

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN

Scienze Mediche Generali e Scienze dei Servizi

Ciclo XXXII

Settore Concorsuale: Area 06/F1

Settore Scientifico Disciplinare: MED/28 Malattie Odontostomatologiche

STUDIO DELLA PATOLOGIA PARODONTALE NEI SOGGETTI CON
SINDROME DI DOWN.
ANALISI CLINICA, GENETICA E MICROBIOLOGICA.

Presentata da: **Dott. Marco Montevocchi**

Coordinatore Dottorato

Supervisore

Prof. Fabio Piscaglia

Prof. Gabriela Piana

Esame finale anno 2020

INDICE

1. INTRODUZIONE

1.1. Inquadramento storico

1.2. Epidemiologia

1.3. Caratteristiche genetiche

1.4. Diagnosi e screening

2. CARATTERISTICHE DELLA SINDROME

2.1. Caratteristiche generali

2.1.1. Aspetto fenotipico del volto e somatico

2.1.2. Alterazioni sistemiche

2.1.3. Deficit sensoriali

2.1.4. Problematiche neurologiche e ritardo cognitivo

2.1.5. Ritardo della crescita

2.2. Caratteristiche cranio-facciali ed orali

2.2.1. Volto e massiccio facciale

2.2.2. Distretto orale

3. MALATTIA PARODONTALE E SINDROME DI DOWN

3.1 Profili microbici subgengivali

3.2 I mediatori dell'inflammazione

4. OBIETTIVI

5. PRIMA PARTE DELLA RICERCA SPERIMENTALE

Titolo: Analisi microbiologica subgingivale su dentizione decidua di bambini affetti e non da sindrome di Down.

5.1 Materiali e Metodi

5.2 Risultati

5.3 Discussione

6. SECONDA PARTE DELLA RICERCA SPERIMENTALE

Titolo: Analisi dei polimorfismi dell'interleuchina 1 in soggetti adulti affetti da sindrome di Down e parodontite di grado avanzato.

6.1 Materiali e Metodi

6.2 Risultati

6.3 Discussione

7. CONCLUSIONI

8. BIBLIOGRAFIA

INTRODUZIONE

La Sindrome di Down (SD) o Trisomia 21 (T21), la più frequente aneuploidia compatibile con la vita, è un'alterazione numerica causata dalla presenza di un cromosoma 21 in eccesso. È caratterizzata da ritardo cognitivo, della crescita e dello sviluppo e si associa ad una serie di alterazioni fenotipiche che conferiscono aspetto somatico e del volto peculiari e patologie che coinvolgono molteplici distretti. Studiata a partire dalla seconda metà dell'Ottocento, questa sindrome risulta equamente distribuita nei due generi e nelle differenti razze; il fattore di rischio preponderante è costituito dall'età della madre al concepimento. In funzione delle conoscenze acquisite in materia, specie negli ultimi decenni, del significativo miglioramento delle condizioni di vita e della sensibilizzazione delle famiglie, degli operatori sanitari e della società civile, i soggetti con trisomia 21 oggi hanno una aspettativa di vita di circa 60 anni e, generalmente, un buon inserimento sociale.

1.1. Inquadramento storico

La SD viene descritta per la prima volta nel 1866 dal medico J. Langdon Down^[1] in una pubblicazione in cui riporta alcune delle caratteristiche della patologia: in particolare, identifica come peculiari i tratti del volto somiglianti a quelli delle popolazioni mongole, da cui il nome di "mongolismo".

Risale al 1909 lo studio di Shuttleworth su 350 soggetti affetti^[2], nella quale si pone l'attenzione sulla correlazione tra età della madre e numerosità della prole ed incidenza di SD, pur senza arrivare a definire quale dei due fattori costituisca l'effettivo elemento di rischio per la patologia.

Nel 1932, Waarsburg propone la tesi secondo cui la sindrome potesse essere associata ad una non disgiunzione cromosomica; tuttavia, in assenza di prove sperimentali, per definire la caratteristica genetica di questa patologia, si deve attendere sino al 1959, quando Lejeune^[3], e dopo di lui Gautier e Turpin, riscontrano la presenza di 47 cromosomi in alcuni pazienti con SD, per identificare successivamente un cromosoma 21 sovrannumerario.

1.2. Epidemiologia

La Trisomia 21 è l'alterazione cromosomica di più frequente riscontro nella popolazione, con un'incidenza di circa 1 bambino ogni 1200 nati, senza significative distinzioni di genere, razza/etnia, stato socio-economico^[4]. L'incidenza nei nuovi nati invece risulta differente tra i vari paesi in base

alle possibilità di diagnosi prenatale e di controllo delle nascite: dove non sono ancora in atto, si registra circa 1 caso ogni 700 nati^[4]. Questo valore subisce un incremento considerevole all'aumentare dell'età della madre, in particolare al superamento dei 35 anni (**Tabella 1**), a partire dai quali si osserva un progressivo aumento dell'incidenza, sino ad arrivare a circa 1 caso ogni 40 nuove nascite attorno ai 45 anni^[4]. In Italia, si calcola che nascano ogni anno circa 500 bambini affetti da SD, con una prevalenza della patologia nella popolazione pari a circa 38.000 individui ^[4].

Tabella 1: Rischio di SD a termine di gravidanza in rapporto all'età.

età materna	rischio a termine di gravidanza
20	1:1527
25	1:1352
30	1:895
31	1:776
32	1:659
33	1:547
34	1:446
35	1:356
36	1:280
37	1:218
38	1:167
39	1:128
40	1:97
41	1:73
42	1:55
43	1:41
44	1:30
45	1:23

Negli ultimi decenni sono stati osservati importanti cambiamenti per quanto riguarda l'epidemiologia in relazione a tre fattori: l'età più avanzata delle madri al momento del concepimento, la possibilità di interrompere la gravidanza a fronte di diagnosi prenatale precoce, il miglioramento delle condizioni ed aspettativa di vita delle persone affette. Se da una parte l'incidenza risulterebbe incrementata in funzione dell'aumento dell'età media delle donne al momento del concepimento, per contro, la relativamente bassa natalità, il grande numero di diagnosi prenatali a cui le future madri si sottopongono specie dopo i 35 anni, e la possibilità di interrompere la gravidanza costituiscono un fattore di compenso^[4].

La prevalenza ha invece subito un significativo aumento principalmente in relazione al miglioramento delle condizioni di vita: attualmente, il soggetto con SD può avere una vita soddisfacente, sia in termini di salute generale, sia in termini di inserimento sociale, con una aspettativa di vita di circa 60 anni ed una età media della popolazione DS di circa 45 anni^[4].

1.3. Caratteristiche genetiche

L'alterazione genetica che sta alla base della sindrome è l'aneuploidia, ossia la presenza di un cromosoma 21, o di parte di esso, in sovrannumero. Il soggetto affetto presenta quindi un cariotipo caratterizzato da 47 cromosomi, di cui tre cromosomi 21^[3]. L'errore che porta a tale condizione si può verificare in momenti differenti: durante la meiosi, a livello dei gameti, nel corso della mitosi dopo il concepimento ^[5].

Durante la meiosi si può verificare una non-disgiunzione casuale: si tratta dell'errore di più frequente riscontro, circa il 92-94% dei casi, che esita in trisomia 21 libera. Più raramente (3- 4%), è possibile avere una traslocazione in cui si ha un cromosoma soprannumerario o parte di esso legato ad un altro cromosoma, frequentemente il 14. Una terza possibilità, anch'essa molto rara (2-4%), è il mosaicismo, caratterizzato dalla presenza di due differenti linee di cellule nello stesso individuo, una delle quali normale ed una con 47 cromosomi, causata da una non-disgiunzione post-zigotica ^[5].

Sulla base di tali meccanismi si distinguono diverse forme:

- Trisomia piena (92-95% dei casi): il cromosoma soprannumerario è presente in tutte le cellule.
- Forma a mosaico (2-3% dei casi): il cariotipo è caratterizzato dalla contemporanea presenza, nello stesso individuo, di cellule con corredo cromosomico normale e cellule con Trisomia del 21.
- Forma con traslocazione non bilanciata del cromosoma 21 (3-5% dei casi).

Nel 2000, un gruppo internazionale di ricercatori nell'ambito del "Progetto Genoma" ha identificato la sequenza dei geni presenti sul cromosoma 21 ^[6], scoperta che ha dato il via ad indagini attualmente in corso: la conoscenza di tutti i geni coinvolti permetterà di capire meglio ed approfondire le caratteristiche della sindrome^[7]. Ad oggi sono note molte correlazioni tra i geni del cromosoma 21 e SD, disfunzioni mitocondriali e malattia di Alzheimer^[8,9]; alterazioni del sistema nervoso centrale^[10], età di insorgenza di demenza senile^[11], metabolismo dei folati e dei gruppi metile^[6,7] e, in modelli di studio animale, deficit dell'apprendimento^[12] e alterazioni cranio-facciali^[13].

1.4. Diagnosi e screening

La diagnosi è genetica, sull'analisi del cariotipo, che può essere eseguita in fase prenatale o alla nascita, sulla base dell'aspetto fenotipico del neonato^[14]. Dagli anni '70, l'esame prenatale per la valutazione delle mutazioni cromosomiche è l'*amniocentesi*, una procedura che consiste nel prelievo transaddominale di liquido amniotico per l'analisi dell'assetto cromosomico, eseguita a partire dalla 15ª settimana di gravidanza^[7,15,16]. Successivamente si è sviluppata la *villocentesi*, il prelievo di villi coriali per via transaddominale o transcervicale, eseguito tra la 11ª e la 13ª settimana di gestazione^[15,16]. Con tali metodiche, l'accuratezza diagnostica è prossima al 99% e per tale ragione sono ritenute le sole che permettano di fare diagnosi^[4]. Tuttavia si tratta di procedure non esenti da rischi, e per questo considerate indagini di secondo livello da eseguire come screening solo in condizioni di rischio effettivo^[15] quali:

- età materna avanzata (>35 anni)
- figlio affetto da anomalia cromosomica
- genitore portatore di ri-arrangiamento strutturale dei cromosomi
- familiarità per malattie genetiche (a gene o localizzazione genica noti)
- familiarità per malattie congenite del metabolismo
- anomalie strutturali del feto all'esame ecografico di routine
- test di screening per SD positivo

Per lo screening SD si ricorre a metodiche meno invasive, che prevedono l'esame di alcuni marcatori sierici materni associati con la misurazione ultrasonica della traslucenza nucale (**Tabella 2**)^[15].

Alla fine del primo trimestre, tra la 11ª e la 13ª settimana, vengono valutate la *proteina plasmatica A associata alla gravidanza* (PAPP-A) e la *frazione libera di gonadotropina corionica* (β -hCG); tale indagine, detta *Bi-Test*, associata all'indagine ecografica per la misurazione della *traslucenza nucale*. Durante il secondo trimestre, tra la 15ª e la 20ª settimana si eseguono il *Tri-* o il *Quad-test*. Nel *Tri-test* vengono dosati la *alfa-fetoproteina* (AFP), la *gonadotropina corionica umana* (hCG) e l'*estriolo non coniugato* (uE3); nel *Quad-test* si aggiunge all'analisi anche l'*inibina A*; in particolare, un aumento di hCG e inibina e una riduzione di AFP e uE3 sono indicatori di rischio elevato.

Tabella 2: Test di screening con marcatori sierici in base al periodo di gestazione

settimane¹	NT 10-13	hCG 10-12	PAPP-A 10-12	hCG 14-20	AFP 14-20	uE3 14-20	inibina A 14-20
NT	*						
Test combinato	*	*	*				
Doppio test				*	*		
Triplo test				*	*	*	
Quadruplo test				*	*	*	*
Test integrato sierologico			*	*	*	*	*
Test integrato	*		*	*	*	*	*
	primo trimestre			secondo trimestre			

legenda: ¹ si intendono sempre settimane complete

In termini di accuratezza diagnostica e sicurezza, i test di screening migliori sono risultati essere il test integrato e, quando l'esecuzione del test per la traslucenza nucale non sia possibile, l'integrato sierologico; qualora la donna si sottoponga a test esclusivamente nel primo trimestre il migliore è il test combinato e nel secondo trimestre, il quadruplo test^[15].

CARATTERISTICHE DELLA SINDROME

2.1. CARATTERISTICHE GENERALI

Le persone con trisomia 21 presentano una serie di caratteristiche fenotipiche comuni, più o meno marcate e severe, che caratterizzano la sindrome sia per quanto riguarda l'aspetto fisico e la crescita, in termini di sviluppo cognitivo e comportamentale; inoltre, molte patologie e disfunzioni sono caratteristiche di questa condizione.

2.1.1. Aspetto fenotipico del volto e somatico

Sin dalla nascita, il bambino con SD presenta una fisionomia peculiare che, in caso di mancata diagnosi prenatale, costituisce indicazione per l'analisi citogenetica^[7,15]. La *facies* è caratteristica: il volto arrotondato, la sella nasale larga e piatta, gli occhi allungati, dal taglio obliquo, con una piega cutanea pronunciata a livello dell'angolo interno (epicanto), l'iride con macchie di colore chiaro (di Brushfield), le orecchie piccole e talora dismorfiche, il collo corto e tozzo, con plica nucale abbondante e lassa, il cranio brachicefalico con zona occipitale piatta ^[1,7,17,18]. Crescendo risultano evidenti la bocca piccola ed incompetente, la pseudomacroglossia e l'ipotonia del volto, meno evidenti in età neonatale.

A livello somatico si apprezzano ipotonia muscolare diffusa e lassità ligamentosa associata ad importante flessibilità, dislocazioni articolari ed instabilità a livello atlanto-assiale, torace piatto, addome espanso, bacino basso e largo^[1], arti corti e tozzi, in particolare le mani, con dita corte ^[1,7,17-19]. La crescita ritardata e ridotta è causa di iposomia.

2.1.2. Alterazioni sistemiche

A livello dei differenti organi ed apparati sono frequenti molteplici alterazioni e patologie di gravità variabile, molte delle quali presentano implicazioni importanti per l'odontoiatra.

a. Patologie cardiache e dell'apparato cardio-vascolare

Circa il 50% dei bambini presenta una cardiopatia congenita^[17]: le più frequenti, con prevalenze lievemente differenti in base agli studi, sono Difetti setto atrio-ventricolare (45%), difetti interventricolari (35%), Ostium secundum (8%), persistenza del dotto arterioso di Botallo (7%) e la

tetralogia di Fallot (4%)[7,17,18,20]. Molte di queste patologie vengono corrette chirurgicamente in età pediatrica, con un importante miglioramento delle condizioni e delle aspettative di vita[21].

In età adulta possono insorgere prolasso della valvola mitrale (46%) e insufficienza aortica (17%)[17].

b. Patologie respiratorie

Tipico nella SD è il restringimento delle vie aeree superiori dato da una compresenza di malformazioni del primo tratto respiratorio e delle ossa maxillo-facciali, a cui si aggiunge l'ipotonia della lingua e della muscolatura oro-facciale [7,18,20]. Le patologie di tipo infettivo delle vie aeree superiori sono aumentate rispetto alla popolazione normale sia per l'anatomia sfavorevole sia per il deficit immunitario. Sono di frequente riscontro infezioni e ipertrofia delle tonsille che costituiscono un importante cofattore per la sindrome delle apnee ostruttive del sonno (OSAS), presenti nel 50-75% dei soggetti SD [7, 17, 18]. E' descritta una elevata incidenza di polmoniti *ab ingestis* [20].

c. Patologie muscolo-scheletriche

I soggetti con Trisomia 21 presentano un aspetto iposomico e una maggiore incidenza di obesità rispetto alla popolazione normale [10].

L'apparato muscolo-scheletrico è caratterizzato da ipotonia generalizzata associata a lassità dei legamenti, che comporta una elevata flessibilità articolare e predisposizione alle dislocazioni [18-20]. Di particolare interesse per gli operatori odontoiatrici è l'instabilità a livello atlanto-assiale (10-30%), che richiede attenzione nella gestione del paziente nel corso delle sedute [7,20]; nel 2% dei casi tale condizione causa sintomi e segni di compressione midollare, quali iperreflessia, dolore cervicale, perdita di controllo degli sfinteri e tetraparesi[20].

In una bassa percentuale di soggetti si osserva lo sviluppo di patologie articolari tipo artriti croniche giovanili che richiedono monitoraggio nel tempo[7].

A causa della rotazione dei fianchi, associata a ginocchia valghe e tibie rotate esternamente, gli individui con SD presentano frequentemente un'alterazione caratteristica dell'andatura, con aspetto Chaplinesco, problemi di deambulazione, soprattutto in età pediatrica, e un rallentamento dello sviluppo motorio[7,18].

L'apparato scheletrico è caratterizzato da uno sviluppo tardivo, associato a bassa massa ossea, causato dai ridotti livelli di vitamina D, calcio ed ormoni e dall'ipotonia muscolare diffusa che limita la

mineralizzazione e lo sviluppo scheletrico. Nell'adulto l'osteoporosi è responsabile di aumentato rischio di fratture[7,19].

d. Patologie ematologiche ed immunitarie

Di frequente riscontro sono le alterazioni qualitative e quantitative delle componenti ematiche associate a difetti mieloproliferativi, anche di natura transitoria[7,20].

In epoca neonatale si possono avere macrocitosi e policitemia; nei primi mesi di vita possono insorgere leucemie mieloidi o linfoblastiche acute, che tendono a spontanea regressione dopo 2-3 mesi [7].

La conta linfocitaria è frequentemente ridotta, con difetti dei linfociti T e B, dei fagociti, ridotta produzione di immunoglobuline e citochine, difetti della chemiotassi[20], responsabili di predisposizione all'insorgenza di infezioni, le più frequenti a livello muco-cutaneo, respiratorio e gastro-enterico[17].

e. Patologie endocrine

L'incidenza di patologie endocrine è aumentata rispetto alla popolazione generale, in particolare di disordini endocrini su base autoimmunitaria, quali diabete e tiroiditi[7,19,20].

Il diabete si manifesta in età adolescenziale e richiede una dieta adeguata e il trattamento con ipoglicemizzanti orali o con insulina. La patologia ha importanti ripercussioni sullo stato di salute orale dell'individuo, essendo responsabile di xerostomia, bocca urente, maggiore suscettibilità ad infezioni, specie da candida, parodontite, guarigione rallentata delle ferite chirurgiche [7,20].

Le disfunzioni tiroidee colpiscono la popolazione sindromica molto più della popolazione generale, in particolare di genere femminile. Le più comuni sono varie forme di ipotiroidismo: forme subcliniche e forme con manifestazioni spesso misconosciute in quanto molto simili alle normali condizioni caratteristiche della sindrome, quali ritardo dell'accrescimento, ipotonia, stipsi e secchezza cutanea. Le tiroiditi autoimmuni, principalmente di Hashimoto o malattia di Graves, sono frequenti dopo gli 8 anni e nel 14% circa della popolazione adolescente ed adulta sono presenti autoanticorpi antitiroidei. La prevalenza di ipotiroidismo in età adulta è del 30-40%[7,19,20].

f. Patologie dermatologiche

Sono frequenti problematiche cutanee di vario tipo, tra cui ipercheratosi dei palmi di mani e piedi (40,8%), dermatite seborroica (30,9%), xerosi (9,8%). Di natura autoimmune sono vitiligine e alopecia areata (5-9%). Sono descritti tumori benigni delle ghiandole sudoripare e processi infettivi a carico di cute e mucose[7].

g. Patologie gastro-enteriche

Di frequente riscontro è la celiachia[14,19], patologia ad origine immunitaria caratterizzata da intolleranza al glutine, che causa infiammazione della mucosa intestinale e malassorbimento. La sintomatologia è molto variabile (dolori gastrointestinali, anemia, deficit di vitamina D e calcio, ridotta densità ossea, ritardi di accrescimento) e poco specifica, fatto che complica notevolmente la diagnosi. Ulteriori problematiche sono associate ad una dieta non adeguata che spesso determinano alterazioni metaboliche che aggravano il quadro di sovrappeso ed obesità tipici della sindrome[7,19].

Sono descritte malformazioni del tratto gastro-enterico quali atresia tracheo-esofagea e/o duodenale, megacolon agangliare, ano imperforato, malattia di Hirschsprung[18]. Sono di riscontro relativamente disfunzioni gastriche, fra cui il reflusso gastro-esofageo[20].

2.1.3. Deficit sensoriali

I sensi più coinvolti sono la vista e l'udito.

a. Problematiche visive/oculari: cataratta congenita, glaucoma, disturbi refrattivi, strabismo, nistagmo [7,18].

b. Problematiche uditive: ipoacusia e ricorrenti infezioni, principalmente otiti medie, che possono danneggiare ulteriormente l'apparato, influenzando negativamente sul linguaggio[7,18].

La frequente presenza di deficit degli organi di senso costituisce un fattore limitante per l'integrazione sociale del soggetto

2.1.4. Ritardo mentale e problematiche neurologiche

Il ritardo mentale, caratteristico della sindrome, di grado da lieve a severo e totalmente indipendente rispetto alla gravità delle alterazioni somatiche[18], è responsabile di anomalie dell'apprendimento, della memoria e linguaggio[22].

La ridotta coordinazione neuromuscolare è responsabile di ritardi nello sviluppo motorio, maggiormente evidente nei giovani.

Nel 17,6% dei soggetti di età inferiore ai 20 anni sono presenti disturbi di natura psichiatrica, tra cui deficit di attenzione, disturbi oppositivi, comportamento aggressivo. Nel 25% degli adulti sono presenti crisi epilettiche, alterazioni della personalità, segni neurologici focali, apatia, perdita di competenze linguistiche, depressione o aggressività[7].

Di grande importanza è la degenerazione progressiva delle facoltà intellettive a cui possono andare incontro le persone Down nel tempo: di riscontro relativamente frequente sono la demenza senile e l'Alzheimer. Già a partire dai 40 anni si apprezzano i primi segni clinici, crisi comiziali, cambiamenti della personalità e perdita delle capacità di espressione; con l'avanzare dell'età, il è progressivo e costante[7].

2.1.5. Ritardo della crescita

Caratteristico è il ritardo della crescita, definito dalla letteratura segno cardinale della sindrome[19]. Tra i fattori alla base di questo fenomeno si hanno l'alterazione dell'asse ormonale hGH/IGF, da imputarsi principalmente al deficit del fattore di crescita insulino-simile (IGF), e le disfunzioni ipotalamiche, documentate da vari studi in cui si evidenzia una risposta molto scarsa alla clonidina ed alla levodopa [23]. Il ritardo, manifesto sin dalle primissime fasi di vita, risulta quindi particolarmente accentuato a partire dai 3-6 mesi e durante l'adolescenza quando il processo di accrescimento è maggiormente influenzato dalla secrezione ormonale[19,24,25].

In epoca neonatale, il ritardo si manifesta principalmente con una rallentata e ridotta crescita del cranio e, durante l'infanzia e l'adolescenza, con una riduzione della velocità di crescita in altezza e peso[19], che, al completamento della crescita, risultano inferiori rispetto a quelli della popolazione con anamnesi negativa[19], con alcune riserve sul peso che può invece risultare aumentato.

2.2. CARATTERISTICHE ORO-FACCIALI ed INTERVENTI

Di interesse specialistico per l'odontoiatra sono le alterazioni cranio-facciali e le problematiche orali.

2.2.1. Volto e massiccio facciale

Il volto presenta tratti distintivi comuni a tutta la popolazione sindromica: forma tondeggianti, occhi allungati, con taglio obliquo ed epicanto, naso corto con radice piatta e ali molto ristrette profilo appiattito, orecchie piccole e dismorfiche^[1,7,17,18]. Le ossa del cranio presentano anch'esse variazioni tipiche, sia per quanto riguarda la morfologia, sia a livello strutturale. Morfologicamente si osservano aspetto brachicefalico nuca piatta, fontanelle larghe che vanno incontro a chiusura ritardata, lunghezza ed altezza della base cranica e del terzo medio del volto ridotte, etmoide retruso, osso frontale piccolo, seni sfenoidali e frontali poco pneumatizzati. Strutturalmente le ossa craniche si presentano assottigliate con riduzione importante o assenza dello strato spugnoso; lo sviluppo scheletrico appare deficitario già dal secondo trimestre di gestazione, per poi ridursi ulteriormente in funzione dell'ipotonia muscolare, con alterazioni delle dimensioni e della crescita.

2.2.2. Distretto orale

Nello specifico del distretto orale sono molte le alterazioni che di pertinenza prettamente odontoiatrica sulle quali l'odontoiatra può intervenire per migliorare in modo significativo la qualità di vita della persona.

Elementi dentali

Eruzione: ritardi della serie sia decidua (+6m circa) che permanente (+12m) e variazioni della sequenza specie in serie decidua^[17,26] .

Numero: agenesie nel 50% dei casi (II premolari superiori e inferiori; incisivi laterali inferiori e superiori, risultano rarissimi i soprannumerari^[27-29] .

Dimensione: i decidui sono frequentemente più grandi, mentre i permanenti spesso più piccoli, da cui la presenza di diastemi^[17,30] .

Forma: frequente riscontro di elementi conoidi nei settori frontali e taurdontici in sede molare, con anatomia alterata (solchi piatti, radici piccole e coniche) ^[28] .

Struttura: difetti dello smalto, anche correlati alle cardiopatie e alla celiachia.

Patologia cariosa: generalmente bassa incidenza [27,31-41]

Tessuti parodontali

Malattia parodontale, si manifesta anche in dentizione decidua, con vari gradi di severità, da gengivite marginale a gengiviti necrotizzanti; formazione di tasche, perdita ossea, mobilità [33-36]; ruolo molto importante è il deficit immunitario caratteristico della sindrome.

Mucose

Lesioni aftose ricorrenti in associazione con celiachia.

Infezioni frequenti, specie fungine, sostenute principalmente da *Candida Albicans* (manifestazione con cheilite angolare) [17,37,38].

Strutture molli orofaringee

Pseudomacroglossia data da ipotonia e lassità, palato piccolo, incompetenza labiale [17,33].

Ipertrofia tonsillare da infezioni ricorrenti riconducibili alla respirazione orale, schisi di palato e/o labbro.

Strutture mascellari

Alterazioni su piano trasversale: ridotto diametro trasversale del mascellare superiore con palato alto e stretto con forma a V[33]; possibile presenza di tori palatini; cross-bite posteriore e anteriore[27,41]

.

Alterazioni su piano sagittale: elevata incidenza di malocclusione di III classe[27,29,33,39] causa del deficit del mascellare superiore[27,29,40], le cui ridotte dimensioni causano una instabilità occlusale ed un conseguente scivolamento verso l'avanti della mandibola, struttura che per anatomia e dimensione risulta sostanzialmente sovrapponibile alla media della popolazione normale[27], pseudo-terza classe[40], overjet molto ridotto o negativo[29,39, 41-43] .

Alterazioni su piano frontale: riduzione dell'overbite sino a vero e proprio morso aperto[27,33,39, 41-43] .

Funzioni[33,44]

Incoordinazione motoria con alterato pattern masticatorio;

Deglutizione atipica: postura bassa della lingua e spinta linguale anteriore (ipotonia dei muscoli linguali e periorali);

Respirazione: respirazione orale, russamento e OSAS;

Bruxismo;

Disordini cranio-mandibolari.

MALATTIA PARODONTALE E SINDROME DI DOWN

Per Malattia Parodontale si intende un insieme di manifestazioni patologiche che hanno il comune denominatore nell'interessamento dei tessuti di supporto dentale.

Nella sua forma più comune è definibile come una patologia multifattoriale su base infiammatoria ad eziologia batterica.

Il processo infiammatorio, modulato dalla risposta individuale e condizionato dalla presenza di molteplici fattori sia locali che sistemici, può esitare in una distruzione del supporto dentale dando come conseguenza una perdita d'attacco clinico. Il passaggio da una condizione d'infiammazione non distruttiva ad una di perdita di supporto è alla base della distinzione tra gengivite e parodontite. L'esistenza di molteplici fattori, capaci d'influenzarne esordio e andamento, è alla base di una forte eterogeneità dei quadri clinici. Tale aspetto è il motivo principale per cui si è assistito negli anni ad un susseguirsi di classificazioni della malattia.

In un workshop del 1989, l'American Academy of Periodontology evidenziò distinti quadri clinici, diverse età d'insorgenza e diversi tassi di progressione della parodontite^[45,46]. Sulla base di queste variabili ne scaturì una classificazione che distinse una forma prepuberale, una giovanile (localizzata e generalizzata), una dell'adulto ed una ad andamento rapidamente progressivo.

Già dal 1993, in occasione di uno specifico workshop europeo sul tema, vennero messe in luce alcune criticità di tale classificazione^[47]. Ciò nonostante la carenza di chiare evidenze scientifiche, riconfermata nel 1996 in un successivo workshop, fecero desistere dall'apportare modifiche migliorative^[48].

Nel 1999 venne effettuata una nuova classificazione^[49-51] nella quale venne eliminato il fattore età riclassificando la parodontite in cronica, aggressiva (localizzata e generalizzata) e necrotizzante, identificando una nuova categoria intesa come manifestazione di malattia sistemica. Tale classificazione rimase in uso per 19 anni nonostante nel corso del tempo si fossero appalesate altre criticità. Nel 2017 l'American Academy of Periodontology e l'European Federation of Periodontology definirono l'attuale classificazione della Parodontite^[52].

La nuova classificazione, coerentemente con le attuali conoscenze sulla fisiopatologia, identifica tre categorie di parodontite: parodontite necrotizzante^[53], parodontite come manifestazione di malattia sistemica^[54], e la categoria generica "parodontite" che raggruppa le forme precedentemente identificate come "croniche" e "aggressive"^[52,55-58].

Nel ridisegnare la nuova classificazione, l'apporto più innovativo ed ambizioso è stato introdurre un sistema di stadiazione e grado di patologia multidimensionale con possibile riadattamento nel tempo sulla base di future evidenze scientifiche^[58].

La nuova classificazione riconosce la SD come una condizione sistemica capace d'influenzare l'insorgenza e l'andamento della parodontite^[59].

Il percorso conoscitivo che permette tale riconoscimento scientifico vede le sue prime intuizioni nel 1960 in uno studio pubblicato da Cohen et al., che evidenziano per primi l'elevata prevalenza di malattia parodontale nei soggetti in età giovanile affetti da SD^[60]. Esaminando le condizioni orali di 100 pazienti con SD, gli autori evidenziarono come tutti avessero una qualche forma di malattia parodontale, dalla gengivite nei più giovani alla perdita di attacco clinico in età più avanzata^[60,61]. Successivamente, molti studi hanno confermato che i bambini e gli adolescenti con SD spesso sviluppano una gengivite generalizzata e mostrano una rapida e generalizzata distruzione parodontale già in tarda adolescenza^[62].

Numerosi studi successivi hanno confermato come i soggetti con SD abbiano una prevalenza della malattia parodontale significativamente superiore rispetto alla popolazione generale^[62-66]. La patologia, secondo alcuni studi epidemiologici trasversali, interessa oltre il 90% dei soggetti d'età inferiore ai 30 anni^[61,63].

Segni di perdita ossea alveolare, localizzati principalmente nella regione anteriore mandibolare, sono stati segnalati già all'età di 11 anni^[67].

A sottolineare la condizione predisponente della SD, lo studio di Saxén et al. evidenzia una perdita ossea alveolare doppia rispetto a quella di pazienti coetanei non affetti da SD ma affetti da ritardo mentale (età media 24 anni)^[65].

Oggi è chiaramente dimostrato come anche per i soggetti con SD l'età sia significativamente e positivamente correlata alla profondità di sondaggio e alla perdita ossea alveolare^[68,69], ma il tasso di progressione varia tra gli individui^[70,73].

Le più recenti ricerche epidemiologiche^[68,69,74,75], seppur confermando la malattia parodontale come caratteristica della SD, hanno identificato nella SD una minore gravità della malattia parodontale rispetto a quella descritta nei primi studi^[82,76-78]. Questo risultato, attribuibile alle politiche di prevenzione primaria e secondaria, conferma il ruolo cruciale del controllo igienico sulla malattia parodontale, nella consapevolezza che fattori locali e sistemici siano fattori predisponenti insiti nella sindrome per via dell'esordio precoce e dell'elevata incidenza.

Tra i fattori locali sono stati indagati la scarsa igiene orale, la scarsa funzione masticatoria con presenza di parafunzioni orali, le alterazioni del tessuto parodontale e della morfologia dentale, le alterazioni qualitative e quantitative del flusso salivare, la presenza di peculiari profili microbici subgengivali ^[79]. Tra i fattori sistemici, influenzati anche dalla senescenza precoce tipica dei soggetti affetti da SD, sono stati identificati i mediatori dell'infiammazione e gli enzimi proteolitici, e l'immunodeficienza sistemica, in parte riconducibile a specifici geni localizzati sul cromosoma 21^[79].

3.1 Profili microbici subgengivali

E' oggi acquisito che la parodontite sia causata da un gruppo di batteri specifici capaci di provocare un'intensa risposta infiammatoria locale^[80, 81]. Questi batteri sono acquisiti precocemente nella vita e si ritiene che siano trasmessi dai genitori ai figli o all'interno della coppia^[82]. La sola presenza di questi complessi batterici non è comunque sufficiente al manifestarsi della patologia. L'equilibrio tra le varie forme batteriche presenti, assieme ad altri fattori sia locali che sistemici, è infatti alla base dell'insorgenza o meno del processo distruttivo.

I primi studi condotti su soggetti affetti da SD suggerirono che *A. actinomycetemcomitans* sia l'agente causale della malattia parodontale^[62,83,83]. In passato lo studio dei patogeni parodontali si basava su tecniche di coltura molto sensibili alle procedure e poco adatte all'isolamento dei ceppi anaerobi, fortemente rappresentati nel biofilm subgengivale. Nel 1983 Kary B. Mullis ideò la tecnica della PCR (Polymerase Chain Reaction), tecnica di biologia molecolare che consente la moltiplicazione (amplificazione) di frammenti di acidi nucleici dei quali si conoscono le sequenze nucleotidiche iniziali e terminali^[85]. L'amplificazione mediante PCR consente di ottenere in vitro molto rapidamente la quantità di materiale genetico necessaria per le successive applicazioni. In seguito alla sua introduzione, i profili microbici subgengivali sono divenuti indagabili con specificità e sensibilità elevate. Recenti ricerche^[74,86,87,88,89] hanno dimostrato che non esistono agenti patogeni parodontali specifici per la SD.

Alcuni parodontopatogeni quali il *Porphyromonas gingivalis*, il *Treponema denticola* e la *Tannerella forsythia* sono risultati significativamente prevalenti in soggetti in età evolutiva con SD rispetto a gruppi di controllo di soggetti con anamnesi medica negativa bilanciati per età^[85], suggerendo una colonizzazione precoce dei patogeni parodontali nella SD. Una prevalenza significativamente maggiore di *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* e *T. forsythia* è stata anche dimostrata in un campione con SD di soggetti di età compresa tra 8 e 28 anni, rispetto ad individui, appaiati per età, sani o con paralisi cerebrale^[75]. Questi risultati supportano l'ipotesi per cui patogeni parodontali virulenti possono colonizzare il cavo orale dei soggetti con SD già dai primi anni di vita e mantenersi nel tempo.

Si evidenzia che gli studi presenti in letteratura hanno sempre confrontato soggetti appaiati per età senza contemplare il ritardo eruttivo tipico dei soggetti affetti da SD; a questo si aggiunge che nessuno studio ha focalizzato l'attenzione sulla dentizione decidua.

3.2 I mediatori dell'inflammazione

L'inizio e la progressione della malattia parodontale dipende in gran parte dalla risposta immunitaria dell'ospite^[90]. È noto che gli individui con SD sono affetti da molteplici alterazioni del sistema immunitario, da cui la suscettibilità a malattie infettive, a malattie autoimmuni e a neoplasie ematologiche^[83,90,91].

Nella popolazione generale, lo studio del ruolo in ambito parodontale dei mediatori dell'inflammazione e dei loro polimorfismi è stato oggetto di notevole interesse scientifico.

Il polimorfismo delle citochine ad oggi più studiato è quello dell' Interleuchina-1, un potente mediatore infiammatorio.

Il ruolo della famiglia delle Interleuchine 1 nella patogenesi della parodontite può dirsi oggi discretamente documentato^[92].

Un cluster di tre geni situati sul braccio lungo del cromosoma 2q13 codifica e regola la produzione dell'IL-1.

Il cluster genetico dell'IL-1 è costituito dai geni IL-1A, IL-1B ed IL-1RN che codificano rispettivamente IL-1a, IL-1b ed IL-1ra (IL-1 receptor antagonist). L' IL-1a ed IL-1b sono coinvolti nell'inizio e propagazione della risposta immune ed infiammatoria. L'IL-1ra è coinvolta nell'arresto dell'azione sia dell'IL-1a a IL-1b bloccando l'IL-1receptor.

Variazioni polimorfiche nel gene dell'IL-1 sono frequenti e risultano associate a un'alterata o eccessiva risposta infiammatoria^[93]. Polimorfismi di nucleotidi singoli a livello dei loci genetici IL-1A⁺⁴⁸⁴⁵, IL-1B⁺³⁹⁵⁴ e IL-1RN⁺²⁰¹⁸ sono stati implicati in un'aumentata severità e suscettibilità verso molteplici patologie compresa la parodontite^[93,94].

Ad oggi la prevalenza degli alleli polimorfi dell'IL-1 e la loro associazione con la parodontite nei soggetti affetti da SD è stata ancora poco indagata.

L'unico studio su tale aspetto è quello di Khocht et al del 2011^[95]. Gli autori, confrontando lo stato parodontale di soggetti affetti da SD con soggetti adulti con ritardo mentale e con soggetti adulti sani (tutti non fumatori), non hanno evidenziato alcuna differenza statistica nella distribuzione del polimorfismo genetico. Tuttavia l'associazione dei IL-1 con alleli rari e la parodontite differiva tra

Down e non-Down. L'essere portatori degli alleli rari dell'IL-1 nei soggetti affetti da SD sembra conferire un ruolo paradossalmente protettivo verso la perdita di attacco parodontale.

Sono quindi necessari ulteriori studi sul tema, in particolare su soggetti affetti da SD con evidenti segni di distruzione parodontale.

OBBIETTIVI

La parte sperimentale della presente tesi è stata sviluppata su due specifici filoni con obiettivi distinti.

Nel primo si è posto come obiettivo lo studio dei patogeni parodontali in soggetti affetti e non da SD in dentizione decidua. L'ipotesi nulla definita a priori è l'assenza di differenze microbiologiche tra i due campioni di studio.

Nel secondo si è posto come obiettivo lo studio dei polimorfismi dell'IL-1 in soggetti adulti affetti da SD con quadri di distruzione parodontale avanzata.

PRIMA PARTE DELLA RICERCA SPERIMENTALE

Analisi microbiologica subgingivale su dentizione decidua di bambini affetti e non da sindrome di Down.

Lo scopo di questa ricerca è quello d'indagare la prevalenza di 5 microrganismi parodonto-patogeni nella nicchia subgingivale di denti decidui utilizzando il test PCR in bambini con sindrome di Down senza danno parodontale e confrontare i risultati con una popolazione sana abbinata per dentizione.

5.1 Materiali e Metodo

Campione

Il campione di studio e il campione di controllo sono stati reclutati tra i pazienti che afferivano per prima visita presso il servizio di Odontoiatria per Disabili in Età Evolutiva della Clinica Odontoiatrica del Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie, Università di Bologna, nel periodo compreso tra il 03 settembre 2018 ed il 31 luglio 2019.

Sono stati utilizzati i seguenti criteri d'inclusione:

- diagnosi cromosomica di sindrome di Down nel gruppo di studio, negatività per sindromi genetiche e cromosomiche e per patologie sistemiche nel gruppo di controllo
- stadio di dentizione decidua
- assenza di perdita di supporto parodontale (attacco clinico)
- nei tre mesi precedenti: nessun rinforzo motivazionale all'igiene orale, assenza di terapia antibiotica e/o trattamento ortopedico-ortodontico di tipo fisso
- assenza d'assunzione di farmaci e/o di malattie sistemiche con chiara influenza sulla condizione parodontale (diabete, immunodeficienze acquisite, patologie ematologiche e patologie che alterino la risposta immunitaria, etc.)

Apposito consenso informato è stato ottenuto dal tutore legale di ogni soggetto arruolato nello studio. Il Comitato Etico per la ricerca dell'Ospedale Sant'Orsola-Malpighi di Bologna-IT ha approvato lo studio (PG. N. 0019293, 20 giugno 2014).

Visita parodontale

L'area mesiale dei denti target dello studio è stata studiata microbiologicamente e clinicamente. Indipendentemente dall'emi-arcata, sono stati selezionati i seguenti denti decidui: un primo molare, un incisivo centrale superiore ed uno inferiore. In assenza di primi molari decidui o di incisivi centrali, è stato selezionato il dente deciduo immediatamente adiacente.

Dopo il prelievo microbiologico, l'operatore, un parodontologo calibrato, ha misurato mediante sonda parodontale (CP-12 UNC SE, Hu-Friedy, Chicago, IL) la profondità di sondaggio (PD) e rilevato il sanguinamento al sondaggio (BOP) nei siti oggetto di studio^[96]. Sono stati inoltre registrati sia l'indice di placca (PI)^[97] che l'indice gengivale (GI)^[98].

Analisi microbiologica

I campioni microbiologici sono stati raccolti dal medesimo parodontologo preliminarmente alla valutazione clinica. Il sito di prelievo selezionato (un molare deciduo mascellare o mandibolare e due incisivi decidui, uno mascellare ed uno mandibolare) è stato isolato dalla saliva mediante rulli di cotone e disidratato con getto d'aria delicato; la placca sopragengivale è stata rimossa usando una curette di Gracey con attenzione nel non determinare sanguinamento. Un cono di carta assorbente sterile è stato quindi inserito il più profondamente possibile nel solco e lasciato in situ per 10 secondi. I singoli coni, prelevati dal solco, sono stati inseriti in apposito contenitore di trasporto ed inviati entro 24 ore al laboratorio esterno (Biomolecular Diagnostic, Firenze).

L'esame microbiologico è stato eseguito in cieco rispetto ai denti e ai gruppi di studio. Il DNA genomico dei batteri è stato isolato con un sistema di isolamento automatico del DNA NucliSENS easyMAG (Biomérieux, Francia) secondo le istruzioni del produttore. Utilizzando specifici primer (**Tabella 3**), sono state identificate cinque specie di parodontopatogeni: *Treponema denticola* (Td), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi), *Tannerella forsythia* (Tf) e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa).

Primer universali corrispondenti a quasi tutti i geni 16S rRNA batterici sono stati usati come controllo positivo. L'amplificazione della PCR è stata eseguita utilizzando un Mastecycler Gradient (Eppendorf). Dieci microlitri di campione di DNA sono stati aggiunti a un mix di reazione contenente: 10X di Taq tampone, 10mM di ciascun primer, 2mM di dNTPs, 25 mM di MgCl₂ e 1U di Taq polimerasi (Fermentas Life Science). Il mix è stato preriscaldato a 95°C per 3 minuti e successivamente amplificato denaturando a 95°C per 45 secondi e ricuocendo a 58°C per 45 secondi. È stato eseguito un totale di 35 cicli, fino al raggiungimento della fase finale di allungamento a 72°C per 1 minuto. I prodotti della PCR sono stati sottoposti ad elettroforesi in un gel di agarosio all'1% colorato con bromuro di etidio e fotografato alla luce UV.

Tabella 3: Sequenze dei primer utilizzati per la PCR

T. denticola (316bp)*

5' TAA TAC CGA ATG TGC TCA TTT ACA T 3'

5' TCA AAG AAG CAT TCC CTC TTC TTC TTA 3'

P. gingivalis (404 bp)*

5' AGG CAG CTT GCC ATA CTG CG 3'

5' CTG TTA GCA ACT ACC GAT GT 3'

P. intermedia (256 bp)*

5' CGT GGA CCA AAG ATT CAT CGG T 3'

5' CTT TAC TCC CCA ACA AAA GCA 3'

T. forsythia (746 bp)*

5' TAC AGG GGA ATA AAA TGA GAT ACG 3'

5' ACG TCA TCC CAA CCT TCC TC 3'

A. actinomycetemcomitans (285 bp)*

5' TCG CGA ATC AGC TCG CCG 3'

5' GCT TTG CAA GCT CCT CAC C 3'

* Dimensione attesa dei prodotti della PCR

Analisi statistica

Con una potenza dell'80% e ad un livello dell'errore α pari a 0.05, ipotizzando nei soggetti SD una probabilità 3 volte maggiore di riscontrare ogni specie batterica studiata rispetto ai controlli, con un rapporto di allocazione pari ad 1.5, sono necessari almeno 21 soggetti DS e 32 controlli. L'appaiamento è a blocchi.

Distribuzioni di frequenza e media aritmetica con deviazione standard sono stati usati per descrivere rispettivamente i dati qualitativi e quantitativi. Dato che PI e GI non si distribuiscono normalmente (test di Shapiro-Wilks $p=0.001$) la mediana ed il range interquartile sono stati usati per la descrizione ed il test Mann-Whitney per il confronto di tali indicatori tra soggetti SD e non. Il test T di Student è stato eseguito per confrontare l'età ed il test chi quadrato per confrontare il genere tra i due gruppi. Un modello ad effetti misti è stato usato per esaminare l'influenza del gruppo (studio e controllo) sulla frequenza di rilevazione di ogni specie batterica nei tre siti di prelievo, considerando gruppo, BOP e PPD effetti fissi ed il sito fattore random. Il livello di errore alfa è stato a priori fissato a 0.05.

Calibrazione

Il coefficiente di correlazione intraclassi ed il suo intervallo di confidenza al 95% sono stati usati per valutare l'affidabilità dei dati. Per PD e BOP l'analisi di affidabilità è stata eseguita su 4 bambini con 20 denti ciascuno, per un totale di 120 superfici (6 siti per dente). Per GI e PI, le superfici distali, mediali, palatali e vestibolari sono state esaminate sugli stessi pazienti.

La riproducibilità intra-osservatore ha mostrato un buon accordo per i parametri clinici (ICC 0.88-0.69).

5.2 Risultati

Sono stati arruolati nello studio un totale di 30 bambini affetti da SD (14 maschi, 16 femmine) con un'età media di 5,5 anni ($\pm 1,2$) e un totale di 46 bambini sani (17 maschi, 29 femmine) con un'età media di 4,5 anni ($\pm 0,5$). La differenza d'età tra i due gruppi è risultata statisticamente significativa ($p=0,001$).

Il GI è stato pari a 0,50 (0,35-0,87) nel gruppo di studio e pari a 0,25 (0-0,62) nel gruppo controllo. Il PI è stato pari al 60% (50% -75%) nel gruppo di studio e pari al 69% (60%-80%) nel gruppo controllo. Sono state individuate differenze statisticamente significative tra i due gruppi per entrambi gli indici (PI: $p=0,012$; GI: $p=0,007$).

L'indagine clinico-microbiologica è stata eseguita su un totale di 228 denti decidui.

In entrambi i gruppi i siti esaminati presentavano una PD media di 1 mm (intervallo interquartile = 1). Il sanguinamento al sondaggio è risultato positivo per il 20% dei siti nel gruppo di studio e per il 15,2% dei siti nel gruppo di controllo ($p=0,349$).

I dati relativi all'esame microbiologico sono riportati nella **Tabella 4**. La valutazione statistica non ha mostrato differenze significative tra i due gruppi se non per Tf ed Aa ($p = 0,001$). I soggetti del gruppo di studio hanno presentato una probabilità di circa 8 volte superiore per positività ad Aa e di 9 volte superiore per Tf rispetto ai soggetti del gruppo di controllo ($p = 0,001$). Nessuna influenza significativa della PD e del BOP sulla frequenza di rilevazione batterica è stata osservata mediante l'analisi multivariata.

Tabella 4: Influenza dello stato di sindrome di Down sulla frequenza di rilevazione dei batteri oggetto di studio. Analisi multilivello con campione controllo quale categoria di riferimento.

	Odds Ratio	95% CI	P value	Rilevazione %	
				D	ND
Aa	8.394	3.519-20.02	0.001	64	24
Td	1.741	0.431-7.026	0.435	3	0
Tf	9.194	3.923-21.548	0.001	51	12
Pg	1.345	0.350-5.024	0.658	3	1
Pi	1.606	0.742-3.473	0.228	28	19

Aa: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Td: *Treponema denticola*

Tf: *Tannerella forsythia*

Pg: *Porphyromonas gingivalis*

Pi: *Prevotella intermedia*

CI: Intervallo di confidenza

5.3 Discussione

I due gruppi esaminati sono risultati omogenei per genere, PD e BOP, ma non per età, PI e IG.

Come descritto in letteratura, negli individui affetti da sindrome di Down l'eruzione dei denti sia decidui che permanenti è ritardata rispetto alla popolazione generale^[99]. Per questo motivo, dato il disegno di studio in cui era prevista l'inclusione di soli soggetti in dentizione decidua, la lieve ma significativamente più giovane età dei soggetti del gruppo di controllo era un risultato atteso.

Il gruppo di studio mostra un valore più basso di PI ma un valore più alto di GI rispetto al gruppo di controllo, suggerendo una particolare reattività tissutale al biofilm orale. Questa considerazione è in linea con i recenti studi che mostrano come la risposta ossidativa di monociti e granulociti periferici sia particolarmente elevata negli individui affetti da sindrome di Down^[100].

I risultati del presente studio mostrano che, in assenza di danno parodontale, esistono differenze microbiologiche a livello subgingivale tra bambini con e senza SD. Tra i parodonto-patogeni oggetto di studio, sono state rilevate differenze statisticamente significative per *Tf* ed *Aa*, che risultano più prevalenti nei bambini affetti dalla sindrome. Questo dato è in linea con l'ipotesi secondo cui i parodonto-patogeni sono acquisiti durante l'infanzia nei pazienti SD. In particolare, questo studio evidenzia come la colonizzazione avvenga già in dentizione decidua.

.Questo studio inoltre concorda con la letteratura che evidenzia un'associazione tra la presenza di *Aa* e SD in soggetti in età evolutiva^[86,101-103].

Limitato è il numero di studi che hanno esaminato la composizione della placca microbica in soggetti con SD in dentizione decidua/mista e profondità di sondaggio non patologica^[86,101,103,105].

Tra questi rientra lo studio di Amano et al. del 2000, dove mediante PCR viene confrontata la prevalenza batterica in campioni di placca sotto-gingivale tra bambini SD e bambini sani d'età omogenea^[86]. In questo studio la popolazione è stata suddivisa in 4 sotto-gruppi per età: da 2 a 4 anni, da 5 a 7 anni, da 8 a 10 anni e da 11 a 13 anni, risultando, come descritto dagli autori, i primi due gruppi caratterizzati da dentizione decidua ed i secondi due da dentizione mista. I risultati hanno mostrato un tasso significativamente più alto di *Aa* nei bambini con SD solo per il gruppo da 11 ai 13 anni.

In uno studio successivo, sempre condotto con l'utilizzo della PCR, Sakellari et al. hanno valutato la microflora sub-gingivale di bambini (8-13 anni), adolescenti (13-19 anni) e giovani adulti (8-28 anni) affetti da SD, affetti da paralisi cerebrale e sani^[101]. Anche in questo studio gli autori hanno identificato una correlazione significativa tra *Aa* e SD limitatamente alle fasce di età comprese tra 13 e 28 anni.

I risultati della presente ricerca sulla *Tf* concordano con quelli di Amano et al. che evidenziano come la *Tf* sia l'agente patogeno significativamente più rappresentato nei soggetti SD già dalla prima infanzia^[104]. Nello studio di Sakellari et al. la *Tf* ha mostrato invece un comportamento simile all'*Aa*, limitandosi alle fasce di età compresa tra 13 e 28 anni^[101].

A differenza da quanto emerso da questo studio, entrambi gli studi citati hanno trovato correlazioni significative tra SD e *Pg*.

In merito agli altri due batteri investigati nella presente ricerca, la correlazione tra *Td* e SD è risultata positiva nello studio di Amano et al., la correlazione tra *Pi* e SD è risultata positiva nello studio di Sakellari.

I livelli di *Pg*, *Td* e *Pi* più bassi in questa ricerca rispetto agli studi precedenti, trovano difficile spiegazione. E' comunque vero che confrontare i risultati microbiologici di differenti studi non è un compito facile, le molteplici differenze anche apparentemente marginali nella metodologia clinica e di laboratorio possono influenzare significativamente i risultati^[104].

Si può ipotizzare che la differenza più rilevante tra questo studio e i due studi sopra citati riguardi il tipo di dente esaminato. Entrambi i precedenti studi erano orientati su denti permanenti e solo quando non presenti, si rivolgevano a denti decidui.

Al contrario, questo studio si è concentrato rigorosamente sui decidui. Questa decisione è stata presa per due motivi fondamentali.

Il primo deriva dal presupposto per cui il tempo di permanenza del dente nella cavità orale influenza la composizione microbica. Questo presupposto è confermato da uno studio che ha indagato e confrontato il microbioma di denti permanenti e decidui^[105]. Nello studio, condotto su 20 soggetti sani in dentizione mista, gli autori hanno evidenziato una diversità microbica tra denti permanenti e decidui, risultando le comunità microbiche dei denti decidui più simili a quelle dei denti permanenti di soggetti adulti. Plausibile spiegazione è che, rispetto ai denti permanenti di recente eruzione, i decidui hanno un tempo di permanenza nel cavo orale superiore, tale da consentire una maturazione del microbioma sub-gengivale. Tale ipotesi trova conferma in precedenti studi sulla maturazione della placca microbica nel tempo^[106, 107].

Queste considerazioni permettono di concludere che nell'età evolutiva in cui la dentizione è in forte evoluzione i denti decidui siano più affidabili per le indagini microbiologiche rispetto ai permanenti. Il secondo motivo è legato al comprovato ritardo dell'eruzione dentale nei soggetti con SD^[99], per indirettamente confermato anche dalla differenza di età anagrafica tra gruppo studio e gruppo controllo della presente ricerca. L'eruzione ritardata associata a SD solleva alcune perplessità sul disegno dello studio di Amano et al, in cui la popolazione è stata divisa per età rispetto alla definizione della dentizione decidua, mista e permanente^[86]. Nello specifico, mentre è molto probabile che nel

gruppo di 5-7 anni un bambino con SD non presenti denti permanenti, un soggetto non affetto da tale sindrome ma della stessa età è invece probabile che presenti già una dentizione mista. Di conseguenza suscita qualche dubbio l'affermazione degli autori che i soggetti in questa fascia di età fossero in dentizione decidua in entrambi i gruppi.

Concludendo, nonostante la disomogeneità nei risultati dei pochi studi microbiologici focalizzati su soggetti in età evolutiva con SD, tutti giungono comunque ad identificare differenze microbiologiche rispetto ai soggetti non affetti da SD ed in particolare, tutti evidenziano una colonizzazione precoce dei soggetti SD da parte di alcuni dei principali parodonto-patogeni.

Il presente studio concorda con questa linea, dimostrando che differenze microbiologiche sono già presenti nei denti decidui.

Per quanto riguarda i patogeni parodontali ed il gruppo controllo, il presente studio ha ottenuto una percentuale di rilevamento non trascurabile per *Aa* (20%). Questo dato è in linea con i risultati di precedenti studi che evidenziano come il rilevamento di questo patogeno sia relativamente comune in soggetti in età evolutiva con parodonto sano^[108-110].

Molti studi segnalano comunque l'*Aa* come tipicamente associato a forme di parodontite in soggetti in età evolutiva^[111-113].

Come dimostrato in studi di coorte prospettici, la presenza di *Aa* in soggetti di giovane età con parodonto sano, potrebbe rappresentare un indicatore di rischio della “parodontite aggressiva localizzata”^[114]. Sarebbe interessante indagare se anche nei soggetti con SD tale microrganismo possa assumere tal ruolo predittivo. Una valutazione longitudinale della popolazione indagata in questo studio potrebbe portare ad una maggior comprensione dell'effettivo ruolo di questi batteri nell'eziologia e nella progressione della parodontite.

L'attuale linea di ricerca suggerisce che la predisposizione alla patologia parodontale osservata tra i soggetti con SD sia da ricercarsi nei vari fattori legati all'anomalia cromosomica^[87,115]. Tuttavia rimane da chiarirsi se e come la SD favorisca la colonizzazione di batteri parodonto-patogeni, come peraltro osservato anche nel presente studio.

I risultati di questa ricerca supportano e rinforzano l'importanza del controllo dell'igiene orale nelle persone con SD, essenziale già a partire dalla dentizione decidua.

La crescente consapevolezza dei genitori/tutori e gli sforzi preventivi debbono concretizzarsi in un monitoraggio parodontale periodico e nella applicazione di tutte le procedure efficaci nel contrastare la proliferazione dei batteri patogeni, come l'igiene orale, l'utilizzo di antisettici e di probiotici, l'adozione di una alimentazione corretta e la correzione dei fattori locali a ruolo predisponente.

SECONDA PARTE DELLA RICERCA SPERIMENTALE

Analisi dei polimorfismi dell'interleuchina 1 in soggetti adulti affetti da sindrome di Down e parodontite di grado avanzato.

Lo scopo di questo studio è indagare mediante analisi genetica la distribuzione di specifici polimorfismi dell'interleuchina 1 (IL-1) in soggetti adulti affetti da sindrome di Down e parodontite di grado avanzato.

6.1 Materiali e Metodi

Campione di studio

Tra i pazienti afferenti al servizio di Odontoiatria per Disabili in Età Evolutiva della Clinica Odontoiatrica del Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie, Università di Bologna, nel periodo compreso tra il 3 settembre 2018 ed il 16 settembre 2019 è stato identificato un campione di studio sulla base dei seguenti criteri d'inclusione:

- diagnosi cromosomica di sindrome di Down
- etnia caucasica
- età adulta (≥ 18 anni)
- Ortopantomografia delle arcate dentali recente (eseguita non più di 6 mesi prima) che permetta di diagnosticare perdita ossea interprossimale
- presenza di almeno due coppie d'elementi dentali
- non fumatore, né pregresso fumatore
- assenza d'assunzione di farmaci e/o di malattie sistemiche con chiara influenza sulla condizione parodontale (diabete, immunodeficienze acquisite, patologie ematologiche e patologie che alterino la risposta immunitaria, etc.)

Specifico consenso informato è stato ottenuto dal tutore legale di ogni soggetto arruolato nello studio.

Il Comitato Etico per la ricerca dell'Ospedale Sant'Orsola-Malpighi di Bologna-IT ha approvato lo studio (PG. N. 0019293, 20 giugno 2014).

Visita parodontale

Un parodontologo esperto ha eseguito un accurato screening parodontale di ogni soggetto arruolato nello studio.

Registrata la formula dentale è stata indagata la motivazione di perdita degli elementi dentali eventualmente assenti. I terzi molari non sono stati oggetto d'analisi.

Mediante l'utilizzo di una sonda parodontale (CP-12 UNC SE, Hu-Friedy, Chicago, IL) è stata raccolta la profondità di sondaggio e l'eventuale migrazione in senso apicale del margine gengivale in 6 punti per ogni elemento dentale presente. La presenza ed il grado d'interessamento forcale è stato indagato mediante l'utilizzo d'apposita sonda parodontale millimetrata (PQ2N6 Nabers probe, Hu-Friedy, Chicago, IL). E' stato calcolato il livello d'attacco clinico (CAL), registrato il sanguinamento al sondaggio (BOP)^[96], l'indice di placca (PI)^[97] e la mobilità dentale^[116].

Completata l'indagine anamnestica e clinica, sono stati definiti il grado e lo stadio d'affezione parodontale come da Classificazione del 2019 sulle Condizioni e Malattie Parodontali ed Implantari^[58].

Analisi genetica

Il campione per l'analisi genetica è stato raccolto dal medesimo parodontologo in occasione dello screening parodontale dopo la raccolta dei dati clinici.

Le cellule epiteliali della mucosa geniena sono state raccolte mediante brushing eseguito con tampone sterile (Copan Group, Italia). Il tampone è stato inviato in specifico contenitore di trasporto al laboratorio esterno (Biomolecular Diagnostic, Firenze) per le successive analisi.

Giunti in laboratorio, i campioni sono stati sottoposti all'estrazione del DNA mediante lo strumento QIAcube HT®, (Qiagen, Germania) rispettando rigorosamente il protocollo del produttore. Dopo l'estrazione, il DNA è stato eluito in 150µl di tampone e quindi sottoposto a misurazione della quantità di DNA mediante spettrofotometro BioSpectrometer® (Eppendorf, Germania). Una quantità corrispondente a 40ng di DNA è stata utilizzata per l'analisi dei seguenti polimorfismi genetici IL-1A-889, IL-1B+3954 e IL-1RN+2018 mediante saggio di Real-Time PCR. Per ogni polimorfismo studiato, l'allele più comune è stato indicato come 1 e quello raro come 2.

Le sequenze delle sonde utilizzate (Life Technologies, California) sono riportate in **Tabella 5**. Le analisi genetiche sono state eseguite in cieco rispetto ai dati clinici del campione.

Tabella 5. Sequenza delle sonde utilizzate.

Target	Sequenza (5'-3')	Marcatura
IL1A	GATTTTTACATATGAGCCTTCAATG[G/A]TGTTGCCTGGTTACTATTATTAAG	VIC/FAM
IL1B	CATAAGCCTCGTTATCCCATGTGTC[G/A]AAGAAGATAGGTTCTGAAATGTGGA	VIC/FAM
IL-1RN	ATCTGAGGAACAACCAACTAGTTGC[C/T]GGATACTTGCAAGGACCAAATGTCA	VIC/FAM

[G/A]=sostituzione nucleotidica G/A

[C/T]=sostituzione nucleotidica C/T

Analisi statistica

Distribuzioni di frequenza, tabella di contingenza, media aritmetica con deviazione standard o mediana con range interquartile, a seconda della distribuzione dei dati, sono stati usati per descrivere le variabili qualitative e quantitative. A seconda della distribuzione dei dati il test T di Student ed il test di Mann-Whitney sono stati usati per effettuare i confronti; il test Chi quadrato è stato utilizzato per verificare l'esistenza d'associazioni nelle tabelle di contingenza. Il livello di errore alfa è stato a priori fissato a 0.05.

6.2 Risultati

Sono stati arruolati nello studio un totale di 19 soggetti adulti con diagnosi cromosomica di SD, 7 maschi e 12 femmine, di età compresa tra i 30 ed i 58 anni, valore medio di 46 anni (± 7).

Il CAL medio è risultato di 4.77 mm (± 0.96), il PI del 49% (± 15) ed il BOP del 43% (± 11).

Nell'assegnazione dello stadio d'affezione parodontale, tutti i soggetti sono rientrati in stadi superiori al II. Nello specifico, 7 (37%) sono risultati in stadio III e 12 (63%) in stadio IV. Tutti presentavano un'estensione del danno parodontale generalizzata, cioè superiore od uguale al 30% degli elementi dentali presenti.

L'assegnazione del grado ha identificato 6 (32%) soggetti di grado B e 13 (68%) di grado C.

Il numero medio di denti presenti è stato di 24 (22.5-27). Tutti i denti sono risultati persi per motivi parodontali. Due pazienti presentavano agenesie dentali per un totale di 3 elementi dentali mancanti.

Il valore mediano dei denti persi è risultato 3 (1-6).

Il polimorfismo raro per IL-1A è stato rilevato in 12 soggetti (63%), quello per IL-1B in 10 soggetti (53%), quello per IL-1RN in 7 soggetti (37%).

La condizione composta dell'allele raro per IL-1 A/B è stata rilevata in 9 soggetti (47%).

Il rapporto tra polimorfismi dell'IL-1 e le variabili parodontali oggetto di studio è riportato in **Tabella 6**.

Tabella 6: Distribuzione e significatività dei polimorfismi dell'IL-1 in funzione delle variabili parodontali e la perdita dentale.

	IL-1A			IL-1B			IL-1 RN			IL-1A/B		
	comune	variante	<i>P</i> value	comune	variante	<i>P</i> value	comune	variante	<i>P</i> value	comune	variante	<i>P</i> value
CAL	4.21(0.81)	5.19(0.91)	0.03	4.15(0.66)	5.37(0.77)	0.002	4.7(0.86)	4.89(1.17)	NS	4.27 (0.82)	5.32(0.80)	0.012
BOP	35(10.19)	48.16(9.57)	0.02	39 (10.25)	47.4(11.50)	NS	39(8.58)	51(12.37)	0.05	38 (9.91)	49(10.76)	0.04
STADIO	<i>Stadio III</i>		NS	<i>Stadio III</i>		NS	<i>Stadio III</i>		NS	<i>Stadio III</i>		0.027
	4	3		5	2		5	2		1	6	
	<i>Stadio IV</i>		NS	<i>Stadio IV</i>		NS	<i>Stadio IV</i>		NS	<i>Stadio IV</i>		0.027
	3	9		4	8		7	5		8	4	
GRADO	<i>Grado B</i>		0.0001	<i>Grado B</i>		0.002	<i>Grado B</i>		NS	<i>Grado B</i>		0.005
	6	0		6	0		5	1		0	6	
	<i>Grado C</i>		0.0001	<i>Grado C</i>		0.002	<i>Grado C</i>		NS	<i>Grado C</i>		0.005
	1	12		3	10		7	6		9	4	
DENTI PERSI	1(1)	6(4)	0.0001*	1(1)	7(4)	0.001*	3(3)	8(4)	0.019*	1(1)	7(4)	0.001*

CAL: livello di attacco clinico

BOP: sanguinamento al sondaggio

NS: non statisticamente significativo ($P > 0.05$)

* test di MannWitney

6.3 Discussione

L'analisi della letteratura evidenzia che la presenza di specifici batteri è imprescindibile per lo sviluppo della parodontite, ma che anche fattori genetici ed ambientali influenzano significativamente la severità della patologia.

L'importanza del fattore genetico è stata chiaramente evidenziata da indagini su individui omozigoti, suggerendo che la variabilità del fenotipo clinico della parodontite ne sia influenzata per circa il 50%^[117].

Sotto il profilo genetico, la citochina più studiata in ambito parodontale è l'IL-1, che raccoglie almeno 10 molecole diverse, tra cui le più significative in questa specifica manifestazione patologica risultano attualmente l'IL-1 α (gene IL1A), l'IL-1 β (gene IL1B) ed il correlato IL-1 antagonista recettoriale (IL-1Ra).

L'associazione tra varianti genetiche dell'IL-1 e parodontite cronica in soggetti bianchi è stata evidenziata per la prima volta nel 1997 da Kornman et al^[94]. Dallo studio è emersa una forte correlazione tra parodontite cronica ed un specifico assetto genetico per IL-1, definito "genotipo composito" e caratterizzato dalla simultanea presenza di due polimorfismi genetici: IL-1A-889 ed IL1B+3953. Lo studio ha rilevato una positività per il genotipo composito nel 78% dei pazienti affetti da parodontite cronica di grado severo, con un rischio calcolato di circa 7 volte maggiore rispetto al controllo.

Tale genotipo composito è stato indagato in questa ricerca, evidenziandone la presenza nel 47% del campione. Considerando i casi con parodontite di stadio IV e grado C, le condizioni più gravi ed avanzate, la presenza si è evidenziata nell'89% (8 positivi su 9). Tale risultato è in linea con il precedente studio.

Dopo Kornman et al, molti studi successivi hanno indagato il ruolo del polimorfismo genetico dell'IL-1 nella parodontite con risultati però non sempre concordanti.

Come evidenziato da una revisione pubblicata nel 2012^[118], molti sono i fattori che possono giustificare tale variabilità nei risultati.

Uno di questi è l'origine etnica dei soggetti costituenti il campione; infatti è noto come la distribuzione dei polimorfismi dell'IL-1 cambi significativamente in base all'etnia della popolazione esaminata, imponendo un rigoroso controllo di tale fattore sia nella progettazione dello studio sia nel confronto dei risultati. In particolare, i soggetti bianchi presentano una frequenza di tali polimorfismi più elevata rispetto ad altre popolazioni, ad esempio quella asiatica^[119].

Per tale motivo questa ricerca è stata rigorosamente condotta solo su soggetti caucasici.

Un ulteriore fattore in grado d'influenzare i risultati è il fumo di sigaretta, essendo il fumo riconosciuto come uno dei fattori di rischio maggiori per la parodontite^[120,121]. Numerosi studi sul

polimorfismo dell'IL-1 e la parodontite hanno evidenziato come il fumo possa rappresentare un fattore di confondimento rispetto all'effetto della predisposizione genetica correlata ai polimorfismi dell'IL-1 [94,122]. Per tale motivo in questa ricerca si è scelto di escludere i soggetti fumatori.

Altro fattore rilevante è il criterio classificativo della malattia parodontale sino ad oggi utilizzato. Uno dei principali motivi che hanno indotto il World Workshop di Chicago del 2017^[58] alla ridiscussione della classificazione utilizzata ed allo sviluppo di una nuova classificazione, è stata la criticità nella distinzione tra forma aggressiva e forma cronica. Dalla identificazione di queste due forme nel 1999^[123], non sono mai scaturite evidenze scientifiche sufficienti per considerarle due patologie distinte, per cui attualmente si ritiene siano differenti manifestazioni della medesima patologia, influenzate da variabili ancora non pienamente note.

Tale fattore potrebbe spiegare la mancanza d'associazione tra polimorfismi dell'IL-1 e forma aggressiva^[124,125]. Si ipotizza quindi che in tale fenotipo clinico agiscano fattori più forti rispetto all'influenza del polimorfismo dell'IL-1, mascherandone il possibile ruolo.

Ad oggi non esistono studi sull'associazione tra parodontite e IL-1 che utilizzino il nuovo sistema classificativo. Questo aspetto, come già evidenziato, oltre a influenzare in modo non trascurabile i risultati e di conseguenza l'evidenza scientifica, comporta difficoltà di confronto dei risultati di questa ricerca con quelli della letteratura.

L'unico studio sul polimorfismo dell'IL-1 nella sindrome di Down è stato pubblicato nel 2011 da Khocht et al.^[95].

Gli autori hanno indagato la distribuzione dei genotipi dell'IL-1 in soggetti affetti da SD ed hanno esaminato l'associazione dei polimorfismi genetici nei loci IL-1A⁺⁴⁸⁴⁵ (sovrapponibile all'IL-1A-889), IL-1B⁺³⁹⁵⁴ ed IL-1RN⁺²⁰¹⁸ con il grado di distruzione parodontale. Il campione, costituito da 54 soggetti SD, è stato confrontato con altri due campioni appaiati per genere, età ed etnia; di cui uno di 71 soggetti con ritardo mentale ed uno di 87 soggetti sani. Nel gruppo SD rientravano soggetti di varie etnie, con prevalenza d'individui bianchi ma senza adeguata specifica dei rimanenti.

Nel confronto tra le variabili descrittive dei soggetti con SD dello studio con quelle della presente ricerca, si evidenziano sia per l'età media (35.96 ± 1.64 versus 46 ± 7 anni) che per la perdita d'attacco (2.66 ± 0.10 vs 4.77 ± 0.96) valori più bassi.

Tali differenze possono essere spiegate dal fatto che, a differenza di questa ricerca, lo studio includesse anche soggetti con SD non affetti da parodontite (28%).

Il numero di denti persi è risultato invece superiore rispetto alla presente ricerca [4.57 ± 0.53 vs $3(1-6)$]. Lo studio non riporta quale sia la motivazione dell'assenza dentale, potrebbero quindi essere stati calcolati anche denti assenti per agenesia o persi per motivazione diversa da quella parodontale.

Non è stato possibile effettuare un confronto con le altre variabili indagate in questa ricerca per difformità metodologica.

Lo studio di Khocht et al. non ha evidenziato alcuna differenza significativa tra i tre gruppi e le distribuzioni sia dei singoli polimorfismi dell'IL-1 sia del genotipo composito. L'assenza di differenze significative è stata riportata nei risultati in assenza di dati numerici.

Rispetto ai dati dello studio di Khocht et al. che riunisce i tre campioni, la presente ricerca ha ottenuto valori di rilevazione più alti per IL-1A (63% vs 46,8%), per IL-1B (53% vs 43%) e per la genotipo composito (47% vs 32%). Non risulta invece possibile il confronto con l'IL-1RN poiché il dato non è riportato. Le differenze sono potenzialmente ascrivibili al campione di questa ricerca, costituito nella sua totalità da soggetti con SD, caucasici, affetti da parodontite di grado avanzato.

Si può quindi formulare l'ipotesi che l'incidenza dei genotipi indagati sia superiore nella popolazione Down.

Lo studio di Khocht et al., mediante analisi delle covarianze (ANCOVA) tenendo sotto controllo età, placca e differenze tra i gruppi, ha evidenziato che i soggetti positivi per IL-1B⁺³⁹⁵⁴ hanno valori più bassi d'indice gengivale. Nella successiva analisi che ha preso in considerazione il livello di attacco clinico, ha evidenziato che i livelli di attacco clinico sono significativamente più bassi nei soggetti SD con genotipo composito. Anche per la variante comune del IL-1RN vien evidenziata una correlazione con la perdita d'attacco clinico tra i soggetti SD.

Questi dati suggeriscono che la variante rara per l'IL-1B riduca l'infiammazione gengivale e che la contemporanea presenza delle varianti comuni sui geni IL-1A e IL-1B, come anche la presenza della variante comune per l'IL-1RN, abbiano un effetto predisponente alla perdita di attacco clinico nei soggetti SD.

Lo studio giunge alla conclusione per cui gli alleli rari dell'IL-1 studiati tendano ad avere un ruolo protettivo verso la perdita di attacco clinico nei soggetti SD.

Questa conclusione, sostanzialmente in contraddizione con la letteratura scientifica prodotta sulla popolazione generale, permette agli autori di dedurre che la patogenesi della parodontite nei soggetti SD sia differente rispetto alla popolazione generale.

I risultati di questa ricerca non sembrano supportare questa deduzione. Questa ricerca, con i limiti di numerosità campionaria e d'assenza di gruppo controllo, conferma l'associazione nella popolazione Down, come nella popolazione generale, tra la parodontite e le varianti rare dei polimorfismi dell'IL-1, in particolare per il genotipo composito^[118] (**Tabella 5**).

Con la consapevolezza che la ricerca genetica impone l'uso di campioni di studio estremamente ampi^[126], la rarità della Sindrome di Down raccomanda lo sviluppo di studi multicentrici al fine di

individuare il ruolo predisponente nei confronti della parodontite, e di studi longitudinali per individuare il ruolo delle varianti sul decorso della parodontite.

CONCLUSIONI

Dai risultati della presente ricerca si evidenzia come i soggetti affetti da SD presentino, sin dalla dentizione decidua ed in assenza di segni clinici di distruzione parodontale, la presenza di microrganismi parodontopatogeni nel microbiota subgingivale.

La presenza di specifici polimorfismi dell'IL-1 α , IL-1 β ed IL-1Ra, già associati nella popolazione generale alla parodontite, risulta particolarmente rappresentata in soggetti SD affetti da gravi quadri di distruzione parodontale (Stadio III/IV, Grado B/C). Tali varianti ed in particolare il genotipo composito sono inoltre risultate correlate alla gravità del quadro clinico.

Questi risultati sembrano quindi confermare la condizione predisponente dei soggetti SD alla malattia parodontale.

Studi longitudinali e multicentrici sono indispensabili al fine di meglio comprendere l'effettivo ruolo e l'eventuale funzione predittiva di tali variabili eziopatogenetiche nel decorso della patologia parodontale.

Sulla base delle conoscenze attuali risulta fondamentale un costante monitoraggio parodontale associato ad un rigoroso controllo dell'igiene orale sin dall'età pediatrica.

BIBLIOGRAFIA

1. Down JLH. Observation in ethnic classification of idiots. London Hospital Reports. 1866;3:259- 262.
2. Shuttleworth GE. Mongolian imbecility. Br Med J. 1909;2:661-5.
3. Lejeune J, Gautier M, Turpin R. Etude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. Comptes Rendus Hebd Seances Acad Sci. 1959;248(11):1721-2.
4. Linee Guida Multidisciplinari per l'Assistenza Integrata alle Persone con SD e alle loro Famiglie, 2005, aggiornamento 2007.
5. Stoll C, Alembik Y, Dott B, Roth MP. Study of down syndrome in 238,942 consecutive births. Ann Gent.1998;41(1):44-51.
6. Hattori M, Fujiyama A, Taylor TD, Watanabe H, Yada T, Park hs, Toyoda A, Ishii K, Totoki Y, Choi DK et al. The DNA sequence of human chromosome 21. Nature.2000;405(18):311-19.
7. Nancy J Roizen, David Patterson - Down' s Syndrome Seminar; Lancet 2003; 361:1281-89.
8. Capone G, Kim P, Jovanovich S, et al. Evidence for increased mitochondrial superoxide production in Down syndrome. Life Sci 2002; 70:2885-95.
9. Busciglio J, Pelsman A, Wong C, et al. Altered metabolism of the amyloid B precursor protein is associated with mitochondrial dysfunction in Down' s syndrome Neuron 2002; 33:677-88.
10. Capone GT. Down syndrome: advances in molecular biology and the neurosciences. J Dev Behav Pediatr 2001; 22:40-59.

11. Schupf N, Sergievsky GH. Genetic and host factors for dementia in Down's syndrome. *Br J Psychiatry* 2002;180:405-10.
12. Hyde LA, Frisone DF, Crnic LS. Ts65Dn mice, a model for Down syndrome, have deficits in context discrimination learning suggesting impaired hippocampal function. *Behav Brain Res* 2001; 118:53-60.
13. Rechtsmeier JT, Baxter LL, Reeves RH. Parallels of craniofacial maldevelopment in Down syndrome and Ts65Dn mice. *Dev Dynam* 2000; 217:137-45.
14. Roizen NJ. Down syndrome. In: Batshaw ML, ed. *Children with Disabilities*. Baltimore: Brookes, 2002:307-20.
15. Linee guida screening pre-natale ER
<http://www.saperidoc.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/34>
16. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Green-top Guideline No. 8; 2010
17. D'Alessandro G, Piana G - Sindromi genetiche e cromosomiche e patologie del cavo orale in età evolutiva; Bononia University Press, 2014.
18. AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS - Health supervision for children with Down Syndrome *Pediatrics*; Vol. 107, no 2, feb 2001
19. Hawli, Y. et al. - Endocrine and Musculoskeletal abnormalities in patients with down syndrome ; *Nat. Rev. Endocrinol.* 2009; 5:327-34.
20. Abanto J, Ciamponi AL, Francischini E, Murakami C, de Rezende NP, Gallottini M. - Medical problems and oral care of patients with Down syndrome: a literature review; *Spec Care Dentist.* 2011;31(6):197-203.
21. Macho V1, Coelho A2, Areias C3, Macedo P4, Andrade D - Craniofacial Features and Specific Oral Characteristics of Down Syndrome Children *OHDH* - Vol. 13 - No. 2 - June, 2014.

22. Lott IT , Dierssen M. Cognitive deficits and associated neurological complications in individuals with Down's syndrome. *Lancet Neurol.* 2010;9(6):623-33.
23. Castells, s. et al. Hypothalamic versus pituitary dysfunction in Down's syndrome as a cause of growth retardation. *J. Intellect. Disabil. Res.* 1996;40, 509-17.
24. Cronk, C. et al. Growth charts of children with Down syndrome: 1 month to 18 years of age. *Pediatrics* 1988;81:102-10.
25. de Moraes MEL, de Moraes LC Skeletal Age of Down Syndrome Individuals. *Prenatal Diagnosis and Screening for Down Syndrome*, ch.4; 45-58.
26. Desai SS, Down syndrome: a review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997;84(3):279-85.
27. Jensen GM, Cleall JF, Yip AS Dentoalveolar morphology and developmental changes in Down's syndrome (trisomy 21).
28. de Moraes ME , de Moraes LC, Dotto GN, Dotto PP, dos Santos LR. Dental anomalies in patients with Down syndrome *Braz Dent J.* 2007;18(4):346- 50.
29. Sunjay Suri; Bryan D. Tompson; Lynn Cornfoot Cranial base, maxillary and mandibular morphology in Down syndrome *Angle Orthodontist*, Vol 80, No 5, 2010 861-867.
30. Bell E, Townsend G, Wilson D, Kieser J, Hughes T. Effect of Down syndrome on the dimensions of dental crowns and tissues. *Am J Hum Biol.* 2001;13:327-325.
31. Anders PL, Davis EL. Oral health of patients with intellectual disabilities: a systematic review. *Spec Care Dentist.* 2010;30(3):110-7.
32. Davidovich E , Aframian DJ, Shapira J, Peretz B. A comparison of the sialochemistry, oral pH, and oral health status of Down syndrome children to healthy children. *Int J Paediatr Dent.* 2010;20(4):235-41.

33. Macho V , Coelho A, Areias C, Macedo P, Andrade D Craniofacial features and specific oral characteristics of Down syndrome children. *Oral Health Dent Manag.* 2014;13(2):408-11.
34. Khocht A, Janal M, Turner B. Periodontal health in Down syndrome: contributions of mental disability, personal, and professional dental care. *Spec Care Dentist.* 2010;30(3):118-23.
35. Amaral Loureiro AC , Oliveira Costa F, Eustáquio da Costa J. the impact of periodontal disease on the quality of life of individuals with Down syndrome. *Downs Syndr Res Pract.* 2007 Jul;12(1):50-4.
36. Morgan J Why is periodontal disease more prevalent and more severe in people with Down syndrome? *Spec Care Dentist.* 2007;27(5):196-201.
37. Scully C , van Bruggen W, Diz Dios P, Casal B, Porter S, Davison MF. Down syndrome: lip lesions (angular stomatitis and fissures) and *Candida albicans*. *Br J Dermatol.* 2002 Jul;147(1):37-40.
38. Calsstedt K, Krekmanova L, Dahllof G, Ericsson B, Braathen G, Modéer T. Oral carriage of *Candida* species in children and adolescents with Down's syndrome. *Int J Paediatr Dent.* 1996;6(2):95-100.
39. Allareddy V , Ching N , Macklin EA , Voelz L , Weintraub G , Davidson E , Prock LA , Rosen D , Brunn R , Skotko BG . Craniofacial features as assessed by lateral cephalometric measurements in children with Down syndrome. *Prog Orthod.* 2016 Dec;17(1):35. Epub 2016 Nov 7.
40. Fischer-Brandies H. Cephalometric comparison between children with and without Down's syndrome. *Eur J Orthod.* 1988 Aug;10(3):255-63.

41. Oliveira AC, Pordeus IA, Torres CS, Martins MT, Paiva SM. Feeding and nonnutritive sucking habits and prevalence of open bite and crossbite in children/adolescents with Down syndrome. *Angle Orthod.* 2010 Jul;80(4):748-53.
42. Oliveira AC, Paiva SM, Martins MT, Torres CS, Pordeus IA Prevalence and determinant factors of malocclusion in children with special needs. *Eur J Orthod.* 2011 Aug;33(4):413-8.
43. Winter K, Baccaglini L, Tomar S. A review of malocclusion among individuals with mental and physical disabilities. *Spec Care Dentist.* 2008 Jan-Feb;28(1):19-26.
44. Faulks D, Collado V, Mazille MN, Veyrune JL, Hennequin M. Masticatory dysfunction in persons with Down's syndrome. Part 1: aetiology and incidence. *J Oral Rehabil.* 2008 Nov;35(11):854-62.
45. Caton J. Periodontal diagnosis and diagnostic aids. In: *World Workshop in Clinical Periodontics.* Chicago: American Academy of Periodontology; 1989:I1–I22.
46. Consensus report on diagnosis and diagnostic aids. In: *World Workshop in Clinical Periodontics.* Chicago: American Academy of Periodontology; 1989:I23–I31.
47. *Proceedings of the 1st European Workshop on Periodontics, 1993.* London: Quintessence; 1994.
48. Papapanou PN. Periodontal diseases: epidemiology. *Ann Periodontol.* 1996;1:1–36.
49. Lindhe J, Ranney R, Lamster I, et al. Consensus report: chronic peri-odontitis. *Ann Periodontol.* 1999;4:38.
50. Lang N, Bartold PM, Cullinan M, et al. Consensus report: aggressive periodontitis. *Ann Periodontol.* 1999;4:53.
51. Lang N, Soskolne WA, Greenstein G, et al. Consensus report: necrotizing periodontal diseases. *Ann Periodontol.* 1999;4:78.

52. Papapanou PN, Sanz M, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol.* 2018;45(Suppl 20):S162–S170.
53. Herrera D, Retamal-Valdes B, Alonso B, Feres M. Acute periodontal lesions (periodontal abscesses and necrotizing periodontal diseases) and endo-periodontal lesions. *J Clin Periodontol.* 2018;45(Suppl 20):S78–S94.
54. 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(Suppl 20):S171–S189.
55. Needleman I, Garcia R, Gkranias N, et al. Mean annual attachment, bone level and tooth loss: A systematic review. *J Clin Periodontol.* 2018;45(Suppl 20):S112–S129.
56. Fine DH, Patil AG, Loos BG. Classification and diagnosis of aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2018;45(Suppl 20): S95–S111.
57. Billings M, Holtfreter B, Papapanou PN, Mitnik GL, Kocher T, Dye BA. Age-dependent distribution of periodontitis in two countries: findings from NHANES 2009 to 2014 and SHIP-TREND 2008 to 2012. *J Clin Periodontol.* 2018;45(Suppl 20):S130–S148.
58. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Clin Periodontol.* 2018;45(Suppl 20):S149–S161.
59. 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(Suppl 20):S171–S189.
60. Cohen M, Winer R.A., Shklar G. Periodontal disease in a group of mentally subnormal children. *J Dent Res.* 1960;39:745.

61. Cohen M, Winer RA, Schwartz S, Shklar G. Oral aspects of mongolism. I. Periodontal disease in mongolism. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1961;14: 92-107.
62. Reuland-Bosma W, van Dijk LJ. Periodontal disease in Down's syndrome: a review. *J Clin Periodontol.* 1986;13:64-73.
63. Cutress TW. Periodontal disease and oral hygiene in trisomy 21. *Arch Oral Biol.* 1971;16: 1345-55.
64. Orner G. Periodontal disease among children with Down's syndrome and their siblings. *J Dent Res.* 1976; 55:778-782.
65. Saxén L, Aula S, Westermarck T. Periodontal disease associated with Down's syndrome: an orthopantomographic evaluation. *J Periodontol,* 1977;48: 337-40.
66. Barnett ML, Press KP, Friedman D, Sonnenberg E.M. The prevalence of periodontitis and dental caries in a Down's syndrome population. *J Periodontol* 1986;57: 288-93.
67. Modéer T, Barr M, Dahllöf G. Periodontal disease in children with Down's syndrome. *Scand J Dent Res.* 1990;98: 228-34.
68. Yoshihara T, Morinushi T, Kinjyo S, Yamasaki Y. Effect of periodic preventive care on the progression of periodontal disease in young adults with Down's syndrome. *J Clin Periodontol.* 2005;32: 556-60.
69. Izumi Y, Sugiyama S, Shinozuka O, Yamazaki T, Ohyama T, Ishikawa I. Defective neutrophil chemotaxis in Down's syndrome patients and its relationship to periodontal destruction. *J Periodontol.* 1989;60: 238-42.
70. Cichon P, Crawford L, Grimm WD. Early-onset periodontitis associated with Down's syndrome—clinical interventional study. *Ann Periodontol,* 1998;1:370-80.
71. Miller MF, Ship II. Periodontal disease in the institutionalized mongoloid. *J Oral Med,* 1977;32:9-13.

72. Brown RH. A longitudinal study of periodontal disease in Down's syndrome. *NZ Dent J*, 1978;74: 137-144.
73. Saxén L, Aula S. Periodontal bone loss in patients with Down's syndrome: a follow-up study. *J Periodontol*. 1982;53:158-62.
74. Amano A, Kishima T, Akiyama S, Nakagawa I, Hamada S, Morisaki I. Relationship of periodontopathic bacteria with early-onset periodontitis in Down's syndrome. *J Periodontol*. 2001; 72(3):368-73.
75. Sakellari D, Arapostathis KN, Konstantinidis A. Periodontal conditions and subgingival microflora in Down syndrome patients. A case-control study. *J Clin Periodontol*. 2005(32):684-90.
76. Stabholz A, Mann J, Sela M, Schurr D, Steinberg D, Shapira J. Caries experience, periodontal treatment needs, salivary pH, and *Streptococcus mutans* counts in a preadolescent Down syndrome population. *Spec Care Dent*. 1991;11:203-8.
77. Agholme MB, Dahllof G, Modeer T. Changes of periodontal status in patients with Down syndrome during a 7-year period. *Eur J Oral Sci*, 1999;197: 82-8.
78. Hennequin M, Faulks D, Veyrune JL, Bourdiol P. Significance of oral health in persons with Down syndrome: a literature review. *Dev Med Child Neurol*. 1999;41: 275-83.
79. Amano A, Murakami J, Akiyama S, Morisaki I. Etiologic factors of early-onset periodontal disease in Down syndrome. *Japanese Dental Science Review* 2008,44:118-127.
80. Socransky SS, Haffajee AD. 1992 The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol*.1992; 63(Suppl 4):322-31.
81. Sanz M, Quirynen M. European Workshop in Periodontology group A. 2005 Advances in the aetiology of periodontitis. Consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2005;32(Suppl 6):54-6.

82. Van Winkelhoff AJ, Boutaga K. Transmission of periodontal bacteria and models of infection. *J Clin Periodontol.* 2005;32(Suppl 6):16-27.
83. Desai S.S. Down syndrome: a review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997;184:279-85.
84. Barr-Agholme M, Dahllöf G, Linder L, Modéer T. Actinobacillus actinomycetemcomitans, Capnocytophaga and Porphyromonas gingivalis in subgingival plaque of adolescents with Down's syndrome. *Oral Microbiol Immunol.* 1992;7:244-8.
85. Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol.* 1996;11(4):266-73.
86. Amano A, Kishima T, Kimura S, Takiguchi M, Ooshima T, Hamada S, Morisaki I. Periodontopathic bacteria in children with Down syndrome. *J Periodontol,* 2000;72(2):249-55.
87. Reuland-Bosma W, van der Reijden WA, van Winkelhoff AJ. Absence of a specific subgingival microflora in adults with Down's syndrome. *J Clin Periodontol* 2001;28(11):1004-9.
88. Nakagawa, A. Amano, Y. Ohara-Nemoto, N. Endoh, I. Morisaki, S. Kimura, et al. Identification of a new variant of fimA gene of Porphyromonas gingivalis and its distribution in adults and disabled populations with periodontitis. *J Periodontal Res.* 2002;37:425-32.
89. Hanookai D, Nowzari H, Contreras A, Morrison JL, Slots J. Herpesviruses and periodontopathic bacteria in Trisomy 21 periodontitis. *J Periodontol.* 2000;71:376-84.
90. Seger R, Buchinger G, Ströder J. On the influence of age on immunity in Down's syndrome. *Eur J Pediatr.* 1977,124: 77-87.

91. Lejeune J, Turpin R, Gautier M. Mongolism; a chromosomal disease (trisomy). *Bull Acad Natl Med.* 1959;143:256-265.
92. Barksby HE1, Lea SR, Preshaw PM, Taylor JJ. The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. *Clin Exp Immunol.* 2007 Aug;149(2):217-25. Epub 2007 Jun 21
93. Kinane DF, Shiba H, Hart TC. The genetic basis of periodontitis. *Periodontol* 2000. 2005;39:91-117.
94. Kornman KS1, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, Wilson TG Jr, Higginbottom FL, Duff GW. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1997 Jan;24(1):72-7.
95. Khocht A1, Heaney K, Janal M, Turner B. Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontitis in Down syndrome. *J Oral Sci.* 2011 Jun;53(2):193-202.
96. Guerrero A, Griffiths GS, Nibali L et al. Adjunctive benefits of systemic amoxicillin and metronidazole in non-surgical treatment of generalized aggressive periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2005;32(10):1096-107.
97. O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *J Periodontol* 1972;43(1):38.
98. Loe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* 1963;21:533-51.
99. Ondarza A, Jara L, Muñoz P, Blanco R. Sequence of eruption of deciduous dentition in a Chilean sample with Down's syndrome. *Arch Oral Biol* 1997;42(5):401-6.
100. Khocht A, Russell B, Cannon JG, Turner B, Janal M. Oxidative burst intensity of peripheral phagocytic cells and periodontitis in Down syndrome. *J Periodontal Res* 2014;49(1):29-35.

101. Sakellari D, Belibasakis G, Chadjipadelis T, Arapostathis K, Konstantinidis A. Supragingival and subgingival microbiota of adult patients with Down's syndrome. Changes after periodontal treatment. *Oral Microbiol Immunol* 2001;16(6):376-82.
102. Morinushi T, Lopatin DE, Van Poperin N. The relationship between gingivitis and the serum antibodies to the microbiota associated with periodontal disease in children with Down's syndrome. *J Periodontol* 1997;68(7):626-31.
103. Sreedevi H, Munshi AK. Neutrophil chemotaxis in Down syndrome and normal children to *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Pediatr Dent* 1998;22(2):141-6.
104. Nguyen-Hieu T. Microbial sampling process can change results of microbiological analysis in periodontitis diagnosis. A minireview. *J Investig Clin Dent* 2013;4(3):151-9.
105. Shi W, Qin M, Chen F, Xia B. Supragingival microbial profiles of permanent and deciduous teeth in children with mixed dentition. *PLoS One* 2016; 11(1):e0146938.
106. Brailsford SR, Sheehy EC, Gilbert SC, et al. The microflora of the erupting first permanent molar. *Caries Res* 2005;39(1):78-84.
107. Takeshita T, Yasui M, Shibata Y, et al. Dental plaque development on a hydroxyapatite disk in young adults observed by using a barcoded pyrosequencing approach. *Sci Rep* 2015;5:8136.
108. Alaluusua S, Asikainen S. Detection and distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in the primary dentition. *J Periodontol* 1988;59(8):504-7.
109. Yang EY, Tanner AC, Milgrom P, et al. Periodontal pathogen detection in gingiva/tooth and tongue flora samples from 18- to 48-month-old children and periodontal status of their mothers. *Oral Microbiol Immunol* 2002;17(1):55-9.
110. Riep B, Edesi-Neuss L, Claessen F, et al. Are putative periodontal pathogens reliable diagnostic markers? *J Clin Microbiol* 2009;47(6):1705-11.

111. Christersson LA. Actinobacillus actinomycetemcomitans [11] and localized juvenile periodontitis. Clinical, microbiologic and histologic studies. Swed Dent J Suppl 1993;90:1-46.
112. Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis. Periodontol 2000 1997;14:12-32.
113. Shaddox LM, Huang H, Lin T et al. Microbiological characterization in children with aggressive periodontitis J Dent Res 2012;91(10):927-33.
114. Haubek D, Ennibi OK, Poulsen K, Vaeth M, Poulsen S, Kilian M. Risk of aggressive periodontitis in adolescent carriers of the JP2 clone of Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans in Morocco: a prospective longitudinal cohort study. Lancet 2008;371(9608):237-42.
115. Chaushu S, Yefenof E, Becker A, Shapira J, Chaushu G. Severe impairment of secretory Ig production in parotid saliva of Down Syndrome individuals. J Dent Res 2002;81(5):308-12.
116. Miller SC. Text Book of Periodontia. Philadelphia: Blakiston; 1936.
117. Michalowicz Bs, Diehl SR, Gunsolley JC et al. Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis J Periodontol 2000;71:1699-707.
118. Karimbux NY, Saraiya VM, Elangovan S, et al. Interleukin-1 gene polymorphisms and Chronic periodontitis in adult whites: a systematic review and meta-analysis. J Periodontol 2012;83:1407-1419
119. National Center for Biotechnology Information. Database of Single Nucleotide Polymorphisms (dbSNP). Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>. dbSNP Build ID: 134.
120. Kinane DF, Chestnutt IG. Smoking and periodontal disease. Crit Rev Oral Biol Med 2000;11:356-65.

121. Haber J. Smoking is a major risk factor for periodontitis. *Curr Opin Periodontol* 1994;12-18.
122. Pretzl B, Sayed NE, Cosgarea R et al. Il-1 polymorphism and severity of peridental disease. *Acta Odontologica Scandinavica*, 2012;70:1-6.
123. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4:1-6.
124. Fiebig A, Jepsen S, Loos BG, Scholz C, Schafer C, Ruhling A, et al. Polymorphisms in the interleukin-1 (IL1) gene cluster are not associated with aggressive periodontitis in a large Caucasian population. *Genomics* 2008;92:309-15.
125. Scapoli C, Borzani I, Gaurnelli ME, Annunziata M, Guida L, Trombelli L. IL-1 gene cluster is not linked to aggressive periodontitis. *J Den Res* 2010;89:457-61.
126. Ioannidis JP, Trikalinos TA, Ntzani EE, Contopoulos-Ioannidis. Genetic associations in large versus small studies: an empirical assessment. *Lancet* 2003;361:567-71.

SINTESI DELLA TESI

I soggetti affetti da Sindrome di Down presentano frequentemente importanti quadri di gengivite e forme di parodontite caratterizzate da elevata rapidità di progressione.

Fattori sia locali che sistemici sono stati chiamati in causa per spiegare questa predisponente nei soggetti sindromici.

La presente ricerca analizza due di questi fattori: il profilo microbico subgengivale ed i mediatori dell'infiammazione.

Mediante analisi PCR è stata indagata la prevalenza di 5 microrganismi parodonto-patogeni nella nicchia subgengivale di elementi dentali decidui di 30 soggetti in età evolutiva (5,5 anni \pm 1,2) affetti da Sindrome di Down senza danno parodontale. Il gruppo di studio è stato confrontato con un gruppo di controllo costituito da 46 soggetti in età evolutiva (4,5 anni \pm 0,5) con anamnesi medica negativa, appaiati per stadio della dentizione. L'indagine clinico-microbiologica è stata eseguita su un totale di 228 elementi dentali decidui.

E' stato studiata la presenza dei seguenti microrganismi: *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Tra questi parodonto-patogeni sono state rilevate differenze statisticamente significative per la *Tannerella forsythia* (OR 9.194 CI: 3.923-21.548, $p=0.001$) e l'*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (OR 8.394 CI: 3.519-20.02, $p=0.001$). I soggetti affetti da Sindrome di Down oltre a presentare una maggiore prevalenza di queste due specie, mostrano una maggiore predisposizione ad ospitarle.

In un altro campione rappresentato da 19 soggetti adulti (46 anni \pm 7) affetti da Sindrome di Down e con parodontite di grado avanzato è stata indagata la presenza di tre specifici polimorfismi genetici dell'interleuchina 1: IL-1A⁻⁸⁸⁹, IL-1B⁺³⁹⁵⁴ e IL-1RN⁺²⁰¹⁸. La percentuale di rilevazione è stata del 63% per IL-1A, del 53% per l'IL-1B e del 37% dell'IL-RN.

Dall'indagine svolta si evidenzia come tali polimorfismi genetici siano particolarmente rappresentati nel campione di studio. Risulta inoltre, come la loro presenza sia direttamente correlata alla gravità della distruzione parodontale, in particolare per la condizione di genotipo composito (simultanea presenza di due polimorfismi genetici: IL-1A⁻⁸⁸⁹ ed IL1B⁺³⁹⁵³).

I risultati della presente ricerca giungono a suggerire un possibile ruolo predisponente alla malattia parodontale sia del fattore locale che di quello sistemico studiati nei soggetti affetti da Sindrome di Down.