



ARTIGO ORIGINAL

# Coenzyme Q10 and pro-inflammatory markers in children with Down syndrome: clinical and biochemical aspects<sup>☆</sup>



Moushira E. Zaki<sup>a</sup>, Hala T. El-Bassyouni<sup>b</sup>, Angie M.S. Tosson<sup>c,\*</sup>,  
Eman Youness<sup>d</sup> e Jihan Hussein<sup>d</sup>

<sup>a</sup> National Research Centre, Medical Research Division, Biological Anthropology Department, Cairo, Egito

<sup>b</sup> National Research Centre, Human Genetics and Genome Research Division, Clinical Genetics Department, Cairo, Egito

<sup>c</sup> Cairo University, Faculty of Medicine, Pediatrics Department, Cairo, Egito

<sup>d</sup> National Research Centre, Medical Research Division, Medical Biochemistry Department, Cairo, Egito

Recebido em 28 de fevereiro de 2016; aceito em 27 de abril de 2016

## KEYWORDS

Coenzyme Q10;  
Down syndrome  
children;  
Interleukin 6;  
Oxidative stress;  
Tumor necrosis  
factor  $\alpha$

## Abstract

**Objective:** Evidence of oxidative stress was reported in individuals with Down syndrome. There is a growing interest in the contribution of the immune system in Down syndrome. The aim of this study is to evaluate the coenzyme Q10 and selected pro-inflammatory markers such as interleukin 6 and tumor necrosis factor  $\alpha$  in children with Down syndrome.

**Methods:** Eighty-six children (5–8 years of age) were enrolled in this case-control study from two public institutions. At the time of sampling, the patients and controls suffered from no acute or chronic illnesses and received no therapies or supplements. The levels of interleukin 6, tumor necrosis factor  $\alpha$ , coenzyme Q10, fasting blood glucose, and intelligence quotient were measured.

**Results:** Forty-three young Down syndrome children and forty-three controls were included over a period of eight months (January–August 2014). Compared with the control group, the Down syndrome patients showed significant increase in interleukin 6 and tumor necrosis factor  $\alpha$  ( $p=0.002$ ), while coenzyme Q10 was significantly decreased ( $p=0.002$ ). Also, body mass index and fasting blood glucose were significantly increased in patients. There was a significantly positive correlation between coenzyme Q10 and intelligence quotient levels, as well as between interleukin 6 and tumor necrosis factor  $\alpha$ .

DOI se refere ao artigo:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpmed.2016.04.012>

<sup>☆</sup> Como citar este artigo: Zaki ME, El-Bassyouni HT, Tosson AM, Youness E, Hussein J. Coenzyme Q10 and pro-inflammatory markers in children with Down syndrome: clinical and biochemical aspects. J Pediatr (Rio J). 2017;93:100–4.

\* Autor para correspondência.

E-mail: [amstosson@gmail.com](mailto:amstosson@gmail.com) (A.M. Tosson).

**PALAVRAS-CHAVE**

Coenzima Q10;  
Crianças com  
síndrome de Down;  
Interleucina 6;  
Estresse oxidativo;  
Fator de necrose  
tumoral  $\alpha$

**Conclusion:** Interleukin 6 and tumor necrosis factor  $\alpha$  levels in young children with Down syndrome may be used as biomarkers reflecting the neurodegenerative process in them. Coenzyme Q10 might have a role as a good supplement in young children with Down syndrome to ameliorate the neurological symptoms.

© 2016 Sociedade Brasileira de Pediatria. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

**Coenzima Q10 e marcadores pró-inflamatórios em crianças com síndrome de Down: aspectos clínicos e bioquímicos****Resumo**

**Objetivo:** Foram relatadas evidências de estresse oxidativo em indivíduos com a síndrome de Down. Há um interesse cada vez maior na contribuição do sistema imunológico na síndrome de Down. O objetivo deste estudo é avaliar a coenzima Q10 e marcadores pró-inflamatórios selecionados, como interleucina 6 e o fator de necrose tumoral  $\alpha$ , em crianças com a síndrome de Down.

**Métodos:** Foram inscritas neste estudo de caso-controle 86 crianças (5-8 anos) de duas instituições públicas. No momento da amostragem, os pacientes e os controles não sofriam de doença aguda ou crônica e não recebiam terapia ou suplementos. Foram medidos os níveis de interleucina 6, fator de necrose tumoral  $\alpha$ , coenzima Q10, glicemia de jejum e quociente de inteligência.

**Resultados:** Foram incluídas em oito meses (janeiro-agosto 2014) 43 crianças com síndrome de Down e 43 controles. Em comparação com o grupo de controle, os pacientes com síndrome de Down mostraram aumento significativo na interleucina 6 e no fator de necrose tumoral  $\alpha$  ( $p=0,002$ ), ao passo que a coenzima Q10 apresentou significativa redução ( $p=0,002$ ). Além disso, o índice de massa corporal e a glicemia de jejum eram significativamente maiores nos pacientes. Houve uma correlação significativamente positiva entre os níveis de coenzima Q10 e do quociente de inteligência, bem como entre a interleucina 6 e o fator de necrose tumoral  $\alpha$ .

**Conclusão:** Os níveis de interleucina 6 e o fator de necrose tumoral  $\alpha$  em crianças mais novas com síndrome de Down podem ser usados como biomarcadores, refletem o processo neurodegenerativo neles. A coenzima Q10 pode ter um papel como bom suplemento em crianças com síndrome de Down para melhorar os sintomas neurológicos.

© 2016 Sociedade Brasileira de Pediatria. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

**Introdução**

A trissomia 21 é a anomalia cromossômica mais frequente, que tem como características a deficiência cognitiva e deficiências neurológicas significativas. Ela afeta de 1/700 a 1/1.000 nascidos vivos.<sup>1</sup> O excesso de inibição no cérebro de pessoas com um cromossomo 21 a mais pode ser responsável por déficits cognitivos observados ao longo de suas vidas.<sup>2</sup> O estresse oxidativo é conhecido por ter um papel substancial na patologia devido a fatores genéticos e epigenéticos, o que sugere que o desequilíbrio oxidativo contribui para as manifestações clínicas da síndrome de Down (SD).<sup>3</sup> Na síndrome de Down, o dano oxidativo tem um importante papel nos processos neurodegenerativos.<sup>4</sup> A CoQ10 atua como eliminadora de espécies reativas de oxigênio (EROs). Além disso, possivelmente estimula as enzimas de reparo de danos oxidativos e tem um papel na regulação da expressão gênica. Também pode atuar como um modulador de mecanismos de reparo de DNA.<sup>5,6</sup> O efeito da CoQ10 foi estudado em alguns distúrbios neurológicos em que a disfunção

mitocondrial foi detectada.<sup>7</sup> Isso poderia explicar o processo bioquímico pelo qual a CoQ10 exógena melhora a deficiência bioenergética em algumas miopatias mitocondriais e na cardiomiopatia.<sup>8,9</sup> A coenzima Q10 foi administrada em pacientes com a SD, na tentativa de combater o desequilíbrio oxidativo presente devido à sua deficiência secundária com resultados promissores.<sup>10,11</sup> Pessoas com SD são mais propensas a infecções e doenças autoimunes. Respostas imunes ineficazes na SD levam a infecções virais/bacterianas recorrentes e contribuem para o desenvolvimento de vários sintomas patofisiológicos, inclusive o déficit cognitivo.<sup>12</sup>

A disfunção do sistema imunológico na SD foi atribuída ao número reduzido de linfócitos B, a modificações do subgrupo de células T, bem como alterações no nível de citocinas anti-inflamatórias e pró-inflamatórias. O fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) e a interleucina 6 (IL-6) foram indicados como os principais componentes dos processos imunológicos e também inflamatórios.<sup>13</sup> Uma compreensão aprimorada e melhor da relação entre esses diferentes elementos poderá

auxiliar na descoberta de novas abordagens para melhorar a progressão da demência em pacientes de trissomia 21.

O objetivo deste estudo foi avaliar o nível de alguns marcadores pró-inflamatórios (IL-6 e TNF $\alpha$ ) e de CoQ10 em crianças de 5-8 anos com SD.

## Métodos

Este estudo prospectivo incluiu todos os pacientes com síndrome de Down que se apresentaram na Clínica de Genética, no Centro Nacional de Pesquisas, e na clínica ambulatorial do Novo Hospital Infantil e atenderam aos critérios de inclusão em oito meses. Tanto o centro quanto o hospital são estabelecimentos governamentais gerais que atendem pacientes de média e baixa renda.

## Critérios de inclusão

Os pacientes com síndrome de Down citogeneticamente comprovada sem quaisquer anomalias congênitas ou doenças crônicas de 5-8 anos e que consentiram a participação nesse programa foram inscritos no estudo. A faixa de 5-8 anos foi selecionada de acordo com a frequência de casos de crianças com SD que atenderam aos critérios de inclusão. No momento da amostragem de sangue, essas crianças não tinham doenças agudas nem usavam medicamento ou suplemento por no mínimo um mês. O período do estudo foi determinado de acordo com a disponibilidade de kits. O grupo de controle consistiu em crianças saudáveis de idade e sexo semelhantes que atendiam aos critérios de inclusão.

## Avaliação de QI e determinação de níveis de CoQ10 e citocinas plasmáticas

Este foi um estudo cego. Todas as amostras foram codificadas e numeradas pela investigadora responsável pela coleta de dados clínicos e apenas ela tinha acesso às informações completas dos indivíduos. As avaliações de quociente de inteligência (QI) foram feitas com a 4<sup>a</sup> edição da Escala Wechsler de Inteligência para Crianças (WISC-IV).<sup>14</sup> Os níveis de CoQ10 foram avaliados por um sistema dedicado de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector eletroquímico (ECD) (Shiseido Co Ltd, Tóquio, Japão). Os níveis de CoQ10 no plasma foram medidos em  $\mu\text{mol/L}$ . A quantificação das citocinas foi feita por um ensaio imunossorvente ligado a enzima (Elisa) com kits comerciais para medição de TNF $\alpha$  e IL-6 humana (eBio-Science, CA, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. A presença e a concentração de citocinas foram identificadas pela intensidade da cor medida pela espectrometria em um microleitor de Elisa. Os níveis de TNF $\alpha$  e IL-6 humanas no plasma foram expressos em pg/mL. Um analisador automático Olympus AU400 (Olympus Corporation, Tóquio, Japão) foi usado para mensurar a glicemia de jejum com kits comerciais (Roche Diagnostics, IN, EUA).

Os protocolos de recrutamento e experimental do estudo foram conduzidos de acordo com a Declaração de Helsinque (conforme revisada em Edimburgo 2000) e aprovados

pelo comitê de ética local. Todos os responsáveis legais dos participantes consentiram o estudo.

## Análise estatística

Todos os dados são expressos como média  $\pm$  desvio padrão. As análises de correlação foram feitas por meio do cálculo do coeficiente de correlação Pearson (r) para avaliar as relações entre os parâmetros estudados. A análise estatística foi feita com o SPSS Statistics 20.0 para Windows (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. NY, EUA). Os resultados foram considerados estatisticamente significativos com nível de significância 0,05.

## Resultados

Foram inscritos de janeiro de 2014 a agosto de 2014 em um estudo prospectivo 43 pacientes com síndrome de Down e 46 do grupo de controle. A **tabela 1** resume os dados clínicos, o IMC e as investigações das pessoas estudadas.

Os pacientes com SD apresentaram índice de massa corporal (IMC) significativamente maior do que os do grupo de controle ( $p=0,001$ ). Além disso, os níveis de TNF $\alpha$  e IL-6 foram significativamente maiores em pacientes com SD em comparação com os do grupo de controle, com valores de  $p$  de 0,002 e 0,001, respectivamente. O nível de CoQ10 foi significativamente menor em pacientes com SD ( $p=0,002$ ). Constatou-se que o estado redox da CoQ10 (% de CoQ10 oxidada/total) estava no intervalo de 28-35% no plasma de crianças com SD, em comparação com 8-12% no grupo de controle. O nível de glicemia de jejum foi significativamente maior em pacientes com SD ( $p=0,004$ ), ao passo que a pontuação de QI foi significativamente menor ( $p=0,001$ ) do que no grupo de controle. A pontuação média de QI em pacientes com SD estava na faixa de deficiência mental leve. A **tabela 2** resume os resultados dos coeficientes de correlação de Pearson entre a CoQ10, as citocinas pró-inflamatórias e o IMC. Houve uma correlação positiva significativa entre os níveis de CoQ10 e a pontuação de QI, bem como entre os níveis de IL-6 e TNF $\alpha$ .

**Tabela 1** Dados clínicos e investigações das crianças com SD e controles estudados.

	Grupo com trissomia 21 n=43	Grupo de controle n=43	valor de p
Idade (a)	6,4 $\pm$ 1,36	6,3 $\pm$ 1,09	0,62
Sexo (F/M)	23/20	21/22	0,67
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	20,9 $\pm$ 9,3	15,6 $\pm$ 9,7	0,001
TNF $\alpha$ (pg/mL)	19,8 $\pm$ 4,6	3,6 $\pm$ 1,0	0,002
IL-6 (pg/mL)	8,9 $\pm$ 3,6	1,9 $\pm$ 0,3	0,001
CoQ10 ( $\mu\text{mol/L}$ )	0,3 $\pm$ 0,5	0,9 $\pm$ 0,6	0,002
Glicose (mg/dL)	103,6 $\pm$ 11,6	93,4 $\pm$ 14,6	0,004
QI	60,0 $\pm$ 12,2	95 $\pm$ 10,2	0,001

CoQ10, coenzima Q10; IL-6, interleucina 6; IMC, índice de massa corporal; SD, síndrome de Down; TNF $\alpha$ , fator de necrose tumoral  $\alpha$ .

**Tabela 2** Matriz de correlação da CoQ10, citocinas pró-inflamatórias e diversos parâmetros em crianças com SD.

	CoQ10	TNF $\alpha$	IL-6	QI	IMC	Glicose
CoQ10	1	-0,2	-0,2	0,4 <sup>a</sup>	0,01	-0,3
TNF $\alpha$		1	0,9 <sup>b</sup>	-0,2	-0,2	0,03
IL-6			1	-0,04	-0,2	0,04
QI				1	0,2	-0,2
IMC					1	-0,09
Glicose						1

CoQ10, coenzima Q10; IL-6, interleucina 6; IMC, índice de massa corporal; QI, quociente de inteligência; SD, síndrome de Down; TNF $\alpha$ , fator de necrose tumoral  $\alpha$ .

<sup>a</sup> Correlação positiva significativa entre os níveis de CoQ10 e os escores de IQ.

<sup>b</sup> Correlação positiva significativa entre os níveis de IL-6 e TNF $\alpha$ .

## Discussão

Foi postulado que a triplicação do cromossomo 21 causa um aumento de 50% na expressão de genes trissômicos como principal efeito de dose, que se traduz diretamente em alterações bioquímicas.<sup>13,15</sup> Vários estudos mostraram que o aumento de estresse oxidativo relacionado à trissomia 21 pode estar envolvido em diferentes aspectos dos fenótipos de SD.<sup>4,16</sup>

Neste estudo, os marcadores inflamatórios e os mecanismos de estresse oxidativo em crianças com síndrome de Down são avaliados e comparados com os do grupo de controle. Em nosso estudo, todos os pacientes apresentaram redução significativa na CoQ10 plasmática, potente antioxidante endógeno, o que poderá ser um importante fator associado ao desequilíbrio oxidativo em crianças com trissomia 21. Miles et al.<sup>6</sup> constataram redução significativa de CoQ10 em pacientes com SD. Outro estudo de Tiano et al.<sup>17</sup> concluiu que o índice de linfócitos e CoQ10 nas plaquetas foi significativamente menor em pacientes com SD, fato que provavelmente é inerente ao desequilíbrio oxidativo no nível celular. Contudo, nosso estudo incluiu um número maior de pacientes com faixa média de 4 anos (5-8 anos). O mecanismo de redução de CoQ10 está possivelmente relacionado à manutenção da homeostase mitocondrial e à prevenção da produção de radicais livres. Contudo, estudos que comparam dados sobre dano oxidativo ao DNA e parâmetros de estresse oxidativo sistêmico em pacientes com SD tratados com CoQ10 concluíram que a CoQ10 não funciona simplesmente como eliminadora de EROs. Isso ocorre devido à ausência de uma resposta mensurável de antioxidante plásmico, que pode ser mascarada pela hiperuricemia normalmente constatada na SD juntamente com os níveis de DNA inalterados.<sup>7</sup>

As citocinas IL-6 e TNF $\alpha$  são consideradas principais orquestradoras das respostas imune e inflamatória.<sup>18</sup> Nossos dados mostraram aumento significativo no nível dos marcadores pró-inflamatórios IL-6 e TNF $\alpha$  no soro coletado dos indivíduos com SD, em comparação com o grupo de controle, que é semelhante a outros estudos.<sup>13,19</sup>

As taxas elevadas de sobrepeso e obesidade entre crianças em todo o mundo e a gama de problemas de saúde associados a elas, de achados psicossociais até achados metabólicos adversos, justificam o desenvolvimento de vários planos de ação e o estabelecimento de metas para a prevenção da obesidade em crianças e adolescentes.

São necessárias novas estratégias preventivas, destaca-se o importante papel da atividade física e da educação nutricional. Variações de indivíduo, família e comunidade podem afetar um estilo de vida saudável.<sup>20,21</sup>

O IMC elevado está associado a um padrão específico de ativação imune de baixo grau.<sup>22</sup> Nossos dados confirmam as associações anteriormente descritas entre a SD e o IMC elevado.<sup>23,24</sup> O QI médio dos pacientes com SD estudados era de 60,0  $\pm$  12,2. Gardiner<sup>25</sup> delineou que, embora a deficiência intelectual na SD possa ser um leve atraso, o QI relatado com mais frequência está na faixa de 40-50 (atraso leve a moderado). Shukla et al.<sup>26</sup> relataram que a pontuação de QI dos pacientes com SD representou deficiência mental moderada em 31% e deficiência mental leve em 52% de seus pacientes. A correlação entre o teor de CoQ10 e a pontuação de QI em pacientes com SD significa o efeito da CoQ10 sobre o neurodesenvolvimento que poderá ocorrer devido a seu papel de proteção contra danos ao DNA, além de sua função redox.<sup>5</sup> Sabe-se bem que o *diabetes mellitus* tem uma prevalência maior em indivíduos com SD do que na população em geral,<sup>27,28</sup> ao passo que, em nossas constatações, o nível de glicemia estava dentro do normal, o que pode ser explicado pela baixa idade de nossos pacientes. A importância desses resultados do ponto de vista clínico e terapêutico é que isso enfatiza a importância da estratégia adequada de acompanhamento de indivíduos com SD e ajuda a esboçar novas estratégias de tratamento de pacientes com SD.

Concluindo, os níveis de IL-6, TNF $\alpha$  e CoQ10 em jovens pacientes com SD pode representar um importante fator de contribuição ao processo neurodegenerativo que culmina na SD. A coenzima Q10 deve ser considerada uma boa suplementação em jovens crianças com trissomia 21 para a melhoria dos sintomas neurológicos.

## Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

## Referências

1. Perluigi M, Pupo G, Tramutola A, Cini C, Coccia R, Barone E, et al. Neuropathological role of PI3K/Akt/mTOR axis in Down's syndrome brain. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1842:1144-53.
2. Martínez-Cué C, Delatour B, Potier MC. Treating enhanced GABAergic inhibition in Down's syndrome: use of

- GABA  $\alpha$ 5-selective inverse agonists. *Neurosci Biobehav Rev*. 2014;46:218–27.
3. Tiano L, Carnevali P, Padella L, Santoro L, Principi F, Brugè F, et al. Effect of coenzyme Q10 in mitigating oxidative DNA damage in Down's syndrome patients, a double blind randomized controlled trial. *Neurobiol Aging*. 2011;32:2103–5.
  4. Perluigi M, Butterfield DA. Oxidative stress and Down's syndrome: a route toward Alzheimer-like dementia. *Curr Gerontol Geriatr Res*. 2012;2012:724904.
  5. Tiano L, Padella L, Santoro L, Carnevali P, Principi F, Brugè F, et al. Prolonged coenzyme Q10 treatment in Down's syndrome patients: effect on DNA oxidation. *Neurobiol Aging*. 2012;33:626, e1–8.
  6. Miles MV, Patterson BJ, Chalfonte-Evans ML, Horn PS, Hickey FJ, Schapiro MB, et al. Coenzyme Q10 (ubiquinol-10) supplementation improves oxidative imbalance in children with trisomy 21. *Pediatr Neurol*. 2007;37:398–403.
  7. Tiano L, Busciglio J. Mitochondrial dysfunction and Down's syndrome: is there a role for coenzyme Q(10)? *Biofactors*. 2011;37:386–92.
  8. Naini A, Lewis VJ, Hirano M, DiMauro S. Primary coenzyme Q10 deficiency and the brain. *Biofactors*. 2003;18:145–52.
  9. Mortensen SA. Overview on coenzyme Q10 as adjunctive therapy in chronic heart failure. Rationale, design and end-points of Q-symbio – A multinational trial. *Biofactors*. 2003;18:79–89.
  10. Littarru GP, Tiano L. Clinical aspects of coenzyme Q10: an update. *Nutrition*. 2010;26:250–4.
  11. Muchová J, Žitňanová I, Ďuračková Z. Oxidative stress and Down's syndrome. Do antioxidants play a role in therapy? *Physiol Res*. 2014;63:535–42.
  12. Nateghi Rostami M, Douraghi M, Miramin Mohammadi A, Nikmanesh B. Altered serum pro-inflammatory cytokines in children with Down's syndrome. *Eur Cytokine Netw*. 2012;23:64–7.
  13. Rodrigues R, Debom G, Soares F, Machado C, Pureza J, Peres W, et al. Alterations of ectonucleotidases and acetylcholinesterase activities in lymphocytes of Down's syndrome subjects: relation with inflammatory parameters. *Clin Chim Acta*. 2014;433:105–10.
  14. Wechsler D. Wechsler Intelligence Scale for Children: administration and scoring manual. 4<sup>th</sup> ed. San Antonio, TX, USA: The Psychological Corporation; 2003.
  15. Abdel-Salam E, Abdel-Meguid I, Korraa S. Assessment of immune function in Down's syndrome patients. *Egypt J Med Hum Genet*. 2013;14:307–10.
  16. Garrido-Maraver J, Cordero MD, Oropesa-Ávila M, Fernández Vega A, de la Mata M, Delgado Pavón A, et al. Coenzyme Q10 therapy. *Mol Syndromol*. 2014;5:187–97.
  17. Tiano L, Padella L, Carnevali P, Gabrielli O, Bruge F, Principi F, et al. Coenzyme Q10 and oxidative imbalance in Down syndrome: biochemical and clinical aspects. *Biofactors*. 2008;32:161–7.
  18. Aureli A, Sebastiani P, Del Beato T, Marimpietri AE, Graziani A, Sechi E, et al. Involvement of IL-6 and IL-1 receptor antagonist on intellectual disability. *Immunol Lett*. 2014;162:124–31.
  19. Shimada A, Hayashi Y, Ogasawara M, Park MJ, Kato H, Minakami H, et al. Pro-inflammatory cytokinemia is frequently found in Down's syndrome patients with hematological disorders. *Leuk Res*. 2007;31:1199–203.
  20. de Onis M. Preventing childhood overweight and obesity. *J Pediatr (Rio J)*. 2015;91:105–7.
  21. Guerra PH, da Silveira JA, Salvador EP. Physical activity and nutrition education at the school environment aimed at preventing childhood obesity: evidence from systematic reviews. *J Pediatr (Rio J)*. 2016;92:15–23.
  22. Magrone T, Jirillo E. Childhood obesity: immune response and nutritional approaches. *Front Immunol*. 2015;6:76.
  23. Real de Asua D, Parra P, Costa R, Moldenhauer F, Suarez C. A cross-sectional study of the phenotypes of obesity and insulin resistance in adults with Down's syndrome. *Diabetes Metab J*. 2014;38:464–71.
  24. Afifi HH, Aglan MS, Zaki ME, Thomas MM, Tossou AM. Growth charts of Down's syndrome in Egypt: a study of 434 children 0-36 months of age. *Am J Med Genet A*. 2012;158A:2647–55.
  25. Gardiner KJ. Pharmacological approaches to improving cognitive function in Down's syndrome: current status and considerations. *Drug Des Dev Ther*. 2014;9:103–25.
  26. Shukla D, Bablani D, Chowdhry A, Thapar R, Gupta P, Mishra S. Dentofacial and cranial changes in Down's syndrome. *Osong Public Health Res Perspect*. 2014;5:339–44.
  27. Roizen NJ, Patterson D. Down's syndrome. *Lancet*. 2003;361:1281–9.
  28. Kota SK, Tripathy PR, Kota SK, Jammula S. Type 2 diabetes mellitus: an unusual association with Down's syndrome. *Indian J Hum Genet*. 2013;19:358–9.