



UADY
CIENCIAS DE LA SALUD
FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA

MARCADORES MOLECULARES ASOCIADOS A
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER EN PERSONAS CON
SÍNDROME DE DOWN

Tesis presentada por:
FABIO GREGORIO ARRIOLA PACHECO

En opción al Grado de:
MAESTRO EN ODONTOLOGÍA INFANTIL

Directores de Tesis:
M.I.E. ALICIA LEONOR PINZÓN TE
DR. VICTOR MANUEL MARTÍNEZ AGUILAR

Mérida, Yucatán, Julio 2020



UADY
CIENCIAS DE LA SALUD
FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA

MARCADORES MOLECULARES ASOCIADOS A
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER EN PERSONAS CON
SÍNDROME DE DOWN

Tesis presentada por:
FABIO GREGORIO ARRIOLA PACHECO

En opción al Grado de:
MAESTRO EN ODONTOLOGÍA INFANTIL

Directores de Tesis:
M.I.E. ALICIA LEONOR PINZÓN TE
DR. VICTOR MANUEL MARTÍNEZ AGUILAR

Mérida, Yucatán, Julio 2020



Mérida, Yucatán, 6 de julio de 2020

C. FABIO GREGORIO ARRIOLA PACHECO

Con base en el dictamen emitido por sus Directores y revisores, le informo que la Tesis titulada **"Marcadores moleculares asociados a enfermedades de Alzheimer en personas con síndrome de Down"**, presentada como cumplimiento a uno de los requisitos establecidos para optar al Título de la Maestría en Odontología Infantil, ha sido aprobada en su contenido científico, por lo tanto, se le otorga la autorización para que una vez concluidos los trámites administrativos necesarios, se le asigne la fecha y hora en la que deberá realizar su presentación y defensa.

Dr. José Rubén Herrera Atoche
Jefe de la Unidad de Posgrado e Investigación



FACULTAD DE ODONTOLOGIA
UNIDAD DE POSGRADO
E INVESTIGACION

M.I.E. Alicia Leonor Pinzón Te
Directora

Dr. Víctor Manuel Martínez Aguilar
Director

M.O.I. Marina Eduviges Rejón Peraza
Revisora

Dr. Jaime Andrés Díaz Zúñiga
Revisor

Anexo 78 del reglamento interno de
la Facultad de Odontología de la
Universidad Autónoma de Yucatán

Aunque una tesis hubiera servido para
el examen profesional y hubiera sido
aprobada por el sínodo, solo su autor o
autores son responsables de las
doctrinas en ella emitidas.

El presente trabajo de tesis se realizó en la Maestría de Odontología Infantil de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán y el Laboratorio de Biología Periodontal de la Universidad de Chile, bajo la dirección de la MIE Alicia Leonor Pinzón Té y el Dr. Víctor Manuel Martínez Aguilar. Los resultados de este estudio son parte del proyecto de investigación "Experimental periodontal infection induced by *Porphyromonas gingivalis* or *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and its association with Alzheimer's disease. Looking for the potential risk factor", by Regional Development Program de la IADR.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de marcadores moleculares y microbiológicos asociados a enfermedad periodontal y enfermedad Alzheimer (EA) en pacientes afectados de Síndrome de Down (SD). Por factores propios del Síndrome de Down, las personas con la condición poseen una mayor facilidad a desarrollar enfermedad periodontal y EA. Por su parte, la enfermedad periodontal puede afectar el inicio o progresión de la EA. Particularmente, en pacientes con SD esta progresión puede ocurrir a edades más tempranas que en pacientes no afectados por dicha enfermedad. De esta manera, la presencia de enfermedad periodontal en pacientes con SD podría contribuir a la patogénesis de la EA.

Se estudiaron de manera prospectiva pacientes con y sin SD, y se determinó el estado periodontal de estos, para correlacionar con la muestra biológica. Se recolectaron muestras de microbioma gingival para detectar la presencia de *P. gingivalis*, y fluido crevicular gingival, para estudiar citoquinas pro y antiinflamatorias y el marcador de enfermedad de Alzheimer ApoE- ϵ 4.

El estudio de carga bacteriana periodontal permitió establecer una correlación entre *P. gingivalis* y la severidad en las etapas tempranas de enfermedad periodontal de las personas con Síndrome de Down. El estudio de las citoquinas recolectadas de sitios periodontales, revelaron no tener ninguna distinción en su secreción, a excepción de la IL-1 β . Al estudiar los marcadores de EA., se detectó ApoE- ϵ 4, la cual fue secretada en mayores concentraciones en los pacientes afectados de periodontitis etapa III y IV. De esta manera, se establecieron asociaciones entre estadios de periodontitis con carga bacteriana y niveles de ApoE- ϵ 4.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
SINDROME DE DOWN	3
Salud Periodontal el pacientes con Síndrome de Down	5
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER	7
ApoE-ε4	9
ENFERMEDAD PERIODONTAL	10
Epidemiología	10
Etiopatogenia	11
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	12
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER Y SU ASOCIACIÓN CON LA ENFERMEDAD PERIODONTAL	14
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER Y SU ASOCIACIÓN CON EL SÍNDROME DE DOWN	16
EFECTO PERIODONTAL DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER EN EL SÍNDROME DE DOWN	17

JUSTIFICACIÓN	19
OBJETIVO GENERAL	21
OBJETIVOS ESPECIFICOS	21
MATERIALES Y METODOS	22
RESULTADOS	31
DISCUSIÓN	41
CONCLUSIONES	47
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. PARTIDORES UTILIZADOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE <i>P. Gingivalis</i> Y CONTROL POSITIVO DE 16S DNA	28
TABLA 2. DATOS PERIODONTALES POR GRUPOS DE DIAGNÓSTICOS PERIODONTAL	31

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. PRESENCIA DE P. GINGIVALIS RELACIONADA A LA PROFUNDIDAD DE SONDAJE	32
FIGURA 2. PRESENCIA DE P. GINGIVALIS RELACIONADA A LA PERDIDA DE INSERCIÓN CLÍNICA.	33
FIGURA 3. CORRELACIÓN ENTRE LOS DIAGNÓSTICOS PERIODONTALES Y LA CARGA BACTERIANA DE <i>P. Gingivalis</i>	34
FIGURA 4. CUANTIFICACIÓN DE CITOQUINAS PRO-INFLAMATORIAS.	35
FIGURA 5. CUANTIFICACIÓN DE CITOQUINAS PRO-RESORTIVAS	36
FIGURA 6. CUANTIFICACIÓN DE CITOQUINAS INMUNO-MODULADORAS	36
FIGURA 7. CUANTIFICACIÓN DE CITOQUINAS INMUNO-REGULADORAS	37
FIGURA 8. GRÁFICO DE CALOR DE FENOTIPOS EFECTORES Th	38
FIGURA 9. CUANTIFICACIÓN DE ApoE-ε4	39
FIGURA 10. GRÁFICA DE CALOR COMPARANDO LAS CONCENTRACIONES DE ApoE-ε4 Y LA CARGA BACTERIANA	

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N°1. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO Y VOLUNTARIO	68
ANEXO N°2. HISTORIA Y DATOS CLÍNICOS	69
ANEXO N°3. PERIODONTOGRAMA	70

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

El Síndrome de Down (SD) consiste en la expresión adicional de forma completa o parcial del cromosoma 21. Las personas con SD, dependiendo del grado de afección cognitiva que padecen, pueden sufrir alteraciones en su calidad de vida, debido a factores de salud, social o psicológico. Se ha observado que los pacientes con SD se encuentran bajo mayor riesgo a desarrollar enfermedades crónico-infecciosas debido al genotipo inflamatorio propio de la condición, principalmente relacionado con alteraciones anatómicas, alteraciones en el timo, y problemas de inmunidad. Estomatológicamente, se ha reportado en la literatura que la afección odontológica más común es la enfermedad periodontal (EP), caracterizada por la presencia de bacterias altamente patogénicas, un elevado componente inflamatorio y una rápida progresión. La EP, es una patología inflamatoria desencadenada por un microbioma subgingival disbiótico. La colonización del microbioma por bacterias *keystone* en edades tempranas puede predisponer al hospedero a desencadenar EP. No obstante las bacterias *keystone* son la causa principal de la disbiosis y la respuesta inmune del hospedero es la responsable de la destrucción de los tejidos de soporte de los dientes. Los trastornos inmunitarios han sido citados como la principal razón de la presencia de gingivitis o periodontitis, esto debido a la reducida actividad de neutrófilos, macrófagos, células dendríticas y linfocitos T. La disbiosis generada en el microbioma induce la producción de moléculas pro-inflamatorias, las cuales tienen un efecto tanto local como sistémico. Recientemente, se ha especulado que la presencia de moléculas inflamatorias en la circulación periférica derivada de ciertas enfermedades inflamatorias crónicas puede ser un factor de riesgo de neuroinflamación.

Adicionalmente a la predisposición de la EP en sujetos con SD, estos tienen una alta predisposición a desarrollar algún tipo de demencia, tal como la Enfermedad de Alzheimer (EA). La EA es una condición neurodegenerativa caracterizada por la deposición de β amiloide en forma de placas amiloides y la hiperfosforilación de la proteína Tau, que conforma ovillos neurofibrilares. La acumulación progresiva de ambas moléculas determina la neurotoxicidad que lleva a la falla sináptica y progresiva muerte

neuronal. La relación entre las tres condiciones SD, EP, y EA es actualmente objeto de estudio, ya que existen factores prevenibles, como la EP, que pueden llevar a la detección oportuna en pacientes con SD, y así predecir o prevenir la exacerbación de EA, y/o prolongar su aparición. Con estas bases, se establece como pregunta de investigación: ¿Cuáles son los marcadores moleculares asociados a enfermedad de Alzheimer en personas con Síndrome de Down?

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. SÍNDROME DE DOWN

El síndrome de Down (SD) es el trastorno del neurodesarrollo más prevalente a nivel mundial, con una etiología genética claramente identificada (1). Esta condición es una de las causas principales de discapacidad intelectual, junto con numerosas condiciones sistémicas, incluyendo alteraciones en el aprendizaje y memoria, enfermedades cardíacas congénitas, anomalías respiratorias, problemas endocrinos, historial de episodios epilépticos, problemas gastrointestinales, enfermedad de Alzheimer (EA), alteraciones hematológicas, anomalías inmunológicas, apnea obstructiva del sueño, problemas visuales, problemas auditivos y enfermedad de Hirschprung (1–6). Física y anatómicamente, los pacientes presentan facies particulares, en muchos casos llevando a anomalías craneofaciales avanzadas e hipotonía desde la infancia temprana (1). Los pacientes con SD, a pesar de tener un aceptable grado de integración social en distintos contextos, aun encuentran dificultades al momento de recibir atención en salud bucal. La falta de concientización por parte de los padres/cuidadores, el miedo y ansiedad por parte de los pacientes y la falta de profesionales preparados para otorgar la atención adecuada a estos pacientes, se citan como factores de riesgo sociales y ambientales para el desarrollo de patologías bucales en esta población (2).

John Langdon describió la entidad clínica por primera vez, a mitades del siglo XIX y desde 1959, el fenotipo del SD ha sido asociado con una trisomía para el cromosoma 21. La mayoría de los casos de SD no son heredados, pero resultan en errores en la división celular durante las etapas de desarrollo del oocito, espermio o embrión. La trisomía del cromosoma 21 es responsable del 90-95% de los casos. Esta trisomía es el resultado de un fallo de segregación cromosómica normal, lo cual lleva a una producción de un gameto conteniendo dos copias del cromosoma 21. Entre el 2 al 4% de los casos, la presencia se debe a un mosaico genético, una condición en donde los individuos tienen líneas celulares tanto trisómicas y euploidias —conteniendo 46 cromosomas y dos

copias del cromosoma 21—. Esto se puede deber a un fallo en un cigoto normal con 46 cromosomas, que sufre un error mitótico temprano o un paciente con trisomía 21, que puede sufrir un error mitótico que permite que algunas células regresen a un cariotipo normal. La falta de disyunción meiótica maternal representa el 88% de los casos, lo cual resulta relevante, ya que esta información ha permitido identificar factores de riesgo a la madre y diseñar estrategias de prevención (1,2). La literatura actual sugiere que se le debe dar un mayor peso a las diferencias genóticas de los pacientes y no reportarlas de manera homogénea, ya que existen diferencias fenotípicas y rasgos particulares de cada una, que pueden llevar a un mejor entendimiento de cada caso en particular, tanto al momento de realizar investigación, como de atender en salud (7).

La prevalencia del SD varía dependiendo del país que se estudia, existiendo factores socioculturales y económicos de por medio; de estos la edad materna promedio y la valoración prenatal se reportan como aquellos factores más homogéneamente influyentes en todas las poblaciones (1). La Organización Mundial de la Salud, estima que la prevalencia de SD es de uno por cada 1,000-1,100 nacimientos vivos (8). Reportes de los sistemas de salud en el Reino Unido han reportado la prevalencia de 6.3 por cada 10,000 nacimientos. En Estados Unidos, de 8.27 por cada 10,000 nacimientos (9,10). En México, tanto el Registro y Vigilancia de Malformaciones Congénitas Externas, en su reporte del 2008-2013, así como Sierra Romero *et al.* en su revisión de certificados de nacimientos vivos y de muerte fetal en el periodo 2008- 2011 ocurridos a nivel nacional, reportaron tasas del 3.55 y 3.73 respectivamente, por cada 10,000 nacimientos mexicanos(11,12). En el estado de Yucatán, se estima que la tasa de nacimiento de personas con Síndrome de Down, es de 3.84 por cada 10,000 nacimientos, posicionado al estado en el segundo cuartil de prevalencia a nivel nacional(11).

Orofacial y bucalmente, la condición presenta características particulares ampliamente descritas en la literatura. Físicamente, se observan rasgos tales como: mentón pequeño, ojos rasgados, boca pequeña, y tonicidad muscular deficiente, presencia de mordida abierta, mordida cruzada, *overjet* aumentado, mayor incidencia de clase III esquelética, retrasos en los patrones eruptivos y variaciones morfológicas (1). En cuanto a tejidos blandos, los hallazgos comunes incluyen: lenguas fisuradas, protrusivas

acompañadas de una pseudomacroglosia, lo que en ocasiones lleva a la respiración bucal, problemas de motricidad oral y dificultades al momento de la masticación y deglución (2).

La prevalencia e incidencia de caries en pacientes con SD es materia de debate en la literatura científica, con esta de forma general aceptando que existe una prevalencia igual o menor que en personas sin SD (13,14). Un metaanálisis y revisión de sistematizada realizado por Dets *et al.* (2015) sugiere que existe una menor prevalencia de caries en la población con SD, mientras que la revisión sistematizada de Moreira *et al* (2016), sugiere que no existe suficiente evidencia para determinar esta hipótesis (13,14). Las causas citadas en este ámbito han considerado la erupción tardía, los espacios interdentes aumentados, la oligodoncia congénita y ciertas características salivales (14). Sin embargo, se han citado factores que pudiesen determinar la variabilidad en la presencia de lesiones cariosas como son el grado de discapacidad intelectual padecido, la presencia o falta de programas preventivos en salud bucal y la poca concientización en prácticas preventiva por parte de los padres y/o cuidadores de la persona (2).

1.2 SALUD PERIODONTAL EN PACIENTES CON SD

En la literatura está ampliamente descrito que los pacientes con SD tienden a padecer enfermedades periodontales con una mayor prevalencia, cuando son comparados con poblaciones sin la condición (15). La Academia Americana de Periodoncia y la Federación Europea de Periodoncia reconocen en su última revisión de manifestaciones de condiciones sistémicas que afectan al periodonto, que existe evidencia moderada que indica que el SD está asociado con pérdidas de tejido periodontal. Además, reconocen que la presencia o severidad de la enfermedad se manifiesta a edades más tempranas, cuando esto se compara con la población sin SD (16). No obstante la periodontitis suele manifestarse durante la adolescencia, en una población de pacientes de 6 años de edad afectados de SD se observó una prevalencia anormal de 36% de bolsas periodontales, un mayor sangrado e inflamación gingival (17–19).

En los pacientes afectados de SD la mayor prevalencia de enfermedades periodontales se relaciona con factores locales y sistémicos propios de su condición(20). Las causas locales incluyen higiene oral reducida en pacientes con discapacidades intelectuales más avanzadas, mayor facilidad para la existencia de depósitos de cálculo, macroglosia, morfología dentaria anormal, maloclusiones, anormalidades del tejido gingival y alteraciones en la saliva (2). Particularmente, la saliva de los pacientes con SD tiene una variación en cuanto a cantidad, flujo, pH, niveles de electrolitos y carga bacteriana (2,18). Factores como la alta presencia de IgA, una alta capacidad antioxidante y altos niveles de bicarbonato son características consideradas “protectoras” para el desarrollo de lesiones cariosas (2). Sin embargo, distintos estudios han detectado una mayor concentración de *P. gingivalis*, *T. denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *P. nigrescens*, y *A. actinomycetemcomitans* en saliva de pacientes con SD, reforzando la teoría de una mayor presencia de periodonto-patogénos (18,21).

Con relación a las causas sistémicas se ha consensuado que la mayor presencia de afecciones periodontales se debe a la disminución de su capacidad inmunológica. En efecto, una actividad reducida de neutrófilos y linfocitos T se ha reportado en los pacientes afectados de SD, así como una producción aumentada de mediadores inflamatorios y enzimas proteolíticas. De igual manera, en el fluido crevicular gingival se han identificado una cantidad mayor de marcadores inflamatorios (PGE2, TNF- α , INF- γ y SOD 1) siendo éstos indicadores de inflamación localizada (22). El componente inflamatorio de las afecciones periodontales es significativo, debido tanto a las características fenotípicas del SD, como a la función alterada de los neutrófilos y una mayor susceptibilidad microbiana (23). El compromiso inmunológico de estos pacientes es el responsable de su inmunidad disminuida, lo que permite una disbiosis del microbioma ante pequeños cambios en la inmunidad, en el ambiente, en la dieta o en otro factor (15).

2. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa, siendo la causa más común de demencia y trastornos cognitivos degenerativos en la población mundial (24,25). La EA en pacientes sin compromisos sistémicos tiene dos presentaciones: la EA de inicio tardío que se presenta en pacientes de 65 años o más y se asocia con un estado crónico inflamatorio-degenerativo. Y la EA de inicio precoz, que se presenta a los 45 años y se debe a una carga genética. Ambos tipos representan un reto para los que la padecen, sus familiares, cuidadores y el personal que trabaja con ellos(26). Se estima que la EA de presentación tardía equivale al 90-95% de los diagnósticos, siendo la EA de inicio precoz menor al 10% restante el EA precoz (27). Ambos tipos de EA comparten tanto componentes inflamatorios y genéticos, como desafíos para su manejo preventivo, clínico y terapéutico (28). La prevalencia global de la condición se estima que es de un 4.7% entre los individuos mayores de 60 años (27). En México, la Encuesta Nacional de Salud y Envejecimiento reporta una prevalencia de la condición del 3.3% (29).

Existen diversos factores de riesgo para desarrollar EA determinados por rasgos específicos de cada individuo. Existen factores de riesgo modificables y no modificables. Entre los factores de riesgo modificables podemos enumerar una serie de condiciones o enfermedades crónicas no transmisibles, tales como: la diabetes, hipertensión, el síndrome metabólico, la obesidad, el tabaquismo, la historia de accidente cerebrovascular, depresión, y las lesiones severas por trauma (26,27). Por otra parte, los factores de riesgos no modificables incluyen: el género femenino (1.5 más riesgo de desarrollo), historia familiar de EA, Síndrome de Down, sobreexpresión del alelo de la Apolipoproteína (APO ϵ) en su isoforma - ϵ 4 y la amiloidosis cerebral (25,28).

A nivel molecular, la EA es una enfermedad neurodegenerativa irreversible que consiste en la interrupción sináptica intra y extracelular (24,25). La acumulación de la proteína amiloide β (A β) insoluble en forma de oligómeros (A β Os) en el cerebro induce una respuesta inflamatoria en la microglía y astrocitos. Esta inflamación es capaz de alterar la fisiología neuronal generando la hiperfosforilación de la proteína asociada a microtúbulos de la neurona, Tau. La proteína Tau hiperfosforilada se acumula en el

soma de las neuronas, generando alteraciones en la actividad sináptica. Posteriormente, la neurotoxicidad lleva a la muerte neuronal y con ello, la salida de la proteína Tau hiperfosforilada al cerebro y su acumulación en forma de ovillos neurofibrilares (24).

El inicio de la cascada amiloide, la teoría más aceptada para explicar el inicio de la EA, es la neuroinflamación. Numerosos estudios han demostrado que un estado inflamatorio crónico es capaz de afectar la homeostasis cerebral (30,31). En efecto, los mediadores inflamatorios son capaces de difundirse desde la circulación periférica hacia el cerebro, afectando la función de las microglías que reaccionan en respuesta a estos mediadores (32). Las microglías activas, específicamente en su fenotipo M1-proinflamatorio secretan una mayor cantidad de mediadores, generando alteraciones metabólicas, energéticas y oxidativas en los astrocitos y las neuronas. Los astrocitos reactivos secretan en respuesta a esta inflamación, mayores niveles de $A\beta$ que rápidamente es oligomerizado a $A\beta$ O_s u otra conformación insoluble. Los $A\beta$ O_s inducen una mayor activación de las microglías, lo que desencadena un ciclo neuroinflamatorio vicioso (33–36). En la literatura se ha descrito que ciertos microorganismos son capaces de migrar desde el epitelio intestinal, respiratorio u oral hacia el hipocampo o corteza cerebral (37–42). Así, estos datos sugieren que las bacterias orales podrían migrar al cerebro, ser reconocidas por las microglías y activar una respuesta inmune que genere mayor producción de $A\beta$ (43,44). En efecto, los astrocitos reactivos podrían secretar Amiloide como péptido antimicrobiano, el cual es utilizado por los microorganismos como medio de anclaje y sustrato para poder establecer una nueva colonia (36). La presencia de un núcleo de microorganismos en las placas seniles ha sido documentado en sujetos que fallecieron por EA y se detectó la presencia del virus del herpes simplex tipo 1(45,46). Luego, la molécula transportadora Apo- ϵ 4 reconoce este complejo y permite su fagocitosis y procesamiento por las microglías (46). Sin embargo, en presencia de microorganismos patógenos, este péptido de amiloide se insolubiliza y no puede ser fagocitado, generando la acumulación en el cerebro, la consecuente respuesta inflamatoria y acumulación de Apo ϵ 4 (47).

2.1 ApoE- ϵ 4

La ApoE es una lipoproteína de 299 aminoácidos que es producida por hepatocitos, macrófagos y adipocitos en los tejidos periféricos y por astrocitos en el sistema nervioso central (48,49). Su función principal es transportar colesterol y otros lípidos en el plasma (28,50). Existen 4 isoformas de la ApoE, cada uno con distinta prevalencia en los distintos tejidos donde se expresa. Así, el gen ampliamente reconocido como aquel de mayor riesgo o susceptibilidad para ayudar a desarrollar la cascada amiloidea es de la apolipoproteína-E (APOE), específicamente cuando se trata de su isoforma ϵ 4 (25). En el sistema neuronal permite el mantenimiento de las sinapsis, así como para la reparación tisular y, usualmente, solo se expresa en situaciones de estrés o daño (51,52). El cerebro es el órgano más rico en lípidos, lo cual determina que la función de las lipoproteínas, el colesterol y la homeostasis lipídica son críticas para una función cerebral normal, la reparación de las membranas, el remodelamiento y la plasticidad neuronal (53).

Todos los seres humanos heredan el gen de la APOE ϵ 2, ϵ 3, o ϵ 4, de cada padre. La forma de ϵ 3 es la más común, con una presencia de 50 a 90 % en los individuos, seguida de la ϵ 4 con un 5 a 35% y ϵ 2 con 1 a 5%. De ellas, el tener la forma ϵ 4 incrementa el riesgo de que un individuo padezca EA, mientras que la forma ϵ 2 puede disminuir el riesgo, cuando estas se comparan a la forma ϵ 3 (24,54). La isoforma de ApoE- ϵ 4 posee una capacidad reducida de prenilación, lo cual puede resultar en una protección neuronal o capacidad reparativa reducida en la inducción de una mayor acumulación de A β , y en la activación de los astrocitos reactivos (50,55,56).

No obstante, los astrocitos reactivos y las microglías son esenciales para el *clearance* de los péptidos solubles de A β , que existe evidencia sugerente que ApoE- ϵ 4 puede exacerbar la producción de A β . La hipótesis para explicar este comportamiento depende de la falta de capacidad de participar en el *clearance* del péptido de A β , lo que realmente le confiere la capacidad de ser un factor de riesgo para EA a ApoE- ϵ 4 (49,57). Contrariamente, se ha determinado que los receptores de ApoE pueden tener un efecto importante en la modulación del tráfico de la proteína precursora de amiloide (del inglés

amyloid precursor protein, APP) (proteína precursora amiloidea, la cual tiene la función de secretar A β) (31,58)

3. ENFERMEDAD PERIODONTAL

Las enfermedades periodontales (EP) son un conjunto de patologías crónicas no transmisibles caracterizadas por la inflamación o destrucción del periodonto de protección (epitelio gingival oral, epitelio del surco y epitelio de unión) e inserción (cemento radicular, hueso alveolar y ligamento periodontal) (59). Entre las EP se distinguen dos grandes grupos: la gingivitis, caracterizada por la inflamación de los tejidos de protección del diente y una respuesta predominantemente inflamatoria y, la periodontitis, caracterizada por la destrucción de los tejidos del periodonto de inserción y la inflamación del periodonto de protección (60).

La periodontitis se manifiesta cuando se produce la disbiosis del microbioma subgingival, la que induce una respuesta inmuno-inflamatoria (59). Debido al alto componente inflamatorio y microbiológico que se genera durante la fase destructiva e inflamatoria durante la periodontitis, es que se han observado efectos en otros tejidos u órganos, lo que ha permitido establecer relaciones entre las EP con enfermedades cardiovasculares, parto prematuro con bajo peso al nacer, obesidad, estrés, entre otras condiciones sistémicas (16,61). Recientemente, se ha descrito una potencial asociación entre la periodontitis y la EA, sin embargo, aún no existen estudios clínicos que puedan identificar la principal razón de esta asociación, sin embargo, existe un creciente cuerpo de evidencia detrás de la explicación de sus mecanismos (62).

3.1.EPIDEMIOLOGIA

A nivel mundial la EP representa la 6ª ligar en prevalencia entre las enfermedades crónicas no trasmisibles, con una tasa estimada de prevalencia del 11.2%, o 743 millones de personas a nivel mundial (63). Históricamente, se ha reportado una mayor prevalencia de EP en adultos que en pacientes jóvenes, con una incidencia incrementada

en personas de 30 a 40 años (64). Sin embargo, la literatura apunta a mayores prevalencias de acumulación de cálculo y sangrado periodontal en pacientes jóvenes de países en vías de desarrollo (prevalencia del 35 al 70%), que en países desarrollados (prevalencia del 4 a 34%) (61,65). En este marco, se ha estudiado que las poblaciones Latinoamericanas cuentan con la mayor prevalencia de la EP a nivel mundial, con un 20.4% (63). Se sugiere que los factores de riesgo principales para el desarrollo de enfermedades periodontales en Latino América son: género (masculino), nivel educativo, nivel socio económico, tabaquismo y obesidad (66). En México, específicamente, se ha estudiado que la prevalencia de gingivitis varía entre 13-70% en poblaciones infantiles y adolescentes (67–69). Botero *et al.* sugieren que hallazgos comunes en los estudios de las enfermedades periodontales en jóvenes y adolescentes en México normalmente concuerdan en que existe un control deficiente de microbioma deficiente y existe una mayor presencia de la enfermedad en niveles socioeconómicos más bajos (70).

3.2 ETIOPATOGENIA

Las EP se desencadenan por comunidades polimicrobiales que inducen una disbiosis caracterizada por el crecimiento excesivo de bacterias *keystone*. Si bien estas bacterias se detectan tanto en salud como EP, se ha especulado que la disbiosis se genera por alteraciones en el hospedero, condiciones genéticas y algunos factores ambientales (71,72). Entre los patógenos periodontales, se describen los patobiontes, que son microorganismos comensales que cuentan con el potencial de inducir la patología periodontal, y los patógenos *keystone* que son patógenos específicos con un potencial desproporcionalmente más grande de producir un efecto nocivo a su ambiente, aunque no existan en grandes cantidades (59,73). Los patógenos *keystone* y patobiontes son residentes del microbioma subgingival y, en las condiciones mencionadas anteriormente, incrementarán su metabolismo, número o virulencia generando la disbiosis (73,74). Entre las bacterias *keystone* se describen bacterias Gram-negativas anaerobias tales como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola*, *Tannerella forsythia* y *Filifactor alocis* (75–77).

Una vez generada la disbiosis, las bacterias *keystone* tienen la capacidad de invadir al hospedero y alojarse en el tejido conectivo subyacente al epitelio de unión. Ahí, serán reconocidos por neutrófilos, macrófagos o células dendríticas, con el objetivo de fagocitarlos y procesarlos (74,75) Sin embargo, estas bacterias tienen la capacidad de evadir la respuesta inmune e incrementar su número, lo que genera un aumento de su virulencia. Posteriormente, las células presentadoras de antígeno que reconocen a estas bacterias inducen una respuesta inmuno-inflamatoria. Una vez en el linfonodo, las células presentadoras de antígeno expresan a la molécula mayor de histocompatibilidad tipo II (del inglés *major histocompatibility complex type II*, MHC-II) en su superficie con el antígeno, moléculas co-estimuladoras y citoquinas a los linfocitos T CD4+ naïve, los que, reconocen a todo este complejo e inducen su diferenciación a los distintos fenotipos efectoros de linfocitos T colaboradores (del inglés *T helper*, Th) (78). Los linfocitos Th diferenciados migrarán hacia el sitio periodontal donde se produjo la invasión bacteriana para ejercer su rol inflamatorio (Th1), modulador (Th2), pro-resortivo (Th17) o inmuno-regulador (T regulador). Los linfocitos Th1 y Th17 secretarán una serie de moléculas inflamatorias capaces de activar a los preosteoclastos y osteoclastos. Así, esta respuesta inmune inducida ante ciertas bacterias es la responsable de la destrucción del hueso alveolar, característica principal de la periodontitis (79). Las citoquinas del perfil inflamatorio TNF- α , la IL-1 β y la IL-6 son las primeras en ser secretadas por las células inmunes y promueven la secreción de metaloproteinasas de matriz (del inglés *matrix metalloproteinases*, MMPs) y el ligando de receptor activador para el factor nuclear κ B (del inglés *ligand of the receptor activator of nuclear factor κ B*, RANKL) para promover la migración celular y destrucción tisular (80,81). Así, la respuesta Th1 y Th17 inducida ante ciertas bacterias es la responsable de la destrucción de los tejidos durante la periodontitis (82,83).

3.2.1. *Porphyromonas gingivalis*

Porphyromonas gingivalis es una bacteria gram-negativa anaerobia y asacarolítica. *P. gingivalis* posee distintos factores de virulencia que le otorgan funciones diferentes y se asocian con su patogenicidad: gingipaínas, fimbria,

lipopolisacárido (LPS) y la cápsula. Los polisacáridos capsulares o antígenos K constituyen la principal macromolécula de la superficie celular de *P. gingivalis*. Si bien, no es la única que constituye la membrana externa, es la responsable de su serotipificación, definen su clasificación taxonómica y contribuyen a su virulencia (84–86). Sobre la base de su antigenicidad se describen 6 serotipos capsulares (K1 a K6) y un serotipo no encapsulado o K- (86,87). Los polisacáridos capsulares se caracterizan por permitir la autoagregación entre las bacterias, adherirse a las células del epitelio de unión y coagregarse con otras especies bacterianas (87–89). En particular, en pacientes afectados de periodontitis se detectan mayores niveles de Inmunoglobulina (Ig) G en respuesta al polisacárido capsular del serotipo K1. Sin embargo, también se han identificado anticuerpos contra los polisacáridos capsulares de los serotipos K1 a K6 en distintas condiciones de salud o enfermedad periodontal (90). En modelos animales, mientras la inmunización con los serotipos K1 o K2 genera abscesos y muerte de los animales afectados, la inmunización con el serotipo K- demuestra una menor virulencia (90,91). En este contexto, en modelos experimentales de periodontitis se demostró que el serotipo K1 genera abscesos en sitios distantes al sitio de inoculación, mayor resorción ósea y una respuesta predominantemente Th1 y Th17, en comparación al serotipo K- (78,87,92). Estos datos se asocian con estudios *in vitro*, donde monocitos se diferenciaron a células dendríticas y estimularon con los distintos serotipos capsulares de *P. gingivalis*, detectándose un incremento en los niveles de citoquinas proinflamatorias ante la presencia de los serotipos K1 o K2, una respuesta moduladora ante K5 o K6 y una respuesta reguladora ante K (93,94). Al evaluar la respuesta en linfocitos TCD4+ activados por células dendríticas estimuladas con los distintos serotipos de *P. gingivalis* se detectó una respuesta Th1 y Th17 ante los serotipos K1 o K2, una respuesta Th2 ante K5 o K6 y una respuesta Treg (95). En conjunto, estos datos permiten concluir que los polisacáridos capsulares son un componente central en la respuesta del hospedero ante *P. gingivalis* y la presencia y naturaleza de los polisacáridos capsulares puede influir en el inicio o progresión de la enfermedad (87,96–98).

4. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER Y SU ASOCIACIÓN CON LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

En los últimos años, diversos estudios han tratado de establecer la posible asociación entre la EP y la EA, tanto a nivel molecular o microbiológico, como a nivel epidemiológico. En este sentido, se ha descrito que pacientes afectados de EA tienen una mayor incidencia de EP y, pacientes afectados de EP poseen un estado cognitivo deteriorado en comparación a sujetos no afectados de EP. Entre las posibles causas de esta potencial asociación han surgido la presencia de mediadores inflamatorios a nivel de circulación periférica, la presencia de bacterias anaerobias en otros tejidos que provienen del periodonto o la pérdida de dientes debido a la EP (99,100). En este contexto, los sujetos afectados de periodontitis tendrían 1.7 veces más probabilidades de desarrollar EA (101). Actualmente, la periodontitis provoca una respuesta inflamatoria sistémica y es capaz de inducir distintos estados sistémicos inflamatorios, entre ellos la neuroinflamación mediante la difusión de mediadores proinflamatorios periodontales hacia el cerebro (102,103). Las citoquinas periféricas asociadas con periodontitis tienen la capacidad de difundir a la circulación periférica, lo cual activa una inflamación sistémica, teniendo efectos sobre la función del sistema nervioso central (102). Los mecanismos mediante los cuales estas citoquinas pueden afectar la función del sistema nervioso central, involucran la difusión por la barrera hematoencefálica directamente o incrementando su permeabilidad a través de la activación o destrucción de las uniones de células endoteliales microvasculares (104,105). Se ha comprobado el flujo de citoquinas como IL-1, IL-6 y TNF- α de la sangre periférica al sistema nervioso central en modelos de periodontitis y en pacientes afectados de periodontitis (104,106). La exposición prolongada de estas citoquinas puede desencadenar el *breakdown* de la barrera hematoencefálica, permitiendo la entrada de otros productos citoquímicos, células inmunes y organismos a las regiones cerebrales, lo cual posteriormente tendría un efecto sobre las microglías, permitiendo su activación y toda la cascada inflamatoria anteriormente mencionada (107–110).

La hipótesis actual establece que las bacterias o moléculas bacterianas periodontales pueden invadir el cerebro directamente a través de la vía sanguínea o vías

periféricas. Debido a que las bacterias periodontales son capaces de invadir un epitelio relativamente intacto como es el caso de un surco periodontal, éstas también tienen la capacidad de acceder al hospedero mediante la circulación periférica (62,111). Se han encontrado bacterias periodontales en tejidos extraorales, tal como en cerebros de pacientes afectados de AD (43,112). Durante la periodontitis, el sistema del complemento puede ser iniciado por las 3 vías: la vía clásica puede iniciarse por proteínas neurotóxicas derivadas de patógenos o células dañadas, la vía ligada mediante los carbohidratos de las superficies bacterianas, o por la vía alterna mediante los polisacáridos bacterianos (103). Las moléculas del sistema del complemento pueden acceder al cerebro desde la circulación periférica mediante a difusión por una barrera hematoencefálica (BHE) dañada. Estas moléculas también pueden ser producidas localmente en el cerebro a través de las glías o neuronas en condiciones pro-inflamatorias (113). Específicamente, se ha observado que *P. gingivalis* puede adherirse a los eritrocitos y evadir a los neutrófilos y células B, pudiendo ser una vía de acceso al cerebro (114). Además de cruzar la BHE, los microorganismos y las citoquinas pro-inflamatorias en la circulación sistémica pueden acceder al sistema nervioso central mediante los órganos circumventriculares y las regiones del plexo coroideo, las cuales están expuestas a circulación sistémica y libres de BHE (49,115). Otra posible ruta de ingreso al sistema nervioso central es a través de las regiones perivasculares, las cuales se conectan con el espacio subaracnoideo (116,117). El líquido cerebroespinal (LCE) en el espacio subaracnoideo provee un acceso a todas las partes del sistema nervioso central y su reabsorción a la circulación venosa provee una potencial comunicación entre el sistema nervioso central y el sistema linfático, por lo tanto, este sistema también provee una potencial vía de acceso de los patógenos a las áreas del sistema nervioso central (113,117). Todas estas vías sugieren que la migración de las bacterias periodontales o sus factores de virulencia pueden inducir la activación de las microglías, produciendo citoquinas del perfil M1 tales como TNF- α , IL-1 β e IL-6, las que podrían amplificar la respuesta inflamatoria y crear un circuito nocivo (118,119).

5. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER Y SU ASOCIACIÓN CON EL SÍNDROME DE DOWN

Las personas con SD se caracterizan por poseer un riesgo genético para desarrollar la EA de inicio precoz (120,121). La neuropatología presentada en personas con SD se asocia a defectos neurogenéticos, anormalidades del desarrollo cerebral y discapacidades cognitivas, siendo un factor de riesgo para desarrollar la EA (121). Varios estudios sugieren que existe una neuropatogénesis cerebral desde etapas gestacionales en las personas con SD. En efecto, en la 21era semanas de gestación de pacientes con SD se observa una disminución en la cantidad de células en el hipocampo y las regiones subyacentes cuando se compara con personas sin esta condición (122). De igual manera, en fetos con SD se ha observado que existen alteraciones neurológicas en el desarrollo que incluyen: interrupciones en la neurogénesis, sinaptogénesis y mielinización (123).

Una de las principales razones genéticas del desarrollo de EA en pacientes afectados de SD es la sobreexpresión del gen APP, especialmente, en personas con la trisomía 21 completa (124,125). La sobre-expresión de APP se ha relacionado con un incremento en la secreción del péptido A β , lo cual sugiere una mayor susceptibilidad para desarrollar eventos neurodegenerativos desde etapas tempranas de la vida (58). Además, las personas con SD pueden tener deposición de A β desde la infancia y adolescencia, siendo significativa la presencia de estos depósitos a los 20 años (123–125). Otro aspecto genético interesante es el rol de APOE en los pacientes con SD, existiendo resultados contradictorios en la literatura actual. Hithersay *et al* sugieren que los pacientes con SD que poseían el alelo de ApoE- ϵ 4 tienen mayor acumulación colesterol y por tanto, un mayor riesgo de desarrollar demencia (126,127). En términos generales, la evidencia sugiere que la sobreexpresión de APP, una mayor presencia de ApoE- ϵ 4 y la disminución del clearance de A β generará una mayor y más temprana deposición de placas amiloides en las personas con SD. Sin embargo, se sugiere que la relación e importancia de ApoE- ϵ 4 en la neuropatogénesis de EA en SD es un campo infraestudiado y sigue existiendo falta de evidencia que sustente esta hipótesis (120,128).

En el aspecto inflamatorio, el genotipo pro-inflamatorio en las personas con SD está relacionado con el desarrollo de la EA. Muchos genes codificados en el cromosoma 21 regulan las respuestas inmunológicas, como son: *βAPP*, *BACE2*, *S100B*, *CXADR*, *SOD1*, *FNAR2*, *FNAR1*, y *IFNGR2* (129). En el caso de las microglías se reporta que estos genes favorecen las respuestas M1, proponiéndose que el estado M1 es más prevalente en las personas con SD(129–131). En las microglías, la presencia de IFN- γ induce un incremento en la secreción de citoquinas del perfil M1, tales como IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-23 y TNF- α , la inhibición de IL-10 y la sobre-expresión de APP, las que en su conjunto, crean un estado proinflamatorio persistente (129,132). No obstante, las personas afectadas de SD tienen una mayor predisposición a estar en un estado proinflamatorio, se ha descrito la presencia de un fenotipo M2 lo que ha sido motivo de estudio (133).

6. EFECTO PERIODONTAL DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER EN EL SÍNDROME DE DOWN

La predisposición de las personas afectadas de SD para tener enfermedades neurodegenerativas a edades más tempranas debido a su susceptibilidad genética para desarrollar un estado proinflamatorio, también se ha descrito para desarrollar otras patologías. En efecto, las EP en personas con SD puede ser más agresivas, lo que podría contribuir con la inflamación cerebral, neurodegeneración y un mayor deterioro cognitivo (134). El sistema inmune de las personas con SD, con sus alteraciones genotípicas, los defectos en la activación de los linfocitos T y la función de los plasmocitos, genera un estado de susceptibilidad proinflamatoria (135). Estas deficiencias en el sistema inmune pueden aumentar la susceptibilidad para las bacterias del microbioma subgingival generen la disbiosis, lo que contribuirá a un mayor estado inflamatorio (15,16,42,102,103). Una vez establecida esta inflamación sistémica, las bacterias periodontales, los productos bacterianos y las citoquinas inducidas tanto a nivel local como sistémico, pueden llegar al cerebro y amplificar las respuestas proinflamatorias (111). El efecto, a nivel de microglías estas moléculas exacerbarán la

respuesta M1 ya sensibilizada por los factores propios del SD, resultando en una respuesta inflamatoria más nociva, una mayor fosforilación de la proteína Tau y una mayor progresión de la EA(134,136). La presencia de los mediadores inflamatorios secretados por las células M1 incrementarán la expresión de APP, contribuyendo a una mayor secreción de A β (137). A su vez, la poca capacidad de *clearance* de ApoE- ϵ 4 podría contribuir a la mayor acumulación de A β (137,138). En términos generales, la EP podría afectar a pacientes afectados de SD en edades tempranas, pudiendo contribuir al desarrollo de EA o bien, las personas afectadas de EA con SD podrían desarrollar como consecuencia de su estado cognitivo una EP en etapas más tempranas. Así, en pacientes afectados por SD, tanto la EP como la EA se puede presentar en edades más tempranas y con una mayor progresión y severidad en comparación con personas no afectadas de SD (134).

JUSTIFICACIÓN

Se ha propuesto que la EP puede iniciar o contribuir a la patogénesis de la EA mediante diversos mecanismos. Pacientes afectados de EP se caracterizan por un estado inflamatorio caracterizado por niveles elevados de IL-1 β , IL-6 y TNF- α , lo cual contribuye con otras patologías inflamatorias, tales como las enfermedades cardiovasculares, quienes también han sido identificadas como factores de riesgo para la EA. Los mecanismos que han asociado el desarrollo de patologías sistémicas por EP en pacientes con SD incluyen factores locales y sistémicos que varían según el genotipo del SD, los fenotipos propios de cada sujeto y las condiciones socio-ambientales.

La EP que se presenta en pacientes con SD suele ser más severa y, de forma general, la EP en sujetos con SD aparece en edades más tempranas en comparación con la aparición de los primeros signos de deterioro cognitivo. El sistema inmunológico debilitado en pacientes con SD puede inducir la disbiosis del microbioma subgingival, con respuestas inflamatorias locales más severas. Basado en esto, las bacterias periodontales, sus factores de virulencia y las citoquinas producidas local y sistémicamente podrían migrar al cerebro a través de la circulación periférica o las terminaciones nerviosas periféricas e inducir una respuesta inmuno-inflamatoria cerebral o exacerbar un proceso inflamatorio existente. Así, en las microglías, la presencia de factores genéticos predisponentes de SD generaría una mayor respuesta inflamatoria, caracterizada por una sobre-expresión de APP y β -secretasa y mayores niveles de IL-1 β , IL-6 y TNF- α , induciendo neuroinflamación y mayor progresión de la EA.

Es de relevante importancia notar la tasa de nacimientos de personas con Síndrome de Down en el estado de Yucatán, y como esta se encuentra encima de la media nacional. Este dato estadístico permite contextualizar la presencia de la condición en el estado, así agregándole importancia al desarrollo de estudios alrededor de esta.

En términos generales, la EP puede afectar el inicio o progresión de la EA en pacientes con SD en edades más tempranas que en pacientes no afectados de SD. Así, la presencia de EP en pacientes con SD podría contribuir a la patogénesis de la EA, por lo

que este estudio se considera pertinente. De este modo, el control de la salud oral en pacientes afectados de SD no solo mejoraría la calidad de vida, sino que incrementaría la esperanza de vida, mejorando su envejecimiento. El entender la relación de los mecanismos moleculares o microbiológicos que asociarían a estas patologías contribuirá a entender el comportamiento de estas patologías y, por tanto, a la generación de medidas preventivas para la EA y la EP en pacientes afectados de SD. Esto permitirá establecer un rol más central del odontólogo en el cuidado permanente de los pacientes afectados de este síndrome y a la creación de nuevas políticas públicas de salud.

OBJETIVOS

Determinar la presencia de marcadores moleculares asociados a enfermedad periodontal y enfermedad Alzheimer en pacientes con Síndrome de Down.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Determinar la presencia de *Porphyromonas gingivalis* en muestras de microbioma oral subgingival de pacientes afectados de Síndrome de Down
2. Cuantificar los niveles producidos de ApoE- ϵ 4 y mediadores inflamatorios en muestras de fluido crevicular gingival en pacientes con Síndrome de Down.
3. Correlacionar el estado periodontal con la presencia de los marcadores de inflamación, destrucción periodontal o microbiológicos y marcadores de Enfermedad de Alzheimer en muestras de fluido crevicular gingival de pacientes afectados de Síndrome de Down.

MATERIALES Y METODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

Observacional, descriptivo, analítico, prospectivo y transversal.

VARIABLES Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Síndrome de Down: Trastorno genético del neurodesarrollo caracterizado por la trisomía, en algún grado, del cromosoma 21 (Resultando en tres genotipos: trisomía 21, mosaicismo y traslocación Robertsoniana). La condición se encuentra cercanamente ligada a múltiples manifestaciones fenotípicas y comorbilidades sistémicas que tienen un impacto biopsicosocial en la vida de las personas que lo padecen y quienes tratan con estas personas.

Salud Periodontal: Estado caracterizado por una ausencia o niveles mínimos de inflamación clínica en un periodonto con estructuras de soporte normales.

Gingivitis: Infamación gingival localizada, reversible, iniciada por bacterias del microbioma oral que se forma en los dientes y tejidos gingivales. Se caracteriza por no presentar pérdidas de las estructuras gingivales y periodontales, y representa el paso previo a la enfermedad periodontal.

Periodontitis: Patología inflamatoria desencadenada por un microbioma subgingival disbiótico. En sus diferentes formas (localizada-generalizada, etapas I-IV, y grados A, B, C), tiene la capacidad de estimular la secreción de distintos moduladores inflamatorios que provocan una respuesta inflamatoria local, llevan a la destrucción de los tejidos periodontales, y a su vez pueden estimular una respuesta inflamatoria sistémica secundaria.

Porphyromonas gingivalis: Bacteria Gram-negativa anaerobia, asacrolítica, que posee múltiples factores de virulencia y capacidad para migrar a tejidos extraorales. Se

le ha reconocido como un patógeno *keystone*, clave para el desarrollo de enfermedades periodontales.

Citoquinas: Proteínas moduladoras claves en la homeostasis y los procesos inflamatorios. Estas actúan como una primera respuesta contra patógenos, estimulando sitios de protección y células de tejido conectivo a través de linfocitos y poblaciones celulares accesorias. Estas se estudian según su función, como son: citoquinas proinflamatorias: IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-9, IL-12, IL-13, IL-21 e IL-27, citoquinas proosteoresortivas: IL-17, IL-22 e IL-23, citoquinas inmunomoduladoras: IL-4, IL-5 y citoquinas inmunoreguladoras: IL10.

ApoE- ϵ 4: Apoproteína derivada de la apolipoproteína E (gen APOE), transportadora de lipoproteínas, vitaminas liposolubles y colesterol, principalmente en el sistema linfático, hígado, riñón cerebro y sistema nervioso. La isoforma ϵ 4 es una de sus tres isoformas, y se relaciona con las fallas de desecho de lípidos y colesterol.

Los datos recabados durante el estudio fueron organizados en una hoja de Microsoft Excel. La información de los pacientes incluyó: edad, sexo, lugar de residencia, escolaridad, diagnóstico periodontal, media de profundidad de sondaje, media de nivel de inserción clínica, media de pérdida de inserción clínica del diente sondeado porcentaje de placa y porcentaje de sangrado. Los datos periodontales clínicos fueron estudiados según el diagnóstico periodontal, utilizando estadística descriptiva. Los datos analíticos se analizaron estadísticamente usando el software SPSS v.15.0 (Lead Technologies Inc., Charlotte, NC, USA). La carga bacteriana de *P. gingivalis* y profundidad de sondaje, así como nivel de pérdida de inserción clínica fueron estudiadas con una correlación de Pearson. Para estudiar la relación entre los estados periodontales se realizó una correlación de Spearman, estableciendo el coeficiente de correlación. Se correlacionó el diagnóstico y la etapa periodontal de cada citoquina con una prueba de ANOVA post hoc Tukey. La ApoE- ϵ 4 fue correlacionada con el estado periodontal utilizando una prueba de ANOVA post hoc Tukey. Los datos se consideraron estadísticamente significativos cuando el valor de $p < 0,05$.

POBLACIÓN DE ESTUDIO

1. MUESTRA

Se incluyeron a pacientes entre 8 y 40 años, con Síndrome de Down, que acudieron a la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY) en el periodo de mayo 2019-noviembre 2020. Todos los pacientes se reclutaron por caso consecutivo y cumplieron con los siguientes criterios: no estar consumiendo analgésicos esteroidales, no esteroidales o antibióticos al menos 6 meses antes, no haber sufrido accidentes vasculares encefálicos, no haber recibido tratamiento periodontal previo a 6 meses. Como controles se incluyeron sujetos sin ninguna enfermedad, entre 15 y 30 años de edad, quienes asistieron a la clínica odontológica de periodoncia de la Universidad Autónoma de Yucatán y que, al momento de realizar el examen periodontal, se detectaron índices periodontales compatibles con salud periodontal.

2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

2.1 Sujetos, hombres y mujeres, de 8 a 40 de edad con Síndrome de Down que contaron con un consentimiento informado para participar en el estudio por parte de su representante legal en los casos necesarios.

2.2 Sujetos, hombres y mujeres, de 8 a 40 de edad sin Síndrome de Down que contaron con un consentimiento informado para participar en el estudio por parte de su representante legal en los casos necesarios.

3. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

3.1 Sujetos fumadores o alcohólicos.

3.2 Sujetos que hayan recibido tratamiento antibiótico seis meses anteriores a la aplicación del estudio.

3.3 Sujetos que hayan recibido tratamiento periodontal seis meses previos a la aplicación del estudio.

3.4 Sujetos con Síndrome de Down inhabilitados para colaborar con el estudio por presentar discapacidad intelectual avanzada.

METODOLOGIA

Los pacientes con SD se recibieron en los servicios de Odontología Infantil (pregrado y posgrado) de la Facultad de Odontología de la UADY, primeramente, siendo examinados para determinar el cumplimiento con los criterios de inclusión. Los pacientes sin SD se recibieron en el servicio de la Especialidad de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la UADY, siendo examinados para determinar el cumplimiento con los criterios de inclusión. Posterior a esto, se tomaron datos de histórica clínica, y firma del consentimiento informado por parte del responsable legal (Anexo N°1 y Anexo N°2). La metodología de recolección de la muestra fue la misma para ambos grupos de estudio.

Examen Clínico y periodontograma

A cada paciente se le realizó el examen periodontal por un operador. Los datos que se registraron fueron los siguientes: índice gingival, profundidad al sondaje, posición de la encía marginal, nivel de inserción clínico y el índice de placa en 6 sitios periodontales por diente, excluyendo los terceros molares. El sondeo fue realizado con una sonda estéril North Carolina (Hu-Friedy®) para cada paciente, utilizándose un espejo N° 5 para separación de carrillos y apoyo a la visualización. El periodontograma utilizado fue el *Periodontal Chart*, disponible gracias al programa diseñado por la Universidad de Berna y de acceso gratuito: <http://www.periodontalchart-online.com/es/> (Anexo N°3).

El diagnóstico del estado de salud periodontal se realizó según la clasificación de las enfermedades periodontales vigente(60). Es importante mencionar que, a pesar de que el Síndrome de Down se presenta como una condición asociada a pérdidas de tejido periodontal, la clasificación de las enfermedades periodontales no presenta una especificación para este grupo y, por consiguiente, se usaron los criterios universales de la clasificación(16). El diagnóstico de “salud periodontal”, se determinó utilizando los criterios presentados de *salud periodontal clínica* definido como un estado caracterizado por una ausencia o niveles mínimos de inflamación clínica en un periodonto con estructuras de soporte normales(139). El diagnóstico de gingivitis se estableció cuando se detectó cuando existió un sangrado al sondeo entre $\geq 10\%$ (localizada) y $\geq 30\%$ (generalizada); en pacientes con un periodonto reducido se consideró una pérdida de inserción y sangrado al sondeo con $\geq 10\%$, y sin sangrado al sondeo y sitio de sondeo con ≥ 4 mm. de profundidad(140). La periodontitis se diagnosticó según los criterios clínicos según la etapa presentada. Las etapas de la periodontitis se definieron según los criterios definidos en la actual clasificación de las enfermedades periodontales(141).

Los pacientes con SD afectados de gingivitis o periodontitis fueron designados a alumnos de la Maestría en Odontología Infantil de la UADY, para recibir tratamiento odontológico integral como parte del programa. Los pacientes sin SD afectados de gingivitis o periodontitis fueron designados a alumnos de la Especialidad en Periodoncia de la UADY, para recibir tratamiento odontológico integral como parte del programa.

Obtención de Fluido Crevicular Gingival

Posteriormente, a cada paciente se le tomaron muestras de fluido crevicular gingival y muestra biológica. Brevemente, las muestras de fluido crevicular gingival se tomaron según el protocolo reportado por Vernal *et al* (142). El diente que tuvo el mayor valor detectado en las bolsas periodontales del examen periodontal se aisló de manera relativa, eliminó la biopelícula supragingival con una cureta Gracey 11-12 o 13-14 estéril e introdujo un PerioPaper® (OralFlow Inc) en el surco gingivo-dentario o saco periodontal durante 1 min. Posteriormente, se introdujo en un tubo estéril rotulado con

los datos del paciente y almacenó a 4°C hasta su traslado al ultracongelador del laboratorio de microbiología oral de la Facultad de Odontología UADY, para almacenarse a -80°C. Las muestras contaminadas con sangre o saliva se descartaron. Posteriormente, se adicionó 100µL de tampón de fosfato salino (PBS) estéril y se centrifugó a 10.000 x g durante 15 min a 4°C. La muestra eludida se almacenó nuevamente a -80°C hasta su análisis.

Obtención de la muestra microbiológica

Los sitios periodontales seleccionados se aislaron en forma relativa con torundas de algodón y se secaron suavemente con aire a presión. Se seleccionaron al menos 2 sitios en dientes distintos con la mayor profundidad al sondaje y se realizó el protocolo establecido por Abusleme *et al* (143). En pacientes sin enfermedad periodontal, se tomó la muestra de microbioma supragingival. Para los pacientes con algún grado de enfermedad periodontal, el microbioma supragingival se eliminó utilizando una cureta Gracey 11-12 o 13-14 estéril para evitar contaminar la muestra. Una nueva cureta estéril se introdujo subgingivalmente hasta lograr una mínima resistencia tisular y se retiró arrastrando el microbioma subgingival. Las muestras contaminadas con sangre o saliva se descartaron. La muestra se depositó en un tubo Eppendorf con 1mL de medio de transporte microbiológico RTF a pH 8 (Reduced Transport Fluid, que contiene: 200 mg/L de ditiotreitól y 0,1mg/L de resarzurina) almacenándolo a 4°C hasta su traslado al ultracongelador del laboratorio de microbiología oral de la Facultad de Odontología UADY, para almacenarse a -80°C. Posterior a la recolección, se realizó una liofilización de las muestras, según la técnica descrita por Martínez-Aguilar *et al.*, para el transporte de estas al Laboratorio de Biología Periodontal de la Universidad de Chile (144).

Procesamiento de las muestras

Identificación de *P. gingivalis* mediante qPCR

Antes de 2 horas de su obtención se realizó un *pool* de las muestras microbiológicas por cada paciente y se agitaron vigorosamente. A partir de este *pool* se obtuvieron 100 μL diluidos en serie \log_{10} en amortiguador fosfato salino (PBS) y 100 μL de la dilución se sembrará en medio de cultivo para la identificación de *Porphyromonas gingivalis*.

La identificación de *P. gingivalis* se realizó mediante amplificación de la subunidad de rRNA 16S por qPCR. Se extrajo el DNA total utilizando un *kit* de extracción estándar de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Favorgen Biotech Corp., Taiwán). Para la cuantificación absoluta, a partir de 50 ng de DNA se amplificaron mediante qPCR la subunidad rRNA 16S, utilizando partidores específicos (Tabla 1) y el kit SuperScript Strand III y utilizando un termociclador qPCR StepOne Plus (Applied Biosystem, CA, USA) se realizó el siguiente protocolo de amplificación: un ciclo de 95°C durante 3 min y 40 ciclos de 95°C durante 3 seg y 60° durante 30 seg. Como control positivo de *P. gingivalis* se utilizó DNA extraído de la cepa *P. gingivalis* ATCC®49417™.

Tabla 1. Partidores utilizados para la identificación de *P. gingivalis* y control positivo de 16S DNA

Bacteria	Partidor Forward	Partidor Reverse
16S DNA	aaaccaatctctgagttctcttc	atgccaacttgacgttaaat
<i>P. gingivalis</i> ATCC® 49417™	aggcagcttgccatactgcg	actgttagcaactaccgatgt

Cuantificación de proteínas mediante inmunoensayo Multiplex

A partir de muestras de fluido crevicular gingival se realizó la cuantificación de los niveles de secreción de las moléculas IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-9, IL-12, IL-13, IL-21 e IL-27, IL-17, IL-22, IL-23, IL-4, IL-5 e IL10 mediante inmunoensayo Multiplex, siguiendo las instrucciones del fabricante (Invitrogen™ Cytokine 25-Plex Human Panel- Thermo Fisher Scientific®) disponibles en línea (https://www.thermofisher.com/document-connect/document-connect.html?url=https%3A%2F%2Fassets.thermofisher.com%2FTFESAssets%2FLSG%2Fmanuals%2FLHC0009M_Lot_1402357.pdf&title=SHVfYW4gQ3l0b2tpbmUgTWEnbmV0aWMgMjUtUGxleCBQYW5lbA==) y evaluó la absorbancia usando un lector automatizado de placas del sistema Luminex™ (Bio-Tek, Winooski, VT, USA).

Cuantificación de ApoE- ϵ 4 mediante ELISA

A partir de 100 μ L de eluido de fluido crevicular gingival se cuantificaron los niveles de ApoE- ϵ 4 mediante inmunoensayo ELISA, siguiendo las instrucciones del fabricante (Invitrogen™ Apolipoprotein E4 Human ELISA Kit- Thermo Fisher Scientific®) disponibles en línea (<https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/EHAPOE4.pdf>) y evaluó la absorbancia usando un lector automatizado de placas del sistema Luminex™ (Bio-Tek, Winooski, VT, USA).

Análisis de los Datos

Los datos de los niveles de secreción de las moléculas se expresaron como el promedio de la concentración (pg/mL) \pm desviación estándar y la carga bacteriana en valores promedio de las UFC/mL \pm desviación estándar. La distribución de los datos se determinó usando la prueba de Levene y se analizaron utilizando la prueba ANOVA-Tukey. Los datos se analizaron estadísticamente usando el software SPSS v.15.0 (Lead

Technologies Inc., Charlotte, NC, USA). Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando el valor $p < 0,05$.

ASPECTOS ÉTICOS

La presente investigación se llevó a cabo bajo las consideraciones éticas que van aparejadas y que se cumplen de acuerdo con la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Está sujeta a normas éticas que sirven para promover el respeto a todos los seres humanos y para proteger su salud y sus derechos individuales. Ninguna persona competente debe ser incluida en un estudio, a menos que ella acepte libremente o bien la persona que se encuentre en desacuerdo debe ser respetada su decisión(145).

En la investigación médica, es deber del médico proteger la vida, la salud, la dignidad, la integridad, el derecho a la autodeterminación, la intimidad y la confidencialidad de la información personal de las personas que participan en investigación(145).

La investigación médica en seres humanos debe conformarse con los principios científicos generalmente aceptados y debe apoyarse en un profundo conocimiento de la bibliografía científica, en otras fuentes de información pertinentes, así como en experimentos de laboratorio correctamente realizados y en animales, cuando sea oportuno. Se debe cuidar también del bienestar de los animales utilizados en los experimentos(145).

En toda investigación en seres humanos, cada individuo potencial debe recibir información adecuada acerca de los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posibles conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados, riesgos previsibles e incomodidades derivadas del experimento(145).

Tanto los autores como los editores tienen obligaciones éticas. Al publicar los resultados de su investigación, el médico está obligado a mantener la exactitud de los datos y resultados. Se deben publicar tanto los resultados negativos como los positivos o de lo contrario deben estar a la disposición del público(145).

RESULTADOS

En el estudio se incluyeron 25 sujetos con Síndrome de Down, entre 8 y 32 años que acudieron al servicio de odontología infantil de la Universidad Autónoma de Yucatán, todos originarios del estado de Yucatán. El 52% de los pacientes fueron hombres (n=13), y el 48% (n=12) mujeres. Dentro del grupo control, se incluyeron a 7 sujetos entre 15 y 30 años. De estos 4 fueron hombres y 3 mujeres. En la tabla N°2, se presentan los datos periodontales por grupos de diagnóstico periodontal.

Tabla 2. Datos periodontales por grupos de diagnósticos periodontal

Salud Periodontal	Profundidad de sondaje (mm)	Perdida de Inserción (mm)	Sangrado al sondaje (%)	Porcentaje de Placa (%)	N total
Grupo Control (sin SD)	2,7± 0,48	12,7± 2,5	5,3± 2,9	12± 0,54	7
Sano	1,7 ± 0,38	-1.76 ± 0,38	2,6 ± 1,24	10 ± 0,81	3
Gingivitis	2.02 ± 0,08	-2.02 ± 0,08	13,5 ± 5,04	15 ± 4,84	4
Periodontitis Etapa I	2.81 ± 0,21	-2.78 ± 0,20	18,4 ± 7,31	25,85 ± 7,39	7
Periodontitis Etapa II	3.12 ± 0,35	-3,1 ± 0,33	30,57± 9,37	22,14 ± 11,61	7
Periodontitis Etapa III-IV	3.65 ± 0,36	-3.45 ± 0,37	49,5 ± 17,29	48 ± 19,19	4

Carga bacteriana de P. gingivalis

La presencia de *P. gingivalis* fue determinada mediante la cuantificación absoluta para determinar la carga bacteriana, definida en UFC/mL. Al evaluar la carga bacteriana

según los distintos grados de profundidad al sondaje. Al observar los sacos periodontales de 5 mm se detectó una elevada carga bacteriana en comparación con sitios de 2 o 3 mm de profundidad (Figura N°1).

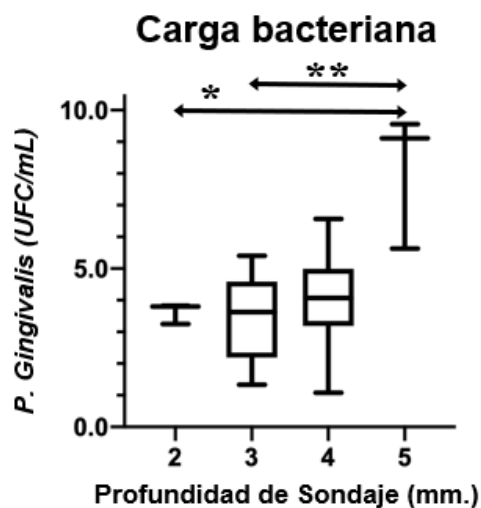


Figura 1. Presencia de *P. gingivalis* relacionada a la profundidad de sondaje. A partir de 32 muestras de fluido crevicular gingival se cuantificó la carga bacteriana mediante qPCR. Los datos se agruparon según la profundidad al sondaje del sitio donde se obtuvo la muestra. UFC: Unidades formadoras de colonias, mm: milímetros. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$.

Al evaluar la carga bacteriana según la pérdida de inserción, no se observaron diferencias significativas entre la carga bacteriana y la pérdida de inserción clínica (Figura N°2).

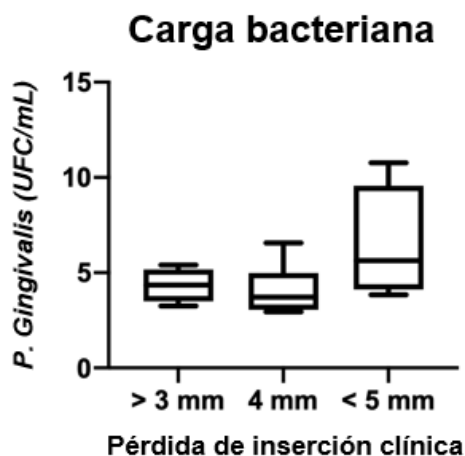


Figura 2. Presencia de *P. gingivalis* relacionada a la pérdida de inserción clínica. A partir de 32 muestras de fluido crevicular gingival se cuantificó la carga bacteriana mediante qPCR. Los datos se agruparon según la profundidad al sondaje del sitio donde se obtuvo la muestra. UFC: Unidades formadoras de colonias, mm: milímetros.

Para estudiar la relación entre los diagnósticos periodontales y la carga bacteriana de *P. gingivalis*, se realizó una correlación de Spearman, estableciendo el coeficiente de correlación (Figura N°3). Al analizar la carga bacteriana en Salud, Gingivitis, o las periodontitis etapa I o II se logró detectar una correlación positiva entre la carga bacteriana y la profundidad del sondaje. Contrariamente, al evaluar la periodontitis etapa III y IV, se detectó una correlación negativa.

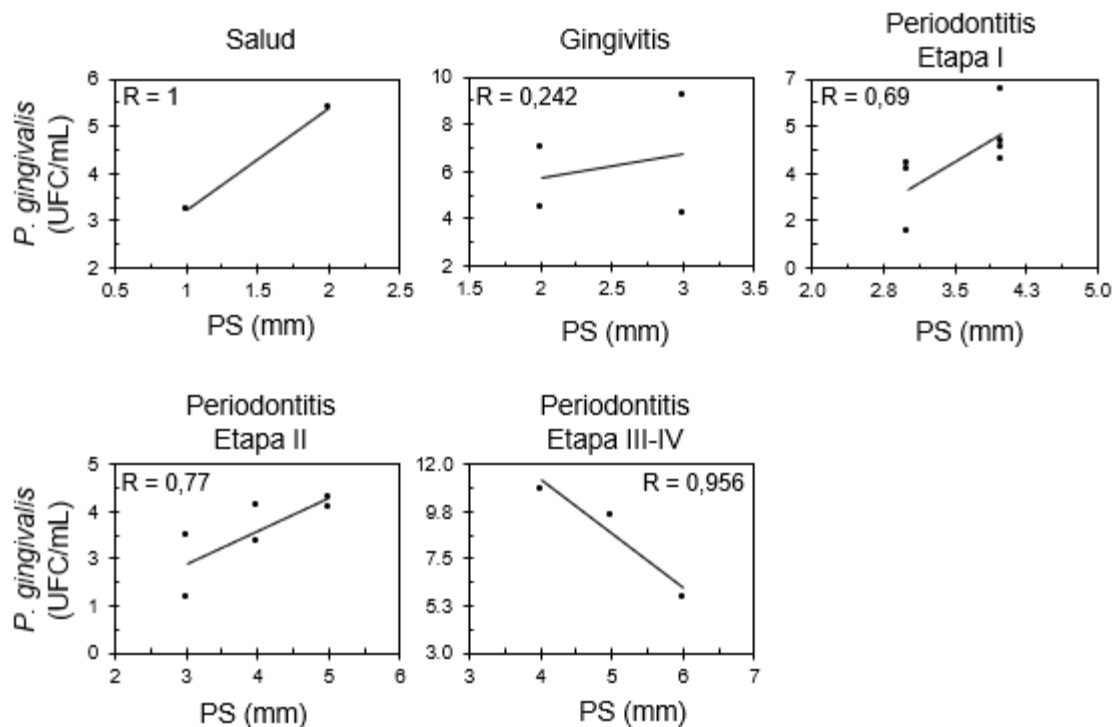


Figura 3. Correlación entre los diagnósticos periodontales y la carga bacteriana de *P. gingivalis*. A partir de la carga bacteriana detectada en 32 muestras de fluido crevicular gingival se correlacionaron los niveles de bacteria y el diagnóstico periodontal utilizando el coeficiente de Spearman. UFC: Unidades formadoras de colonias, mm: milímetros.

Cuantificación de Mediadores Inflamatorios

A partir de las muestras de fluido crevicular gingival se cuantificaron los niveles de IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-12, IL-13, IL-17, IL-21, IL-22, IL-23, e IL-27 (Figuras 4 a 7). Al evaluar los niveles secretados de las citoquinas pro-inflamatorias IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-9, IL-12, IL-13, IL-21 e IL-27 en periodontitis etapa III y IV se detectó un incremento en los niveles de secreción de IL-1 β en comparación con los sujetos afectados de periodontitis etapa I y II o sanos. Para las otras citoquinas no se detectaron diferencias entre las condiciones periodontales. Una tendencia a una mayor concentración entre los sujetos sanos con periodontitis etapa III y IV para IL-9, IL-21 e IL-27.

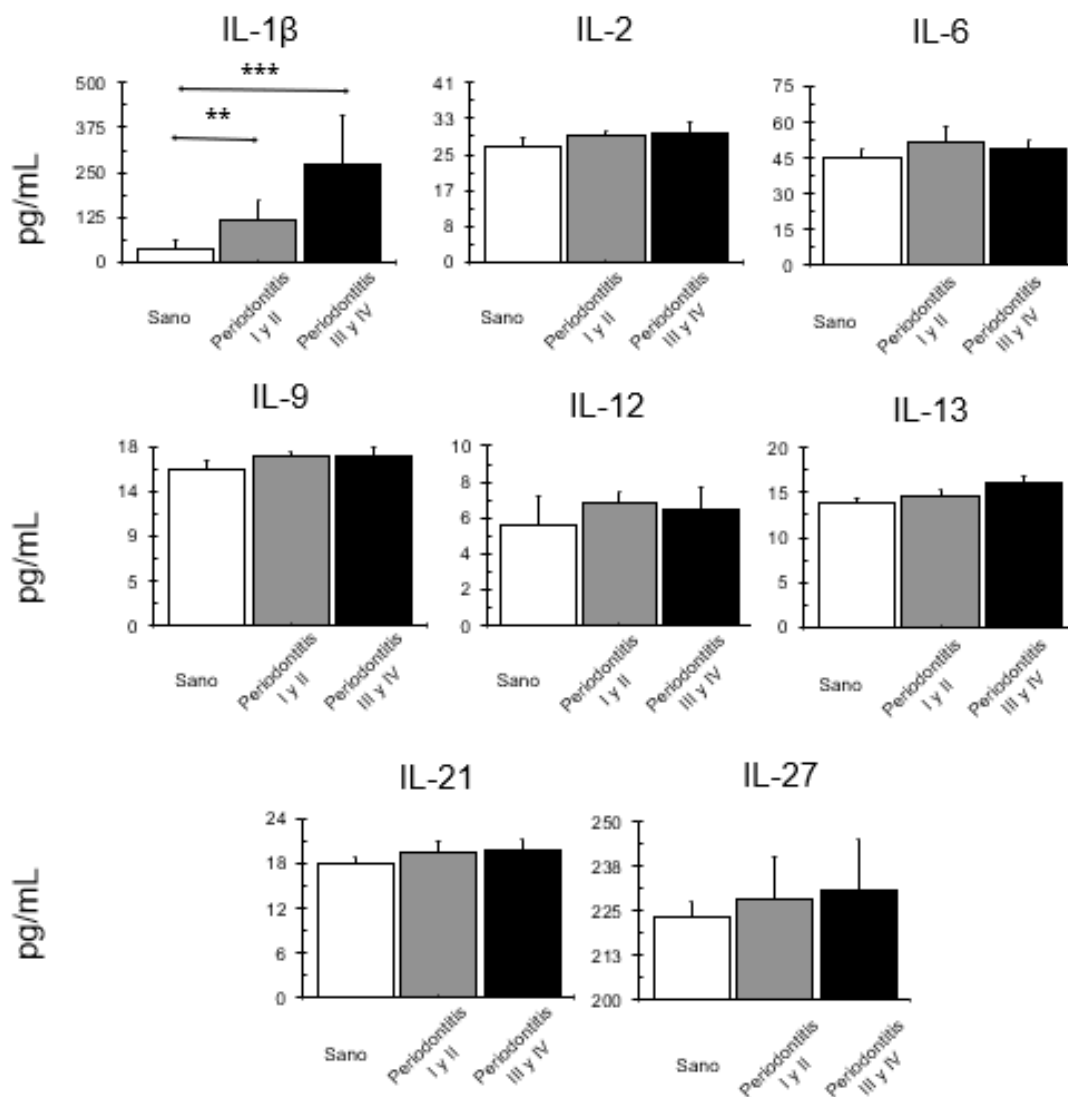


Figura 4. Cuantificación de citoquinas pro-inflamatorias. A partir de 20 muestras de fluido crevicular gingival de pacientes afectados de periodontitis o sujetos sanos se cuantificaron los niveles secretados de las moléculas pro-inflamatorias IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-9, IL-12, IL-13, IL-21 e IL-27. pg: picogramo, IL: interleuquina. ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$.

Al evaluar los niveles secretados de las citoquinas pro-resortivas IL-27, IL-22 e IL-23 observamos que en los sujetos afectados de periodontitis existe una tendencia a un mayor nivel secretado en comparación con salud (Figura N°5).

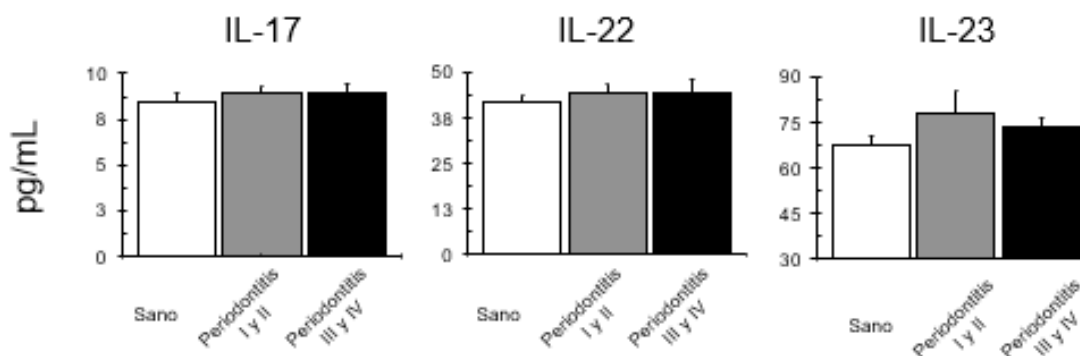


Figura 5. Cuantificación de citoquinas pro-resortivas. A partir de 20 muestras de fluido crevicular gingival de pacientes afectados de periodontitis o sujetos sanos se cuantificaron los niveles secretados de las moléculas pro-resortivas IL-17, IL-22 e IL-23. pg: picogramo, IL: interleuquina.

Posteriormente, al cuantificar los niveles de las moléculas immuno-moduladoras IL-4 e IL-5, en periodontitis se observó una disminución en los niveles secretados de IL-4, sin alcanzar la significancia estadística. Para IL-5 no hubo diferencias (Figura N°6).

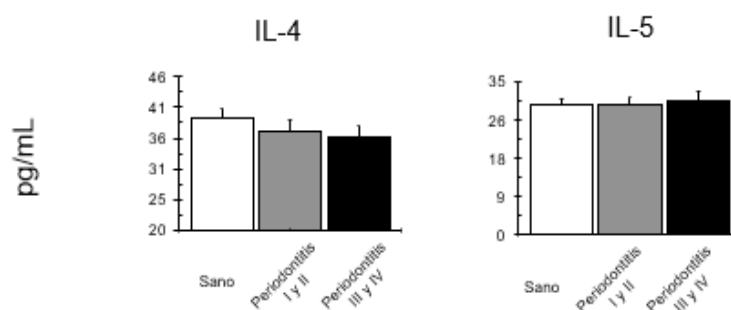


Figura 6. Cuantificación de citoquinas inmunomoduladoras. A partir de 20 muestras de fluido crevicular gingival de pacientes afectados de periodontitis o sujetos sanos se cuantificaron los niveles secretados de las moléculas pro-inflamatorias. pg: picogramo.

Finalmente, al evaluar los niveles secretados de la molécula inmuno-reguladora IL-10 no se detectaron diferencias en los niveles secretados entre las distintas condiciones (Figura N°7).

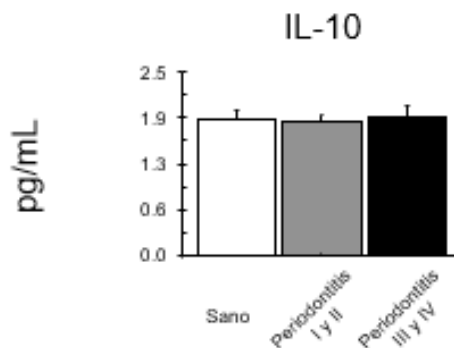


Figura 7. Cuantificación de citoquinas inmuno-reguladoras. A partir de 20 muestras de fluido crevicular gingival de pacientes afectados de periodontitis o sujetos sanos se cuantificaron los niveles secretados de las moléculas pro-inflamatorias. pg: picogramo, IL: interleuquina.

En términos generales, la figura N°8 representa un mapa de calor con los niveles de las citoquinas características para los distintos fenotipos efectores de linfocitos Th: IL-1 β (Th1), IL-4 (Th2), IL-9 (Th9), IL-10 (Treg), IL-17 (Th17) e IL-22 (Th22).

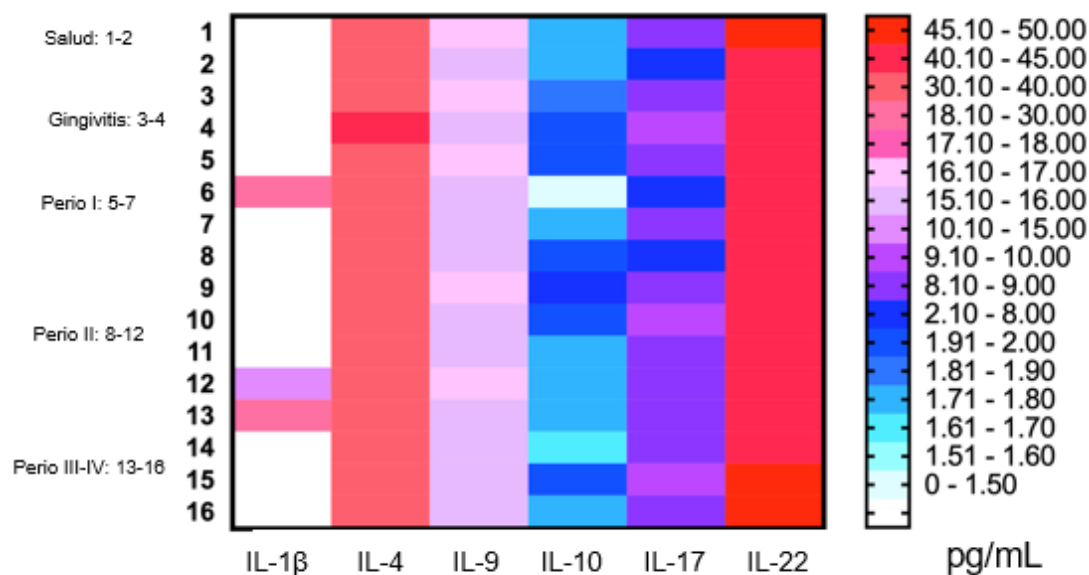


Figura 8. Gráfico de calor de fenotipos efectores Th. En la gráfica se representan las concentraciones de las citoquinas representativas de cada fenotipo efector de los linfocitos Th con relación al diagnóstico periodontal.

Cuantificación de Apolipoproteína $\epsilon 4$

A partir de las muestras de fluido crevicular gingival se cuantificaron los niveles secretados de ApoE- $\epsilon 4$. En muestras de sujetos afectados de periodontitis etapa III y IV se detectó un incremento en los niveles de ApoE- $\epsilon 4$ en comparación con los sujetos afectados de periodontitis etapa I y II o sujetos sanos (Figura N° 9).

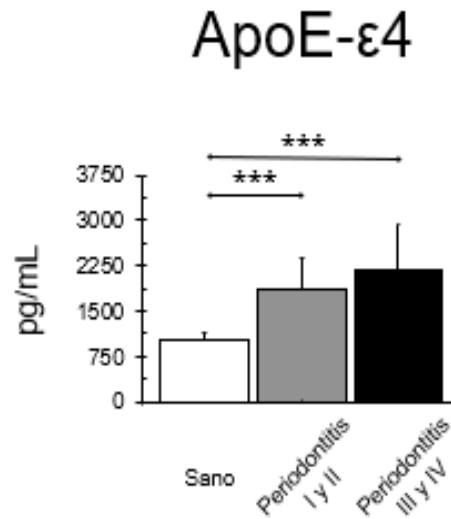


Figura 9. Cuantificación de ApoE-ε4. A partir de muestras de fluido crevicular gingival se cuantificaron los niveles de secreción de la ApoE-ε4 mediante ELISA. ApoE-ε4: Apolipoproteína E ε4, pg: picogramos. ***p<0,0001.

Finalmente, se realizó una comparación entre la carga bacteriana de *P. gingivalis* en UFC/mL con las concentraciones de ApoE-ε4 en pg/mL mediante una gráfica de calor, con los diferentes diagnósticos periodontales, observándose distintas concentraciones según la etapa periodontal y carga bacteriana (Figura N° 10).

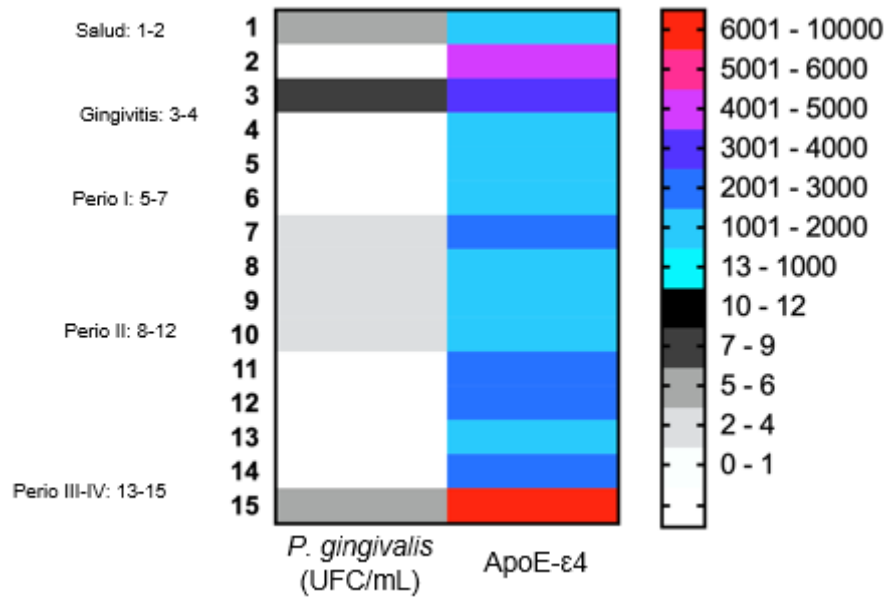


Figura 10. Gráfica de calor comparando las concentraciones de ApoE-ε4 y la carga bacteriana según los estadios de periodontitis. A partir de las muestras mencionadas se representan los valores individualizados de ApoE-ε4 y la carga bacteriana.

DISCUSIÓN

El presente trabajo corresponde al primer estudio existente que intenta determinar la posible asociación entre el SD, la EP y la EA, mediante la cuantificación de marcadores de cada enfermedad. Nuestros datos lograron demostrar que en los sujetos afectados de SD existe una mayor prevalencia de periodontitis y, en esta condición, existe una relación entre la carga bacteriana y una mayor cantidad de profundidad al sondaje. Además, existe una correlación entre la carga bacteriana y la severidad de EP, definida por el diagnóstico establecido en la nueva clasificación de las EP. Contrariamente, en periodontitis etapa III y IV se detectó una menor carga bacteriana. Finalmente, en el fluido crevicular gingival pudimos detectar la presencia de un marcador de EA, como la ApoE- ϵ 4, la cual fue secretada en mayores concentraciones en los pacientes afectados de periodontitis etapa III y IV. De esta manera, pudimos establecer asociaciones entre estadios de periodontitis con carga bacteriana y niveles de ApoE- ϵ 4 en muestras de fluido crevicular gingival de pacientes afectados de SD, siendo este el primer estudio en utilizar estos marcadores desde esta fuente biológica.

El comparar la carga bacteriana con los distintos índices periodontales nos permite especular que existe una mayor presencia bacteriana relacionada con indicadores de destrucción periodontal. Los resultados de este estudio fueron similares al de Amano *et al* (2001) .donde se observó de manera similar una mayor carga de *P. gingivalis* en personas afectadas de SD con periodontitis comparadas con personas con SD y gingivitis (146). Es importante de definir, que la nueva clasificación de las enfermedades periodontales establece nuevos criterios para definir la EP y, si bien se coincide con Amano *et al.* en sus resultados, es importante denotar que las periodontitis etapa I y II se definen sobre la base de componentes inflamatorios, siendo las periodontitis etapa III y IV aquellas condiciones con destrucción ósea y pérdida de inserción clínica (147). Este último punto se vuelve un relevante punto de comparación, ya que a diferencia de Amano *et al*, el presente trabajo permite establecer esas diferencias al utilizar la nueva clasificación de enfermedades periodontales. Además, al comparar la presencia de *P. gingivalis* en pacientes con SD o sin SD, se han reportado

una mayor presencia de carga bacteriana, utilizando distintos métodos para su cuantificación, tales como la hibridación fluorescente *in situ* y detección por PCR (18,146,148). Existen múltiples factores locales y sistémicos que pueden explicar la mayor colonización de *P. gingivalis* en los pacientes con SD. En efecto, una enfermedad disbiótica desencadenada por *P. gingivalis* podría inducir condiciones inflamatorias que podrían generar enfermedades neurodegenerativas como la EA, en pacientes altamente susceptibles genéticamente, como lo son los pacientes afectados de SD (149); sin embargo, no existen estudios que puedan comprobar esta hipótesis y, los estudios de asociación epidemiológica no son concluyentes. Se ha reportado que el liposacárido (LPS) de *P. gingivalis* también sirve como un contribuyente a la inflamación y neurodegeneración debido a los receptores de reconocimiento de patrones, que se expresan en la glía, y pueden reconocer patrones moleculares asociados a patógenos en los microorganismos, lo cual desencadena las respuestas antibacterianas, así como estimular la CD14, TLR-2 o -4, incrementando la expresión de citoquinas proinflamatorias (118,150–152). Contrariamente, también existe evidencia que determina que los receptores de las células humanas no son capaces de reconocer la variabilidad estructural del LPS, siendo un antígeno que no genera la respuesta que se observa en los modelos experimentales de enfermedad (95). No obstante, el LPS es uno de los antígenos más estudiados de *P. gingivalis* y los polisacáridos capsulares son los responsables de su inmunogenicidad (93,153). Así, en modelos *in vitro*, experimentales y en análisis de microbioma provenientes de sujetos afectados de periodontitis, se ha observado que los serotipos capsulares K1 o K2 de *P. gingivalis* son los más virulentos, inmunogénicos y asociados a periodontitis (92,154). De esta manera, sería necesario serotipificar en las muestras microbiológicas a *P. gingivalis*, para determinar si los pacientes afectados de SD están colonizados por estos serotipos. Así, sujetos sanos o afectados de periodontitis podrían estar colonizados por los serotipos K3, K4, K5, K6 o las cepas no encapsuladas y no poseer susceptibilidad microbiológica para desarrollar la periodontitis (94,154). En términos generales, pacientes afectados de SD y que estén colonizados por los serotipos K1 o K2 de *P. gingivalis* tendrán una predisposición microbiológica, además de la genética dada por las trisomías que le afecten, para desencadenar la periodontitis.

En el presente estudio, se observó que existen cantidades similares de citoquinas pro-inflamatorias en el fluido gingival crevicular en todos los grupos estudiados independientemente del estado de salud periodontal, a excepción de IL-1 β . Estos datos contrastan con algunos meta-análisis realizados en pacientes con SD, donde se determinó que en el suero existen elevados niveles de IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, TNF- α y TGF- β (155,156). No obstante, existen estudios que comparan tanto los estados periodontales entre pacientes con y sin SD, este es el primer trabajo donde establece una correlación con los distintos estadios de periodontitis (22,157,158). Una posible explicación a la detección de los niveles de mediadores inflamatorios en los pacientes afectados de SD se puede deber al rol de las citoquinas moduladoras o reguladoras. En efecto, no se detectaron diferencias entre los distintos grupos al evaluar IL-4, IL-5 o IL-10 y sus valores fueron similares a los sujetos sanos. Esto puede indicar que, pese a que los sujetos afectados de SD pueden tener una predisposición genética para encontrarse en un estado pro-inflamatorio, también poseen una respuesta compensatoria que previene la exacerbación de esta condición (159). Así, el posible vínculo entre SD, periodontitis y EA podría estar centrado en el rol de los patógenos *keystone* y su capacidad invasora en vez de la presencia de citoquinas circulantes. Desde el punto de vista inmunológico, los pacientes con SD pueden tener anomalías en los linfocitos T quienes expresarán una menor cantidad de TCR, en los linfocitos B que tienen una capacidad de proliferación disminuida, en los macrófagos donde se desarrollan fenotipos anormales, en los neutrófilos que poseen la quimiotaxis alterada, y el patrón de expresión de citoquinas, siendo todas estas posibles razones que contribuyentes en la falta de respuesta inmune (135,159).

La diferencia que se observa en los niveles secretados de IL-1 β , es interesante y concordante con otros estudios, ya que esta citoquina se relaciona con un estado pro-inflamatorio en pacientes con SD, con la neuroinflamación que puede desencadenar la EA y con la periodontitis (155,156). La IL-1 β al ser parte de la familia IL-1 se relaciona íntimamente con respuestas inmuno-inflamatorias en patologías crónicas transmisibles, no transmisibles y autoinmunes y es secretada por macrófagos del perfil inflamatorio o

M1, células dendríticas pro-inflamatorias o CD1 y por linfocitos Th1 (160,161). Esta citoquina cumple diversos roles tanto a nivel tisular como a nivel sistémico, participando en la resistencia a micro-organismos e inducción de respuestas hepática de fase aguda (162,163). Recientemente, se reportó una asociación entre IL-1 β y tau fosforilada en plasma de personas con SD, sugiriendo que un nivel aumentado de ésta citoquinas podría contribuir a un estado neuroinflamatorio, que podría eventualmente, desencadenar la EA (164). Adicionalmente, IL-1 β es capaz de inducir la liberación aberrante de glutamato, que en el cerebro contribuye a la muerte celular en la mayoría de las enfermedades neurodegenerativas, facilitando las condiciones moleculares para el desarrollo de EA (165–167). A nivel periodontal, se ha demostrado que IL-1 β tiene la capacidad de incrementar en respuesta a la disbiosis, inducir un aumento del flujo sanguíneo, permitir una mayor infiltración de neutrófilos, inducir la expansión y activación de linfocitos Th1 y Th17 y promover la activación de pre-osteoclastos (102,168–170). El efecto de IL-1 β y su potencial rol neurotóxico es motivo de estudio, en particular, para poder detectar el umbral en el cual esta citoquina induce el proceso neuroinflamatorio irreversible. No obstante la EA es una patología neurodegenerativa, el origen se encuentra fuera del cerebro y cualquier patología que incremente los mediadores pro-inflamatorios podría ser considerada un factor de riesgo (166,171).

La cuantificación de la ApoE- ϵ 4 y su relación con diagnósticos periodontales en personas con SD es una relación no explorada de manera clínica en la literatura científica hasta el momento. Algunos estudios han estudiado la relación entre ApoE- ϵ 4 y SD, definiendo que la presencia de ApoE- ϵ 4 por motivos genéticos incrementa el riesgo para desarrollar alguna enfermedad neurodegenerativa (172,173). Por otra parte, en pacientes con periodontitis agresiva o afectados de edentulismo se detectaron mayores niveles de ApoE- ϵ 4 comparado con sujetos con salud, resultados similares a los de este estudio (174,175). En este contexto, es importante destacar que en la literatura no se ha reportado la medición de ApoE- ϵ 4 en el fluido crevicular gingival y existe un interés creciente de investigar la relación de ApoE, el microbioma oral y el desarrollo de otras patologías (176–179).

Nuestros datos son novedosos y constituyen la primera evidencia que establece una relación entre la carga bacteriana con ApoE- ϵ 4 en sujetos afectados de SD, lo que sugiere una mayor susceptibilidad para desarrollar EA y periodontitis. Así, sugerimos que para futuros estudios se realice un pareo de pacientes con y sin SD, para poder entender de mejor manera cuál es la variación en las concentraciones de la carga bacteriana de microbioma oral, las citoquinas y ApoE- ϵ 4. Además, estos grupos deben ser de muestras amplias y representativas, incluyendo una suficiente cantidad de pacientes por cada estadio de periodontitis. Una gran limitante en este novedoso tema es la ausencia de estudios de serotipificación de *P. gingivalis* de pacientes con o sin periodontitis, lo que permitiría explicar la susceptibilidad microbiológica en la población afectada de esta enfermedad. De esta manera, conocer el serotipo infectante nos permitirá disminuir el riesgo para desarrollar EA u otro tipo de demencia o patología, con el objetivo de poder establecer nuevas medidas de salud pública que beneficien al 80% de la población afectada de enfermedades periodontales. Adicionalmente, se debe ser cauteloso con el estudio de los pacientes con SD y las diferentes condiciones sistémicas que puedan presentar, ya que esto puede cumplir un rol en la modificación de ciertas respuestas inmunes. De igual manera, se sugiere la posibilidad de realizar pruebas cognitivas a los pacientes con SD, para entender cuál es el nivel de deterioro cognitivo y poder correlacionarlo con otros marcadores, específicamente los periodontales y ApoE- ϵ 4.

En términos generales, en esta investigación se sugiere la utilización de fluido crevicular gingival para la medición de ApoE- ϵ 4 y se presenta como una alternativa a la medición en suero, ya que esta puede resultar complicada en pacientes con SD. Es por ello, que se sugiere seguir estudiando las interacciones de la proteína ApoE, específicamente ApoE- ϵ 4 debido al rol que estas proteínas pueden llegar a jugar en el desarrollo de terapias orientadas a la prevención o tratamiento de la EA (47). Finalmente, el creciente incremento de evidencia e interés que existe en estudiar las enfermedades periodontales en Latinoamérica y sus relaciones con otras enfermedades, nos otorga la oportunidad de entender mejor el contexto biopsicosocial en el que se desenvuelven las personas con esta patología y así diseñar estrategias, programas y

terapéuticas más regionalizadas y efectivas que puedan mejorar la calidad de vida de los niños y adolescentes afectados de SD (66,180,181).

CONCLUSIONES

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la presencia de marcadores moleculares asociadas a la inflamación periodontal y enfermedad de Alzheimer en personas con Síndrome de Down.

El estudio de carga bacteriana periodontal permitió establecer una correlación entre *P. gingivalis* y la severidad en las etapas tempranas de enfermedad periodontal de las personas con Síndrome de Down

El estudio de las citoquinas recolectadas de sitios periodontales, revelaron no tener ninguna distinción en su secreción, a excepción de la IL-1 β .

Al estudiar los marcadores de EA., se detectó ApoE- ϵ 4, la cual fue secretada en mayores concentraciones en los pacientes afectados de periodontitis etapa III y IV. De esta manera, se establecieron asociaciones entre estadios de periodontitis con carga bacteriana y niveles de ApoE- ϵ 4.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Asim A, Kumar A, Muthuswamy S, Jain S, Agarwal S. Down syndrome: An insight of the disease. *J Biomed Sci.* 2015;22(1):1–9.
2. Mubayrik A Bin. The Dental Needs and Treatment of Patients with Down Syndrome. *Dent Clin North Am.* 2016;60(3):613–26.
3. Alsubie HS, Rosen D. The evaluation and management of respiratory disease in children with Down syndrome (DS). *Paediatr Respir Rev.* 2018;26:49–54.
4. Benjamin M. Davis, Glen F. Rall MJS. Endocrine Manifestations of Down Syndrome. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2018;25(1):139–48.
5. Hithersay R, Hamburg S, Knight B, Strydom A. Cognitive Decline and Dementia in Down syndrome. *Curr Opin Psychiatry.* 2017;30(2):102–7.
6. Kusters MAA, Verstegen RHJ, Gemen EFA, Vries E De. Intrinsic defect of the immune system in children with Down syndrome : a review. *Clin Exp Immunol.* 2009;156:189–93.
7. Karmiloff-Smith A, Al-Janabi T, D’Souza H, Groet J, Massand E, Mok K, et al. The importance of understanding individual differences in Down syndrome. *F1000Research.* 2016;5:389.
8. ONU. Día mundial del síndrome de Down, 21 de marzo. Antecedentes [Internet]. 2019. Available from: <https://www.un.org/es/observances/down-syndrome-day>
9. Wu J, Morris JK. The population prevalence of Down’s syndrome in England and Wales in 2011. *Eur J Hum Genet.* 2013;21(9):1016–9.
10. Presson AP, Partyka G, Jensen KM, Rasmussen S a, McCabe LL, McCabe ERB. Current Estimate of Down Syndrome Population Prevalence in the United States. *J Pediatr.* 2015;163(4):1163–8.

11. Sierra Romero M del C, Hernández EN, Serrano SC, Pablo AER, Hernández JV, Sierra M del C, et al. Prevalencia del Síndrome de Down en México utilizando los Certificados de nacimiento vivo y de muerte fetal durante el periodo 2008-2011. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 2014;71(5):292–7.
12. Navarrete-Hernández E, Canún-Serrano, Sonia. Valdez-Hernández J R-PA. Malformaciones congénitas al nacimiento : México. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 2017;74(4):301–8.
13. Deps TD, Angelo GL, Martins CC, Paiva SM, Pordeus IA, Borges-Oliveira AC. Association between dental caries and down syndrome: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2015;10(6):e0127484.
14. Moreira MJS, Schwertner C, Jardim JJ, Hashizume LN. Dental caries in individuals with Down syndrome: A systematic review. *Int J Paediatr Dent.* 2016;26(1):3–12.
15. Ribeiro Scalioni FA, Carrada CF, Martins CC, Ribeiro RA, Paiva SM. Periodontal disease in patients with Down syndrome: A systematic review. *J Am Dent Assoc.* 2018;149(7):628-639.e11.
16. Albandar JM, Susin C, Hughes FJ. Manifestations of systemic diseases and conditions that affect the periodontal attachment apparatus: Case definitions and diagnostic considerations. *J Clin Periodontol.* 2018;45(July 2016):S171–89.
17. Khocht A, Janal M, Turner B. Periodontal health in Down Syndrome: Contributions of mental disability, personal, and professional dental care. *Spec Care Dent.* 2010;30(3):118–23.
18. Carrada CF, Scalioni FAR, Cesar DE, Devito KL, Ribeiro LC, Ribeiro RA. Salivary periodontopathic bacteria in children and adolescents with Down Syndrome. *PLoS One.* 2016;11(10):1–13.
19. Gabre P, Martinsson T, Gahnberg L. Longitudinal study of dental caries, tooth mortality and interproximal bone loss in adults with intellectual disability. *Eur J*

- Oral Sci. 2001;109(1):20–6.
20. Amano A, Murakami J, Akiyama S, Morisaki I. Etiologic factors of early-onset periodontal disease in Down syndrome. *Jpn Dent Sci Rev.* 2008;44(2):118–27.
 21. Khocht A, Albandar JM. Aggressive forms of periodontitis secondary to systemic disorders. *Periodontol 2000.* 2014;65(1):134–48.
 22. 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(February):267–73.
 23. Reuland-Bosma W, Dijk J, Weele L. Experimental gingivitis around deciduous teeth in children with Down's syndrome. *J Clin Periodontol.* 2005;13(4):294–300.
 24. Wilson RS, Segawa E, Boyle PA, Anagnos SE, Hizek LP, Bennett DA. Psychology and Aging The Natural History of Cognitive Decline in Alzheimer's Disease The Natural History of Cognitive Decline in Alzheimer's Disease. 2012;27(4):1008–17.
 25. Atri A. The Alzheimer's Disease Clinical Spectrum: Diagnosis and Management. *Med Clin North Am.* 2019;103(2):263–93.
 26. Karlawish J, Jack CR, Rocca WA, Snyder HM, Carrillo MC. Alzheimer's disease: The next frontier—Special Report 2017. *Alzheimer's Dement.* 2017;
 27. Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report 2018. The state of the art of dementia research : New Frontiers. London; 2018.
 28. Yu J-T, Tan L, Hardy J. Apolipoprotein E in Alzheimer's Disease: An Update. *Annu Rev Neurosci.* 2014;37(1):79–100.
 29. Geriatria IN de. Plan de Acción de Alzheimer. México. 2014.
 30. Gilhus NE, Deuschl G. Neuroinflammation — a common thread in neurological disorders. *Nat Rev Neurol.* 2019;15(8):429–30.

31. Calsolaro V, Edison P. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: Current evidence and future directions. *Alzheimer's Dement.* 2016;12(6):719–32.
32. Verma A, Zabel M. Alzheimer's Disease: Beyond the Neuron. In: *Alzheimer's Disease - The 21st Century Challenge*. 1st ed. IntechOpen; 2018.
33. Ries M, Sastre M. Mechanisms of A β Clearance and Degradation by Glial Cells. *Front Aging Neurosci.* 2016;8:1–9.
34. Hanseeuw BJ, Betensky RA, Jacobs HIL, Schultz AP, Sepulcre J, Becker JA, et al. Association of Amyloid and Tau with Cognition in Preclinical Alzheimer Disease: A Longitudinal Study. *JAMA Neurol.* 2019;76(8):915–24.
35. De Strooper B, Karran E. The Cellular Phase of Alzheimer's Disease. *Cell.* 2016;164(4):603–15.
36. Wood H. Sequential amyloid- β and tau accumulation foreshadows cognitive decline. *Nat Rev Neurol.* 2019;15(8):433.
37. Quigley EMM. Microbiota-Brain-Gut Axis and Neurodegenerative Diseases. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2017;17(12).
38. Sarkar SR, Banerjee S. Gut microbiota in neurodegenerative disorders. *J Neuroimmunol.* 2019;328:98–104.
39. Loughran AJ, Orihuela CJ, Tuomanen EI. *Streptococcus pneumoniae*: Invasion and Inflammation. *Microbiol Spectr.* 2019;7(2):3–4.
40. Sureda A, Daglia M, Argüelles Castilla S, Sanadgol N, Fazel Nabavi S, Khan H, et al. Oral microbiota and Alzheimer's Disease: Do all roads lead to Rome? *Pharmacol Res.* 2020;151.
41. Olsen I, Singhrao SK. Can oral infection be a risk factor for Alzheimer's disease? *J Oral Microbiol.* 2015;7(1).
42. Sadrameli M, Bathini P, Alberi L. Linking mechanisms of periodontitis to Alzheimer's disease. *Curr Opin Neurol.* 2020;33(2):230–8.

43. Poole S, Singhrao SK, Kesavalu L, Curtis MA, Crean SJ. Determining the presence of periodontopathic virulence factors in short-term postmortem Alzheimer's disease brain tissue. *J Alzheimer's Dis.* 2013;36(4):665–77.
44. Ilievski V, Zuchowska PK, Green SJ, Toth PT, Ragozzino ME, Le K, et al. Chronic oral application of a periodontal pathogen results in brain inflammation, neurodegeneration and amyloid beta production in wild type mice. *PLoS One.* 2018;13(10):1–24.
45. Mangold CA, Szpara ML. Persistent infection with herpes simplex virus 1 and Alzheimer's disease—a call to study how variability in both virus and host may impact disease. *Viruses.* 2019;11(10).
46. Marocci M, Napoletani G, Protto V, Kolesova O, Piacentini R, Li Puma D, et al. Herpes simplex virus 1 in the brain: the dark side of a sneaky infection. *Trends Microbiol.* 2020;accepted(xx):1–13.
47. Wisniewski T, Drummond E. APOE-amyloid interaction: Therapeutic targets. *Neurobiol Dis.* 2020;138:104784.
48. Xu Q, Bernardo A, Walker D, Kanegawa T, Mahley RW, Huang Y. Profile and regulation of apolipoprotein E (ApoE) expression in the CNS in mice with targeting of green fluorescent protein gene to the ApoE locus. *J Neurosci.* 2006;26(19):4985–94.
49. Huang Y, Mahley RW. Apolipoprotein E: Structure and function in lipid metabolism, neurobiology, and Alzheimer's diseases. *Neurobiol Dis.* 2014;72:3–12.
50. Liu CC, Zhao N, Fu Y, Wang N, Linares C, Tsai CW, et al. ApoE4 Accelerates Early Seeding of Amyloid Pathology. *Neuron.* 2017;96(5):1024–32.
51. Zhao N, Liu C-C, Qiao W, Bu G. Apolipoprotein E, Receptors, and Modulation of Alzheimer's Disease. *Biol Psychiatry.* 2018 Feb;83(4):347–57.
52. Wilhelmus MMM, Otte-Höller I, Davis J, Van Nostrand WE, De Waal RMW,

- Verbeek MM. Apolipoprotein E genotype regulates amyloid- β cytotoxicity. *J Neurosci*. 2005;25(14):3621–7.
53. Mahley RW. Central nervous system lipoproteins: ApoE and regulation of cholesterol metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016;36(7):1305–15.
54. Bertram L, McQueen MB, Mullin K, Blacker D, Tanzi RE. Systematic meta-analyses of Alzheimer Disease genetic association studies : the AlzGene database. *Nat Genet*. 2007;39(1):17–23.
55. Rebeck GW. The role of APOE on lipid homeostasis and inflammation in normal brains. *J Lipid Res*. 2017;58:1493–9.
56. Lin Y-T, Seo J, Gao F, Feldman HM, Wen H-L, Penney J, et al. APOE4 Causes Widespread Molecular and Cellular Alterations Associated with Alzheimer’s Disease Phenotypes in Human iPSC-Derived Brain Cell Types. *Neuron*. 2018 Jun;98(6):1141–54.
57. Fernandez CG, Hamby ME, McReynolds ML, Ray WJ. The role of ApoE4 in disrupting the homeostatic functions of astrocytes and microglia in aging and Alzheimer’s disease. *Front Aging Neurosci*. 2019;10:1–18.
58. Doran E, Totoiu M, Lott IT, Keator D, Potkin SG, Head E, et al. Down Syndrome, Partial Trisomy 21, and Absence of Alzheimer’s Disease: The Role of APP. *J Alzheimer’s Dis*. 2017;56(2):459–70.
59. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Prim*. 2017;3:1–14.
60. Caton J, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman K, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol*. 2018;45:S1–8.
61. Genco RJ, Sanz M. Clinical and public health implications of periodontal and systemic diseases : An overview. *Periodontol 2000*. 2020;83(1):7–13.

62. Kamer AR, Craig RG, Niederman R, Fortea J, Leon MJ De. Periodontal disease as a possible cause for Alzheimer ' s disease. *Periodontol 2000*. 2020;83(1):242–71.
63. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL, Marcenes W. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: A systematic review and meta-regression. *J Dent Res*. 2014;93(11):1045–53.
64. Tonetti MS, Jepsen S, Jin L, Otomo-Corgel J. Impact of the global burden of periodontal diseases on health, nutrition and wellbeing of mankind: A call for global action. *J Clin Periodontol*. 2017;44(5):456–62.
65. Nazir MA. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2017;11(2):72–80.
66. Romito G, Feres M, Gamonal, K, Gomez M, Carvajal P, Pannuti C, Duque Duque A, Romanelli H, Rosing C, Aranguiz V, Cavagni J, Fischer R, Figueiredo L CL. Periodontal disease and its impact on general health in Latin America : LAOHA Consensus Meeting Report. *Braz Oral Res*. 2020;34:1–7.
67. Murrieta J, Juarez L, Linares C Z V. Prevalencia de gingivitis en un grupo de escolares y su relación con el grado de higiene oral y el nivel de conocimientos sobre salud bucal demostrado por sus madres. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2005;61(1).
68. Juárez-Lopez MLA, Munieta-Pruneda JF, Teodosio-Procopio E. Prevalencia y factores de riesgo asociados a enfermedad periodontal en preescolares de la Ciudad de México. *Gac Med Mex*. 2005;141(3):185–9.
69. Orozco Jaramillo R, Peralta Lailson H, Palma Montoya G, Pérez Rodríguez E, Arróniz Padilla S, Llamosas H. E. Prevalencia de gingivitis en adolescentes en el municipio de Tlalnepantla. *Rev ADM*. 2002;59:16–21.
70. Botero JE, Rösing CK, Duque A, Jaramillo A, Contreras A. Periodontal disease in children and adolescents of Latin America. *Periodontol 2000*. 2015;67(1):34–57.

71. Birgit Riep, Lilian Edesi-Neuß, Friderike Claessen, Horst Skarabis, Benjamin Ehmke, Thomas F. Flemmig, Jean-Pierre Bernimoulin, Ulf B. Gobel AM. Are Putative Periodontal Pathogens Reliable Diagnostic Markers?_. *J Clin Microbiol.* 2009;47(6):1705–11.
72. Aljehani YA. Risk Factors of Periodontal Disease : Review of the Literature. *Int J Dent.* 2014;
73. Hajishengallis G. Periodontitis: From microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2015;15(1):30–44.
74. Curtis MA, Diaz PI, Dyke TE Van. The role of the microbiota in periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2020;83(1):14–25.
75. Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: Keystones, pathobionts, and host response. *Trends Immunol.* 2014;35(1):3–11.
76. Hajishengallis G, Lamont RJJ. Beyond the red complex and into more complexity: The polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Mol Oral Microbiol.* 2012 Dec;27(6):409–19.
77. Pérez-Chaparro PJ, Gonçalves C, Figueiredo LC, Faveri M, Lobão E, Tamashiro N, et al. Newly identified pathogens associated with periodontitis: A systematic review. *J Dent Res.* 2014;93(9):846–58.
78. Cafferata EA, Jerez A, Vernal R, Monasterio G, Pandis N, Faggion CM. The therapeutic potential of regulatory T lymphocytes in periodontitis: A systematic review. *J Periodontal Res.* 2018;54(3):207–17.
79. Bartold PM, Van Dyke TE. Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts. *Periodontol 2000.* 2013 Jun;62(1):203–17.
80. G G. Destructive and Protective Roles of Cytokines in Periodontitis : A Re-appraisal from Host Defense and Tissue Destruction Viewpoints. *JDR.* 2010;89(12):1349–63.

81. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H VDT. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2014;64(12):57–80.
82. Díaz-Zúñiga J, Melgar-Rodríguez S, Alvarez C, Monasterio G, Benítez A, Ciuchi P, et al. T-lymphocyte phenotype and function triggered by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* is serotype-dependent. *J Periodontal Res*. 2015;50(6):824–35.
83. Bunte K BT. Th17 Cells and the IL-23 / IL-17 Axis in the Pathogenesis of Periodontitis and Immune-Mediated Inflammatory Diseases. *Int J Mol*. 2019;20:1–24.
84. Rojas L, Melgar-Rodríguez S, Díaz-Zúñiga J, Alvarez C, Monasterio G, Rojas C, et al. Serotype a of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* down-regulates the increased serotype b-induced cytokine and chemokine production in dendritic cells. *Arch Oral Biol*. 2018;93:155–62.
85. Whitfield C, Roberts IS. Structure, assembly and regulation of expression of capsules in *Escherichia Coli*. *Mol Microbiol*. 1999 Mar;31(5):1307–19.
86. Winkelhoff AJ, Appelmek BJ, Kippuw N, Graaff J. K-antigens in *Porphyromonas gingivalis* are associated with virulence. *Oral Microbiol Immunol*. 1993 Oct;8(5):259–65.
87. Laine ML, Appelmek BJ, Van Winkelhoff AJ. Prevalence and distribution of six capsular serotypes of *porphyromonas gingivalis* in periodontitis patients. *J Dent Res*. 1997;76(12):1840–4.
88. Dierickx K, Pauwels M, Van Eldere J, Cassiman JJ, Van Steenberghe D, Quirynen M. Viability of cultured periodontal pocket epithelium cells and *Porphyromonas gingivalis* association. *J Clin Periodontol*. 2002;29(11):987–96.
89. Dierickx K, Pauwels M, Laine ML, Eldere J Van, Cassiman J-J, Winkelhoff AJ Van, et al. Adhesion of *Porphyromonas gingivalis*. Serotypes to Pocket Epithelium. *J Periodontol*. 2003 Jun;74(6):844–8.

90. Califano J V., Schifferle RE, Gunsolley JC, Best AM, Schenkein HA, Tew JG. Antibody Reactive With Porphyromonas gingivalis Serotypes K1-6 in Adult and Generalized Early-Onset Periodontitis . J Periodontol. 1999;70(7):730–5.
91. Gonzalez D, Tzianabos AO, Genco CA, Iii FCG. Immunization with Porphyromonas gingivalis Capsular Polysaccharide Prevents P . gingivalis - Elicited Oral Bone Loss in a Murine Model. Infect Immun. 2003;71(4):2283–7.
92. Monasterio G, Fernández B, Castillo F, Rojas C, Cafferata EA, Rojas L, et al. Capsular-Defective Porphyromonas Gingivalis Mutant Strains Induce Less Alveolar Bone Resorption Than W50 Wild-Type Strain Due to A Decreased Th1/Th17 Immune Response and Less Osteoclast Activity. J Periodontol. 2018;90(5).
93. Vernal R, Leon R, Herrera D, Ja G, Silva A, Variability SM. Variability in the response of human dendritic cells stimulated with Porphyromonas gingivalis or Aggregatibacter actinomycetemcomitans. J Periodontal Res. 2008;43:689–97.
94. Vernal Rolando, Leon Ruben, Silva Augusto, van Winkelhoff Arie, Garcia-Sanz J SM. Differential cytokine expression by human dendritic cells in response to different Porphyromonas gingivalis capsular serotypes. J Clin Per. 2009;35:823–9.
95. Vernal R, Silva A, Sanz M, Distinct GJA. Distinct human T-lymphocyte responses triggered by Porphyromonas gingivalis capsular serotypes. J Clin Periodontol. 2014;41:19–30.
96. Farquharson SI, Germaine GR GG. Isolation and characterization of the cell-surface polysaccharides of Porphyromonas gingivalis ATCC 53978. Oral Microbiol Immunol. 2000;15:151–7.
97. Aduse-opoku J, Slaney JM, Hashim A, Gallagher A, Gallagher RP, Rangarajan M, et al. Identification and Characterization of the Capsular Polysaccharide (K-Antigen) Locus of Porphyromonas gingivalis. Infect Immun. 2006;74(1):449–60.

98. Chen T, Hosogi Y, Nishikawa K, Abbey K, Fleischmann RD, Walling J, et al. Comparative Whole-Genome Analysis of Virulent and Avirulent Strains of *Porphyromonas gingivalis*. *J Bacteriol*. 2004;186(16):5473–9.
99. Kim J, Stewart R, Prince M, Kim S, Yang S, Shin I, et al. Dental health , nutritional status and recent-onset dementia in a Korean community population. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2007;22:850–5.
100. Sochocka M, Sobczyński M, Sender-janeczek A, Zwolińska K, Błachowicz O, Tomczyk T, et al. Association between Periodontal Health Status and Cognitive Abilities. The Role of Cytokine Profile and Systemic Inflammation. *Curr Alzheimer Res*. 2017;14:978–90.
101. Chen C, Wu Y, Chang Y. Association between chronic periodontitis and the risk of Alzheimer ' s disease : a cohort study. *Alzheimer ' s R*. 2017;9(56):1–7.
102. Pan W, Wang Q, Chen Q. The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis. *Int J Oral Sci*. 2019;11(3).
103. Wang RP, Ho Y, Leung WK, Goto T, Chang RC. Systemic inflammation linking chronic periodontitis to cognitive decline. *Brain Behav Immun*. 2019;81(July):63–73.
104. Mello CD, Swain MG. Immune-to-Brain Communication Pathways in Inflammation-Associated Sickness and Depression. *Curr Top Behav Nueros*. 2016;
105. Perry VH. The influence of systemic inflammation on inflammation in the brain : implications for chronic neurodegenerative disease. *Brain Behav Immun*. 2004;18:407–13.
106. Ni Y, Teng T, Li R, Simonyi A, Sun GY, Lee JC. TNF α alters occludin and cerebral endothelial permeability : Role of p38MAPK. *PLoS One*. 2017;12(2):1–20.
107. Zhao Y, Cong L, Lukiw WJ. Lipopolysaccharide (LPS) Accumulates in

- Neocortical Neurons of Alzheimer ' s Disease (AD) Brain and Impairs Transcription in Human Neuronal-Glial Primary Co-cultures. *Front Aging Neurosci.* 2017;9(December):1–9.
108. Nichols M, St-Pierre M, Wendeln A, Makoni N, Gouwens L, Garrad E, Sohrabi M, Nher J, Tremblay M-E CC, Nichols MR, St-Pierre MK, Wendeln AC, Makoni NJ, Gouwens LK, et al. Inflammatory Mechanisms in Neurodegeneration. *J Neurochem.* 2019;149(5):562–81.
109. Mello CD, Le T, Swain MG. Cerebral Microglia Recruit Monocytes into the Brain in Response to Tumor Necrosis Factor α Signaling during Peripheral Organ Inflammation. *J Neurosci.* 2009;29(7):2089–102.
110. Hashioka S, Inoue K, Miyaoka T, Hayashida M, Wake R, Oh-nishi A, et al. The Possible Causal Link of Periodontitis to Neuropsychiatric Disorders : More Than Psychosocial Mechanisms. *Int J Mol Sci.* 2019;20:1–12.
111. Kamer AR, Craig RG, Dasanayake AP, Brys M, Glodzik-sobanska L, Leon MJ De. Inflammation and Alzheimer ' s disease : Possible role of periodontal diseases. *Alzheimer's Dement.* 2008;4:242–50.
112. Riviere R, Riviere KH SK. Molecular and immunological evidence of oral *Treponema* in the human brain and their association with Alzheimer ' s disease. *Oral Microbiol Immunol.* 2002;17:113–8.
113. Wu Z, Nakanishi H. Connection Between Periodontitis and Alzheimer's Disease: Possible Roles of Microglia and Leptomeningeal Cells. *J Pharmacol Sci.* 2014;126(1):8–13.
114. Belstrøm D, Holmstrup P, Damgaard C, Borch TS, Skjødt M, Bendtzen K, et al. The Atherogenic Bacterium *Porphyromonas gingivalis* Evades Circulating Phagocytes by Adhering to Erythrocytes $\square \dagger$. *Infect Immun.* 2011;79(4):1559–65.
115. Fry M, Ferguson A V. The sensory circumventricular organs: Brain targets for circulating signals controlling ingestive behavior. *Physiol Behav.*

2007;91(4):413–23.

116. Singhrao S, Harding A, Simmons T, Robinson S, Kesavalu L CS. Oral Inflammation, Tooth Loss, Risk Factors, and Association with Progression of Alzheimer's Disease. *J Alzheimer's Dis.* 2014;42(3):723–7.
117. Tomás I, Diz P, Tobías A, Scully C, Donos N. Periodontal health status and bacteraemia from daily oral activities: Systematic review/meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2012;39(3):213–28.
118. Wu Z, Ni J, Liu Y, Teeling JL, Takayama F, Collcutt A, et al. Cathepsin B plays a critical role in inducing Alzheimer's disease-like phenotypes following chronic systemic exposure to lipopolysaccharide from *Porphyromonas gingivalis* in mice. *Brain Behav Immun.* 2017;65:350–61.
119. Liu Y, Wu Z, Zhang X, Ni J, Yu W, Zhou Y, et al. Leptomeningeal Cells Transduce Peripheral Macrophages Inflammatory Signal to Microglia in Response to *Porphyromonas gingivalis* LPS. *Mediators Inflamm.* 2013;4.
120. Lott IT, Head E. Dementia in Down syndrome: unique insights for Alzheimer disease research. *Nat Rev Neurol.* 2019;15(3):135–47.
121. Glasson EJ, Jacques A, Wong K, Bourke J, Leonard H. Improved Survival in Down Syndrome over the Last 60 Years and the Impact of Perinatal Factors in Recent Decades. *J Pediatr.* 2016;169(572742):214-220.e1.
122. Schmidt-Sidor, K E Wisniewski, T H Shepard EAS. Brain Growth in Down Syndrome. Subjects 15 to 22 Weeks of Gestational Age and Birth to 60 Months. *Clin Neuropathol.* 1990;4:181–90.
123. Guidi S, Bonasoni P, Ceccarelli C, Santini D, Gualtieri F, Ciani E, et al. Neurogenesis impairment and increased cell death reduce total neuron number in the hippocampal region of fetuses with Down syndrome. *Brain Pathol.* 2008;18(2):180–97.
124. Davidson YS, Robinson A, Prasher VP, Mann DMA. The age of onset and

- evolution of Braak tangle stage and Thal amyloid pathology of Alzheimer's disease in individuals with Down syndrome. *Acta Neuropathol Commun.* 2018;6(1):56.
125. Stoltzner SE, Grenfell TJ, Mori C, Wisniewski KE, Wisniewski TM, Selkoe DJ, et al. Temporal accrual of complement proteins in amyloid plaques in Down's syndrome with Alzheimer's disease. *Am J Pathol.* 2000;156(2):489–99.
 126. Hithersay R, Startin CM, Hamburg S, Mok KY, Hardy J, Fisher EMC, et al. Association of Dementia With Mortality Among Adults With Down Syndrome Older Than 35 Years. *JAMA Neurol.* 2019;76(2):152–60.
 127. Zigman W, Schupf N, Jenkins E, Urv T, Tycko B SW. Cholesterol Level, Statin Use and Alzheimer's Disease in Adults with Down Syndrome. *Neurosci Lett.* 2007;416(3):279–84.
 128. Ness D, Hye A, Strydom A, Kingdom U, Hospital AA, Sciences N, et al. Plasma amyloid and tau as dementia biomarkers in Down syndrome: systematic review and meta-analyses. *Dev Neurobiol.* 2019;79(7):684–98.
 129. Wilcock DM, Griffin WST. Down's syndrome, neuroinflammation, and Alzheimer neuropathogenesis. *J Neuroinflammation.* 2013;10(1):1.
 130. Ira L. Neurological phenotypes for Down Syndrome across the life span. *Prog Brain Res.* 2012;197:101–21.
 131. Yuen S, Smith J, Caruso L, Balan M, Anne M. The coxsackie – adenovirus receptor induces an inflammatory cardiomyopathy independent of viral infection. *J Mol Cell Cardiol.* 2011;50(5):826–40.
 132. Park J, Strock CJ, Ball DW, Nelkin BD. Interleukin-1 b can mediate growth arrest and differentiation via the leukemia inhibitory factor / JAK / STAT pathway in medullary thyroid carcinoma cells. *Cytokine.* 2005;29:125–34.
 133. Wilcock DM, Hurban J, Helman AM, Sudduth TL, Katie L, Beckett TL, et al. Down syndrome individuals with Alzheimer's disease have a distinct

- neuroinflammatory phenotype compared to sporadic Alzheimer's disease. *Neurobiology Aging*. 2015;36(9):2468–74.
134. Kamer AR, Fortea JO, Videla S, Mayoral A, Janal M, Carmona-Iragui M, et al. Periodontal disease's contribution to Alzheimer's disease progression in Down syndrome. *Alzheimer's Dement Diagnosis, Assess Dis Monit*. 2016;2:49–57.
135. Huggard D, Doherty DG, Molloy EJ. Immune Dysregulation in Children With Down Syndrome. *Front Pediatr*. 2020;8:1–10.
136. Nichols M, St-Pierre M, Wendeln A, Makoni N, Gouwens L, Garrad E, Sohrabi M, Nher J, Tremblay M-E CC. Inflammatory Mechanisms in Neurodegeneration. *J Neurochem*. 2019;149(5):562–81.
137. Gomez W, Morales R, Maracaja-coutinho V, Parra V. Down syndrome and Alzheimer ' s disease : common molecular traits beyond the amyloid precursor protein. *Aging (Albany NY)*. 2020;12(1):1011–33.
138. Hartley D, Blumenthal T, Carrillo M, DiPaolo G, Esralew L, Gardiner K, et al. Down syndrome and Alzheimer's disease: Common pathways, common goals HHS Public Access Author manuscript. *Alzheimers Dement*. 2015;11(6):700–9.
139. Lang NP, Bartold PM. Periodontal health. *J Periodontol*. 2018;89:S9–16.
140. Trombelli L, Farina R, Silva CO, Tatakis DN. Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *J Periodontol*. 2018;89(1):S46–73.
141. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*. 2018;89(February):S159–72.
142. Vernal R, Dutzan N, Chaparro A, Puente J, Ma V, Levels GJ. Levels of interleukin-17 in gingival crevicular fluid and in supernatants of cellular cultures of gingival tissue from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005;32:383–9.

143. Abusleme L, Dupuy AK, Strausbaugh LD, Gamonal J, Diaz PI. The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. *ISME J.* 2013;7:1016–25.
144. Martínez VM, Carrillo-Ávila B, Sauri-Esquivel E, Guzmán-Marín E, Jiménez-Coello, Matilde, Escobar-García D, Pozos-Guillén A. Quantification of TNF- in Patients with Periodontitis and Type 2 Diabetes. *Hindawi.* 2019;4:1–7.
145. Asociación Médica Mundial. Declaración de Helsinki de la AMM- Principios Éticos para las Investigaciones Médicas en Seres humanos. 2013.
146. Amano A, Kishima T, Akiyama S, Nakagawa I, Hamada S MI. Relationship of Periodontopathic Bacteria With Early-Onset Periodontitis in Down's Syndrome. *J Periodontol.* 2001;72(3):368–73.
147. Van Dyke TE, Bartold PM, Reynolds EC. The Nexus Between Periodontal Inflammation and Dysbiosis. *Front Immunol.* 2020;11(March):1–9.
148. Amano A, Kishima T, Akiyama S, Nakagawa I, Hamada S MI. Periodontopathic Bacteria in Children with Down Syndrome. *J Periodontol.* 2000;71(2):249–55.
149. Singhrao SK, Harding A, Poole S, Kesavalu L, Crean S. Porphyromonas gingivalis Periodontal Infection and Its Putative Links with Alzheimer's Disease. *Mediators Inflamm.* 2015;2015.
150. Ding Y, Ren J, Yu H, Yu W, Zhou Y. Porphyromonas gingivalis, a periodontitis causing bacterium, induces memory impairment and age-dependent neuroinflammation in mice. *Immun Ageing.* 2018;15(1):1–8.
151. Ishida N, Ishihara Y, Ishida K, Tada H, Funaki-Kato Y, Hagiwara M, et al. Periodontitis induced by bacterial infection exacerbates features of Alzheimer's disease in transgenic mice. *npj Aging Mech Dis.* 2017;3(1):1–7.
152. Zhang J, Yu C, Zhang X, Chen H, Dong J, Lu W, et al. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide induces cognitive dysfunction, mediated by neuronal inflammation via activation of the TLR4 signaling pathway in C57BL/6 mice. *J*

- Neuroinflammation. 2018;15(1):1–14.
153. Kato H, Taguchi Y, Tominaga K, Umeda M, Tanaka A. Porphyromonas gingivalis LPS inhibits osteoblastic differentiation and promotes pro-inflammatory cytokine production in human periodontal ligament stem cells. Arch Oral Biol. 2014;59(2):167–75.
 154. Díaz-Zúñiga J, Monasterio G, Alvarez C, Melgar-Rodríguez S, Benítez A, Ciuchi P, et al. Variability of the Dendritic Cell Response Triggered by Different Serotypes of Aggregatibacter actinomycetemcomitans or Porphyromonas gingivalis Is Toll-Like Receptor 2 (TLR2) or TLR4 Dependent . J Periodontol. 2015;86(1):108–19.
 155. Zhang Y, Che M, Yuan J, Yu Y, Cao C, Qin XY, et al. Aberrations in circulating inflammatory cytokine levels in patients with Down syndrome: A meta-analysis. Oncotarget. 2017;8(48):84489–96.
 156. Swardfager W, Lanctt K, Rothenburg L, Wong A, Cappell J, Herrmann N. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. Biol Psychiatry. 2010;68(10):930–41.
 157. Cavalcante LB, Tanaka MH, Pires JR, Henrique Apponi L, Aparecida Giro EM, Roberto Valentini S, et al. Expression of the Interleukin-10 Signaling Pathway Genes in Individuals With Down Syndrome and Periodontitis. J Periodontol. 2012;83(7):926–35.
 158. Gilowski Ł, Wiench R, Płocica I. Amount of interleukin-1 b and interleukin-1 receptor antagonist in periodontitis and healthy patients. Arch Oral Biol. 2014;9:5–10.
 159. Antonarakis SE, Skotko BG, Rafii MS, Strydom A, Pape SE, Bianchi DW, et al. Down syndrome. Nat Rev Dis Prim. 2020;6(1):1–20.
 160. Mantovani A, Dinarello CA, Molgora M, Garlanda C. Interleukin-1 and Related Cytokines in the Regulation of Inflammation and Immunity. Immunity.

- 2019;50(4):778–95.
161. Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev.* 2018;281(1):8–27.
 162. Moorlag SJCFM, Röring RJ, Joosten LAB, Netea MG. The role of the interleukin-1 family in trained immunity. *Immunol Rev.* 2018;281(1):28–39.
 163. Garlanda C, Dinarello CA, Mantovani A. The Interleukin-1 Family: Back to the Future. *Immunity.* 2013 Dec;39(6):1003–18.
 164. Startin CM, Ashton NJ, Hamburg S, Hithersay R, Wiseman FK, Mok KY, et al. Plasma biomarkers for amyloid , tau , and cytokines in Down syndrome and sporadic Alzheimer ' s disease. *Alzheimer ' s Res Ther.* 2019;11(26):1–12.
 165. Xie L, Lai YU, Lei F, Liu S, Liu RAN, Wang T. Exploring the association between interleukin-1 β and its interacting proteins in Alzheimer ' s disease. *Mol Med Rep.* 2015;11:3219–28.
 166. Mendiola AS, Cardona AE. The IL-1 β phenomena in neuroinflammatory diseases. *J Neural Transm.* 2019;125(5):781–95.
 167. Bading H. Therapeutic targeting of the pathological triad of extrasynaptic NMDA receptor signaling in neurodegenerations. *JEM.* 2017;214(3):569–78.
 168. Cheng R, Wu Z, Li M, Shao M, Hu T. Interleukin-1 β is a potential therapeutic target for periodontitis: a narrative review. *Int J Oral Sci.* 2020;12(1):1–9.
 169. Hajishengallis G, Tapping RI, Harokopakis E, Nishiyama SI, Ratti P, Schifferle RE, et al. Differential interactions of fimbriae and lipopolysaccharide from *Porphyromonas gingivalis* with the Toll-like receptor 2-centred pattern recognition apparatus. *Cell Microbiol.* 2006;8(10):1557–70.
 170. Ben-sasson SZ, Hu-li J, Quiel J, Cauchetaux S, Ratner M, Shapira I, et al. IL-1 acts directly on CD4 T cells to enhance their antigen-driven expansion and differentiation. *PNAS.* 2009;106(17):4–9.

171. Dorothée G. Neuroinflammation in neurodegeneration : role in pathophysiology , therapeutic opportunities and clinical perspectives. *J Neural Transm.* 2018;(2017):3–4.
172. Rohn T, McCarty Katie, Love Julia HE. Is Apolipoprotein E4 an Important Risk Factor for Dementia in Persons with Down Syndrome? *J Park Dis Alzheimers Dis.* 2015;1(1):1–14.
173. Singhrao SK, Harding A, Chukkapalli S, Olsen I. Apolipoprotein E Related Co-Morbidities and Alzheimer ' s Disease. *J Alzheimer's Dis.* 2016;51:935–48.
174. Bergdahl M, Bergdahl J, Nyberg L. Difference in apolipoprotein E type 4 allele (APOE e 4) among dentate and edentulous subjects. *Gerodontology.* 2008;25(3):179–86.
175. Okamoto N, Morikawa M, Amano N, Yanagi M. Effects of Tooth Loss and the Apolipoprotein E ϵ 4 Allele on Mild Memory Impairment in the Fujiwara-kyo Study of Japan : A Nested Case-Control Study. *J Alzheimer's Dis.* 2017;55:575–83.
176. Lönn J, Ljunggren S, Klarström-Engström K, Demirel I, Bengtsson T, Karlsson H. Lipoprotein modifications by gingipains of *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontal Res.* 2018;53(3):403–13.
177. Rivera MF, Lee JY, Aneja M, Goswami V, Liu L, Velsko IM, et al. Polymicrobial Infection with Major Periodontal Pathogens Induced Periodontal Disease and Aortic Atherosclerosis in Hyperlipidemic ApoE null Mice. *PLoS One.* 2013;8(2).
178. Singhrao SK, Chukkapalli S, Poole S, Velsko I, Crean SJ, Kesavalu L. Chronic porphyromonas gingivalis infection accelerates the occurrence of age-related granules in ApoE^{-/-} mice brains. *J Oral Microbiol.* 2017;9(1).
179. Poole S, Singhrao SK, Chukkapalli S, Rivera M, Velsko I, Kesavalu L, et al. Active invasion of *Porphyromonas gingivalis* and infection-induced complement activation in ApoE^{-/-} mice brains. *J Alzheimer's Dis.* 2014;43(1):67–80.

180. Duque, Andrés, Malheiros Z, Stewart B RH. Strategies for the prevention of periodontal disease and its impact on general health in Latin America . Section III : Prevention. Braz Oral Res. 2020;34:1–7.
181. Fischer R, Lira R, Retamal-Valdes B, Figueiredo L, Malheiros Z, Stewart B FM. Periodontal disease and its impact on general health in Latin America . Section V : Treatment of periodontitis. Braz Oral Res. 2020;34:1–9.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO Y VOLUNTARIO

CON FUNDAMENTO EN LA LEY GENERAL DE SALUD.
TÍTULO QUINTO Y CAPÍTULO ÚNICO, INVESTIGACIÓN PARA
SALUD ARTÍCULO 100 FRACCIÓN IV. ARTÍCULOS 102 Y 103.
NOM-168-SSA1-1998, DEL EXPEDIENTE CLÍNICO EN SU NUMERAL 4.2

Carta de consentimiento informado bajo información de una Investigación clínica

Título del protocolo: MARCADORES MOLECULARES ASOCIADOS A ENFERMEDAD DE ALZHEIMER EN PERSONAS CON SÍNDROME DE DOWN

Investigador principal: Arriola F.

Sede del estudio: Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán

Nombre del paciente: _____

A través de este medio, se le informa y se le invita a participar en el presente estudio que se lleva a cabo durante el periodo de Abril 2019 a Febrero 2020. Usted ha sido seleccionado para el estudio debido a su participación en el programa de pacientes de la Unidad de Posgrado e Investigación de Odontología Infantil. Toda información recolectada en este será utilizada exclusivamente por el investigador con fines de aprendizaje científico. La información personal recolectada será de carácter confidencial, utilizándose solamente los datos de edad, afección periodontal, y los resultados recolectados en las muestras tomadas con la saliva y el líquido crevicular. Se pedirá que los pacientes acudan a una revisión, en la cual se tomarán muestras de líquido crevicular y pedirá al paciente escupir saliva en un tubo para el procesamiento de la muestra. Se debe mencionar, que es un estudio que será pagado por el investigador, mas no habrá remuneración monetaria a los participantes estudio. No existe ningún riesgo al participar en el estudio, ya que no habrá ninguna invasión por parte del investigador. Al igual, como participante usted tiene el derecho de renunciar el estudio y reusarse a proporcionar información de cualquier índole.

Yo....., expreso consentimiento para que el alumno Fabio Gregorio Arriola Pacheco, realice en mi persona y/o mi hijo/a, según sea el caso. He sido informado convenientemente en forma detallada y suficiente, comprendiendo en su totalidad sobre el tipo de tratamiento de efectuarse en mí, habiéndome explicado detalladamente los objetivos de la investigación aceptando en su totalidad por mí parte la propuesta ofrecida.

Fecha _____ Firma _____ del _____ paciente _____ o _____ tutor

N° de Documento _____

ANEXO N°2
HISTORIA Y DATOS CLÍNICOS

FICHA DE IDENTIFICACION:

NUMERO DE HISTORIA CLÍNICA:

NOMBRE:

EDAD:

SEXO:

DIRECCION:

LUGAR DE RESIDENCIA:

ANTECEDENTES HEREDITARIOS Y FAMILIARES:

Padecimientos Maternos:

Padecimientos Paternos:

Padecimientos de sus hermanos:

ANTECEDENTES PERSONALES NO PATOLOGICOS:

Escolaridad:

PADECIMIENTO ACTUAL:

ANEXO N°3

Periodontograma

Fecha

BERN

Apellido del paciente

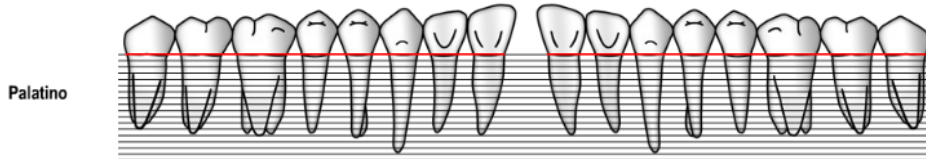
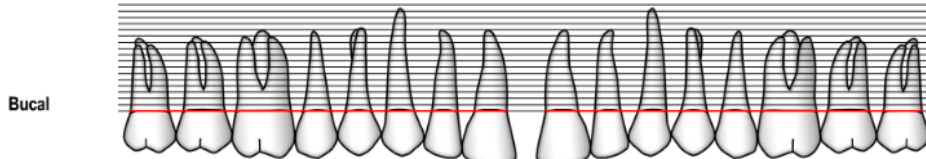
Nombre

Fecha de nacimiento

Examen inicial Reevaluación

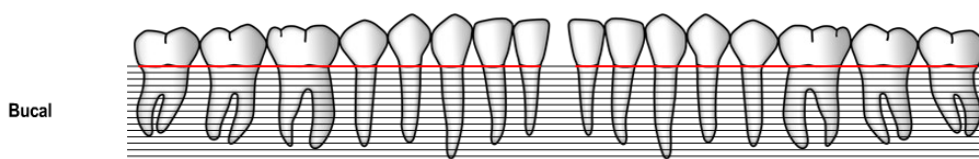
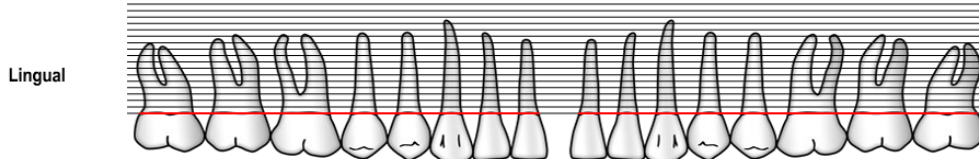
Clinico

	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Movilidad	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Implante																
Furca																
Sangrado al sondaje																
Placa																
Margen gingival	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Profundidad de sondaje	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0



Margen gingival	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Profundidad de sondaje	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Placa																
Sangrado al sondaje																
Furca																
Nota																

Nota																
Furca																
Sangrado al sondaje																
Placa																
Margen gingival	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Profundidad de sondaje	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0



Margen gingival	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Profundidad de sondaje	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Placa																
Sangrado al sondaje																
Furca																
Implante																
Movilidad	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38