt signaling pathway [20].

PI3K pathway dysregulation is one of the most common pathological events in cancer [38] and has been particularly related to leukemia and its therapeutic targets [39,40]. Children with DS have a dramatically higher risk of developing leukemia than the general population, such that this chromosomal disorder is considered the most common risk factor for developing acute lymphoblastic leukemia and acute myeloid leukemia [41].

As has been mentioned, the PI3K-Akt pathway participates in glucose metabolism, activating during hyperglycemia [42]. There is also a greater risk of type 1 diabetes in individuals with DS than in the general population, and this metabolic disorder is often diagnosed at an earlier age in this group [43].

The activity of the PI3K-Akt-mTOR pathway suppresses the autophagy process, while mTOR suppression promotes the process and protects neuronal tissue, which indicates the presence of a coordinated neuroprotective mechanism that is altered in certain neurodegenerative diseases such as Alzheimer's and Parkinson's disease [44]. Starting at 40 years of age, most adults with DS develop a neuropathology compatible with Alzheimer's disease; at 55–60 years of age, at least 70% develop dementia [45]. Periodontitis is more common in the elderly and can be especially prevalent and severe when the ability to maintain adequate oral hygiene is reduced, as is the case for individuals with Alzheimer's disease [46]. The proliferation of periodontal bacteria causes an increase in proinflammatory serum cytokine levels, and this systemic inflammation state has been associated with a higher rate of cognitive impairment in Alzheimer's disease [47].

Trisomy 21 causes generalized genetic expression disorders throughout the genome, including continuous activation of the interferon (IFN) transcription response in fibroblasts, lymphoblasts, monocytes, and T cells [48]. Based on the overexpression of IFN receptors encoded in chromosome 21, it has been suggested that DS could be understood as an interferonopathy that causes chronic immune dysregulation [49]. Both type I and type II IFNs regulate the activation of the PI3K-signaling pathway [50]. The analysis of gingival tissue samples from patients with DS and periodontitis showed attenuated expression of signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) and IFN regulatory factor 1 (IRF1) genes, confirming an altered activation of IFN signaling [51].

4. Materials and Methods

4.1. Study Groups

The study group consisted of 139 individuals with DS, 75 of whom were male, ranging in age from 12 to 53 years (Table S1). This convenience sample was selected among all

individuals with DS who regularly attended educational or occupational therapy centers belonging to the Galician Federation of Institutions for Down Syndrome (Spain). All participants satisfied the following inclusion criteria: genetically confirmed diagnosis of DS, age 12 years or older, sufficient degree of collaboration [52] to perform an oral examination and oral sampling and availability of an informed consent signed by the participants or their legal guardians. The exclusion criteria were: age younger than 12 years, subjects unable to cooperate during the periodontal exam [52], coexistence of other systemic diseases that could affect periodontal health (e.g., diabetes), presence of harmful habits (e.g., smoking) and unsigned consent forms. The study was approved by the Research Ethics Committee of Santiago-Lugo (reference 2018/510) and was conducted between November 2018 and December 2019.

To classify the participants by their periodontal biotype, we applied the criteria of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions [53,54], which define periodontitis as a loss of clinical insertion in the vestibular area of ≥ 3 mm, with sulci >3 mm in 2 or more teeth or a loss of clinical interdental insertion in 2 or more non-adjacent teeth. To apply a case-control design to this study, we selected only those participants with an extreme periodontal phenotype, either with a clear diagnosis of periodontitis ($n = 52$, represented by the cases) or with a healthy periodontal condition ($n = 36$, represented by the controls) (Table S2). The rest of the participants were ultimately excluded ($n = 51$) because they had some degree of gingival inflammation that made it impossible to include them conclusively in any of the 2 defined groups [54].

4.2. Collection and Processing of Saliva Samples

Unstimulated saliva samples were taken from all participants using a DNA collection kit (DNA Genotek Inc., Kanata, ON, Canada). The samples were kept stable at room temperature until they were transferred to the Galician Public Foundation of Genomic Medicine (University Clinic Hospital of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain), where the DNA was extracted applying standard protocols (DNA Genotek Inc., 2018). The samples were genotyped using the Axiom Spain Biobank Array (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), applying the manufacturer's protocol. This array is a panel that contains 757,836 markers and includes rare, selected variants in the Spanish population (50,536 markers).

To perform the quality control of the genetic markers for these individuals with DS, the analysis excluded chromosome 21 to avoid difficult-to-interpret results. Chromosome 14 was also eliminated, because a large number of cases of DS are due to translocation of genetic material between chromosomes 14 and 21 [55]. A standard quality control of the genotyping data was performed, excluding from the analysis those markers with a genotyping rate less than 98%, applying Plink statistics tool v1.90p [56], and those that deviated from the Hardy-Weinberg equilibrium ($p < 0.001$). Markers were not excluded according to the minor allele frequency (MAF) because they were used in certain analyses [57]. Applying these quality control criteria, we ultimately selected a total of 86 samples (50 cases and 36 controls) and 695,612 markers.

4.3. Association Analysis

To test the individual genetic association, we used the case/control status as the dependent variable in a multiple logistic regression analysis performed separately for each SNP (genetic marker showing a $MAF > 0.01$). In the regression model, we included sex and age as covariates and the SNP_x, coded under the dominant genetic model (in which the heterozygotes and homozygotes for the minor allele are grouped and compared with the genotype homozygous for the frequent allele). Only this genetic model was tested to avoid genotypic classes with a low number of observations in cases or controls. The association analysis at this level (SNP by SNP) was performed with Plink v1.9 software [56].

To test the gene-level association, we evaluated the combined effect of common and rare variants by employing the Sequence Kernel Association Test (SKAT) [57], with

3 different approaches: awarding the same weight for all variables (SKAT w1), awarding the weight of the variables by default (SKAT) and applying a simpler collapsing method, the burden test (BURDEN). All options for the SKAT analysis were adjusted for the covariates sex and age. The multitest correction was performed with a Bonferroni threshold that ensured a significance level α of 0.05.

To perform the pathway analysis, we employed the Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery tool v6.8 (DAVID) with which all focus genes with nominal significance ($p < 0.05$) in the analysis at the gene level were tested.

5. Conclusions

Given the limitations of this study, we found no SNPs significantly associated with periodontitis in DS at the genome-wide association study level. However, its results suggest that various metabolic pathways are involved in the pathogenesis of periodontitis in DS, including the PI3K-Akt pathway, which regulates cell proliferation and plays a principal role in the host's inflammatory response. This preliminary report provides a basis for future studies on the genetic susceptibility of individuals with DS for developing periodontitis and details the pathways that are presumably involved.

Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/ijms22126274/s1>.

Author Contributions: Conceptualization, P.D., J.B., A.d.C. and R.C.; methodology, A.d.C., I.Q., E.G. and R.C.; investigation, M.F., M.D.-F. and E.G.; formal analysis, M.F., A.d.C., I.Q. and R.C.; resources, J.L. and R.C.; data curation, M.F., A.d.C. and M.D.-F.; writing-original draft preparation, M.F., M.D.-F. and P.D.; writing-review and editing, J.L., J.B., Á.C. and R.C.; supervision, P.D., J.B. and R.C.; project administration, J.L.; funding acquisition, Á.C. and R.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The genotyping service was carried out at CeGen-PRB3-ISCI; it is supported by grant PT13/0001, ISCIII-SGEFI/FEDER.

Institutional Review Board Statement: The study was approved by the Research Ethics Committee of Santiago-Lugo (reference 2018/510).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study or their legal guardians.

Data Availability Statement: Data available on request due to ethical restrictions.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Bull, M.J. Down Syndrome. *N. Engl. J. Med.* **2020**, *382*, 2344–2352. [CrossRef]
2. Whooten, R.; Schmitt, J.; Schwartz, A. Endocrine manifestations of Down syndrome. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obs.* **2018**, *25*, 61–66. [CrossRef] [PubMed]
3. Mubayrik, A.B. The Dental Needs and Treatment of Patients with Down Syndrome. *Dent. Clin. N. Am.* **2016**, *60*, 613–626. [CrossRef]
4. Krishnan, C.; Archana, A. Evaluation of Oral Hygiene Status and Periodontal Health in Mentally Retarded Subjects with or without Down's Syndrome in Comparison with Normal Healthy Individuals. *J. Oral Health Commun. Dent.* **2014**, *8*, 91–94. [CrossRef]
5. Cutress, T.W. Periodontal disease and oral hygiene in trisomy 21. *Arch. Oral Biol.* **1971**, *16*, 1345–1355. [CrossRef]
6. Ferreira, R.; Michel, R.C.; Greggi, S.L.A.; de Resende, M.L.R.; Sant'Ana, A.C.P.; Damante, C.A.; Zangrando, M.S. Prevention and periodontal treatment in Down syndrome patients: A systematic review. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0158339. [CrossRef]
7. Amano, A.; Murakami, J.; Akiyama, S.; Morisaki, I. Etiologic factors of early-onset periodontal disease in Down syndrome. *Jpn. Dent. Sci. Rev.* **2008**, *44*, 118–127. [CrossRef]
8. Khocht, A.; Yaskell, T.; Janal, M.; Turner, B.F.; Rams, T.E.; Haffajee, A.D.; Socranski, S.S. Subgingival microbiota in adult Down syndrome periodontitis. *J. Periodontol. Res.* **2012**, *47*, 500–507. [CrossRef]
9. Nóvoa, L.; Sánchez, M.D.C.; Blanco, J.; Limeres, J.; Cuenca, M.; Marín, M.J.; Sanz, M.; Herrera, D.; Diz, P. The Subgingival Microbiome in Patients with Down Syndrome and Periodontitis. *J. Clin. Med.* **2020**, *9*, 2482. [CrossRef]
10. Ram, G.; Chinen, J. Infections and immunodeficiency in Down syndrome. *Clin. Exp. Immunol.* **2011**, *164*, 9–16. [CrossRef]

11. Nateghi Rostami, M.; Douraghi, M.; Miramin Mohammadi, A.; Nikmanesh, B. Altered serum pro-inflammatory cytokines in children with Down's syndrome. *Eur. Cytokine Netw.* **2012**, *23*, 64–67. [[CrossRef](#)]
12. Zhang, Y.; Che, M.; Yuan, J.; Yu, Y.; Cao, C.; Qin, X.Y.; Cheng, Y. Aberrations in circulating inflammatory cytokine levels in patients with Down syndrome: A meta-analysis. *Oncotarget* **2017**, *8*, 84489–84496. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Tsilingaridis, G.; Yucel-Lindberg, T.; Modéer, T. T-helper-related cytokines in gingival crevicular fluid from adolescents with Down syndrome. *Clin. Oral Investig.* **2012**, *16*, 267–273. [[CrossRef](#)]
14. Taşdemir, I.; Yılmaz, H.E.; Narin, F.; Sağlam, M. Assessment of saliva and gingival crevicular fluid soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR), galectin-1, and TNF- α levels in periodontal health and disease. *J. Periodontol Res.* **2020**, *55*, 622–630. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Murakami, T.; Takahata, Y.; Hata, K.; Nishimura, R. Role of interleukin-1 and inflammasomes in oral disease. *J. Oral Biosci.* **2020**, *62*, 242–248. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Maraccini, A.M.; Novaes, A.B., Jr.; Meschiari, C.A.; Souza, S.L.; Palioto, D.B.; Sorgi, C.A.; Faccioli, L.H.; Tanus-Santos, J.E.; Gerlach, R.F. Circulating matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) and MMP-9 are increased in chronic periodontal disease and decrease after non-surgical periodontal therapy. *Clin. Chim. Acta* **2009**, *409*, 117–122. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Isola, G.; Polizzi, A.; Ronisvalle, V.; Alibrandi, A.; Palazzo, G.; Lo Giudice, A. Impact of matrix metalloproteinase-9 during periodontitis and cardiovascular diseases. *Molecules* **2021**, *26*, 1777. [[CrossRef](#)]
18. Isola, G.; Polizzi, A.; Alibrandi, A.; Williams, R.C.; Lo Giudice, A. Analysis of galectin-3 levels as a source of coronary heart disease risk during periodontitis. *J. Periodontol Res.* **2021**, *56*, 597–605. [[CrossRef](#)]
19. Isola, G.; Polizzi, A.; Santonocito, S.; Alibrandi, A.; Williams, R.C. Periodontitis activates the nlrp3 inflammasome in serum and saliva. *J. Periodontol.* **2021**. [[CrossRef](#)]
20. De Coo, A.; Cruz, R.; Quintela, I.; Herrera, D.; Sanz, M.; Diz, P.; Rodríguez Grandio, S.; Vallcorba, N.; Ramos, I.; Oteo, A.; et al. Genome-wide association study of stage III/IV grade C periodontitis (former aggressive periodontitis) in a Spanish population. *J. Clin. Periodontol.* **2021**. [[CrossRef](#)]
21. Tsilingaridis, G.; Yucel-Lindberg, T.; Quezada, H.C.; Modéer, T. The relationship between matrix metalloproteinases (MMP-3, -8, -9) in serum and peripheral lymphocytes (CD8+, CD56+) in Down syndrome children with gingivitis. *J. Periodontol Res.* **2014**, *49*, 742–750. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Papapanou, P.N.; Sanz, M.; Buduneli, N.; Dietrich, T.; Feres, M.; Fine, D.H.; Flemmig, T.F.; Garcia, R.; Giannobile, W.V.; Graziani, F.; et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J. Clin. Periodontol.* **2018**, *45*, S162–S170. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Chen, Z.; Che, Q.; Jiang, E.Z.; Wang, H.H.; Wang, F.Y.; Liao, Y.; Wan, X.P. Piwil1 causes epigenetic alteration of PTEN gene via upregulation of DNA methyltransferase in type I endometrial cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2015**, *463*, 876–880. [[CrossRef](#)]
24. Xie, K.; Zhang, K.; Kong, J.; Wang, C.; Gu, Y.; Liang, C.; Jiang, T.; Qin, N.; Liu, J.; Guo, X.; et al. Cancer-testis gene PIWIL1 promotes cell proliferation, migration, and invasion in lung adenocarcinoma. *Cancer Med.* **2018**, *7*, 157–166. [[CrossRef](#)]
25. Aravin, A.A.; Hannon, G.J. Small RNA silencing pathways in germ and stem cells. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **2008**, *73*, 283–290. [[CrossRef](#)]
26. Friemel, C.; Ammerpohl, O.; Gutwein, J.; Schmutzler, A.G.; Caliebe, A.; Kautza, M.; von Otte, S.; Siebert, R.; Bens, S. Array-based DNA methylation profiling in male infertility reveals allele-specific DNA methylation in PIWIL1 and PIWIL2. *Fertil. Steril.* **2014**, *101*, 1097–1103. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Cheung, S.; Parrella, A.; Rosenwaks, Z.; Palermo, G.D. Genetic and epigenetic profiling of the infertile male. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0214275. [[CrossRef](#)]
28. Parizot, E.; Dard, R.; Janel, N.; Vialard, F. Down syndrome and infertility: What support should we provide? *J. Assist. Reprod. Genet.* **2021**, *36*, 1063–1067. [[CrossRef](#)]
29. Carmona-Iragui, M.; Videla, L.; Lleó, A.; Fortea, J. Down syndrome, Alzheimer disease, and cerebral amyloid angiopathy: The complex triangle of brain amyloidosis. *Dev. Neurobiol.* **2019**, *79*, 716–737. [[CrossRef](#)]
30. Villela, D.; Ramalho, R.F.; Silva, A.R.T.; Brentani, H.; Suemoto, C.K.; Pasqualucci, C.A.; Grinberg, L.T.; Krepsich, A.C.; Rosenberg, C. Differential DNA Methylation of MicroRNA Genes in Temporal Cortex from Alzheimer's Disease Individuals. *Neural Plast.* **2016**, *2016*, 1–10. [[CrossRef](#)]
31. Toyono, T.; Nakashima, M.; Kuhara, S.; Akamine, A. Expression of TGF- β superfamily receptors in dental pulp. *J. Dent. Res.* **1997**, *76*, 1555–1560. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Fatemi, K.; Disfani, R.; Zare, R.; Moeintaghavi, A.; Ali, S.A.; Boostani, H.R. Influence of moderate to severe chronic periodontitis on dental pulp. *J. Indian Soc. Periodontol.* **2012**, *16*, 558–561.
33. Song, G.; Ouyang, G.; Bao, S. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival. *J. Cell Mol. Med.* **2005**, *9*, 59–71. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Nakayama, M.; Inoue, T.; Naito, M.; Nakayama, K.; Ohara, N. Attenuation of the phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt signaling pathway by porphyromonas gingivalis gingipains RgpA, RgpB, and Kgp. *J. Biol. Chem.* **2015**, *290*, 5190–5202. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Nakayama, M.; Ohara, N. Molecular mechanisms of Porphyromonas gingivalis-host cell interaction on periodontal diseases. *Jap. Dent. Sci. Rev.* **2017**, *53*, 134–140. [[CrossRef](#)]

36. Liu, J.; Wang, X.; Zheng, M.; Luan, Q. Lipopolysaccharide from *Porphyrromonas gingivalis* promotes autophagy of human gingival fibroblasts through the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Life Sci.* **2018**, *211*, 133–139. [[CrossRef](#)]
37. McCormick, B.; Chu, J.Y.; Vermeren, S. Cross-talk between Rho GTPases and PI3K in the neutrophil. *Small GTPases* **2019**, *10*, 187–195. [[CrossRef](#)]
38. Lawrence, M.S.; Stojanov, P.; Mermel, C.H.; Robinson, J.T.; Garraway, L.A.; Golub, T.R.; Meyerson, M.; Gabriel, S.B.; Lander, E.S.; Getz, G. Discovery and saturation analysis of cancer genes across 21 tumour types. *Nature* **2014**, *505*, 495–501. [[CrossRef](#)]
39. Bortul, R.; Tazzari, P.L.; Billi, A.M.; Tabellini, G.; Mantovani, L.; Cappellini, A.; Deguelin, A. PI3K/AKT inhibitor, enhances chemosensitivity of leukaemia cells with an active PI3K/AKT pathway. *Br. J. Haematol.* **2005**, *129*, 677–686. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Guarente, V.; Sportoletti, P. Lessons, Challenges and Future Therapeutic Opportunities for PI3K Inhibition in CLL. *Cancers* **2021**, *13*, 1280. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Whitlock, J.A. Down syndrome and acute lymphoblastic leukaemia. *Br. J. Haematol.* **2006**, *135*, 595–602. [[CrossRef](#)]
42. Alasadat, S.; Khorami, H. PI3K/AKT pathway in modulating glucose homeostasis and its alteration in Diabetes. *Annals Med. Biomed. Sci.* **2015**, *1*, 46–55.
43. Alexander, M.; Petri, H.; Ding, Y.; Wandel, C.; Khwaja, O.; Foskett, N. Morbidity and medication in a large population of individuals with Down syndrome compared to the general population. *Dev. Med. Child Neurol.* **2016**, *58*, 246–254. [[CrossRef](#)]
44. Heras-Sandoval, D.; Pérez-Rojas, J.M.; Hernández-Damián, J.; Pedraza-Chaverri, J. The role of PI3K/AKT/mTOR pathway in the modulation of autophagy and the clearance of protein aggregates in neurodegeneration. *Cell Signal.* **2014**, *26*, 2694–2701. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Hartley, D.; Blumenthal, T.; Carrillo, M.; DiPaolo, G.; Esralew, L.; Gardiner, K.; Granholm, A.C.; Iqbal, K.; Krams, M.; Lemere, C.; et al. Down syndrome and Alzheimer's disease: Common pathways, common goals. *Alzheimers Dement.* **2015**, *11*, 700–709. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Gaur, S.; Agnihotri, R. Alzheimer's disease and chronic periodontitis: Is there an association? *Geriatr. Gerontol. Int.* **2015**, *15*, 391–404. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Ide, M.; Harris, M.; Stevens, A.; Sussams, R.; Hopkins, V.; Culliford, D.; Ibbett, P.; Raybould, R.; Thomas, R.; Punter, U.; et al. Periodontitis and cognitive decline in Alzheimer's disease. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0151081. [[CrossRef](#)]
48. Sullivan, K.D.; Lewis, H.C.; Hill, A.A.; Pandey, A.; Jackson, L.P.; Cabral, J.M.; Smith, K.P.; Liggett, L.A.; Gomez, E.B.; Galbraith, M.D.; et al. Trisomy 21 consistently activates the interferon response. *eLife* **2016**, *5*, e16220. [[CrossRef](#)]
49. Sullivan, K.D.; Evans, D.; Pandey, A.; Hraha, T.H.; Smith, K.P.; Markham, N.; Rachubinski, A.L.; Wolter-Warmerdam, K.; Hickey, F.; Espinosa, J.M.; et al. Trisomy 21 causes changes in the circulating proteome indicative of chronic autoinflammation. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 14818. [[CrossRef](#)]
50. Platanius, L.C. Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. *Nat. Rev. Immunol.* **2005**, *5*, 375–386. [[CrossRef](#)]
51. Tanaka, M.H.; Giro, E.M.; Cavalcante, L.B.; Pires, J.R.; Apponi, L.H.; Valentini, S.R.; Spolidório, D.M.; Capela, M.V.; Rossa, C., Jr.; Scarel-Caminaga, R.M. Expression of interferon- γ , interferon- α and related genes in individuals with Down syndrome and periodontitis. *Cytokine* **2012**, *60*, 875–881. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Frankl, S.N.; Shiere, F.R.; Fogels, H.R. Should the parent remain with the child in the dental operator? *J. Dent. Child* **1962**, *29*, 150–163.
53. Albandar, J.M.; Susin, C.; Hughes, F.J. Manifestations of systemic diseases and conditions that affect the periodontal attachment apparatus: Case definitions and diagnostic considerations. *J. Clin. Periodontol.* **2018**, *45*, S171–S189. [[CrossRef](#)]
54. Chapple, L.L.C.; Mealey, B.L.; Van Dyke, T.E.; Bartold, P.M.; Dommisch, H.; Eickholz, P.; Geisinger, M.L.; Genco, R.J.; Glogauer, M.; Goldstein, M.; et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J. Periodontol.* **2018**, *89*, S74–S84. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Jyothy, A.; Rao, G.N.; Kumar, K.S.; Rao, V.B.; Devi, B.U.; Reddy, P.P. Translocation Down syndrome. *Indian J. Med. Sci.* **2002**, *56*, 122–126.
56. Purcell, S.; Neale, B.; Todd-Brown, K.; Thomas, L.; Ferreira, M.A.R.; Bender, D.; Sham, P.C. PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *Am. J. Hum. Genet.* **2007**, *81*, 559–575. [[CrossRef](#)]
57. Ionita-Laza, I.; Lee, S.; Makarov, V.; Buxbaum, J.D.; Lin, X. Sequence Kernel Association Tests for the Combined Effect of Rare and Common Variants. *Am. J. Hum. Genet.* **2013**, *92*, 841–853. [[CrossRef](#)]

> *Int J Mol Sci.* 2021 Jun 10;22(12):6274. doi: 10.3390/ijms22126274.

Genetic Susceptibility to Periodontal Disease in Down Syndrome: A Case-Control Study

María Fernández ¹, Alicia de Coo ², Inés Quintela ^{2 3}, Eliane García ¹, Márcio Diniz-Freitas ¹, Jacobo Limeres ¹, Pedro Diz ¹, Juan Blanco ¹, Ángel Carracedo ^{2 3 4 5}, Raquel Cruz ^{2 4}

Affiliations + expand

PMID: 34200970 PMID: [PMC8230717](#) DOI: [10.3390/ijms22126274](#)

[Free PMC article](#)

Abstract

Severe periodontitis is prevalent in Down syndrome (DS). This study aimed to identify genetic variations associated with periodontitis in individuals with DS. The study group was distributed into DS patients with periodontitis ($n = 50$) and DS patients with healthy periodontium ($n = 36$). All samples were genotyped with the "Axiom Spanish Biobank" array, which contains 757,836 markers. An association analysis at the individual marker level using logistic regression, as well as at the gene level applying the sequence kernel association test (SKAT) was performed. The most significant genes were included in a pathway analysis using the free DAVID software. C12orf74 ($rs4315121, p = 9.85 \times 10^{-5}, OR = 8.84$), LOC101930064 ($rs4814890, p = 9.61 \times 10^{-5}, OR = 0.13$), KBTBD12 ($rs1549874, p = 8.27 \times 10^{-5}, OR = 0.08$), PIWIL1 ($rs11060842, p = 7.82 \times 10^{-5}, OR = 9.05$) and C16orf82 ($rs62030877, p = 8.92 \times 10^{-5}, OR = 0.14$) showed a higher probability in the individual analysis. The analysis at the gene level highlighted PIWIL, MIR9-2, LHCGR, TPR and BCR. At the signaling pathway level, PI3K-Akt, long-term depression and FoxO achieved nominal significance ($p = 1.3 \times 10^{-2}, p = 5.1 \times 10^{-3}, p = 1.2 \times 10^{-2}$, respectively). In summary, various metabolic pathways are involved in the pathogenesis of periodontitis in DS, including PI3K-Akt, which regulates cell proliferation and inflammatory response.

Keywords: Down syndrome; genome-wide association study; periodontitis.

[PubMed Disclaimer](#)

Conflict of interest statement

The authors declare no conflict of interest.

Figures

FULL TEXT LINKS



ACTIONS

« Cite

🔍 Collections

SHARE



PAGE NAVIGATION

< Title & authors

Abstract

Conflict of interest statement

Figures

Similar articles

Cited by

References

MeSH terms

Substances

9

ANEXOS

9. ANEXOS

ANEXO I: FICHA DE REGISTRO DE DATOS PERIODONTALES

SÍNDROME de DOWN

FICHA de REGISTRO

FECHA de EXPLORACIÓN..... CENTRO.....

NOMBRE del PACIENTE

FECHA de NACIMIENTO.....

EXPLORACIÓN PERIODONTAL

V	V	V																				
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td colspan="2">IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no</td></tr> <tr><td>IP: si/no</td><td>IP: si/no</td></tr> <tr><td>PS:___/RC:___</td><td>PS:___/RC:___</td></tr> <tr><td>SS si/no</td><td>SS si/no</td></tr> <tr><td colspan="2">IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no</td></tr> </table>	IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no		IP: si/no	IP: si/no	PS:___/RC:___	PS:___/RC:___	SS si/no	SS si/no	IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no		M D	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td colspan="2">IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no</td></tr> <tr><td>IP: si/no</td><td>IP: si/no</td></tr> <tr><td>PS:___/RC:___</td><td>PS:___/RC:___</td></tr> <tr><td>SS si/no</td><td>SS si/no</td></tr> <tr><td colspan="2">IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no</td></tr> </table>	IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no		IP: si/no	IP: si/no	PS:___/RC:___	PS:___/RC:___	SS si/no	SS si/no	IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no	
IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no																						
IP: si/no	IP: si/no																					
PS:___/RC:___	PS:___/RC:___																					
SS si/no	SS si/no																					
IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no																						
IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no																						
IP: si/no	IP: si/no																					
PS:___/RC:___	PS:___/RC:___																					
SS si/no	SS si/no																					
IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no																						
P	P	P																				
V	V	V																				
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td colspan="2">IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no</td></tr> <tr><td>IP: si/no</td><td>IP: si/no</td></tr> <tr><td>PS:___/RC:___</td><td>PS:___/RC:___</td></tr> <tr><td>SS si/no</td><td>SS si/no</td></tr> <tr><td colspan="2">IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no</td></tr> </table>	IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no		IP: si/no	IP: si/no	PS:___/RC:___	PS:___/RC:___	SS si/no	SS si/no	IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no		M D	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td colspan="2">IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no</td></tr> <tr><td>IP: si/no</td><td>IP: si/no</td></tr> <tr><td>PS:___/RC:___</td><td>PS:___/RC:___</td></tr> <tr><td>SS si/no</td><td>SS si/no</td></tr> <tr><td colspan="2">IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no</td></tr> </table>	IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no		IP: si/no	IP: si/no	PS:___/RC:___	PS:___/RC:___	SS si/no	SS si/no	IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no	
IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no																						
IP: si/no	IP: si/no																					
PS:___/RC:___	PS:___/RC:___																					
SS si/no	SS si/no																					
IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no																						
IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no																						
IP: si/no	IP: si/no																					
PS:___/RC:___	PS:___/RC:___																					
SS si/no	SS si/no																					
IP: si/no PS:___/RC:___ SS: si/no																						
P	P	P																				

ANEXO II: FICHA DE REGISTRO DEL HISTORIAL CLÍNICO GENERAL



UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
Facultade de Odontoloxía

APELLIDOS:
 NOMBRE:
 EDAD:
 HISTORIA: /

HISTORIA CLÍNICA GENERAL

Fecha actual:...../...../.....		Fecha nacimiento:...../...../.....	
Dirección:.....		Ciudad:.....	
Provincia:.....	C.P.:.....	Tel.:.....	
D.N.I.:.....	Profesión:.....	Seguro:.....	

MOTIVO DE LA CONSULTA:.....
.....

Referido por:..... Ciudad:.....
 Alumno:..... Curso:.....

ANTECEDENTES FAMILIARES

ANTECEDENTES PERSONALES

Patología perinatal:.....
 Patología pediátrica:.....
 ¿Padece en la actualidad alguna enfermedad?:.....
 ¿Qué enfermedad padece?:.....
 ¿Qué tratamiento recibe?:.....
 Ha padecido o padece de:

<input type="checkbox"/> Problemas cardiovasculares	<input type="checkbox"/> Diabetes	<input type="checkbox"/> Paperas
<input type="checkbox"/> Sangre (anemias, hemorragias, etc.)	<input type="checkbox"/> Hepatitis tipo.....	<input type="checkbox"/> Trauma
<input type="checkbox"/> Respiratorio	<input type="checkbox"/> Fiebre reumática	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Neurológicos	<input type="checkbox"/> Epilepsia	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Neuromusculares	Alergias a.....	

OTROS:.....
 OPERADO DE:..... en..... a los.....
 en..... a los.....

¿Ha ido al dentista alguna vez?..... por:.....

Acude al dentista cada: 6 meses 12 meses 24 meses más

Se cepilla...../veces al día Se enjuaga con: nada Flúor ClhX

¿Le sangran las encías con facilidad?..... Ingesta de H.C.:.....

Hábitos perjudiciales para la salud oral:.....

ANEXO III: INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA



Secretaría Técnica
Comité de Ética de la Investigación de Galicia
Secretaría Xeral, Consellería de Sanidade
Edificio Administrativo San Lázaro S/N
15781 Santiago de Compostela
A Coruña



DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE SANTIAGO-LUGO

Lorenzo Armenteros del Olmo, Secretario Suplente del Comité de Ética de la Investigación de Santiago-Lugo

CERTIFICA:

Que este Comité evaluó en su reunión del día 19/02/19 el estudio:

Título: Bases microbiológicas y genéticas de la caries y la enfermedad periodontal en el síndrome de Down

Versión:

Promotor/a: Universidad de Santiago de Compostela

Investigador/a: Pedro Diz Dios

Código de Registro: 2018/510

Y que este Comité, tomando en consideración la pertinencia del estudio, el conocimiento disponible, los requisitos éticos, metodológicos y legales exigibles a los estudios de investigación con seres humanos, sus muestras o registro y los Procedimientos Normalizados de Trabajo del Comité, emite un dictamen **FAVORABLE** para la realización del citado estudio.

Documento asinado dixitalmente por:
Lorenzo Armenteros Del Olmo (28/02/2019 14:59)
<https://sede.xunta.gal/overdrive=SAOC-R4C4-BOAH-OF4O-TLQ-Q-8155-1362-3967-96>





Secretaría Técnica
Comité de Ética de la Investigación de Galicia
Secretaría Xeral, Consellería de Sanidade
Edificio Administrativo San Lázaro S/N
15781 Santiago de Compostela
A Coruña



Y HACE CONSTAR QUE:

- 1.- El Comité Territorial de Ética de la Investigación de Santiago-Lugo cumple tanto en su composición como en sus Procedimientos Normalizados de Trabajo los requisitos legales vigentes.
- 2.- La composición actual del Comité Territorial de Ética de la Investigación de Santiago-Lugo es:

- **Juan Manuel Vázquez Lago (Presidente)**. Médico especialista en Medicina Preventiva y Salud Pública. Área de Gestión Integrada de Santiago.
- **Pilar Rodríguez Ledo (Vicepresidenta)**. Médico especialista en Medicina Familiar y Comunitaria. Área de Gestión Integrada de Lugo.
- **Lorenzo Armenteros del Olmo (Secretario Suplente)**. Médico especialista en Medicina Familiar y Comunitaria. Área de Gestión Integrada de Lugo.
- **Francisco Campos Pérez**. Biólogo. Fundación Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela.
- **Rosana Castelo Domínguez**. Farmacéutica de Atención Primaria. Área de Gestión Integrada de Santiago.
- **Ricardo García Martínez**. Licenciado en Derecho. Área de Gestión Integrada de Lugo.
- **Jaime Gulín Dávila**. Farmacéutico especialista en Farmacia Hospitalaria. Área de Gestión Integrada de Lugo.
- **Victor Herrán Carreira**. Paciente. ADIL-Asociación de Diabéticos Lucense.
- **María Jesús Lamas Díaz**. Farmacéutica especialista en Farmacia Hospitalaria. Área de Gestión Integrada de Santiago.
- **Cristina Márquez Riveras**. Enfermera. Dirección Xeral de Saúde Pública.
- **Guillermo José Prada Ramallal**. Médico especialista en Farmacología Clínica. Área de Gestión Integrada de Santiago. Fundación Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela.
- **Carlos Rodríguez Moreno**. Médico especialista en Farmacología Clínica. Área de Gestión Integrada de Santiago.
- **Sandra Vidal Martínez**. Enfermera. Área de Gestión Integrada de Santiago
- **Rafael Carlos Vidal Pérez**. Médico especialista en Cardiología. Área de Gestión Integrada de Lugo.

En Lugo,

El Secretario Suplente del Comité Territorial de Ética de la Investigación de Santiago Lugo,

ANEXO IV: DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO PARA LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO



HOJA DE INFORMACIÓN AL PARTICIPANTE EN UN ESTUDIO DE SALUD ORAL

TÍTULO DEL ESTUDIO: Identificación de estreptococos comensales con capacidad inhibitoria sobre *Streptococcus mutans* y patógenos periodontales, en la cavidad oral de personas con Síndrome de Down

INVESTIGADORES PRINCIPALES: Dr. Pedro Diz Dios y Dr. Maximiliano Álvarez Fernández.
CENTRO: Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Santiago de Compostela. Servicio de Microbiología del Complejo Hospitalario Universitario de Vigo (CHUVI).

Este documento tiene por objeto facilitarle información sobre un **estudio de investigación** en el que se le invita a participar. Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación competente.

Si decide participar en el mismo, debe recibir información personalizada del investigador, **leer antes este documento** y hacer todas las preguntas que precise para comprender los detalles sobre el mismo. Si así lo desea, puede llevarse el documento, consultarlo con otras personas y posteriormente decidir si va a participar o no.

La participación en este estudio es completamente **voluntaria**. Ud. puede decidir no participar o, si acepta hacerlo, cambiar de parecer retirando el consentimiento en cualquier momento sin tener que dar explicaciones. Le aseguramos que esta decisión no afectará a su relación con el personal sanitario ni a la asistencia a la que Ud. tiene derecho.

¿Cuál es el propósito del estudio?

Hemos encontrado una nueva bacteria en la boca de algunas personas con Síndrome de Down (CECT9174), que podría ayudar a evitar la aparición y/o el avance de la caries y de la piorrea (enfermedad periodontal).

Queremos saber si esta bacteria es exclusiva del síndrome Down o aparece también en el resto de la población, si modifica el equilibrio en el que viven el resto de las bacterias que hay en la boca y si usted es una persona particularmente susceptible a tener caries y/o piorrea.

¿Por qué me ofrecen participar a mí?

Este estudio se lleva a cabo en el marco del acuerdo de colaboración que existe entre la Universidad de Santiago de Compostela y la Fundación Down Galicia.

A Ud. le han invitado a participar porque forma parte del colectivo de personas diagnosticadas de Síndrome de Down y pertenece a alguna de las entidades del Movimiento Down Galicia.

¿En qué consiste mi participación?

Se le pasará un cuestionario con preguntas sencillas relacionadas con su edad y sexo, enfermedades sistémicas que padece, medicación que recibe de forma crónica, tratamientos odontológicos a los que se ha sometido y su hábito de cepillado dental.

Además, un dentista le realizará un examen de la boca y le cogerá muestras de la superficie de las encías y de los dientes, utilizando algodones y una cucharilla.

Su participación tendrá una duración total estimada de 20 minutos.

El investigador puede decidir finalizar el estudio antes de lo previsto o interrumpir su participación. En todo caso se le informará de los motivos de su retirada.

Versión: [número da versión], data [data da versión].

Deberán firmarse tres modelos, uno será entregado al participante, otro será conservado en el centro en el que se obtuvo la muestra, y el tercero será conservado por el responsable del estudio de investigación

¿Qué molestias o inconvenientes tiene?

La exploración de la boca es convencional, como la que le harían en cualquier visita rutinaria al dentista.

La toma de muestras NO duele y NO se necesita ningún tipo de anestesia local.

¿Obtendré algún beneficio por participar?

No se espera que Ud. obtenga un beneficio directo de los resultados de este estudio. Sin embargo, estos nos ayudarán a entender las causas de la formación de la caries y de la piorrea, por lo que en el futuro podrían favorecer a otras personas.

Usted recibirá un informe individualizado con su diagnóstico odontológico y sus necesidades de tratamiento. Si usted lo desea, lo pondremos directamente en contacto con la Unidad de Odontología para Personas con Necesidades Especiales de la Universidad de Santiago para realizar dicho tratamiento.

¿Recibiré la información que se obtenga del estudio?

Si Ud. lo desea, se le facilitará un resumen de los resultados del estudio.

También podrá recibir los resultados de las pruebas que se realicen con sus muestras si así lo solicita dirigiéndose al investigador. Estos resultados pueden no tener aplicación clínica ni una interpretación clara, por lo que, si quiere disponer de ellos, deberían ser comentados con el odontólogo responsable del estudio.

Algunos resultados de pruebas genéticas podrían descubrir ciertas condiciones que afecten en el futuro a su salud. Estas condiciones podrían ser compartidas por sus familiares. Llegado el caso, sería conveniente que Ud. les transmita esta información.

¿Se publicarán los resultados de este estudio?

Los resultados de este estudio serán remitidos a publicaciones científicas para su difusión, pero no se transmitirá ningún dato que permita identificar a los participantes.

¿Cómo se protegerá la confidencialidad de mis datos y muestras?

El tratamiento, comunicación y cesión de sus datos se hará conforme a lo dispuesto por la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal. Solo el equipo investigador, y las autoridades sanitarias, que tienen el deber de guardar la confidencialidad, tendrán acceso a todos los datos recogidos en el estudio. Se puede transmitir a terceros información que no pueda ser identificada. En el caso de que alguna información sea transmitida a otros países, se realizará con un nivel de protección de los datos equivalente, como mínimo, al exigido por la normativa de nuestro país.

Sus datos y muestras biológicas serán recogidos y conservados hasta finalizar el estudio de modo:

- **Codificado**, que quiere decir que poseen un código con el que solo los investigadores podrán conocer a quién pertenecen.

El responsable de la custodia de los datos y muestras es el Dr. Pedro Diz Dios, y los lugares de realización de los análisis previstos en este estudio son los Servicios de Microbiología del Complejo Hospitalario Universitario de Vigo y de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid, y la empresa biotecnológica Secugen (Madrid).

Cuando considere puede ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición de sus datos, mediante escrito dirigido al Dr. Pedro Diz Dios —responsable del fichero que albergará sus datos en la Unidad de Pacientes con Necesidades Especiales de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Santiago de Compostela— acompañado de su DNI, que nos puede remitir al Fax nº 981562226 (Facultad de Medicina y

Versión: [número da versión], data [data da versión].

Deberán firmarse tres modelos, uno será entregado al participante, otro será conservado en el centro en el que se obtuvo la muestra, y el tercero será conservado por el responsable del estudio de investigación

Odontología), vía correo electrónico a la dirección e-mail (pacientes.especiales@hotmail.com) o por correo postal a la entidad mencionada, sita en c/Entrerriós sn (15782) en Santiago de Compostela.

Al terminar el estudio, conforme al RD 1716/2011, sus muestras biológicas serán

- **Codificadas**, conservados en la colección para la línea de investigación en genética de las enfermedades dentales, Colección de Muestras inscrita en el Registro Nacional (C.0003366). Dada de alta en la Red Nacional de Biobancos, de la que es titular Dr. Ángel Carracedo en la Fundación Pública Galega de Medicina Genómica (responsable de la colección). En este caso las muestras podrán ser utilizadas para otros estudios relacionados y previo informe favorable de un Comité de Ética de la Investigación.
 - o Ud. tendrá a su disposición, si así se lo solicita al investigador/a toda la información sobre los estudios de investigación en los que se utilice la muestra. Un Comité de ética decidirá en qué casos será imprescindible que se le envíe información de manera individualizada.
 - o Sus datos y muestras quedarán bajo la custodia del responsable de la colección, y solo tendrán acceso a datos que lo identifiquen el responsable y su equipo. Las muestras solo podrán ser cedidas a otros grupos con su consentimiento.
 - o Sepa que puede restringir el uso de sus datos y muestras dirigiéndose al responsable de la colección.
- **O cedidas gratuitamente a un Biobanco del Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), para lo cual se le facilitará un documento específico para autorizar esta cesión.**

Ud. podrá solicitar la destrucción o anonimización de su muestra en cualquier momento, dirigiéndose al investigador principal. Tiene que saber que esto no será de aplicación a los datos resultantes de los análisis que ya fueran efectuados.

¿Existen intereses económicos en este estudio?

Esta investigación es promovida por la Universidad de Santiago de Compostela con fondos aportados por la Xunta de Galicia (programa IGNICIA).

El investigador no recibirá retribución específica por la dedicación al estudio.

Ud. no será retribuido económicamente por participar. Es posible que de los resultados del estudio se deriven productos comerciales o patentes, pero en ese caso no podrá participar de los beneficios económicos originados.

¿Cómo contactar con el equipo investigador de este estudio?

Ud. puede contactar con la Dra. Eliane García Mato en el teléfono 881812344 (Unidad de Odontología para Pacientes con Necesidades Especiales, Universidad de Santiago de Compostela) o por correo electrónico (pacientes.especiales@hotmail.com).

Muchas gracias por su colaboración

Versión: [número da versión], data [data da versión].

Deberán firmarse tres modelos, uno será entregado al participante, otro será conservado en el centro en el que se obtuvo la muestra, y el tercero será conservado por el responsable del estudio de investigación



DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO PARA EL PACIENTE, PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN (Adulto con capacidad jurídica)

TÍTULO: Identificación de estreptococos comensales con capacidad inhibitoria sobre *Streptococcus mutans* y patógenos periodontales, en la cavidad oral de personas con Síndrome de Down

Yo,.....(nombre y apellidos), con
DNI N°

- *Lei la hoja de información al participante del estudio arriba mencionado que se me entregó, pude conversar con la Dra. Eliane García Mato y hacer todas las preguntas sobre el estudio necesarias.*
- *Comprendo que mi participación es voluntaria, y que puedo retirarme del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados sanitarios.*
- *Accedo a que se utilicen mis datos y muestras en las condiciones detalladas en la hoja de información al participante.*
- *Presto libremente mi conformidad para participar en este estudio.*

Respecto a la conservación DE LAS MUESTRAS recogidas en este estudio

- *Accedo a que sean conservadas codificadas en la colección de muestras biológicas para la línea de investigación en genética de las enfermedades dentales, inscrita en el Registro Nacional con el n° C.0003366*

Fdo.: El/la participante,

Fdo.: El/la investigador/a que solicita el consentimiento

Nombre y apellidos: _____

Nombre y apellidos: _____

Fecha:

Fecha:

Versión: [número da versión], data [data da versión].

Deberán firmarse tres modelos, uno será entregado al participante, otro será conservado en el centro en el que se obtuvo la muestra, y el tercero será conservado por el responsable del estudio de investigación



DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO ANTE TESTIGOS PARA LA PARTICIPACIÓN EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN (Adultos que no puedan leer/escribir)

TÍTULO: Identificación de estreptococos comensales con capacidad inhibitoria sobre *Streptococcus mutans* y patógenos periodontales, en la cavidad oral de personas con Síndrome de Down

Yo,.....(nombre y apellidos), con DNI N° como testigo imparcial, afirmo que en mi presencia:

- Se le leyó a _____ la hoja de información al participante del estudio arriba mencionado que se le entregó, y pudo hacer todas las preguntas sobre al estudio.
- Comprende que su participación es voluntaria, y que puede retirarse del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.
- Accede a que se utilicen sus datos y muestras en las condiciones detalladas en la hoja de información al participante.
- Presta libremente su conformidad para participar en este estudio.

Respecto a la conservación y utilización DE LAS MUESTRAS recogidas en este estudio

- Accedo a que sean conservadas codificadas en la colección de muestras biológicas para la línea de investigación en genética de las enfermedades dentales, inscrita en el Registro Nacional con el n° C.0003366

Fdo.: El/la testigo

Fdo.: El/la investigador/a que solicita el consentimiento

Nombre y apellidos: _____

Nombre y apellidos: _____

Fecha:

Fecha:

Versión: [número da versión], data [data da versión].

Deberán firmarse tres modelos, uno será entregado al participante, otro será conservado en el centro en el que se obtuvo la muestra, y el tercero será conservado por el responsable del estudio de investigación



DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO PARA EL REPRESENTANTE LEGAL PARA LA PARTICIPACIÓN EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

TÍTULO: Identificación de estreptococos comensales con capacidad inhibitoria sobre *Streptococcus mutans* y patógenos periodontales, en la cavidad oral de personas con Síndrome de Down

Yo, _____ (nombre y apellidos), representante legal de _____ (nombre y apellidos):

- *Leí la hoja de información al participante del estudio arriba mencionado que se me entregó, pude conversar con _____ y hacer todas las preguntas sobre el estudio.*
- *Comprendo que su participación es voluntaria, y que puede retirarse del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.*
- *Accedo a que se utilicen sus datos y muestras en las condiciones detalladas en la hoja de información al participante.*
- *Presto libremente mi conformidad para que participe en este estudio.*

Respecto a la conservación y utilización DE LAS MUESTRAS recogidas en este estudio

- *Accedo a que sean conservadas codificadas en la colección de muestras biológicas para la línea de investigación en genética de las enfermedades dentales, inscrita en el Registro Nacional con el nº C.0003366*

Fdo.: El/la representante legal

Fdo.: El/la investigador/a que solicita el consentimiento

Nombre y apellidos: _____

Nombre y apellidos: _____

Fecha:

Fecha:

Versión: [número da versión], data [data da versión].

Deberán firmarse tres modelos, uno será entregado al participante, otro será conservado en el centro en el que se obtuvo la muestra, y el tercero será conservado por el responsable del estudio de investigación

ANEXO V: ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tablas

Tabla 1.	Lista de los 21 SNPs seleccionados para el cálculo de la PRS.....	71
Tabla 2.	Características demográficas y condiciones sistémicas del grupo de estudio, en base al fenotipo periodontal.	75
Tabla 3.	Diagnóstico periodontal.....	76
Tabla 4.	Top SNPs asociados.....	78
Tabla 5.	Genes con mayor significación tras los resultados de SKAT	79
Tabla 6.	<i>Pathways</i> con significancia nominal tras el análisis con el software DAVID	80
Tabla 7.	PRS en casos y controles	86

Figuras

Figura 1:	Plot PC1*PC2 identificado utilizando el software estadístico R v2.8.....	77
Figura 2.	<i>Pathway</i> de <i>Long-term depression</i> identificada mediante el software DAVID..	81
Figura 3.	<i>Pathway</i> de <i>FoxO signaling pathway</i> identificada mediante el software DAVID..	83
Figura 4.	<i>Pathway</i> de <i>PI3K-Akt signaling pathway</i> identificada mediante el software DAVID..	85



La enfermedad periodontal es una de las manifestaciones orales más prevalentes en el síndrome de Down (SD). Se ha sugerido que en su etiología multifactorial participan la flora bacteriana, la respuesta del huésped y determinados factores genéticos. El objetivo de este trabajo fue detectar variaciones génicas asociadas a la presencia de enfermedad periodontal en personas con SD, para identificar genes de susceptibilidad y biomarcadores que permitan predecir su riesgo de aparición y severidad.