

PRISCILA GOMES ALVES

CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE PACIENTES COM AMELOGÊNESE  
IMPERFEITA AUTOSSÔMICA RECESSIVA E QUADROS SINDRÔMICOS

BRASÍLIA, 2012

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**PRISCILA GOMES ALVES**

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE PACIENTES COM AMELOGÊNESE  
IMPERFEITA AUTOSSÔMICA RECESSIVA E QUADROS SINDRÔMICOS**

**Dissertação de mestrado apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.**

**Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dra. Ana Carolina Acevedo Poppe**

**BRASÍLIA**

**2012**

## **DEDICATÓRIA**

**Dedico esta dissertação a Deus e a minha família**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela inspiração de viver, força e fé.

Ao meu marido por não medir esforços para me ajudar nesse trabalho, pelo amor, compreensão e companheirismo.

Aos meus pais, pelo apoio perene, abdicação de seus próprios sonhos pelos meus e pelo exemplo de esforço e superação. Aos meus avós, tios e primos, pela alegria, carinho e compreensão.

Ao meu irmão e cunhada, por sempre me ajudarem. Obrigada família querida, sem o apoio de vocês não teria razão essa conquista!

À professora Dr<sup>a</sup> Ana Carolina Acevedo Poppe, pelas palavras de incentivo, dedicação e auxílio. Exemplo de pesquisadora, sempre inspirada por sua incansável procura pelo saber.

Ao professor Dr. Paulo Marcio Yamguti, pelo exemplo de dedicação, esforço, integridade e, principalmente, pela co-orientação e auxílio nesses primeiros passos da vida acadêmica.

À mestranda Caroline Lourenço de Lima, pela amizade, companheirismo, incentivo e contribuição para o trabalho.

À professora Dr<sup>a</sup> Juliana Mazzeu, pela atenção e disponibilidade.

À professora Dr<sup>a</sup> Eliete Neves, pela motivação e contribuição na avaliação da análise histológica.

À professora Dr<sup>a</sup> Lílian Marly de Paula, pelas sugestões e apoio na realização da pesquisa.

Ao Mestre Luiz Cláudio, pela disposição, paciência e auxílio sempiterno no exame dos pacientes e interpretação dos resultados.

À Dr<sup>a</sup> Maria do Carmo, pelo ensino, paciência e dedicação aos pacientes.

Ao professor Dr. André Ferreira Leite, pela ajuda com a confecção das pranchas das tomografias computadorizadas.

À querida Maria da Glória, pela amizade e ajuda indispensável nos experimentos.

## RESUMO

Amelogênese imperfeita (AI) é um grupo de alterações genéticas que afeta a formação e mineralização do esmalte dental. O termo amelogênese imperfeita é usado para definir a forma isolada, sem envolvimento sistêmico. No entanto, mais recentemente, esse termo também tem sido utilizado para indicar a presença de defeitos de esmalte generalizados em várias síndromes. O propósito do presente estudo foi realizar a caracterização fenotípica de pacientes com AI autossômica recessiva e possíveis quadros sindrômicos em pacientes atendidos na Clínica de Atendimento de Pacientes Portadores de Anomalias Dentárias do Hospital Universitário de Brasília. Todos os pacientes foram submetidos a exames clínicos, complementares e à análise histológica dos tecidos afetados. As manifestações bucais observadas nesses pacientes, associadas a AI, incluíram alterações na dentina, mordida aberta anterior, hiperplasia gengival e lesões periapicais. Histologicamente verificou-se a presença de esmalte hipoplásico com alteração em sua estrutura prismática, dentina interglobular com vários graus de comprometimento, calcificações associada a ilhas epiteliais tanto na gengiva quanto no folículo pericoronário. Dentre as alterações de outros órgãos e sistemas observados nesses pacientes, os exames médicos detectaram distúrbios na mineralização óssea, desordens neurológicas, auditivas e renais. As manifestações bucais associadas às alterações de outros órgãos e sistemas descritas nessas famílias estudadas nunca foram relatadas na literatura. Assim, a partir da caracterização fenotípica dessas duas famílias sugerem-se estudos moleculares para melhor entender as bases moleculares da AI sindrômica nessas famílias.

## **ABSTRACT**

Amelogenesis imperfecta (AI) is a group of hereditary disorders that primarily affects the formation and mineralization of dental enamel. The term amelogenesis imperfecta usually defines an isolated trait without any systemic involvement. However, more recently, it has been also used to indicate the presence of generalized enamel defects in several syndromes or systemic conditions. The aim of this study was to characterize the oro-dental features of two families with an autosomal recessive form of AI treated in the Oral Care Center for Inherited Diseases, University Hospital of Brasilia. All individuals underwent clinical and complementary examination, and histological analysis of the affected tissues. Besides AI, other oral manifestations were observed in these patients including alterations in dentin, anterior open bite, gingival hyperplasia and periapical lesions. Histological analyses revealed the presence of enamel hypoplasia with structural changes in its prismatic organization, interglobular dentin with varying degrees of commitment, calcifications associated with epithelial islands in both the gum and in the dental follicle. Among the other organ systems alterations observed in these patients, medical examinations detected bone mineralization disorders, neurological, hearing and nephrological disorders. Oral manifestations associated with changes in other organs and systems described in these families have never been reported in the literature. Further molecular genetics analyses will be necessary in order to better understand the molecular basis of the syndromic AI in these families.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Heredograma da Família I.....	25
Figura 2 - Fotos ao exame clínico e raio X de ossos do Paciente 1 .....	26
Figura 3 - Tomografia computadorizada de crânio do Paciente 1 .....	27
Figura 4 - Manifestações bucais ao exame clínico e radiográfico do Paciente 1.....	31
Figura 5 - Tomografia computadorizada por feixe cônico do Paciente 1 .....	32
Figura 6 – Fotos ao exame clínico e raio X de ossos do Paciente 2 .....	34
Figura 7 - Tomografia computadorizada de crânio (TC) do Paciente 2 .....	35
Figura 8 – Manifestações bucais ao exame clínico e radiográfico do Paciente 2.....	39
Figura 9 - Tomografia computadorizada por feixe cônico do Paciente 2 .....	40
Figura 10 – Análise histológica amostras da Família I .....	42
Figura 11 - Análise histológica amostras da Família I (continuação).....	43
Figura 12 - Heredograma da Família II.....	44
Figura 13 – Fotos ao exame clínico do Paciente 3.....	45
Figura 14 – Manifestações bucais ao exame clínico e radiográfico do Paciente 3.....	48
Figura 15 – Fotos ao exame clínico do Paciente 4.....	49
Figura 16 – Manifestações bucais ao exame clínico e radiográfico do Paciente 4.....	52

Figura 17 – Fotos ao exame clínico, tomografia de crânio e raio X de ossos do Paciente 5.....	53
Figura 18 – Manifestações bucais ao exame clínico e radiográfico do Paciente 5.....	56
Figura 19 - Análise histológica amostras da Família II .....	57
Figura 20 – Análise histológica amostras da Família II (continuação).....	58

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Sequência de erupção da dentição permanente. ....	20
Quadro 2 - Resumo dos resultados dos exames bioquímicos Paciente 1.....	28
Quadro 3 - Resumo dos resultados dos exames bioquímicos do Paciente 2.....	36
Quadro 4 - Resumo dos resultados dos exames bioquímicos do Paciente 3.....	46
Quadro 5 - Resumo dos resultados dos exames bioquímicos do Paciente 4.....	50
Quadro 6 - Resumo dos resultados dos exames bioquímicos do Paciente 5.....	54
Quadro 7 - Resumo dos resultados da caracterização fenotípica .....	59

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

**AI** = Amelogênese Imperfeita

**AIAR** = Amelogênese Imperfeita Autossômica Recessiva

**AMELX** = Gene que codifica a proteína amelogenina

**ATM** = Articulação temporo-mandibular

**DNA** = Ácido desoxinorribonucleico

**cDNA** = DNA complementar

**CONEP** = Comitê Nacional de Ética em Pesquisa

**CNNM4** = Gene que codifica a proteína transportadora do metal *cyclin M-4*

**DISC1** = *Disrupted in schizophrenia 1*

**EDTA** = ácido etilenodiamino tetra-acético

**ENAM** = Gene que codifica a proteína enamelinina

**ERS** = *Enamel Renal Syndrome*

**FAM20A** = Gene que codifica a proteína *Family with sequence similarity 20, member A*

**FAM20B** = Gene que codifica a proteína *Family with sequence similarity 20, member B*

**FAM20C** = Gene que codifica a proteína *Family with sequence similarity 20, member C*

**FAM83H** = Gene que codifica a proteína *Family with sequence similarity 83, member H*

**FGF23** = *Fibroblastic growth factor receptor 1*

**FHHNC** = Hipomagnesemia e hipercalciúria familiar com nefrocalcinose

**HE** = Hematoxilina e Eosina

**HUB** = Hospital Universitário de Brasília

**IO**= idade óssea

**Kg** = Quilograma

**KLK – 4** = Gene que codifica a proteína kaliceína – 4

**KTZS** = Síndrome de Kohlschutter-tonz

**KV**= quilovolt

**MEV** = Microscopia eletrônica de varredura

**mg/kg/dia** = Miligrama por quilograma por dia

**mg/dl** = Miligrama por decilitro

**MMNP 20** = Gene que codifica a proteína enamelinina

**MMMP – 20** = Proteína enamelinina

**NC** = Nefrocalcinose

**nm** = Nanômetro

**OMIM** = *Online Mendelian Inheritance in Man*

**PBS** = solução de tampão fosfato

**PTH** = Hormônio da paratireóide

**ROGDI** = Gene que codifica a proteína *leucine-zipper*

**TRP** = Taxa de reabsorção de fósforo

**UI** = Unidades internacionais

**UNB** = Universidade de Brasília

**WDR72** = Gene que codifica a proteína *WD repeat domain 72*

**µg/ml** = Micrograma por mililitro

**µl** = Microlitro

**3D** = são imagens de duas dimensões elaboradas de forma a proporcionarem a ilusão de terem três dimensões.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	2
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	5
2.1 DESENVOLVIMENTO DO ESMALTE .....	5
2.2 AMELOGÊNESE IMPERFEITA .....	6
2.3 AMELOGÊNESE IMPERFEITA E SÍNDROMES .....	8
2.3.1 Síndrome de Kohlschutter -tonz (OMIM #226750).....	9
2.3.3 Síndrome de Jalili: Distrofia de retina e AI (OMIM # 217080) .....	11
2.3.4 Síndrome AI/Platispondilia (OMIM 601216).....	12
2.3.5 Síndrome AI e Fibromatose Gengival(OMIM # 614253) .....	13
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	15
3.1 OBJETIVO GERAL .....	15
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	15
<b>4 PACIENTES E METODOLOGIA</b> .....	16
4.1 PACIENTES: .....	16
4.1.1 Exame clínico geral e exames complementares .....	16
4.1.2 Exame clínico odontológico.....	17
4.1.3 Critérios diagnósticos: .....	19
4.1.4 Exames odontológicos complementares: .....	21
4.2 ANÁLISE HISTOLÓGICA DOS TECIDOS MOLES:.....	21
<b>5. RESULTADOS</b> .....	24
5.1 FAMÍLIA I .....	24

5.1.1 Paciente 1 .....	25
5.1.2 Paciente 2 .....	32
5.1.3 Análise histológica das amostras Família I: .....	41
5.2 FAMÍLIA II .....	43
5.2.1 Paciente 3 .....	44
5.2.2 Paciente 4 .....	49
5.2.3 Paciente 5 .....	53
5.2.4 Análise histológica das amostras Família II .....	57
6. DISCUSSÃO .....	60
7. CONCLUSÕES .....	70
8. BIBLIOGRAFIA.....	71
ANEXO 1 – PARECER CONEP 1440/2001 .....	82
ANEXO 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	83
ANEXO 3 – FICHA CLÍNICA .....	84

## 1 INTRODUÇÃO

Amelogênese imperfeita (AI) representa um grupo heterogêneo de condições hereditárias que afeta a formação do esmalte dentário, alterando sua estrutura e aparência clínica (1). A prevalência varia nas diferentes populações, sendo de 1:700, na Suécia, e de 1:14.000, nos EUA (2, 3), sem relato de sua prevalência no Brasil. A AI pode se manifestar de forma isolada, quando afeta apenas o esmalte dentário, ou como parte de síndromes (4, 5).

De acordo com a classificação de Witkop (1988), tradicionalmente utilizada, são aceitos na literatura 14 subtipos de AI, caracterizados de acordo com o fenótipo e o modo de herança (6). Essa classificação baseia-se primariamente nos fenótipos dentários, identificando os defeitos do esmalte, que podem ser divididos clinicamente em hipoplásicos (defeito quantitativo - alterações na espessura e/ou na forma do esmalte), hipomaturados (defeito qualitativo - alterações na dureza e coloração) ou hipocalcificados (defeito qualitativo – esmalte com espessura normal, mas facilmente perdido) (6, 7). Quanto ao modo de herança, a AI pode ser autossômica dominante, autossômica recessiva, ligada ao cromossomo X ou esporádica (8).

Com os achados recentes em relação à etologia molecular de algumas famílias com AI, a literatura tem sugerido mudanças na classificação associando-se os achados moleculares e bioquímicos ao fenótipo (5, 9, 10).

Atualmente já se conhece a etiologia de algumas formas da AI isolada e de algumas formas relacionadas a síndromes. Até o presente momento, 7 genes (*AMELX*, *ENAM*, *MMP-20*, *KLK-4*, *FAM83H*, *WDR72* e *C4ORF26*) foram identificados por terem associação com a forma isolada da AI. Esses genes codificam proteínas e proteinases expressas durante as diferentes fases do desenvolvimento do esmalte (7, 11, 12).

Mutações no gene *AMELX* (OMIM 300391) que codifica a amelogenina são responsáveis pelo tipo de AI ligada ao cromossomo X (13, 14) enquanto mutações no gene *ENAM* (OMIM# 606585) que codifica a proteína amelina relacionam-se com o modo de herança autossômico da AI, tanto com a forma dominante quanto recessiva (15, 16). O padrão autossômico recessivo também pode estar associado com mutações nos genes *MMP-20* que codifica a amelisina (OMIM# 604629) (17,

18) e kallikreina -4 (*KLK - 4*; OMIM 603767) (19, 20), que codificam proteinases consideradas essenciais para o processamento proteolítico da matriz extracelular do esmalte.

Recentemente, mutações também têm sido identificadas no gene *FAMH83* (OMIM# 611927) (21-23), relacionadas à forma hipocalcificada da AI de herança autossômica dominante. Já o gene *WDR72* (12, 24, 25), são associadas à forma hipomaturada (também conhecida como hipomineralizada) autossômica recessiva. Apesar de estudos em animais sugerirem que *FAMH83* e *WDR72* participam da amelogênese, esses dois genes não codificam proteínas ou proteinases conhecidas da matriz do esmalte, e foram identificadas no citoplasma dos ameloblastos, e não se conhece suas funções durante a amelogênese (22, 24, 25).

Como mencionado, estudos demonstram que a AI também pode estar associada a outras alterações sistêmicas, como nas síndromes: Trichodonto-osseous (26) (OMIM# 190320) caracterizada por alterações no cabelo, taurodontismo, AI e esclerose óssea; Kolhlschutter-Tonz (27) (OMIM# 226750) caracterizada por epilepsia, demência progressiva e atraso do desenvolvimento neuro-motor e AI; Platispondilia / AI (28) (OMIM 601216) caracterizada por displasias esqueléticas com achatamento do corpo das vértebras, alterações nas distâncias intervertebrais e AI; AI / nefrocalcinose (29, 30) (OMIM# 204690) caracterizada por deposição de cálcio no parênquima renal e AI; AI/ distrofia de retina (31) (OMIM# 217080) caracterizada pela redução da acuidade visual e diferenciação de cores, fotofobia, pobre visão noturna e AI; e Síndrome de Heimler (32) (OMIM# 234580) caracterizada por perda auditiva neurosensorial, alterações das unhas e AI.

Devido ao possível envolvimento sistêmico, diversos autores têm sugerido que o diagnóstico da AI seja abordado de forma multidisciplinar, envolvendo vários profissionais da saúde, para a detecção de possíveis doenças correlacionadas com a anomalia. Além disso, as alterações dentárias podem ser úteis para o diagnóstico precoce de doenças sistêmicas assintomáticas na fase inicial (30).

Estudos de caracterização genotípica de famílias com AI têm demonstrado que menos de 50% dos casos, estão associados a mutações em genes já conhecidos (33, 34). Isso sugere que diversos genes ainda não são conhecidos e que é necessária uma minuciosa identificação das características clínicas dentárias e sistêmicas dos pacientes afetados, para uma melhor abordagem a nível molecular,

para se estabelecer uma correlação fenótipo-genótipo mais detalhada e também, para se conhecer de forma completa a patologia.

Nos últimos quatro anos, em função dos avanços na tecnologia de pesquisas moleculares, como o método *whole-exome sequencing*, a etiologia molecular de algumas formas da AI associada a síndromes tem sido identificada, principalmente as de herança autossômica recessiva. Foram identificadas mutações no gene *FAM20A* (OMIM# 611062) (35, 36) na síndrome AI/ hiperplasia gengival; no gene *ROGDI*, na síndrome Kolhlschutter-Tonz (37, 38), e no gene *CNNM4*, na síndrome de Jalili (39, 40) (OMIM# 217080).

O objetivo do presente trabalho é realizar a caracterização fenotípica de duas famílias com hipótese diagnóstica de AI autossômica recessiva associada a outras alterações sistêmicas, como um prelúdio de um futuro estudo sobre as bases moleculares envolvidas na etiologia da doença nessas famílias.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 DESENVOLVIMENTO DO ESMALTE

O esmalte dentário é o tecido mais duro e mineralizado do corpo humano, composto por mais de 95% de minerais (cristais de hidroxiapatita) e apenas cerca de 1% de matéria orgânica e água (41). Esse tecido não vital que recobre a parte mais externa da coroa dentária é formado por células de origem epitelial que se reduzem após a mineralização do esmalte, fazendo com que o esmalte seja considerado incapaz de ser reparado ou regenerado (42).

A morfogênese do esmalte dentário se inicia por interações bem coordenadas entre o epitélio, que cobre os processos faciais, e o mesênquima, com células derivadas da crista neural (ecto-mesênquima). As células desses tecidos embrionários interagem e se comunicam sequencialmente e reciprocamente por meio de fatores de transcrição, de crescimento e moléculas de adesão, induzindo a diferenciação celular, em ordem a permitir o desenvolvimento das fases de botão, capuz, campânula e sino da formação dentária, processo conhecido como odontogênese. Durante a fase de capuz, as células do epitélio do órgão do esmalte se dividem em epitélio interno e externo. Na interface entre o epitélio interno e o mesênquima serão depositados o esmalte e a dentina. As células do epitélio interno passam por alterações estruturais, diferenciando-se em ameloblastos, responsáveis pela formação do esmalte, ou amelogênese. A amelogênese se inicia após a secreção inicial da matriz dentinária pelos odontoblastos, células que se diferenciam do mesênquima e que serão responsáveis pela formação da dentina (43-45)

A amelogênese ocorre, basicamente, em três estágios que podem ser divididos em razão das características morfofuncionais dos ameloblastos: pré-secreção, secreção e maturação. Na fase de pré-secreção, as células epiteliais sofrem alterações morfológicas que as tornam capazes de secretar proteínas. Na fase de secreção, os ameloblastos secretam uma camada regular de matriz orgânica composta por proteínas amelogeninas (60-90%) e não amelogeninas (10-40%). Cerca de 30% dessa camada, ainda durante a fase de secreção, começa a ser

degradada para dar lugar ao futuro esmalte. Ainda não se sabe ao certo como se inicia a formação dos cristais de hidroxiapatita no espaço antes ocupado pela matriz orgânica, mas de alguma forma, essas proteínas parecem participar na nucleação e alongamento dos cristais. Após a fase de secreção, inicia-se a fase de maturação do esmalte na qual se processa a fase final de formação dos cristais. Para que os cristais atinjam seu comprimento final, os ameloblastos passam por ciclos de modulação da sua anatomia apical, transitando entre bordas lisas e estriadas permitindo a degradação proteolítica e reabsorção das proteínas e água remanescentes na matriz orgânica do esmalte, favorecendo o influxo de íons fosfato e cálcio e formando cristais (Simmers e Fisher, 1995). Os cristais de apatita formam uma estrutura bem organizada onde os prismas de esmalte são separados por regiões interprismáticas.

## 2.2 AMELOGÊNESE IMPERFEITA

Alterações em uma dessas etapas da amelogênese induzem a defeitos do desenvolvimento do esmalte. Fatores sistêmicos ou locais - ambientais, idiopáticos ou genéticos - podem influenciar a formação do esmalte (4, 46). Quando genéticos, os defeitos que afetam a estrutura e a aparência clínica do esmalte dentário são designados Amelogênese Imperfeita (AI) e podem estar associados ou não a outra alteração sistêmica (5). A AI pode afetar todos ou alguns dentes tanto na dentição decídua como na permanente. O diagnóstico clínico dessa condição envolve vários fatores, como a exclusão de fatores ambientais que possam influenciar a formação do esmalte, excluindo a correlação dos defeitos dentários com distúrbios durante a cronologia do desenvolvimento. Inclui, ainda, o estabelecimento da forma de herança da doença e o reconhecimento das manifestações clínicas dentárias (1).

Poucos estudos relatam a prevalência da AI, a qual varia em diferentes populações, alcançando de 1 em 14.000 nos EUA (3) até 1 700 indivíduos na Suécia (2). A AI foi primeiramente classificado clinicamente em três tipos (Hipoplásico, Hipomaturado e Hipocalcificado) e subdividida em 14 subtipos de acordo com características clínicas adicionais e o modo de herança (6). A AI pode ser herdada

como um traço autossômico dominante, autossômico recessivo ou ligado ao cromossomo X. Um amplo estudo epidemiológico com 51 famílias suecas afetadas por AI mostrou que aproximadamente 6% dos casos eram ligados ao cromossomo X, 63 % autossômica dominante, 12% autossômica recessiva, e os outros 19 % eram casos esporádicos (47).

A AI do tipo hipoplásica ocorre devido a alterações na espessura da camada de matriz orgânica secretada, formando um esmalte fino, mas duro. A forma hipomaturada se caracteriza pela não remoção apropriada da matriz orgânica após os cristais de esmalte atingirem seu comprimento final, levando à formação do esmalte macio e amarelado, mas de espessura normal. Na forma hipocalcificada a falha na mineralização é mais extrema e o dente tem seu esmalte facilmente perdido após a sua erupção e apresenta coloração amarelo-alaranjado (3, 6, 48). No entanto, essa classificação não tem sido suficiente para categorizar a diversidade clínica dos fenótipos encontrados no esmalte de indivíduos com AI (10). Por isso, Aldred e Crawford (1995) propuseram uma nova forma de classificação, baseada primariamente no modo de herança, suas alterações moleculares e prováveis alterações bioquímicas, seguido pelas alterações clínicas e radiográficas, observando secundariamente o fenótipo (9).

A etiologia da AI tem sido associada principalmente a mutações em genes que codificam proteínas e proteinases da matriz do esmalte. Até hoje já foram identificadas associada a AI mutações na amelogenina (*AMELX*; OMIM# 300391) (13, 49), enamelinina (*ENAM*; OMIM# 606585) (16, 50), enamelinina (*MMP - 20*; OMIM#604629) (17), e kaliceína (*KLK - 4*; OMIM# 603767) (19, 51). Também têm sido relacionadas à AI mutações nos genes *FAMH83* (OMIM# 611927)(21-23), *WDR72* (24, 25) (OMIM#613211), e mais recentemente o gene *C4ORF26* (OMIM# 614829) (PARRY *et al.*, 2012). Esses três últimos genes não tinham sido previamente associados à amelogênese e sua função na formação do esmalte não foi descrita.

Apesar de mutações nesses genes estarem relacionados a AI isolada, é possível que esses genes estejam envolvidos de forma tão sutil em outros tecidos que não sejam detectados (24). Estudos de expressão gênica têm mostrado que o gene *WDR72* também é expresso em diferentes tecidos, como em células ósseas e matriz dentinária de camundongos (24, 25). Por meio da técnica RT-PCR, observou-

se expressão nos olhos, rins e fígado do gene homólogo ao *FAM83H* em ratos (22). O cDNA do gene *KLK - 4* tem sido identificado no cérebro, próstata, glândula adrenal, útero, fígado, além da matriz do esmalte, tanto no ameloblasto como odontoblasto (52). Apesar desses genes candidatos da AI estarem envolvidos com o fenótipo de AI isolada (sem comprometimento sistêmico) várias síndromes estão associadas a defeitos no esmalte, sugerindo que existam genes envolvidos tanto na formação do esmalte como na formação de outros órgãos (53, 54).

Estudos tem mostrado que os genes já conhecidos relacionados a AI são responsáveis por menos da metade dos casos identificados da anomalia. Ozdemir (2005) constatou que dentre as 15 famílias caracterizadas com AI hipomaturada recessiva, 14 não tinham mutações nos genes, *MMP-20* e *KLK-4*, candidatos a esse fenótipo (51). Reafirmando essa conclusão, Kim *et al.* (2006) identificou que os seis genes candidatos conhecidos para AI foram responsáveis por menos da metade das 24 famílias com AI caracterizadas em sua pesquisa (33). Recentemente, o mesmo grupo expandiu para 39 o número de famílias e confirmou esses resultados (55), indicando que outros genes não conhecidos estão envolvidos na etiologia da AI. Esses genes podem também estar envolvidos na etiologia molecular de alterações em outros órgãos e sistemas.

## 2.3 AMELOGÊNESE IMPERFEITA E SÍNDROMES

Diversos estudos mostram que a AI pode estar associada a síndromes: Trichodonto-osseous (56) (OMIM #190320); síndrome de Kolhlschutter-Tonz (27) (OMIM# 226750); AI / nefrocalcinose (29, 30) (OMIM 204690); Platispondilia / AI (28, 57) (OMIM 601216) e AI/ distrofia de retina (31) (OMIM # 217080); Síndrome de Heimler (32) (OMIM 234580). Existem também alguns casos esporádicos relatados na literatura associando a AI a outras alterações como síndrome ameloonychohypohidrotic (58) (OMIM %104570), carcinoma neuroendócrino de glândulas salivares, deficiência auditiva sensorial, e hipoplasia do esmalte (59) (OMIM 603641), Displasia Rizomélica, escoliose e Retina Pigmentosa (60) (OMIM 610319). Outras síndromes estão associadas apenas a hipoplasias de esmalte, não

sendo detalhadamente descrita a anomalia dentária no esmalte (61, 62) (OMIM #189500), Laringo-onico-cutaneos (63, 64) (OMIM# 245660), *Weyers Acrofacial Dysostosis* (65)(OMIM #193530) e a displasia oculodento-digital (66) (OMIM #164200).

No presente estudo serão abordadas síndromes associadas a AI com modo de herança autossômica recessiva, padrão de herança encontrado nas famílias estudadas.

### **2.3.1 Síndrome de Kohlschutter-tonz (OMIM #226750)**

A síndrome de Kohlschutter-Tonz (KTZS; OMIM #226750), de herança autossômica recessiva, é caracterizada clinicamente por episódios de epilepsia e espasmos musculares, regressão do desenvolvimento psicomotor, demência progressiva e AI (67).

O primeiro caso relatado em 1974 por Kohlschutter, Tonz, e colaboradores, reportava-se a uma família suíça não consanguínea. Quatro dos dez irmãos apresentavam crises de epilepsia, demência, e dentes amarelados. No caso índice, a descoloração dos dentes decorreu da hipoplasia do esmalte. Radiograficamente também foi observada reduzida camada de esmalte na dentição decídua e permanente do caso índice. Em todos os irmãos afetados, os episódios de convulsões iniciaram-se subitamente, após uma infância normal, entre onze meses e quatro anos, acompanhados por febre. Todos vieram a óbito, entre os sete e nove anos, devido a complicações na epilepsia (68).

Desde então, 25 paciente em 11 famílias foram descritos (27, 69, 70). Os indivíduos afetados tiveram epilepsia, seguida de regressão psicomotora, ou atraso no desenvolvimento logo após o nascimento, associados à AI hipoplásica (67).

A gravidade e o desenvolvimento clínico da doença podem variar em uma mesma família. Estudos demonstraram que é possível identificar situações em que um irmão pode ter apenas dois episódios isolados de epilepsia, enquanto outro irmão apresenta rigorosa epilepsia, refratária ao tratamento (69). Nos casos mais severos, os indivíduos não adquiriram a capacidade de falar ou deambular sozinhos,

e alguns desenvolveram tetraplegia (71).

Na síndrome de KTZS, o esmalte é caracterizado por ser bem fino, macio, áspero e de coloração amarelo-amarronzada. Por meio de uma avaliação histológica, identificou-se um esmalte pobremente formado, com estrutura prismática irregular e proeminente hipoplasia, consistente com amelogênese imperfeita hipoplásica (71).

Recentemente, em três famílias não relacionadas com KTZ, Schossing e colaboradores (2012) identificaram mutações em homozigose ou heterozigose composta no gene *ROGDI* (OMIM \* 614574) (37). De modo simultâneo e independente, Mory e colaboradores (38) encontraram uma mutação homozigótica *nonsense* no mesmo gene, em 14 pacientes de 5 famílias afetadas com a síndrome. A exata função do gene *ROGDI* e a proteína codificada por ele é desconhecida. Estudos mostram uma alta expressão desse gene no cérebro e sugerem interações entre *ROGDI* e *DISC1* (OMIM 605210) uma proteína envolvida na esquizofrenia e nos processos de estabilidade citoesquelética e organização, migração neuronal, transporte intracelular e divisão celular (72). Não existem estudos mostrando a função de *ROGDI* na formação dentária e na amelogênese.

### **2.3.2 Síndrome AI e Nefrocalcinose (OMIM 204690)**

AI/Nefrocalcinose ou também conhecida como *Enamel Renal Syndrome* (ERS; OMIM 204690) é uma doença autossômica recessiva caracterizada principalmente pela amelogênese imperfeita hipoplásica e nefrocalcinose (NC). A NC, por sua vez, é distinguida por calcificações difusas nas pirâmides medulares do parênquima renal, resultantes de um aumento na concentração de cálcio, urato ou oxalato. Também pode estar associada com a diminuição de magnésio e/ou citrato, que age na inibição da cristalização (73).

Em 1972, MacGibbon relatou um caso envolvendo dois irmãos com ausência de esmalte, nefrocalcinose, e com um metabolismo de cálcio aparentemente normal. Um irmão morreu aos 26 anos de idade, com severa insuficiência renal ocasionada pela nefrocalcinose; o outro desenvolveu múltiplas infecções urinárias, hipertensão e

insuficiência renal (74).

Geralmente, a NC é assintomática e sua manifestação pode ser clínica, a nível funcional, ou subclínica. O diagnóstico é realizado por meio de radiografia simples, tomografia, ecografia ou ultrassonografia (73). Algumas patologias sistêmicas podem estar associadas à NC, tais como hiperparatireoidismo primário, acidose tubular renal distal (ATRd) (OMIM 179800, 267200), hiperoxalúria, hipomagnesemia e hipercalciúria familiar primária (FHHNC) (OMIM 248250) e doença de Dino (OMIM 300009). Alterações dentárias também já foram descritas em associação com a FHHNC (75).

Os dentes apresentam coloração amarelo-amarronzada, com superfície áspera e granular, sem contato entre os dentes adjacentes e radiograficamente sem evidências de esmalte. Outras manifestações bucais incluíram cálculos pulpaes, atrasos nas erupções dentárias, hiperplasia gengival e aumento do espaço pericoronário (76, 77). Análises histológicas do folículo pericoronário de pacientes com a síndrome demonstraram uma hiperplasia do ectomesênquima odontogênico com várias calcificações ectópicas, e ilhas de epitélio odontogênico, formadas principalmente por células claras (30).

Em estágios mais avançados da doença, há um risco potencial que a NC não tratada ocasione uma falência renal progressiva e morte (29, 76, 78). Entretanto, um diagnóstico precoce pode oferecer bons prognósticos (79).

Até o presente, a etiologia molecular é desconhecida.

### **2.3.3 Síndrome de Jalili: Distrofia de cones e bastonetes e AI (OMIM # 217080)**

Em 1988, Jalili e Smith reportaram uma extensa família árabe (29 indivíduos), provenientes da Faixa de Gaza, com a combinação da distrofia de retina, fotofobia e nistagmo, iniciados nos dois primeiros anos de vida, bem como AI. O modo de herança era claramente autossômico recessivo. A distrofia de cones e bastonetes caracterizava-se pela progressiva perda dos fotorreceptores da retina (cones e bastonetes), reduzindo a acuidade visual, visão de cores, e produzindo fotofobia e pobre visão noturna. Essa alteração ocular foi associada à amelogênese imperfeita

hipoplásica/mineralizada (OMIM # 217080) (31).

Clinicamente, os dentes aparentavam superfície áspera e coloração amarelo-amarronzada. Radiograficamente, não havia diferença de densidade entre esmalte e dentina. Numa análise histológica, os dentes apresentaram ausência ou fina camada de esmalte dentário(31).

A segunda família, de Kosovo, com distrofia de retina e AI, foi descrita em 2004 (80). Os dois irmãos afetados apresentaram, nos primeiros anos de vida, nistagmo, profunda fotofobia e reduzida acuidade visual. Clinicamente, os dentes decíduos e permanentes, encontravam-se afetados com fenótipo semelhante ao descrito por Jalili e Smith (1988).

Análises de ligação e de segregação mapearam o *locus* da doença no cromossomo 2q11 (80, 81). Parry e colaboradores, em 2009, estudaram as duas famílias originalmente reportadas e acrescentaram cinco famílias não relatadas, de diversas origens geográficas, com distrofia de retina e AI. A caracterização fenotípica demonstrou achados dentários e oculares consistentes entre as famílias. Identificou-se nove mutações homozigóticas e heterozigóticas compostas no gene *CYCLIN M4* (*CNNM4*; OMIM\*607805) das sete famílias. Simultaneamente, Polok e colaboradores reportaram mutações homozigóticas em outras famílias (39, 40).

Esse gene parece estar responsável por codificar um transportador de magnésio, envolvido tanto na função visual como na mineralização do esmalte (39, 40). Os autores sugerem uma alteração na homeostase de íons nesses tecidos, no entanto a função do *CNNM4* na patogênese da síndrome continua não elucidada.

#### **2.3.4 Síndrome AI e Platispondilia (OMIM 601216)**

Em 1996, Verloes e colaboradores descreveram dois irmãos de pais consanguíneos com uma aparente nova forma de displasia esquelética com platispondilia e AI. Associada a um leve retardo no crescimento, os dois pacientes apresentaram platispondilia generalizada, com diminuição da distância intervertebral e interpediculares, formato retangular dos corpos vertebrais, provocando hérnias (braquiolmia). Um dos pacientes era completamente edêntulo, porque todos os

dentes haviam sido removidos após um ano de erupção. Seu irmão apresentava os dentes permanentes, mas eram amarelados, com quase completa perda de esmalte (28).

Em 1994, um caso semelhante já havia sido descrito em um paciente de origem paquistanesa, filho de pais consanguíneos, com AI, taurodontismo, platispondilia e baixa estatura (57).

Em 2009, Bertola e colaboradores descreveram 3 pacientes afetados (dois irmãos e um paciente não relacionado), de casamentos consanguíneos, apresentando-se com braquiolmia e defeito de esmalte. As manifestações bucais encontradas eram heterogêneas. Na primeira família, um paciente tinha oligodontia e hipoplasia de esmalte; já o irmão mais novo, tinha amplos espaços entre os dentes; hipoplasia de esmalte, agenesia dos segundos pré-molares superiores e inferiores e retenção de alguns dentes decíduos. Na segunda família o paciente apresentava atraso na erupção dos dentes permanentes, AI, e taurodontismo (82).

Até o presente momento, a etiologia molecular da síndrome não é conhecida.

### **2.3.5 Síndrome AI e Fibromatose Gengival(OMIM # 614253)**

Uma síndrome autossômica recessiva associando AI e hiperplasia gengival, conhecida como fibromatose gengival quando herdada, foi descrita por Martelli junior e colaboradores, em 2008. Essa síndrome foi caracterizada principalmente por hiperplasia gengival e AI hipoplásica, mas outras características como calcificações pulpares, atraso na erupção dentária, anomalias da morfogênese dentária como a dilaceração das raízes, também foram reportadas (83).

O primeiro caso relatado descreveu quatro pacientes de três gerações de uma família consanguínea brasileira, com crescimento gengival que cobria parcialmente a coroa dentária de todos os dentes. Os dentes erupcionados apresentavam coloração amarelada, com diastemas, e fina camada de esmalte com dureza normal. Radiograficamente, não havia diferença de densidade entre o esmalte e a dentina. Observou-se calcificações pulpares coronárias, bem como dilaceração das raízes e atraso eruptivo. Histologicamente, a biópsia da gengiva

mostrou aumento das fibras colágenas em várias direções. Na submucosa, do tecido gengival, foram observadas muitas calcificações ectópicas esféricas, com epitélio semelhante ao epitélio odontogênico. Por imunorreatividade confirmou-se a origem odontogênica das ilhotas epiteliais. Calcificações e células epiteliais com aparência similar também foram visualizadas na biópsia de folículo hiperplásico (83). Esses pacientes também apresentaram, radiograficamente, alterações nos seios paranasais, aumento da espessura da mucosa e radiopacidade no seio maxilar, sem sinais clínicos (84)

Pelo método *whole-exome sequencing*, O'Sullivan e colaboradores, em 2011, identificaram uma mutação homozigótica *nonsense* no cromossomo 17q24.2, exon 2 do gene *FAM20A* (MIM\*6111062), na família descrita anteriormente por Martelli-Júnior (36). Recentemente, outras mutações no gene *FAM20A* foram identificadas em quatro famílias com o mesmo fenótipo. Três mutações homozigóticas em três famílias e dupla mutação em heterozigose em uma quarta família foram identificadas (35). Muitos outros estudos reportaram manifestações bucais similares em famílias com AI e, provavelmente, representam casos adicionais à síndrome (85-88).

A proteína *FAM20A* é membro de uma família de proteínas relatadas denominadas de *family with sequence similarity 20* (FAM20) com três membros (*FAM20A*, *FAM20B* e *FAM20C*) em mamíferos. Até o presente, suas funções não são claramente compreendidas, mas sugere-se que a família FAM20 representa uma nova família de proteínas com atribuições potenciais na regulação, diferenciação e função da hematopoiese em outros tecidos. Aparentemente, o *FAM20A* é expresso em um conjunto mais limitado de tecidos humanos do que os demais membros da família (89). O'Sullivan e colaboradores, em 2011, realizaram uma hibridização *in situ* e análise de imunolocalização do *FAM20A* nos tecidos dentários e gengivais, mostrando sua expressão na gengiva e nos ameloblastos. Estes estudos sugerem que essa proteína tem uma função fundamental no desenvolvimento do esmalte e da gengiva (36).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

O objetivo do presente trabalho é realizar a caracterização fenotípica de cinco pacientes atendidos e em acompanhamento na Clínica de Atendimento a Pacientes Portadores de Anomalias Dentárias do Hospital Universitário de Brasília (HUB), da Universidade de Brasília (UNB) com amelogenese imperfeita autossômica recessiva e alterações sistêmicas, sugerindo quadros sindrômicos.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1 - Descrever as manifestações bucais nos pacientes com Amelogenese Imperfeita autossômica recessiva e alterações sistêmicas, em acompanhamento na Clínica de Atendimento de Pacientes com Anomalias Dentárias do Hospital Universitário.

2 - Descrever os problemas sistêmicos desses pacientes acompanhados por serviços do Hospital Universitário de Brasília, abordando alteração na função renal, alterações visuais, auditivas, ósseas e metabólicas.

3 - Realizar análise histológica em dentes e tecidos moles de pacientes afetados, com indicação terapêutica de exodontia e/ou biópsia.

## **4 PACIENTES E METODOLOGIA**

O presente estudo tem aprovação da Comissão Nacional de Ética e Pesquisa (CONEP) do Ministério da Saúde, e aprovado em 22 de novembro de 2001, nos termos do Parecer 1440/2001, registro 3120 (Anexo 1).

### **4.1 PACIENTES:**

Os indivíduos participantes desse projeto de pesquisa foram atendidos na Clínica de Atendimento a Pacientes Portadores de Anomalias Dentárias do Hospital Universitário de Brasília (HUB), no período de 2007 a 2011, após assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido. Todos foram submetidos a exame clínico odontológico e a exames complementares. Participantes com diagnóstico de AI e suspeita de comprometimento sistêmico e alterações em outros órgãos e sistemas foram encaminhados para o serviço de genética clínica do Hospital Universitário de Brasília (HUB), no entanto, algumas famílias foram referidas da clínica de genética médica devido à aparência dos dentes, sendo o exame médico inicial realizado nessa clínica para a investigação de suspeita de síndromes.

#### **4.1.1 Exame clínico geral e exames complementares**

O exame médico inicial dos casos índices foi realizado por médicos geneticistas do ambulatório de genética médica do HUB de onde foram encaminhados para a Clínica de Anomalias Dentárias do HUB. Já pacientes atendidos na clínica de Anomalias dentárias com suspeita de comprometimento sistêmico e Amelogênese Imperfeita autossômica recessiva foram encaminhados para o ambulatório de genética médica do HUB.

Os dados usados nesse estudo foram coletados do registro do prontuário

médico geral do HUB a partir de todos os exames médicos realizados no ambulatório de genética clínica, ambulatório de endocrinologia pediátrica, serviço de nefrologia pediátrica, ambulatório de otorrinolaringologia e oftalmologia do HUB.

Exames complementares gerais, bioquímicos de sangue e urina, gasometria venosa, tomografia de crânio 3D, raios-X de esqueleto, ultrassonografia de rins e vias urinárias e exames especiais como o cariótipo foram solicitados aos pacientes examinados de acordo com cada caso. Os exames audiológicos compreenderam audiometria tonal e vocal, impedânciometria e exame de otoemissões acústicas por produto de distorção. Apenas a segunda família fez exames da eletro-fisiologia ocular. Exames complementares não disponíveis no HUB foram realizados em serviços externos, como a análise bioquímica do ácido cítrico na urina, realizada no laboratório de apoio Hermes Pardini, EXAME Medicina Laboratorial, bem como a avaliação da eletro-fisiologia ocular, por meio do eletro-oculograma e eletrorretinograma, realizado no Centro Brasileiro de Visão (CBV) pelo Dr. Eduardo Campos.

A Dr<sup>a</sup> Íris Ferrari e sua equipe, Dr Luiz Cláudio Gonçalves de Castro, Dr<sup>a</sup> Maria do Carmo Sorci Dias Scher, Dr Fayed Bahamed Júnior, Dr. Eduardo Campos e Dr. Luciano Farage contribuíram na realização e interpretação dos resultados dos exames médicos de forma direta.

#### **4.1.2 Exame clínico odontológico**

Anamnese: Durante a anamnese foi realizada: a identificação dos pacientes, o estudo da história clínica abrangendo história familiar e identificação dos pais (nome, ocupação e naturalidade), a identificação dos avós paternos e maternos (nome, naturalidade) questionando-se o grau de parentesco e consanguinidade familiar. Questionou-se a história da gravidez, abordando os antecedentes pré-natais (número de semanas de gestação, se foram realizados exames pré-natais, se ocorreu alguma intercorrência durante a gestação) e dados do nascimento (tipo de parto, se houve assistência médica, onde ocorreram, quantos dias permaneceu na maternidade), evolução neuromotora após o nascimento (com quantos anos andou e

falou). Inquiriu-se sobre a história da infância, sobre a presença de doenças e medicamentos administrados. Também foi questionado sobre alterações dentárias (idade de erupção dos dentes decíduos, aparência, idade de troca da dentição, se os dentes foram extraídos com dificuldade ou não) e se apresentavam antecedentes familiares com mesmas características. Também foram questionados quanto aos hábitos de higiene oral e exposição ao flúor. Tais informações foram registradas em ficha clínica (Anexo 2).

Para o melhor estudo do modo de herança da Amelogênese Imperfeita o heredograma das famílias foi construído por meio da história familiar relatada pelos participantes da pesquisa, exame clínico e exames complementares. A condição médica e odontológica de familiares já falecidos, não residentes em Brasília, ou que não puderam comparecer ao HUB para o exame foi relatada por seus familiares examinados. O programa utilizado para construção do heredograma foi o *Cyrillic* versão 2.1.1 e 3.1.

Exame físico extrabucal: Foram examinadas a pele, a simetria e o perfil facial, a articulação têmporo-mandibular (ATM) e a presença de alterações; e palpados os linfonodos da região de cabeça e pescoço.

Exame físico intrabucal: Foram examinados os lábios, a mucosa jugal, a gengiva, a região retromolar, a língua e o palato, para verificar a existência ou não de alterações. Para detecção de alterações no esmalte os dentes foram limpos com pasta profilática e taça de borracha em motor de baixa rotação, depois foram secos com auxílio de uma gaze para observação em luz artificial do próprio equipo odontológico. O exame dentário foi realizado com a finalidade de detectar anomalias dentárias e a existência de lesões de cárie, lesões não cariosas, presença de cálculos pulpares, presença de desgastes nos dentes e/ou outras alterações estruturais. Avaliou-se também a natureza de restaurações existentes (satisfatórias ou insatisfatórias). Também houve a investigação da ocorrência de má-oclusão e de outras anomalias dentárias (de número, de forma, de estrutura mineral, transposição de dentes, alterações na cronologia de erupção).

#### **4.1.3 Critérios diagnósticos:**

##### *Amelogênese Imperfeita:*

O diagnóstico de Amelogênese Imperfeita foi realizado a partir da definição de Crawford *et al.* (2007), em que dentes com alteração de desenvolvimento afetando a estrutura e aparência clínica do esmalte de todos ou quase todos os dentes devido a uma condição hereditária, caracteriza a Amelogênese Imperfeita. Essa anomalia pode estar associada a alterações morfológicas e bioquímicas sistêmicas. Podendo tanto a dentição decídua e/ou permanente estarem afetados por alterações no aspecto quantitativo e/ou qualitativo do esmalte tais como hipoplasias e hipomineralização do esmalte.

##### *Agnesia Dentária:*

O diagnóstico de agnesia dentária foi realizado após observação da ausência do elemento dentário por meio do exame clínico e confirmado por exame radiográfico panorâmico, de acordo com a definição de Pindborg (1970) após a exclusão da história de exodontia ou perda por trauma (90).

##### *Atraso na erupção dentária:*

Erupção dentária é o movimento do dente em desenvolvimento dentro e através do osso em direção à mucosa dentária dos maxilares até alcançar o plano oclusal. Para o diagnóstico de atraso na erupção dentária foram utilizados os critérios de Avery (2002) (Quadro 1):

Quadro 1 - Sequência de erupção da dentição permanente.

Dente permanente em ordem de erupção (sequencia)	Começo da calcificação	Completa formação da Coroa (anos)	Aparente início da erupção (anos)	Completa formação da raiz (anos)
Primeiro Molar inferior	Nascimento	3 – 4	6 -7	9 -10
Primeiro Molar superior	Nascimento	4 – 5	6 -7	9 – 10
Incisivo central inferior	3-4 meses	4	6 -7	9
Incisivo central superior	3-4 meses	4 – 5	7 - 8	10
Incisivo lateral inferior	3-4 meses	4 – 5	7 - 8	9 – 10
Incisivo lateral superior	10-12 meses	4 -5	8 - 10	10 -11
Canino inferior	4-5 meses	5 -6	8 - 10	12 – 13
Primeiro pré-molar superior	1-2 anos	6 -7	10 - 12	12 – 14
Primeiro pré-molar inferior	1-2 anos	6 -7	10 - 12	12 – 14
Segundo pré-molar superior	2-3 anos	7 -8	10 - 12	13 – 14
Segundo pré-molar inferior	2-3 anos	7	11 - 13	14 – 15
Canino superior	4-5 meses	6 -7	11 - 13	14 – 15
Segundos molares inferiores	2-3 anos	7 -8	11 - 13	14 – 15
Segundos molares superiores	2-3 anos	7 -8	11 - 13	15 – 16
Terceiro molar inferior	8-10 anos	12 -16	17 - 20	18 – 25
Terceiro molar superior	7-9 anos	12 – 16	17 - 20	18 – 25

*Más-oclusões dentárias:*

Os diferentes tipos de má oclusão dentárias encontradas nos pacientes foram diagnosticados clinicamente de acordo com a definição de Angle (1890), reafirmado por Proffit (2007).

A má oclusão de classe I de Angle é caracterizada por relação ântero-posterior normal dos primeiros molares, mas apresentando a linha de oclusão incorreta por mau posicionamento dentário, por rotações ou outra causas.

A má oclusão de Classe II de Angle é caracterizada por uma discrepância maxilo-mandibular dentária e/ou esquelética no sentido ântero-posterior. Essa discrepância pode ser caracterizada por protrusão maxilar, retrusão mandibular ou uma combinação desses fatores. Onde o molar inferior está distalmente posicionado em relação ao molar superior.

A má oclusão de classe III de Angle é caracterizada pelo molar inferior estar mesialmente posicionado em relação ao molar superior, sem especificação em relação ao molar superior. Vários tipos de combinação esquelética podem compor essa condição: o prognatismo mandibular, a retrusão maxilar ou a combinação de ambos podem ser a etiologia do problema (91).

#### 4.1.4 Exames odontológicos complementares:

Fotos clínicas: Foram realizadas cinco tomadas fotográficas intrabuciais (frontal, lateral direita, lateral esquerda, oclusal superior e oclusal inferior) e duas tomadas extrabuciais (rosto: frente e perfil) para fins de documentação com câmara fotográfica *Canon EOS 300D/ Rebel digital*®.

Exame radiográfico odontológico: O estudo radiológico incluiu radiografia panorâmica, para detectar a presença/ausência de germes dentários, de dentes não erupcionados e de outras anomalias dentárias. Foram feitas telerradiografias em norma lateral, para avaliação do padrão esquelético, dentário e dos tecidos moles.

Todas as radiografias foram digitalizadas em *scanner Epson expression 1680*®.

Exame tomográfico odontológico: A tomografia computadorizada por feixes cônicos utilizando o tomógrafo *I-Cat (Classic e Next Generation), Kavo/Imaging Science International*®, foi realizada para melhor caracterizar as lesões intra-ósseas maxilares e mandibulares.

#### 4.2 ANÁLISE HISTOLÓGICA DE TECIDOS MOLES:

Lesões periapicais, capuz pericoronário e gengiva marginal associada a dentes com indicação terapêutica de exodontia foram coletados cirurgicamente e processados para avaliação histológica (*Axion, Zeiss*) conforme protocolo proposto por De Souza (1998).

Após a fixação dos tecidos em formaldeído 10% tamponado em PBS por período de 24 horas, os tecidos de gengiva e lesões associadas aos dentes extraídos foram seccionadas em amostras com espessura inferior a 3 mm. Após lavagem do material em água corrente, foi realizada desidratação em concentrações crescentes de álcool, os banhos seguiram a concentração 50-70-80-90-95% e finalmente duas mudanças do agente puro por período de 30 minutos em cada álcool, para espécimes dessa espessura. Seguida da diafanização em xilol, primeiro

na proporção 1:1 em xilol e álcool, depois no xilol I e xilol II por 15 minutos em cada um. Após a diafanização foi realizada a inclusão em parafina: primeiro na proporção 1:1 de xilol e parafina por 5 minutos em temperatura de 60 ° C, seguido de mais 30 minutos em temperatura de 50° C; depois foi deixado overnight em parafina I e 2 horas em parafina II em temperatura de 50° C para posterior montagem em cassette devidamente identificado. Depois de resfriados e desinformados os blocos de parafina com as peças incluídas foram cortados utilizando o micrótomo rotativo *Leica RM 2125RT* ® em cortes de 5 µm. Esses cortes foram corados utilizando hematoxilina e eosina (HE) e montados em Entellan®.

Preparo histológico de tecidos mineralizados dentários e ósseos:

O osso alveolar associado aos dentes com indicação de extração foi seccionado em fragmentos de 3 mm e descalcificado em descalcificador ácido fórmico com ácido clorídrico durante aproximadamente 3 horas (Dunja, 1993). Após a descalcificação foi realizado um banho em neutralizador Hidróxido de amônia e posteriormente processado histologicamente conforme descrito acima.

Os dentes permanentes com indicação terapêutica de extração foram coletados e fixados em formaldeído 10% tamponado em PBS. Esses dentes extraídos foram analisados em microscopia de luz de duas formas: foram produzidas lâminas por desgaste e lâminas coradas em HE (após descalcificação dentária).

Após a fixação do material, os dentes foram cortados em máquina de corte de alta precisão *Secotom 15 –Struers* ® no Instituto de Engenharia Mecânica da UNB de acordo com método A padronizado, no sentido sagital mesio-distal dos molares inferiores e sagital vestibulo-lingual dos incisivos e molares superiores utilizando-se disco de carborundum. Os dentes foram cortados primeiramente em duas partes e fotografados. Depois metade do fragmento foi preparada para lâmina de desgaste e a outra metade foi dividida em fragmentos menores para o preparo por desmineralização e coloração em HE e microscopia de varredura.

O preparo das lâminas por desgaste foi composto por quatro etapas: após o corte das fatias dentárias; foi realizado o desgaste utilizando lixas de água de carbetto de silício com granulação crescentes 200, 400, 600, 1200 em máquina de polimento Politriz Lixadeira Motorizada Polipan-U, Pantec MTA® (Fig. 1-D) e polimento dos dentes em disco de feltro. Depois foi realizada minuciosa limpeza em água corrente, e água destilada e secagem para montagem das lâminas com

Entellan para análise em microscópio de luz.

Para o preparo das lâminas coradas em HE os dentes também foram seccionados em secções de aproximadamente 1mm de espessura para otimizar a descalcificação em EDTA a 4,13 % (Warshawski e Moore, 1967). Durante uma média de 28 a 45 dias (variando com a quantidade orgânica de cada secção) as amostras foram descalcificadas utilizando-se esse protocolo.

Semelhantemente ao processamento do material de tecidos moles, os dentes desmineralizados foram deixados em neutralizador overnight e em seguida foi realizada a desidratação, diafanização e inclusão em parafina, bem como o corte de 5 µm de espessura dos blocos de parafina com as peças incluídas utilizando o micrótomo rotativo *Leica* RM 2125RT®. Esses cortes foram montados em lâminas histológicas e corados utilizando hematoxilina e eosina (HE).

Preparo para microscopia eletrônica de varredura:

Após a fixação a metade dos dentes que já havia sido cortada anteriormente foi cortada em fatias de 1mm de espessura em máquina de corte de alta precisão *Secotom 15 –Struers*®, os dentes foram polidos com lixas de carbetto de silício de granulação 600 e 1200 durante 30 segundos a velocidade de 150 rpm em máquina de polimento *Politriz Lixadeira Motorizada Polipan-U, Pantec MTA*®. Após o polimento as amostras foram lavadas em água corrente, e expostas ao ácido fosfórico 35% *Ultratech*® por 30 segundos. Esse tempo foi interrompido pela lavagem em água corrente por 60 segundos e desidratadas em concentrações crescentes de álcool, os banhos seguiram a concentração 70-80-90-95% e finalmente agente puro 100% por período de 15 minutos em cada álcool. Após a secagem em temperatura ambiente, as espécimes foram montadas em *stubs* de alumínio com fita de carbono e feita a pulverização catódica com aproximadamente 80 nm de ouro paládio e observado em microscópio de varredura operando em 15 Kv.

## 5. RESULTADOS

Esse estudo avaliou duas famílias brasileiras não relacionadas (sem grau de parentesco), identificadas como família I e II, compreendendo um total de doze pacientes avaliados com idades compreendidas entre oito e sessenta e oito anos, de ambos os gêneros, afetados ou não por Amelogênese Imperfeita (Tabela 1). Dentre esses pacientes avaliados, cinco pacientes foram caracterizados fenotipicamente (Pacientes 1 a 5).

Tabela 1 - Distribuição por gênero dos indivíduos afetados e não afetados examinados nas duas famílias.

Família	Familiares Examinados			Familiares afetados examinados			Familiares não afetados examinados		
	Masculino	Feminino	Total	Masculino	Feminino	Total	Masculino	Feminino	Total
I	5	1	6	2	0	2	3	1	4
II	3	3	6	2	1	3	1	2	3
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>12</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>2</b>	<b>7</b>

Durante a anamnese foi relatada a presença de consanguinidade em ambas as famílias. Dentre as manifestações bucais observadas, os pacientes afetados nas duas famílias possuíam dentes com defeito na formação do esmalte em todos os dentes, sendo hipoplásicos e amarelados clinicamente, e a gengiva apresentava-se edemaciada e possuíam má-oclusão dentária e esquelética. O quadro com o resumo dos resultados encontrado nos cinco pacientes está na página 59.

### 5.1 FAMÍLIA I

Na primeira família, dois irmãos nascidos de pais primos em primeiro grau, cujos avós também eram primos em primeiro grau de uma família de nacionalidade Brasileira, naturais do Estado do Piauí foram estudados (Fig.1). Sugerindo padrão de herança autossômica recessivo da AI.

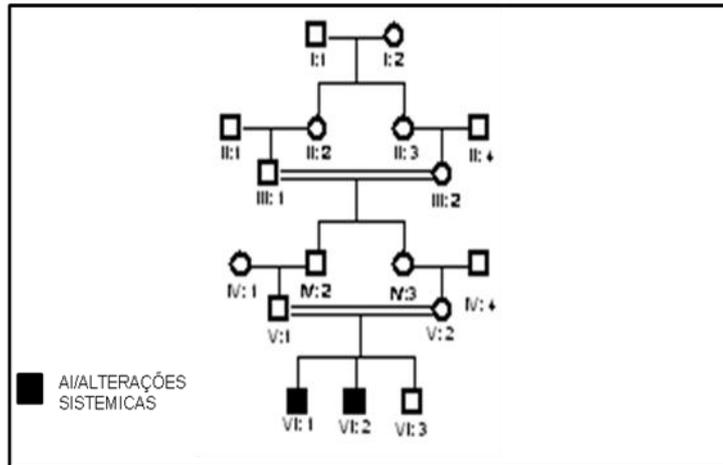


Figura 1 - Heredograma da Família I. Mostrando história de consanguinidade entre bisavós e pais, não afetados, do paciente 1 (VI:1) e paciente 2 (VI:2) afetados por AI e alterações sistêmicas, sugerindo modo de herança autossômico recessivo.

### 5.1.1 Paciente 1

O paciente 1 (VI:1) atualmente com 12 anos (agosto de 2012), iniciou o acompanhamento no ambulatório de genética médica do HUB com 1 mês de idade. Foi encaminhado do Hospital Regional de Planaltina-DF, onde foi internado após alguns dias de vida devido à obstrução nasal, dificuldade respiratória, convulsão e distúrbio hidroeletrólítico. Esteve internado por 6 meses, apresentou 2 pneumonias durante a internação e teve alta melhorado sem esclarecimento diagnóstico.

Os pais negaram infecções e alterações durante o período pré-natal. Nasceu de parto normal e a termo (40ª semana de gestação). O escore de Apgar foi de 8/9. O menino nasceu com 3320 g, estatura de 49 cm e perímetro cefálico (Pc) de 33cm (normocefalia). Quanto à evolução neuromotora, o paciente apresentou atraso no desenvolvimento neuro-psico-motor (DNPM) andou com 2 anos de idade, e falou com 2 anos de idade.

Foram registrados em prontuário anormalidades craniofaciais incluindo retração bilateral com fronte em agulha, perfil facial achatado, órbitas rasas, proptose ocular, fenda palpebrais retas, epicanto bilateral, hipoplasia das cristas supra-orbitárias, raiz nasal baixa, nariz curto, narinas antevértidas, filtro largo, boca em arco de cupido, palato ogival (Fig.2.A-B). Mãos pequenas com falanges distais quadradas e clinodactilia no quinto dedo das mãos bilateral (Fig.2.D). Os primeiros

pododáctilos eram alargados (Fig.2.C). Em estudo de análise cromossômica, o cariótipo se apresentou normal: 46,XY.

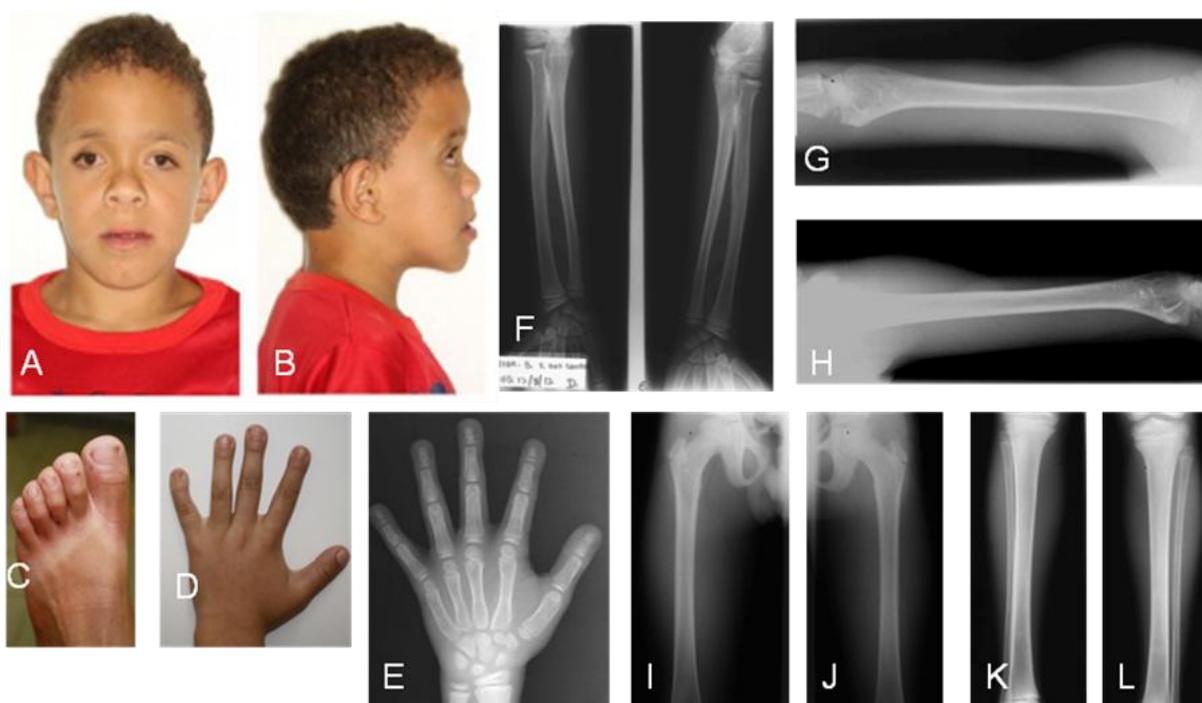


Figura 2 - Fotos ao exame clínico e raio X de ossos do Paciente 1: Faces sindrômica do paciente 1 (VI:1) retração bilateral com frente em agulha, perfil facial achatado, órbitas rasas, proptose ocular, fenda palpebrais retas, epicanto bilateral, hipoplasia das cristas supra-orbitárias, raiz nasal baixa, nariz curto, narinas antevertidas, filtro largo, boca em arco de cupido (Fig.2.A-B). Os primeiros pododáctilos alargados (Fig. 2.C). Mãos com falanges distais quadradas e clinodactilia no quinto dedo das mãos (Fig. 2.D). Raio X de mão e punho (Fig. 2.H) mostrando rarefação na cortical das falanges distais. Raio X de ossos longos (Fig. 2.F-L) : com leve rarefação óssea na zona de crescimento dos rádios (Fig. 2.F) e ilhota compacta no fêmur direito (Fig. 2.I).

A tomografia computadorizada de crânio 3D apresentou imagem sugestiva de fechamento precoce da sutura sagital, com craniossinostose tipo escafocefalia (Fig.3. D) e múltiplas calcificações grosseiras periventriculares, subependimárias, em núcleos de base e substância branca (Fig.3. B). Mostrou ainda lesão hiperdensa acometendo o terço médio e posterior do globo ocular esquerdo, associado a foco de calcificação em sua porção lateral (Fig.3. A). Em 2012, um novo exame tomográfico também revelou em corte sagital imagem sugestiva de calcificação de artéria calibrosa, próxima ao corpo caloso (Fig.3. C).

Devido às crises convulsivas, foi solicitado eletroencefalograma. Ao exame eletro-encefalográfico foram observados achados anormais para idade, sugerindo importante comprometimento subcortical. Já apresentou pelo menos 5 episódios de convulsão, sendo internado por duas vezes.

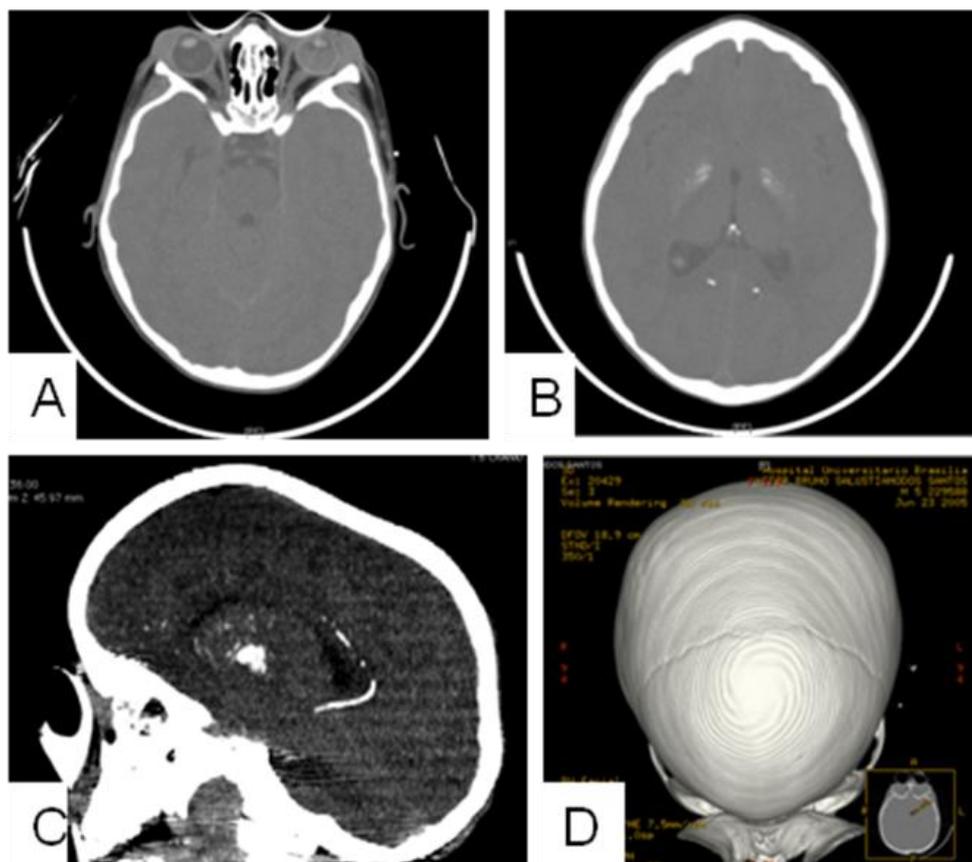


Figura 3 - Tomografia computadorizada de crânio do Paciente 1: observa-se lesão hiperdensa acometendo terço médio e posterior do globo ocular esquerdo (Fig. 3.A). Calcificações em núcleo de base, região periventricular e substancia branca (Fig. 3.B). Corte sagital mostrando calcificação provavelmente no ramo esplênico da artéria cerebral posterior, uma artéria calibrosa próxima ao corpo caloso (Fig.3.C). Tomografia computadorizada 3D de crânio mostrando craniossinostose, não sendo possível observar a sutura sagital mediana (Fig. 3.D).

No ambulatório de endocrinologia pediátrica do HUB o paciente foi avaliado devido ao baixo peso e baixa estatura. Foi solicitado exame radiográfico de idade óssea que apresentou rarefação importante dos ossos da mão (Fig.2. E). Em exame radiográfico de ossos longos, foi observado “ilhota de compacta” no fêmur direito (Fig.2. I). Para melhor investigação do metabolismo ósseo foram realizados exames bioquímicos de sangue e urina que foram sintetizados no quadro 2, durante acompanhamento clínico de 2008 a 2012. O paciente apresentou variação com níveis normais e alterados do PTH, creatinina em urina de 24 horas, cálcio na urina, fosfato plasmático, fosfato na urina e conseqüentemente na taxa de reabsorção de fósforo (TRP).

Quadro 2 - Resumo dos resultados dos exames bioquímicos no Paciente 1

Exames do Paciente 1	2008	fev/10	mai/10	2012	V.R.
PTH	95,7*	55	71,4*	N.R.	12-65 pg/ml
Creatinina plasmática	0,6	0,6	0,7	0,5	0,3-0,7 mg/dl
Cálcio <sup>++</sup> plasmático	8,9	9,8	9,2	9,4	8,8-11 mg/dl
Fosfatase alcalina	406*	457*	NR	NR	< 750 UI/L;150-380 UI/L (pré-pubere)
Fósforo plasmático	4,7	3,8	3,3*	3,6	3,6-5,8 mg/dl (6 anos - 1 ano antes do estirão)
Creatinina em urina 24hs	13,19	31,26*	16,02	NR	12-30 mg/kg/dia
Cálcio em urina 24hs	0,5*	2,1	0,71*	NR	2-4 mg/kg/dia
Fosfato em urina 24 hs	11,31	23,19*	15,67	NR	<20 mg/kg/dia
Ácido cítrico	NR	NR	NR	0,95	0,9-2,77 mmol/24 horas
T.R.P.	89%	88%	79%	NR	>85 %
Peso ao exame	17.5 kg	19.7 kg	21.9 kg	NR	

\* Valores fora dos valores de referência (V.R.). Exames não realizados (N.R.)

No ambulatório de nefrologia pediátrica foram solicitados ultrassonografia de rins e vias urinárias, apresentando diminutos focos hiperecogênicos na medular.

No ambulatório da otorrino do HUB foi observada hipertrofia de cornetos e atresia coanal, causando dificuldade respiratória, sendo então solicitada tomografia computadorizada de seios da face. Na tomografia computadorizada dos seios da face foi observada deformidade do arcabouço ósseo das fossas nasais, com redução do diâmetro latero-lateral (estenose), promovendo íntimo contato dos cornetos com o septo nasal e com as paredes laterais das fossas nasais ao nível da metade caudal da cavidade nasal, com conseqüente obliteração da coluna aérea nessa região.

Ao exame oftalmológico foi observado que havia nistagmo ocular e que o paciente não conseguia fixar objetos no campo visual. Quando observado o fundo de olho foram observadas lesões pigmentares disseminadas por toda a retina, palidez de papila e traves vítreas aderidas à papila em olho direito. Já em olho esquerdo foi inviável o exame devido à catarata branca. Por isso foi realizado ecografia bidimensional no olho esquerdo que apresentou ecos membranáceos de alta refletividade compatível com descolamento de retina total. Compatível com achados da tomografia computadorizada de crânio (Fig.3.A). Atualmente apresenta

amaurose no olho esquerdo e déficit importante no olho direito.

### Avaliação odontológica

O paciente procurou o serviço odontológico em 2008, 8 anos de idade no momento da consulta, encaminhado do ambulatório de genética devido ao mal estado de conservação dos dentes. Durante anamnese a mãe relatou que o filho sentia muitas dores de dente, e que os dentes já nasciam amarelados, moles e se perdiam rapidamente. A mãe negou qualquer intercorrência durante a gravidez, relatou internações logo após o nascimento e devido a convulsões. Negou qualquer uso de medicação durante a infância. Relatou que estudava em escola de ensino especial devido à amaurose.

Ao exame extra-bucal odontológico foi observado perfil facial achatado, com hipoplasia de maxila. Para exame odontológico intra-bucal os dentes foram limpos e secos para observação sob luz do equipamento. Foram observado palatos duros e mole muito profundos (ogival), gengiva inflamada e hiperplásica associada principalmente ao acúmulo de placa na região cervical dos dentes. Todas as bridas e inserções musculares eram fibrosas e hiperplásicas, inclusive o freio lingual apresentava anquiloglossia. Funcionalmente o paciente apresentava deglutição atípica, mordida aberta anterior e classificado com má-oclusão classe III de Angle. Os dentes erupcionados apresentavam alterações de cor e morfologia, com coloração amarelada e superfície rugosa, hipoplásicos e hipocalcificados (Fig.4.A-F).

Ao exame clínico existiam dentes cariados e fraturados associados ao grande acúmulo de placa bacteriana devido à má higienização dificultada pela superfície áspera dos dentes. Alguns dentes estavam ectópicos e girovertidos, como os dentes 14 e 24, na região do palato duro (Fig.4.C). O dente 41 não erupcionado aos 10 anos de idade ao exame sugeriu atraso na cronologia de erupção normal. No entanto, não foi observado ao exame radiológico e tomográfico o dente 41, além disso não havia história pregressa de remoção desse dente, confirmando agenesia dentária desse elemento.

Várias fístulas intra-bucais estavam associadas a dentes cariados (dente 11) e dentes hígidos em erupção (entre os dentes 22 e 23; 34 e 35) (Fig.4.E-F). Em exame complementar radiográfico de raios-X panorâmico odontológico, associada a

essas regiões de fístula intra-bucal, foram observadas várias lesões periapicais associadas a raízes de formação incompleta : na região de incisivos inferiores (dente 33 ao 43), pré-molares superiores (dente 24 e 25) e incisivo lateral superior direito (dente 12) (Fig.4.G). Além disso, não foi visível à diferença de densidade entre esmalte e dentina. Os dentes apresentavam uma fina camada dentinária formando uma ampla câmara pulpar, com ápices bem abertos. As raízes dos primeiros molares não estavam completamente formadas e sem apexificação, portanto não foi possível verificar se havia um aumento da proporção coroa raiz, ou seja, taurodontia. Não foram observados cálculos pulpares. Em raios-X de telerradiografia em norma lateral foi observada hipoplasia de maxila, formando um padrão esquelético classe III de Angle (Fig.4.H).

A tomografia computadorizada por feixe cônico foi possível observar em maxila: lesão hipodensa em região de pré-molar superior esquerdo em reconstrução panorâmica (Fig.5.A) e em corte axial (Fig. 5. B). Em cortes transversais foi possível observar ápice aberto e lesão hipodensa circunscrita associado ao ápice do dente 13 (Fig. 5. C), do dente 25 (Fig.5. D) e os dentes 23 e 24 (Fig. 5. E). Os molares, como no dente 26, apresentavam ampla câmara pulpar e ápice de formação incompleta (Fig. 5. F) e lesões hipodensa associadas ao ápice aberto de suas raízes (Fig. 5. G). Vários dentes não erupcionados possuíam aumento do folículo pericoronário, como observado no dente 27 (Fig.5. H). Em região de mandíbula, foi possível observar por meio desse exame grande lesão hipodensa em região de incisivos inferiores e molares inferiores esquerdos em reconstrução panorâmica (Fig. 5. I). Em corte axial em região da lesão associada a incisivos inferiores observou-se os limites dessa lesão que se estendia da cortical vestibular a cortical lingual (Fig. 5. J). Cortes transversais região do dente 42 (Fig. 5. K), do dente 31 (Fig. 5. L) e dente 33 (Fig. 5. M) também foi possível identificar ápices amplos associados a grandes lesões hipodensas. Alterações do seio maxilar também foram observadas, em corte coronal, devido ao espessamento da mucosa do lado esquerdo (E) e grande massa hipodensa no seio maxilar direito (D) (Fig.5. N). Nos dentes inferiores em corte sagital, também foi possível observar espessamento do folículo pericoronário, como no dente 37, associando-se a lesão radiolúcida periapical do dente 36 (Fig. 5.O).

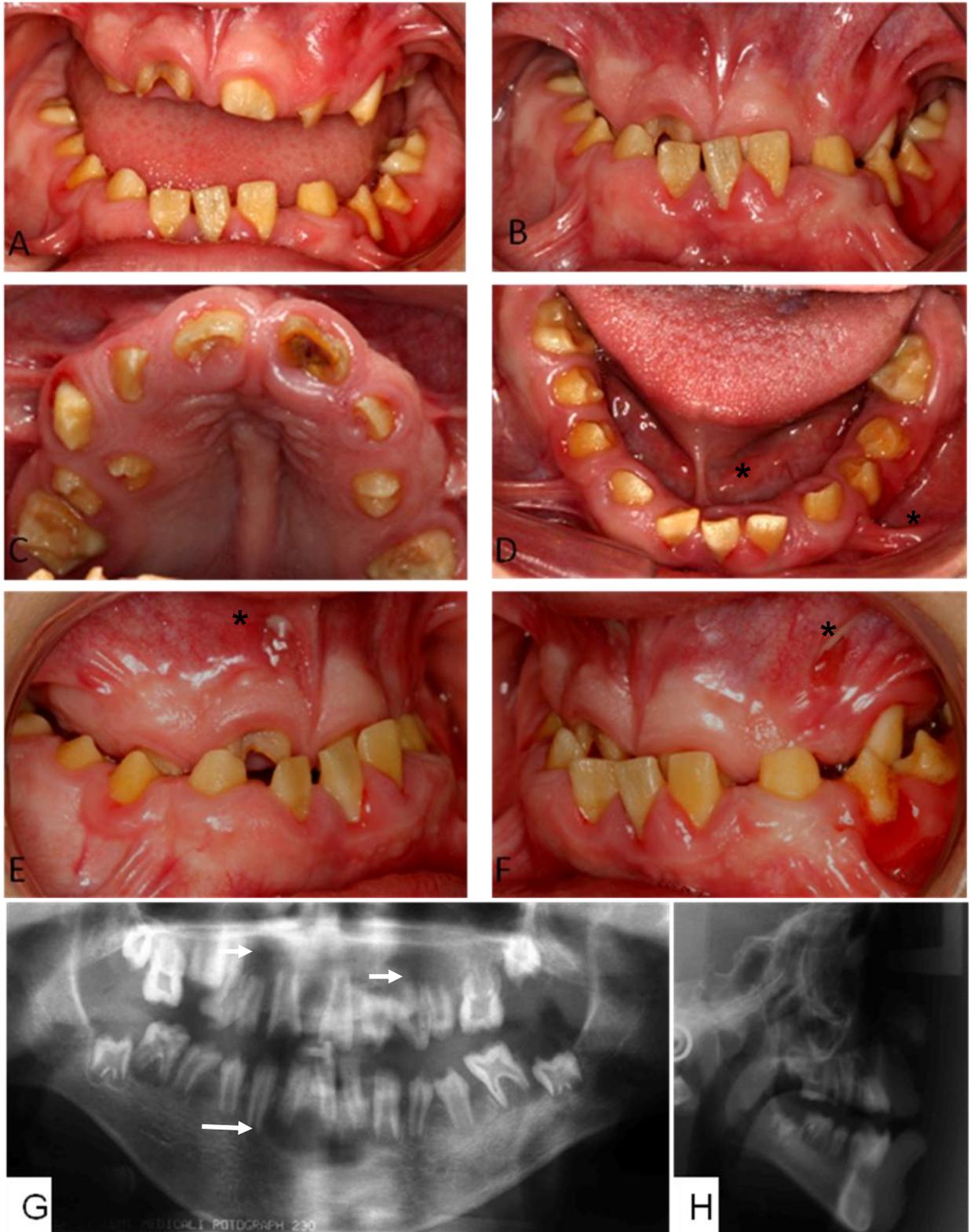


Figura 4 - Manifestações bucais ao exame clínico e radiográfico do Paciente 1 (VI:1) apresentando dentes amarelados, hipoplásicos e hipocalcificados.(Fig. 4. A-C).Presença de inserções musculares fibrosas e anquiloglossia\* (Fig. 4.D). Presença de várias fistulas intra-orais\*(Fig. 4.E-F). Raio-X panorâmico paciente 1 sendo observadas lesões radiolúcidas associadas aos ápices dentários (setas) (Fig. 4.G).Telerradiografia norma lateral do mesmo paciente (Fig. 4.H).

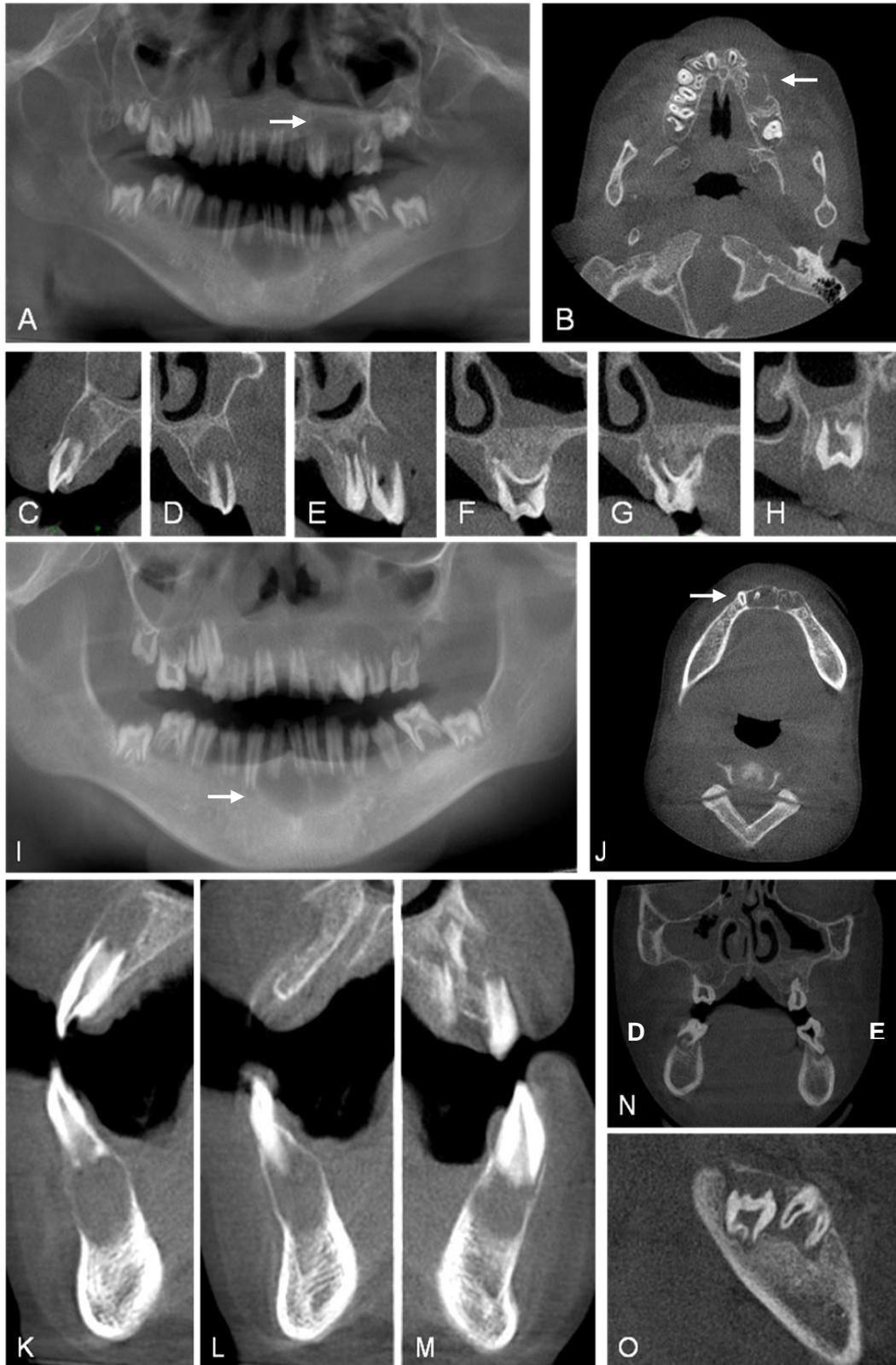


Figura 5 - Tomografia computadorizada por feixe cônico do Paciente 1 (VI:1) permitiu a visualização com precisão das lesões (setas) observadas na região de pré-molares superior esquerdo em reconstrução panorâmica (Fig.5. A) e em corte axial (Fig.5. B). Lesões hipodensas periapicais associadas a ápices abertos (Fig. 5. C-G). Espessamento do foliculo pericoronário de molares não erupcionados (Fig.5. H), podendo associar-se a lesões hipodensas periapicais (Fig.5. O). Além de lesões (setas) associadas a incisivos inferiores em reconstrução panorâmica (Fig. 5. C), em corte axial (Fig. 5. J), e em cortes transversais (Fig. 5. K-M). Alteração do seio maxila observado em corte coronal (Fig. 5. N).

### 5.1.2 Paciente 2

O paciente 2 (VI:2) atualmente com 11 anos (agosto de 2012) iniciou o acompanhamento no ambulatório de genética do HUB com 3 anos e 2 meses de idade devido a distorções craniofaciais e suspeita de osteopetrose. Paciente relatava ter um irmão com características semelhantes e que já estava em acompanhamento no mesmo serviço. Nasceu no hospital regional de Planaltina-DF, onde foi internado após alguns dias de vida devido a dificuldades respiratórias. Esteve internado por três meses, teve um quadro de pneumonia durante esse período de internação e teve alta melhorado sem esclarecimento diagnóstico.

Durante anamnese no ambulatório de genética médica, foi relatado em prontuário médico, que quando questionado sobre os antecedentes pré-natais, foram negadas infecções e alterações durante esse período. Nascido de parto normal e a termo (não sabe quantas semana de gestação exatas). O escore de Apgar foi de 8/9. O menino nasceu com 3.570 gramas, estatura de 49 centímetros e perímetro cefálico (Pc) de 34 cm (normocefalia). Quanto à evolução neuromotora, o paciente não apresentou atraso no desenvolvimento neuro-psico-motor (DNPM) sentou sozinho com 6 meses, andou com 1 ano e falou com 1 ano.

Ao exame físico genético-clínico foram observadas anormalidades craniofaciais frente em quilha com estreitamento bilateral, perfil facial achatado, órbitas rasas, proptose ocular, fenda palpebrais discretamente oblíquas para baixo, epicanto bilateral, raiz nasal baixa, nariz curto, narinas antevértidas, hélices alargadas, filtro largo, boca em arco de cupido (Fig.6. A-B). Mãos com falanges distais alargadas e quinto quirodáctilo encurtado (Fig.6. D). Os primeiros pododáctilos alargados (Fig.6. C).

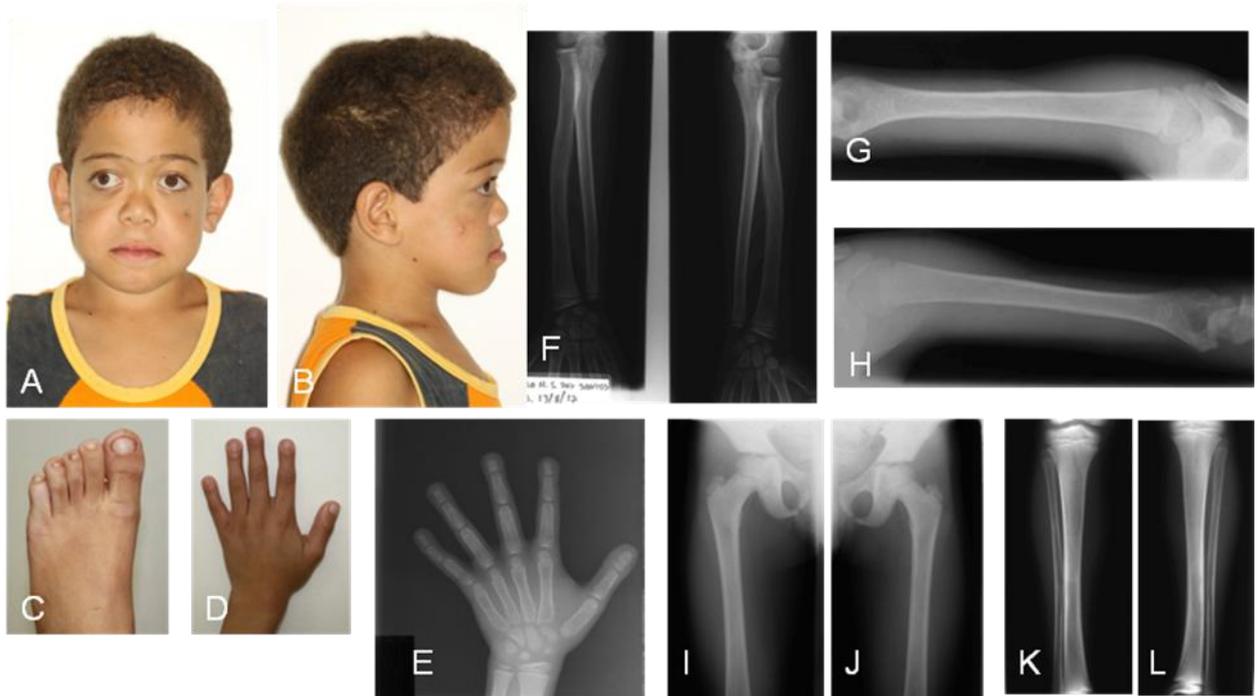


Figura 6 – Fotos ao exame clínico e raio X de ossos do Paciente 2 (VI:2) : Faces sindrômica com fronte em quilha com estreitamento bilateral, perfil facial achatado, órbitas rasas, proptose ocular, fenda palpebrais discretamente oblíquas para baixo, epicanto bilateral, raiz nasal baixa, nariz curto, narinas antevértidas, hélices alargadas, filtro largo, boca em arco de cupido (Fig.6.A-B). Os primeiros pododáctilos alargados (Fig. 6. C). Mão com falanges distais alargadas e quinto quirodáctilo encurtado (Fig.6. D). Raio X de IO revelando dois anos de atraso na idade óssea, além de rarefação óssea nas falanges distais (Fig. 6.E). Raio X de ossos longos revelando rarefação óssea nas zonas de crescimento (Fig. 6. F-L), leve encurvamento diafisário dos rádios (Fig. 6. F) e tibia genu valgus (Fig. 6. K-L).

Em estudo de análise cromossômica, o cariótipo se apresentou normal: 46,XY. Nesse mesmo serviço foram solicitados exames complementares de imagem: tomografia computadorizada 3D de crânio (Fig.7. A-D) e raios-X de ossos longos (Fig.6. F-L). Em tomografia computadorizada de crânio apresentou craniossinostose tipo escafocefalia (Fig.7.C) e múltiplas calcificações grosseiras periventriculares, subependimárias, em núcleos de base e substância branca. (Fig.7. A-B). Em 2012, também foi observado como no irmão, imagem compatível com calcificação do ramo esplênico da artéria cerebral posterior bilateralmente (Fig. 7. C). Os pais relataram nunca ter tido crise convulsiva.

No ambulatório de endocrinologia pediátrica foi avaliado assim como seu irmão devido ao baixo peso e baixa estatura. Foi solicitado exame radiográfico de idade óssea que se apresentou normal segundo o laudo, descartando a suspeita de osteopetrose em 2005, já em 2010 apresentou imagens compatíveis com 07 anos de idade e idade cronológica de 09 anos, além de rarefação óssea importante nas

falanges distais (Fig. 6. E). Ao exame de raio X de ossos longos de membros inferiores e superiores foi observado calcificação reduzida nos núcleos de calcificação, produzindo rarefação óssea, impressão de encurvamento diafisário nos raios (Fig. 6. F) e tibia genu valgo discreta bilateralmente maior a esquerda(Fig. 6. K-L), densidade óssea reduzida com cortical pouco definida entre a diáfise e metáfise (Fig. 6. F).

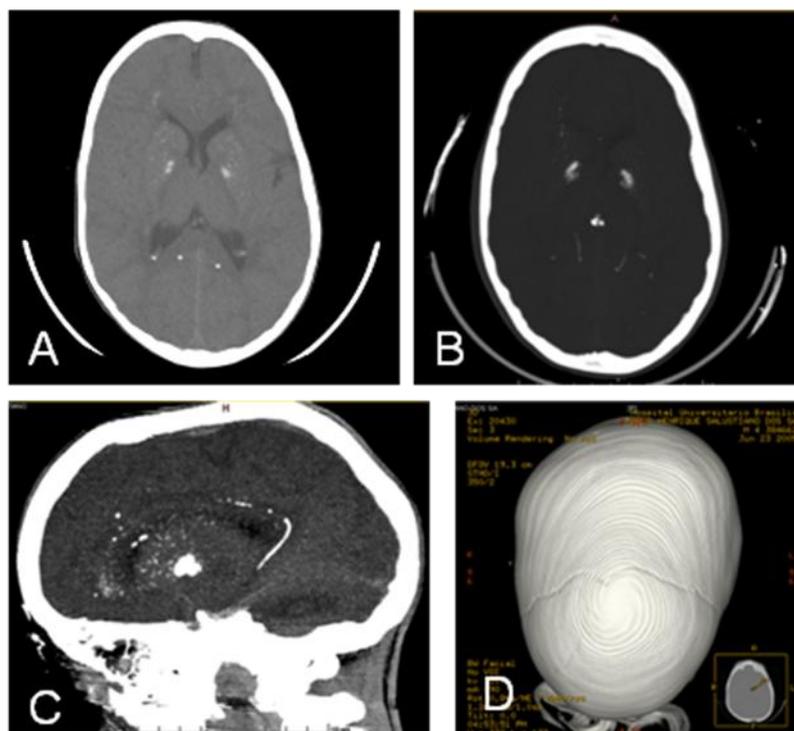


Figura 7 - Tomografia computadorizada de crânio (TC) do Paciente 2: mostra calcificações em núcleos de base, calcificações periventriculares e em substancia branca, realizado em 2008 (Fig. 7.A). Calcificações de possíveis artérias bilateralmente além das calcificações em núcleos de base e disseminadas pelo parênquima também foram observadas em exame realizado em 2012 (Fig.7.B). Corte sagital de TC realizada em 2012, mostrando imagem compatível com calcificação do ramo esplênico da artéria cerebral posterior (Fig.7.C). Tomografia computadorizada 3D mostrando precoce fechamento de sutura sagital (Fig. 7.D)

Para melhor investigação do metabolismo ósseo foram realizados exames bioquímicos de sangue e urina que foram sintetizados no quadro 3, durante acompanhamento clínico de 2008 a 2010. O paciente apresentou variação com níveis normais e alterados do PTH, creatinina em urina de 24 horas, cálcio na urina, fósforo plasmático, fósforo na urina e conseqüentemente na taxa de reabsorção de fósforo (TRP).

Quadro 3 - Resumo dos resultados dos exames bioquímicos do Paciente 2

Exames do Paciente 2	2008	fev/10	mai/10	2012	V.R.
PTH	103*	35,8	52	NR	12-65 pg/ml
Creatinina plasmática	0,5	0,6	0,6	0,5	0,3-0,7 mg/dl
Ca <sup>2+</sup> plasmático	8,7*	9,6	9,0	9,4	8,8-11 mg/dl
Fosfatase alcalina	365	385	NR	811*	< 750 UI/L; 150-380 UI/L (pré-pubere)
Fosfato plasmático	4,4	3,4*	3,3*	3,6	3,6-5,8 mg/dl 6 anos- 1 ano antes do estirão
Creatinina em urina 24hs	12,5	37,11*	11,81*	NR	12-30 mg/kg/dia
Cálcio urina	0,75*	1,3	0,65*	NR	1-4 mg/kg/dia
Fosfato urina	10,45	30,49*	11,02	NR	<20mg/kg/dia
T.R.P.	90,5%	86%	84%	NR	>85 %
Peso ao exame	19,8 Kg	22,2 Kg	23,8 Kg	NR	

\*Valores fora dos valores de referência (V.R.). Exame não realizado (N.R.).

Ao exame oftalmológico foi observado que havia proptose moderada com fechamento palpebral completo e mobilidade extrínseca preservada. Quando observado o fundo de olho pupila, vasos e mácula estavam preservados.

#### Avaliação odontológica

O paciente procurou o serviço odontológico em 2008, juntamente com seu irmão aos 7 anos de idade no momento da consulta, também encaminhado do ambulatório de genética devido ao péssimo estado de conservação dos dentes. Durante anamnese a mãe relatou que vários dentes do filho não tinham nascido, e que já havia tido vários quadro de infecção nos dentes. A mãe negou qualquer uso de medicação durante a infância.

Ao exame extra-bucal odontológico foi observado perfil facial achatado, com hipoplasia de maxila e presença de cicatrizes de fístula extra-oral em maxila direita e esquerda. Para exame odontológico intra-bucal os dentes foram limpos e secos para observação sob luz do equipamento. Palatos duros e mole eram muito profundos (ogival), gengiva apresentava um grau de inflamação de leve a moderado, mais associado principalmente aos dentes em erupção (Fig.8. F). Fístulas intra-bucalis estavam associadas a dentes cariados (dente 46) e dentes hígidos (entre os dentes 24 e 25) (Fig.8. A-D). As bridas e inserções musculares eram fibrosas e

hiperplásicas (Fig.8. D-F). Funcionalmente o paciente apresentava deglutição atípica, mordida aberta anterior e classificado com oclusão classe III de Angle.

Os dentes erupcionados apresentavam alterações de cor e morfologia, com coloração amarelada e superfície lisa, o esmalte se apresentava hipoplásico e hipocalcificado (Fig.8. B). Ao exame clínico intra-bucal os dentes 16 e 46 tinham lesão de cárie em sua face oclusal. O dente 26 havia sido extraído anteriormente em caráter de emergência devido ao quadro de dor, febre e fístula extra-oral associados a esse dente. Vários dentes não estavam erupcionados no arco superior, dentes 17, 13, 12, 11, 21, 22, 23, 27, e no arco inferior 37, 35, 34, 33, 43,44, 45, 47, sugerindo atraso na cronologia de erupção (Fig.8).

Em exame complementar radiográfico de raio-x panorâmico odontológico foi observado a localização intraóssea dos dentes 12,11,21 e 22, confirmando o atraso de erupção observando a idade do paciente no momento da consulta (08 anos). Também não foi visível o contraste entre esmalte e dentina (Fig.8. G). Os dentes apresentavam uma fina camada dentinária formando uma ampla câmara pulpar, com ápices bem abertos. Os primeiros molares apresentavam taurodontia. Não foram observados cálculos pulpares. Foram observadas várias lesões periapicais associadas a raízes de formação incompleta : lesão radiolúcida bem circunscrita associada à raiz do distal do dente 36, lesão radiolúcida associada à raiz mesial do dente 46 e grande lesão radiolúcida na região dos dentes anteriores inferiores (dente 33-43). Em raio-x de telerradiografia em norma lateral foi observada hipoplasia de maxila e protrusão de mandíbula, sugerindo um padrão esquelético classe III de Angle (Fig.8. H).

A tomografia computadorizada por feixe cônico permitiu a visualização da região de maxila mostrando lesão hipodensa em região de pré-molar superior direito e molar superior esquerdo em reconstrução panorâmica (Fig.9. A). Em corte coronal foi possível observar extensa lesão associado ao dente 27 não erupcionado, comprimindo membrana do seio maxilar e invadindo região de seio maxilar esquerdo, além de grande lesão radiolúcida associada ao molar inferior esquerdo (Fig.9. B). A lesão radiolúcida envolvendo o dente 27 possuía dimensões de 26 mm por 17 mm (Fig. 9.E). Corte axial de maxila mostrando a mesma lesão associada ao dente 27 (Fig. 9. F). Cortes sagitais mostrando espessamento do folículo pericoronário do molar superior direito (Fig.9. C), e lesão associada a raízes do

molar superior esquerdo (Fig. 9. D). Já em panorâmica da região de mandíbula foi observada lesão hipodensa em região de incisivos inferiores e dente 46 (Fig.9. G). Corte coronal mostrado hipopneumatização do seio maxilar e região hipodensa em seio maxilar esquerdo (Fig.9. H). Cortes axiais em posterior de mandíbula mostrando lesão radiolúcida bem circunscrita em região dente 36 (Fig.9. I) e anterior de mandíbula mostrando lesão anterior inferior rompendo tabua óssea vestibular (Fig. 9.J). Cortes transversais mostrando lesão associada a incisivo (dente 41) (Fig. 9. K), raíz de molar com ampla câmara pulpar (dente 46) (Fig.9. L) e lesão região do dente 36 mostrando seu grande diâmetro próximo ao canal mandibular (Fig.9. M). Corte sagital mostrando lesão periapical associada ao dente 36 se comunicando com folículo pericoronário aumentado associado ao dente 37 (Fig. 9. N).

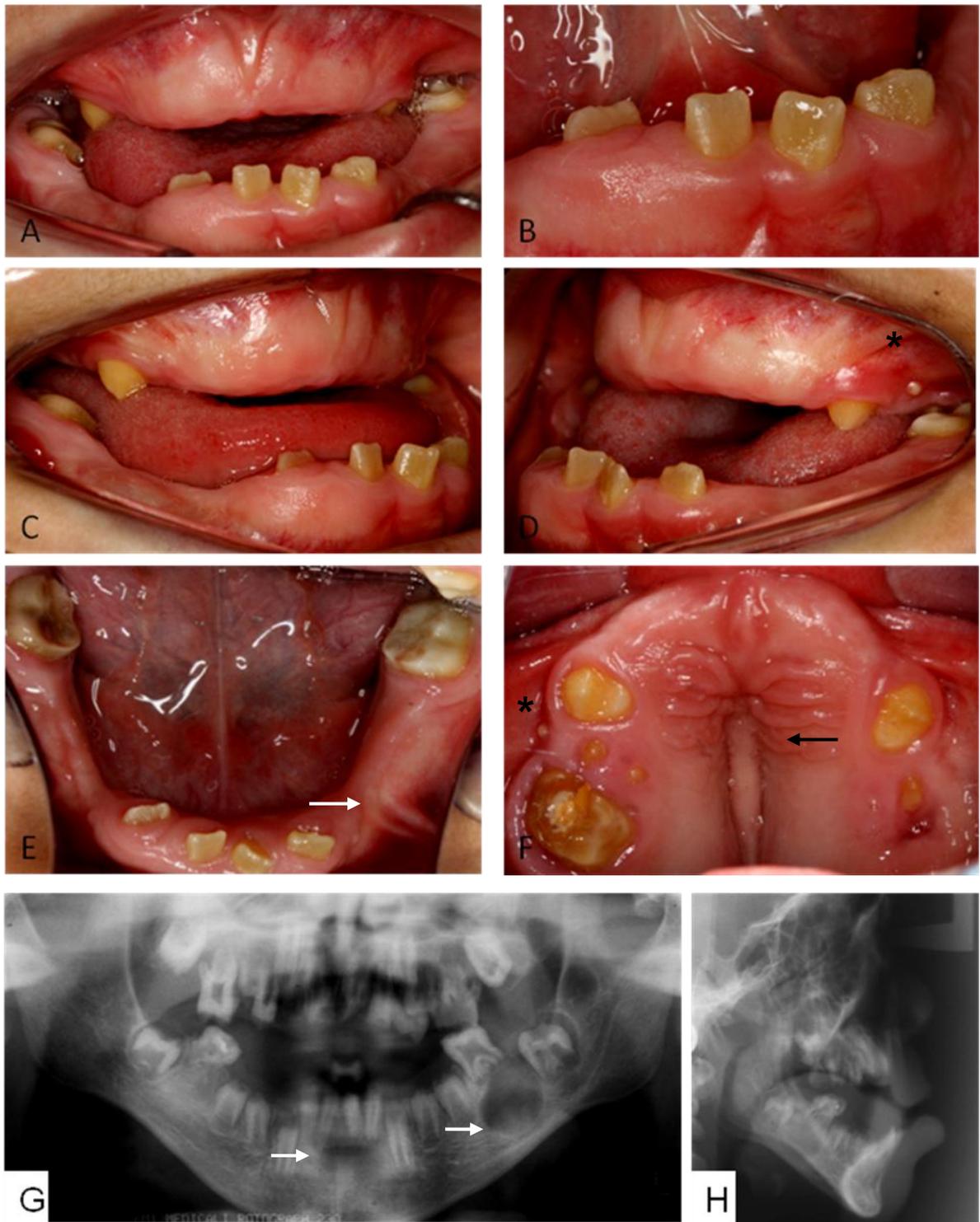


Figura 8 – Manifestações bucais ao exame clínico e radiográfico do Paciente 2 (VI:2) apresentando atraso de erupção de vários dentes, após extração de emergência do dente 26 (Fig.8.A). Dentes com esmalte hipoplásico e de superfície lisa (Fig.8.B). Presença de fistulas intra-bucais\*(Fig.8.D-E), inserções musculares fibrosas (seta cor branca) (Fig.8.E), palato profundo (seta cor preta) (Fig.8.F). Raio X Panorâmico mostrando lesão radiolúcida bem circunscrita associada ao dente 36 e lesão radiolúcida região de incisivos inferiores (setas) (Fig.8.G).Telerradiografia de norma lateral mostrando prognatismo mandibular (Fig.8.H).

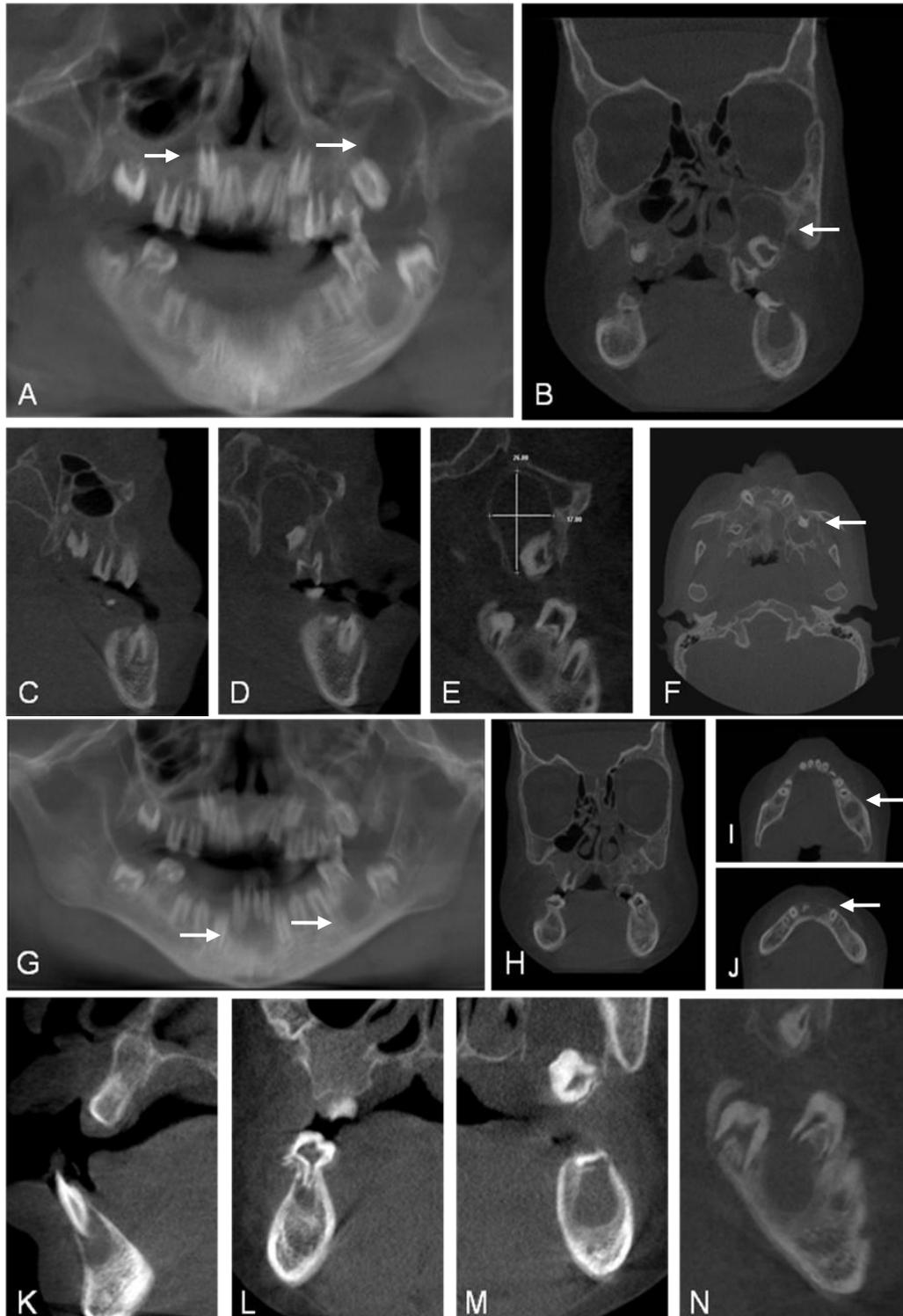


Figura 9 - Tomografia computadorizada por feixe cônico do Paciente 2 : lesões hipodensa em região de maxila em reconstrução panorâmica (Fig.9. A). Extensa lesão (dimensões de 26 mm por 17 mm) associada ao dente 27 não erupcionado, comprimindo membrana do seio maxilar e invadindo região de seio maxilar esquerdo, em corte coronal (Fig.9. B), sagital (Fig.9. D-E) e axial (Fig. 9. F). Cortes sagitais mostrando espessamento do fólculo pericoronário do dente 17 (Fig.9. C). Panorâmica região de mandíbula mostrando lesão radiolúcida (setas) em região de incisivos inferiores e dente 46 (Fig.9. G), e em corte axial (Fig. 9. J) e (Fig. 9. I) respectivamente, e em cortes transversais (Fig.9. K) e (Fig.9. L) respectivamente. Corte coronal mostrado hipopneumatização do seio maxilar e região hipodensa em seio maxilar esquerdo (Fig.9. H). Corte sagital mostrando lesão periapical associada ao dente 36 se comunicando com fólculo pericoronário aumentado do dente 37 (Fig. 9. N).

### 5.1.3 Análise histológica das amostras Família I:

Na análise do tecido gengival foi possível observar acantose do tecido epitelial estratificado pavimentoso queratinizado com longas cristas epiteliais em direção ao tecido conjuntivo. Presença de infiltrado inflamatório mononuclear com predomínio de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria (Fig.10. A). Já a submucosa era composta por tecido conjuntivo frouxo bem celularizado. Em meio ao tecido conjuntivo foi possível observar células epiteliais semelhantes a restos de epitélio odontogênico dispostas em ilhotas e cordões associadas a calcificações de forma lamelar e esféricas semelhantes a um esmalte displásico ou tecido cementóide (Fig.10. C).

No folículo pericoronário, semelhantemente ao tecido gengival, também foi possível observar acantose da camada espinhosa do epitélio, além do infiltrado inflamatório e, em maior número, as ilhotas epiteliais associadas a núcleos de calcificação (Fig.10.D).

As lesões periapicais apresentavam infiltrado inflamatório intenso, com presença predominantemente de células mononucleares. Mesmo nas lesões que radiograficamente e macroscopicamente eram bem circunscritas, não foi observado tecido epitelial circunscrevendo a lesão nos cortes microscópicos. Provavelmente essa camada tecidual pode ter sido perdida durante o preparo histológico (Fig.10. B).

Macroscopicamente, os dentes apresentavam amplas câmaras pulpares devido a fina camada de dentina, permitindo rápido comprometimento por cárie. Associada as finas paredes dentinárias também foram observados ápices curtos e amplos (Fig.10.E-H).

Em análise histológica de lâminas de desgaste dentário, foi observada uma fina camada de esmalte presente apenas em algumas regiões do dente. A dentina do manto não apresentava alterações estruturais, já a dentina primária circumpulpar, dentina secundária e terciária apresentavam em sua totalidade, dentina interglobular. Essa dentina é caracterizada por calcosferitos que não coalescem formado uma dentina hipomineralizada. Os túbulos dentinários aparentemente não apresentavam alteração no tamanho e direção (Fig.10. I-K).

Nos cortes de dentes desmineralizados corados em HE também foi observada a presença de dentina interglobular em toda a região de dentina, exceto a dentina do manto que estava sem alterações, semelhante ao observado nos cortes de desgaste (Fig. 10.L-N).

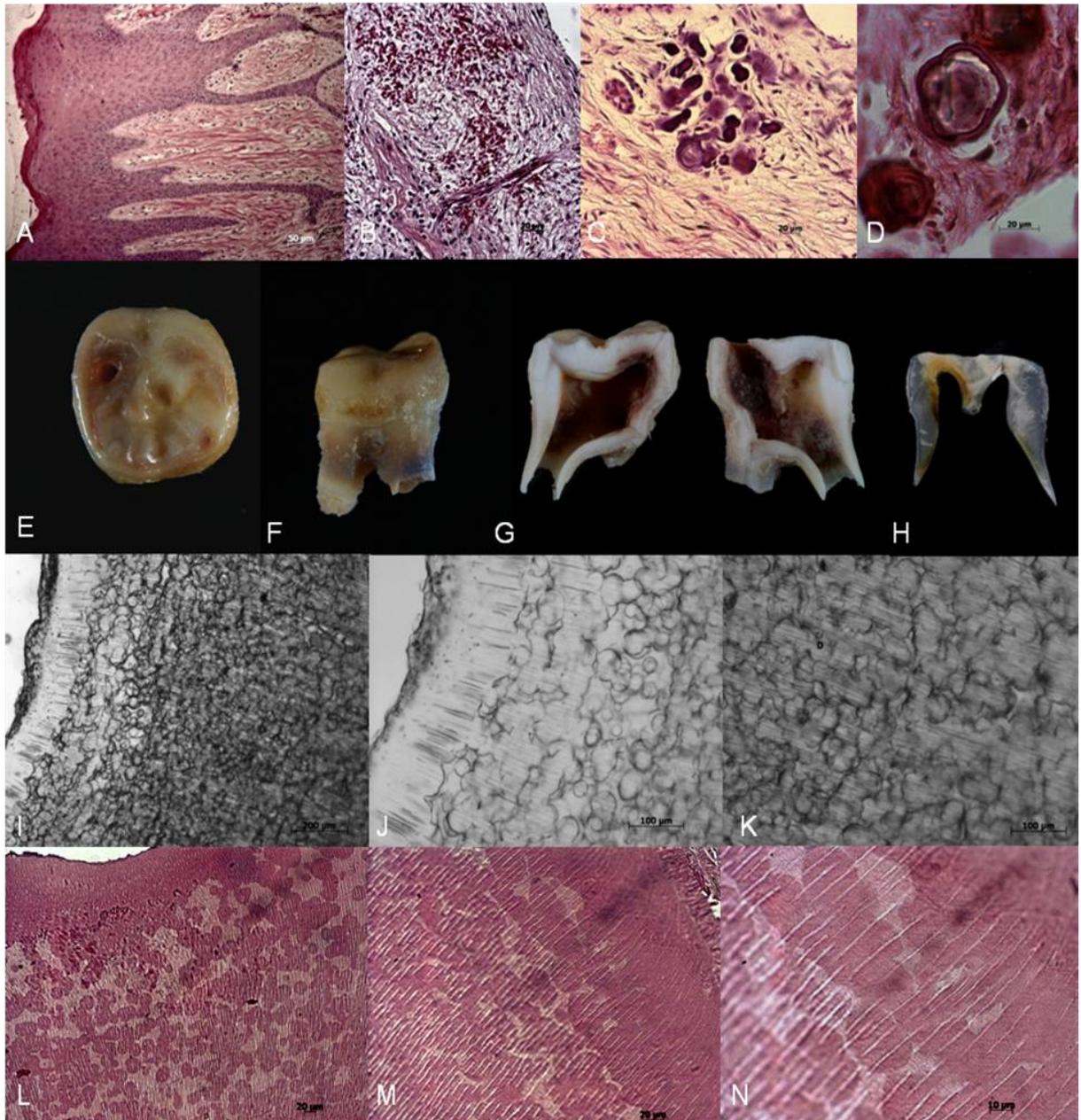


Figura 10 – Análise histológica amostras da Família I: Lâmina histológica de tecido gengival do paciente 2 (VI:2) mostrando acantose no epitélio (Fig. 10.A). Lâmina histológica de lesão periapical inflamatória associada ao dente 36 do paciente 2 (VI:2) (Fig.10.B). Lâmina histológica mostrando ilhotas epiteliais associadas a focos de calcificação (Fig. 10.C). Calcificações em maior aumento mostrando estrutura lamelar (Fig. 10.D). Fotos dente 46 do paciente 2 (VI:2) face oclusal mostrando lesão de cárie (Fig. 10.E), face lingual (Fig.10.F) mostrando dente com rizogênese incompleta. Dente cortado ao meio sentido mesio-distal, mostrando ampla câmara pulpar (Fig. 10.G). Aspecto macroscópico de lâmina de desgaste do mesmo dente (Fig. 10.H). Microscopia da lâmina de desgaste em crescente ampliação (Fig. 10.I-K), revelando alteração dentinária exceto na dentina do manto. Alterações dentinárias também observadas em lâminas coradas em HE do mesmo dente após desmineralização (Fig. 10.L-N).

Já na microscopia eletrônica de varredura (MEV), o esmalte apresentou-se fino e sem estrutura prismática e interprismática, mas aparentemente houve a manutenção dos túbulos dentinários em seu número e orientação (Fig.11.E-G).

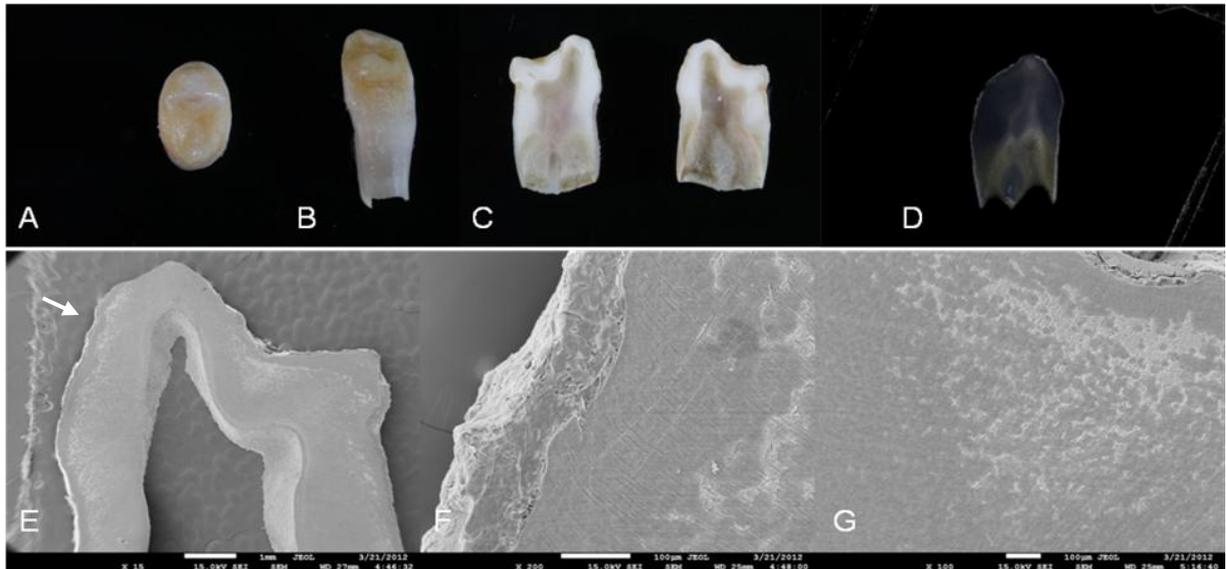


Figura 11 - Análise histológica amostras da Família I (continuação): Fotos dente 24 do paciente 1 (VI:1) face oclusal (Fig. 11.A), face palatina mostrando ápice aberto (Fig. 11.B), dente cortado ao meio sentido mesio-distal, mostrando ampla câmara pulpar (Fig. 11.C). Aspecto macroscópico lâmina de desgaste dente 24 (Fig. 11.D). Dente 24 analisado em MEV, mostrando alteração prismática do esmalte e dentina interglobular (Fig.11.E). Foto em maior ampliação da região apontada pela seta mostrando alteração dos prismas de esmalte e manutenção dos túbulos dentinários (Fig. 11.F). Também foi possível observar nitidamente a dentina interglobular (Fig. 11.G).

## 5.2 FAMÍLIA II

Três irmãos de pais primos em primeiro grau de uma família de nacionalidade brasileira foram avaliados nesse estudo. Os três casos índices são os três últimos filhos de um total de seis irmãos (Fig.12).

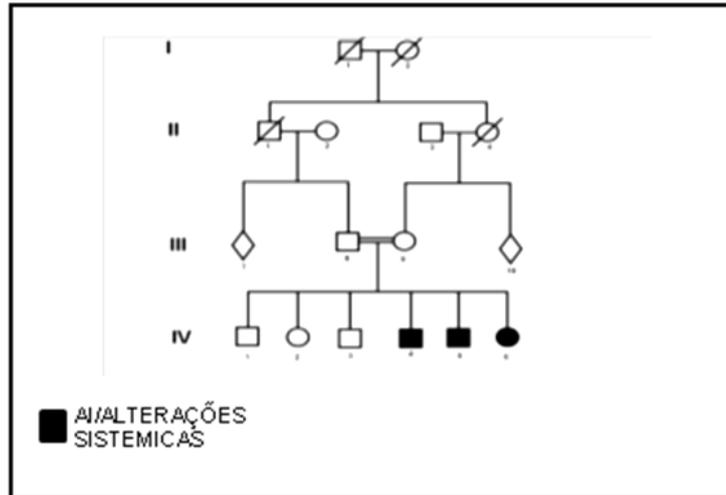


Figura 12 - Heredograma da Família II, observa-se história de consanguinidade entre os pais dos pacientes 3 (IV:4), paciente 4 (IV:5) e paciente 5 (IV: 6), sugerindo padrão de herança autossômico recessivo.

### 5.2.1 Paciente 3

O paciente 3 (IV:4) atualmente com 24 anos (agosto de 2012), foi encaminhado da Clínica de Anomalias Dentárias do HUB ao ambulatório de genética médica devido ao quadro de alterações dentárias, convulsões e face sindrômica. O paciente começou o acompanhamento com 16 anos de idade. Foi relatado ter sido internado após alguns dias de vida devido à obstrução nasal e dificuldade respiratória. Esteve internado devido à atresia de coanas bilateralmente, corrigido cirurgicamente.

Durante anamnese no ambulatório de genética médica foram negadas infecções e alterações durante o período pré-natal. Nascido de parto normal e a termo (não sabe quantas semanas de gestação exatas). Quanto à evolução neuromotora, o paciente não apresentou atraso no desenvolvimento neuro-psicomotor (DNPM) sentou sozinho com 6 meses, andou e falou com 1 ano.

Paciente relatou ter crises convulsivas com início aos 10 anos e uso de fenobarbital, com bom controle. Refere ter repetido o ano cinco vezes após o início das crises convulsivas.

Ao exame físico genético-clínico foi observado que o paciente estava com peso abaixo do terceiro percentil, perímetro cefálico abaixo do segundo percentil

(microcefalia), discreta assimetria facial, cabelos crespos e de implantação baixa na nuca, retração bitemporal, fendas palpebrais retas, raiz nasal alta, hipoplasia da face média, orelhas com sobredobramento de hélices e anti-hélices hipoplásicas, retrognatia (Fig.13). Além disso, foi observado *pectus excavatum*, aparelho cardiovascular e abdômen sem anormalidades, genitália masculina, membros proporcionados. Mãos sem alterações.



Figura 13 – Fotos ao exame clínico do Paciente 3 (IV:4) com discreta assimetria facial, retração bitemporal, fendas palpebrais retas, raiz nasal alta, hipoplasia da face média, retrognatia, cabelos crespos e de implantação baixa na nuca (Fig.13.A-B). Mãos sem alterações (Fig.13.C). Orelhas com sobredobramento de hélices e anti-hélices hipoplásicas (Fig. 13.D).

Em estudo de análise cromossômica, o cariótipo se apresentou normal: 46,XY. Também foi feita pesquisa citogenética para X-frágil, com resultado negativo. A tomografia computadorizada de crânio apresentou imagens dentro do padrão de normalidade.

No ambulatório de nefrologia pediátrica foram realizados exames bioquímicos de sangue, EAS/urina, citratúria, gasometria, ultrassonografia renal, sintetizados no quadro 3. O paciente apresentou alterações na fosfatase alcalina, fósforo plasmático e citratúria.

Quadro 4 - Resumo dos resultados dos exames bioquímicos do Paciente 3

Exames do Paciente 3	2004	2012	V.R.
EAS	d 1025 pH 5*	d =1000 pH 6,5	d= 1005-1020 / pH 6,0-7,0
Citratúria	0,83	NR	1,3-6,0 mmol/24h
Creatinina plasmática	0,6	0,7	0,3-0,7 mg/dl
Cálcio <sup>++</sup> plasmático	9,1	9,3	8,8-11 mg/dl
Fosfatase alcalina	1462*	90	< 750 UI/L; 150-380 UI/L (pré-pubere)
Fósforo plasmático	4,9*	2,3*	2,5-4,5 mg/dl
Uréia	17	23	15-50 mg/dl
Glicose	85	NR	70-110 mg/dl
Ultrassonografia renal	Normal	NR	Normal
Gasometria	pH 7,7*	NR	7.36-7.44

\* Valores fora dos valores de referência (V.R.). Exame não realizado (N.R.).

No ambulatório da otorrino do HUB foi avaliada a capacidade auditiva do paciente 3 (IV:4) devido a deficiência auditiva de um dos irmãos afetados, paciente 5 (IV:6). A Audiometria tonal revelou leve perda em frequências graves (250,500) em orelha esquerda e audição normal em orelha direita. Audiometria vocal revela índice de reconhecimento de fala de 100% em 55 dB. Limiar de reconhecimento de fala de 10 dB bilateralmente. Exame de impedânciometria revela curva tipo “A” bilateralmente. Presença de reflexos acústicos em frequência de 500, 1000, 2000 e 4000 em ambas as orelhas. Em tomografia computadorizada de porção mastoide mostrou imagens dentro do padrão de normalidade.

#### Avaliação odontológica

O paciente procurou o serviço odontológico, juntamente com seus irmãos aos 16 anos de idade no momento da consulta, devido à aparência dos dentes. Durante anamnese a mãe relatou que os dentes decíduos do filho também eram pequenos e amarelados. A mãe negou qualquer intercorrência durante a gestação, relatou internações logo após o nascimento e devido atresia de coanas. Relatou uso de fenobarbital no tratamento de crises convulsivas.

Ao exame extra-bucal odontológico foi observado perfil facial convexo, com

hipoplasia de maxila. Ao exame intra-bucal os palatos duro e mole eram muito profundos (ogival), a gengiva apresentava um severo grau de inflamação, hiperplasiado e com sangramento espontâneo. Presença de muita placa bacteriana associada a superfície áspera dos dentes. Funcionalmente o paciente apresentava mordida aberta anterior e mordida cruzada posterior e classificado com má-oclusão classe III de Angle.

Os dentes erupcionados apresentavam coloração amarelo-amarronzada. O esmalte apresentava-se hipocalcificado com superfície áspera, facilmente removida e, nos dentes posteriores, superiores e inferiores, foi observada atrição com superfície oclusal plana. Em alguns dentes também foram observadas hipoplasias em forma de ponto. Ao exame clínico intra-bucal os dentes 12,11, 21 e 22 tinham lesão de cárie. O dente 26 havia uma grande exposição radicular palatina. Todos os dentes estavam erupcionados, exceto terceiros molares (Fig.14. A-F).

Os achados radiográficos relevantes foram ausência de diferença de densidade entre esmalte/dentina, câmaras pulpares atrésicas, presença de nódulos pulpares em alguns dentes, radiolucidez periapical e radicular lateral sugestiva de abscessos periapicais e periodontais, respectivamente, e grandes perdas de tecido de osso alveolar. A telerradiografia em norma lateral revelou mordida aberta anterior e retrognatismo da maxila, formando um padrão esquelético classe III de Angle (Fig.14. G-H )

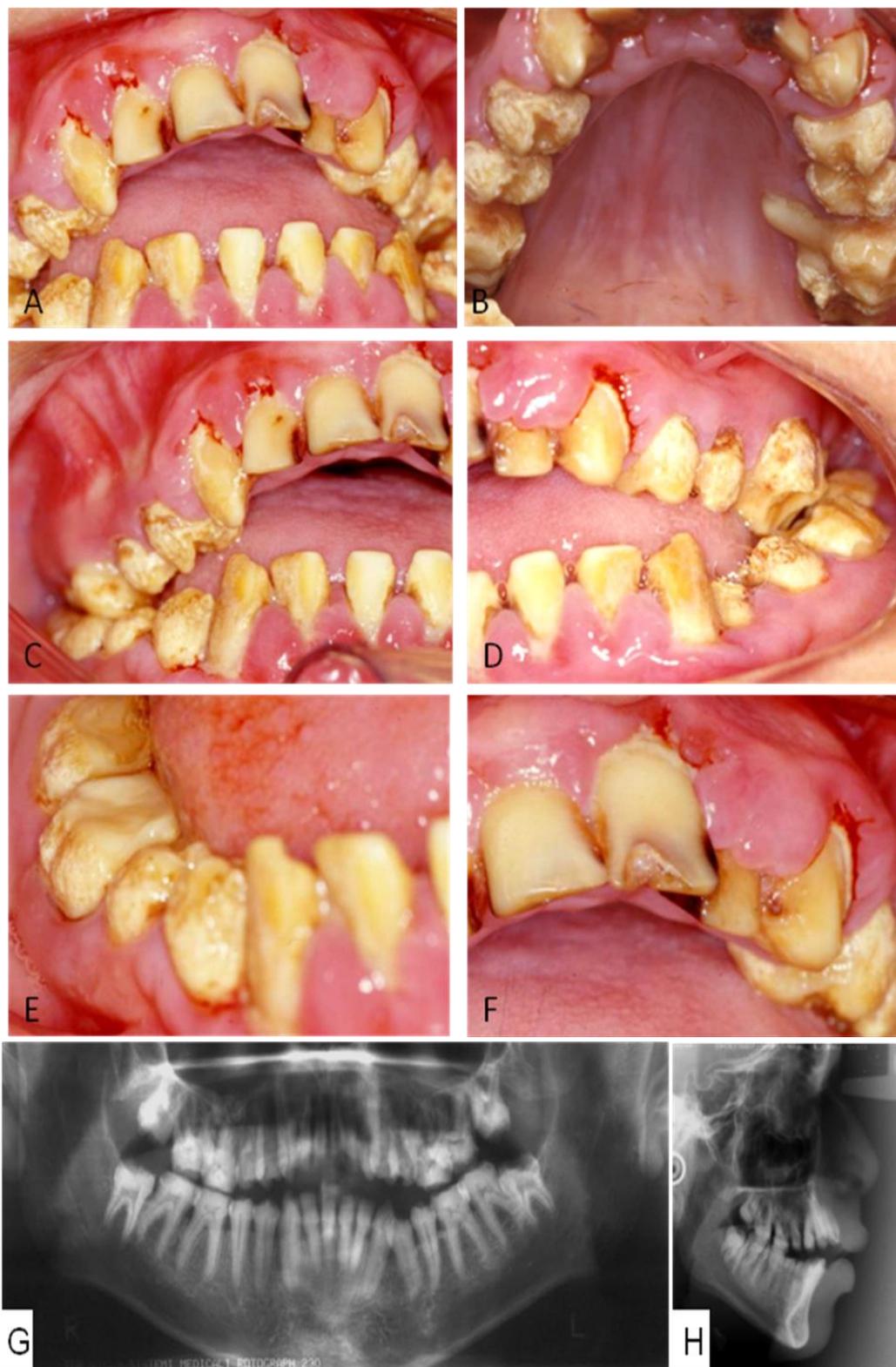


Figura 14 – Manifestações bucais ao exame clínico e radiográfico do Paciente 3 (IV:4): revelando inflamação gengival severa, com sangramento espontâneo e grande acúmulo de placa. Dentes amarelados, com superfície pontilhada nas faces lisas e superfície oclusal plana devido à atrição. Lesão de cárie nos incisivos superiores (Fig.14.A-F). Palato ogival, exposição radicular dente 26 (Fig.14.B). Hiperplasia gengival na região do dente 22 (Fig. 14.F). Radiografia panorâmica (Fig.14.G).Telerradiografia norma lateral mostrando mordida aberta anterior.

### 5.2.2 Paciente 4

O paciente 4 (IV:5) atualmente com 20 anos (agosto de 2012), iniciou o acompanhamento no ambulatório de genética médica do HUB com 12 anos de idade. Foi encaminhado à Clínica de Anomalias Dentárias do HUB devido ao quadro de alterações dentárias semelhante ao quadro do seu irmão em investigação (paciente 3). Não relatou internações desde o nascimento até o presente momento.

Também foram negadas infecções e alterações durante o pré-natal. Nascido de parto normal e a termo (não sabe quantas semanas de gestação exatas). Quanto à evolução neuromotora o paciente não também não apresentou atraso no desenvolvimento neuro-psico-motor (DNPM).

Ao exame físico genético-clínico foi observado que o paciente estava com perímetro cefálico abaixo do segundo percentil (microcefalia), cabelos crespos e de implantação baixa na nuca, retração bitemporal, fendas palpebrais retas, raiz nasal alta, hipoplasia da face média, orelhas com sobredobrimento de hélices e anti-hélices hipoplásicas, retrognatía (Fig. 14). Além disso, o paciente apresentava ao exame clínico: *pectus excavatum*, genitália masculina, membros proporcionados. Mãos com falanges distais alargadas (Fig. 14. C-D).

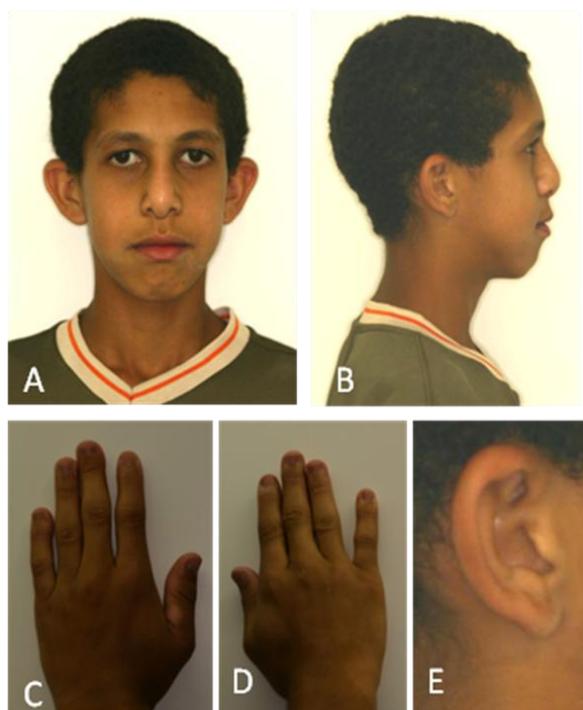


Figura 15 – Fotos ao exame clínico do Paciente 4 (IV:5) apresentando microcefalia, retração bitemporal, fendas palpebrais retas, raiz nasal alta, hipoplasia da face média, retrognatía, cabelos crespos e de implantação baixa na nuca (Fig.15.A-B). Mãos com falanges distais alargadas (Fig.15 C-D). Orelhas com sobredobrimento de hélices e anti-hélices hipoplásicas (Fig. 15.E).

No ambulatório de nefrologia pediátrica o paciente foi avaliado para investigação da presença de nefrocalcinose e/ ou tubulopatia. Foram realizados exames bioquímicos de sangue, EAS/urina, citratúria, gasometria, ultrassonografia renal, sintetizados no quadro 4. O paciente apresentou alterações na fosfatase alcalina, ácido úrico e gasometria.

Quadro 5 - Resumo dos resultados dos exames bioquímicos do Paciente 4

Exames do Paciente 4	2007	V.R.
<b>EAS</b>	<b>d 1020 pH 6</b>	<b>d= 1005-1020 /pH 6,0-7,0</b>
Creatinina plasmática	0,7	0,3-0,7 mg/dl
Cálcio <sup>+2</sup> plasmático	9,6	8,8-11 mg/dl
Fosfatase alcalina	432*	< 750 UI/L; 150-380 UI/L (pré-pubere)
Fósforo plasmático	4,6*	2,5-4,5 mg/dl
Uréia	18	15-50 mg/dl
Cálcio na urina 24 hs	79,8	60-200 mg/24 hs
Fosfato urina 24 hs	1223	400-1300 mg/24 hs
Ácido cítrico urina 24 hs	249	250-1152 mg/24 hs
Ácido úrico urina 24 hs	851,2*	250-750 mg/24h
Potássio	4,1	3,6-5,0 mil/l
Ultrassonografia	Normal	
Gasometria	pH 7,27*	7.36-7.44

\* Valores fora dos valores de referência (V.R.).

No ambulatório da otorrino do HUB foi avaliada a capacidade auditiva do paciente 4 (IV:5) devido a deficiência auditiva de um dos irmãos afetados, paciente 5 (IV:6). Audiometria tonal revelou perda leve em ambas as orelhas em frequência de 6 kHz. Audiometria vocal revelou índice de reconhecimento de fala de 100 % a 55 dB. Limiar de reconhecimento de fala de 20 dB em orelha direita e 15 dB em orelha esquerda. Exame de otoemissões acústicas revelando função coclear alterada em algumas frequências bilateralmente. Impedânciometria revela curva tipo “A” bilateralmente em presença de reflexos acústicos em frequências de 500, 1000 e 4000.

## Avaliação odontológica

O paciente procurou o serviço odontológico, juntamente com seus irmãos aos 12 anos de idade no momento da consulta, devido à aparência dos dentes. Durante anamnese a mãe relatou que os dentes decíduos do filho também eram pequenos e amarelados. A mãe negou qualquer intercorrência durante a gestação. Negou crises convulsivas.

Ao exame extra-bucal odontológico foi observado perfil facial convexo, com hipoplasia de maxila. Palatos duro e mole eram muito profundos (ogival), gengiva apresentava um severo grau de inflamação, hiperplasiada, com sangramento espontâneo e presença de fístula intra-bucal. Presença de muita placa bacteriana e cálculos associada à superfície áspera dos dentes. Funcionalmente o paciente apresentava mordida aberta anterior e mordida cruzada posterior e classificado com má-oclusão classe III de Angle.

Os dentes erupcionados apresentavam coloração amarelo-amarronzada. O esmalte apresentava-se hipocalcificado com superfície áspera, facilmente removida e, nos dentes posteriores, superiores e inferiores, foi observada atrição com superfície oclusal plana. Na face lisa de pré-molares, molares e caninos também foram observadas hipoplasias em forma de ponto. Ao exame clínico intra-bucal vários dentes tinham lesão de cárie, principalmente incisivos superiores e molares superiores e inferiores. Os segundos pré-molares superiores estavam girados e na região do palato. Os segundos e terceiros molares não estavam erupcionados no momento do exame inicial (Fig.15. A-F).

Ao exame radiográfico foi observada a presença de todos os dentes, com ausência de diferença de densidade entre esmalte/dentina, câmaras pulpares amplas, sugerindo taurodontismo em segundos molares inferiores, radiolucidez radicular lateral região do dente 33 e 34 sugestiva de abscesso periodontal e radiolucidez radicular periapical dente 26 sugestivo de abscessos periapicais, e grandes perdas de tecido ósseo (Fig.15. G).

A telerradiografia em norma lateral posteriormente ao exame inicial, em 2006, revelou mordida aberta anterior (Fig.15. H).

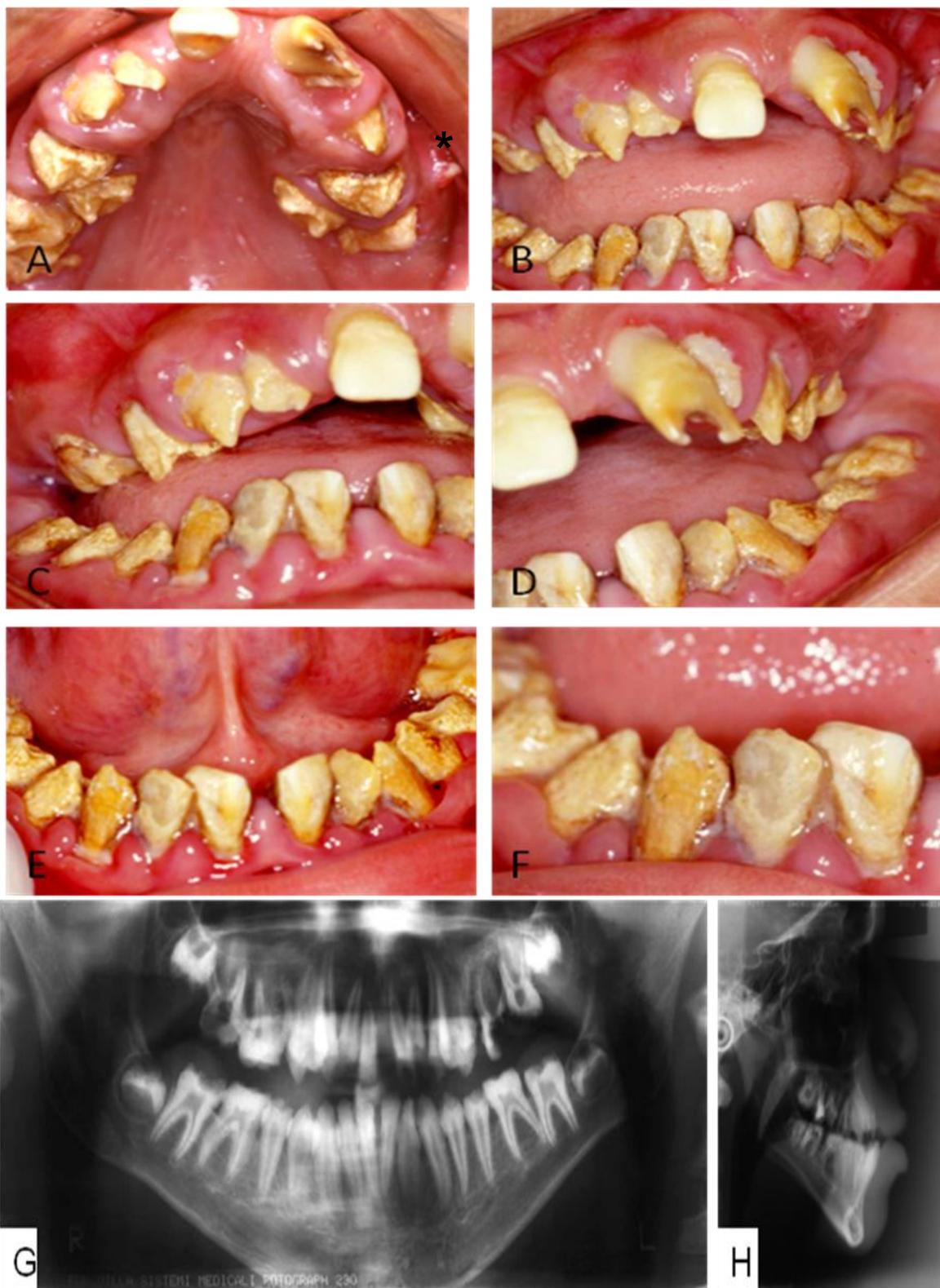


Figura 16 – Manifestações bucais ao exame clínico e radiográfico do Paciente 4 (IV:5): revelando inflamação gengival severa e fístula intra-oral em região de pré-molares superiores. Segundos pré-molares na região de palato, palato ogival (Fig.16. A). Dentes amarelados com superfície áspera, aspecto pontilhado em molares e pré-molares, associados a muita placa bacteriana e cálculos gengivais (Fig.16. B-F). Hiperplasia gengival região dos dentes incisivos inferiores (Fig. 16. E-F). Radiografia panorâmica (Fig.16. G). Telerradiografia em norma lateral (Fig. 16. H)

### 5.2.3 Paciente 5

A paciente 5 (IV:6) atualmente com 18 anos (agosto de 2012), iniciou o acompanhamento no ambulatório de genética médica do HUB com 10 anos de idade. Foi encaminhado da Clínica de Anomalias Dentárias do HUB devido ao quadro de alterações dentárias semelhante ao quadro do seu irmão também em investigação (paciente 3). Relatou internação logo após o nascimento para transfusão sanguínea.

Ao exame físico genético-clínico foi observado que a paciente estava com perímetro cefálico normal, cabelos crespos, retração bitemporal, assimetria ocular com desvio lateral do olho direito, fendas palpebrais retas, raiz nasal alta, hipoplasia da face média, orelhas com sobredobrimento de hélices e anti-hélices hipoplásicas, retrognatia, *pectus excavatum*, membros proporcionados. Mãos sem alterações. Pés com segundos pododáctilos maiores que os demais (Fig.17. A-D). Ao exame de ossos longos foi possível observar rarefação óssea discreta e localizada em clavícula e coxa valga bilateralmente (Fig.17. G-H).

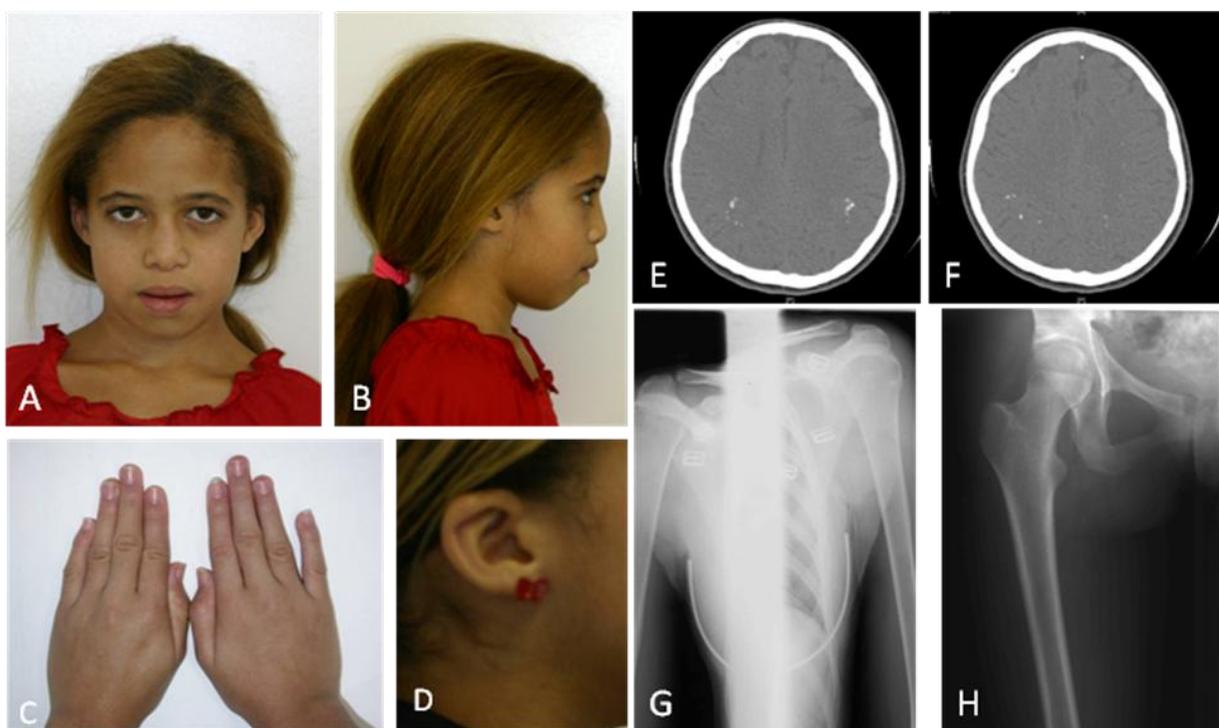


Figura 17 – Fotos ao exame clínico, tomografia de crânio e raio X de ossos do Paciente 5 (IV:6): apresentando perímetro cefálico normal, fronte ampla, fendas palpebrais retas, raiz nasal alta, lábios grossos, hipoplasia da face média e retrognatia (Fig. 17. A-B). Mãos sem alterações (Fig. 17. C). Orelhas com sobredobrimento de hélices e anti-hélices hipoplásicas (Fig. 17. D). Em tomografia de crânio apresentava calcificações na região parieto-occipital (Fig. 17. E-F). Raio X de ossos longos revelou rarefação óssea localizada em clavícula (Fig. 17.G) e coxa valga bilateralmente (Fig. 17.H).

No ambulatório de nefrologia pediátrica o paciente foi avaliado para investigação da presença de nefrocalcinose e/ ou tubulopatia. Foram realizados exames bioquímicos de sangue, EAS/urina, citratúria, gasometria, ultrassonografia renal, sintetizados no quadro 6. O paciente apresentou alterações no fosfato da urina.

Quadro 6 - Resumo dos resultados dos exames bioquímicos do Paciente 5

Exames do Paciente 5	2007	2012	V.R.
EAS	d 1020 pH 6	d = 1 pH=6,5	d= 1005-1020 /pH 6,0-7,0
Creatinina plasmática	0,4	0,7	0,3-0,7 mg/dl
Cálcio <sup>+2</sup> plasmático	10,2	9,0	8,8-11 mg/dl
Fosfatase alcalina	380	89	< 750 UI/L; 150-380 UI/L (pré-pubere)
Fósforo plasmático	4,7	2,6	2,5-4,5 mg/dl
Uréia	18	16	15-50 mg/dl
Ácido úrico urina 24 hs	467,5	NR	250-750 mg/24h
Cálcio urina 24 hs	112,2	NR	60-200 mg/24 hs
Fosfato urina 24 hs	143,6*	NR	400-1300 mg/24 hs
Ácido cítrico urina 24 hs	259	NR	250-1152 mg/24 hs
Potássio	4,6	NR	3,6-5,0 mil/l
Ultrassonografia renaç	Discreta dilatação pielocalicinal bilateral	NR	NR
Gasometria	pH 7,36	NR	7.36-7.44

\* Valores fora dos valores de referência (V.R.). Exame não realizado (N.R.).

No ambulatório da otorrino do HUB foi avaliada a capacidade auditiva do paciente 5 (IV:6), desde os 10 anos de idade já apresentava problemas auditivos. Audiometria tonal revela audição normal em orelha direita e surdez tipo condutiva moderada na orelha esquerda. Audiometria vocal revela índice de reconhecimento de fala de 100% a 50 dB em orelha direita e 88% a 70 dB em orelha esquerda. Apresenta médias tritonais em orelha direita de 8 dB e em orelha esquerda de 35 dB. Impedânciometria revela curva tipo “AS” em orelha esquerda e curva tipo “A” em

orelha direita. Presença de reflexos acústicos nas frequências de 500, 1000, 2000 e 4000 em orelha direita e ausência de respostas na mesma frequência em orelha esquerda. Exame de emissões otoacústicas revela função coclear normal na orelha direita e alterada em orelha esquerda.

Em tomografia computadorizada de porção mastoide foi observado redução volumétrica do conduto auditivo externo.

Já em tomografia computadorizada de crânio foi observado múltiplas calcificações na foice cerebral e intraparenquimatosa, predominando nas regiões parieto-occipitais e nos núcleos de base bilateralmente (Fig.17.E-F).

#### Avaliação odontológica:

A paciente procurou o serviço odontológico, juntamente com seus irmãos aos 10 anos de idade no momento da consulta, devido à aparência dos dentes. Durante anamnese a mãe relatou que os dentes decíduos do filho também possuíam a mesma aparência. A mãe negou qualquer intercorrência durante a gestação. Negou crises convulsivas.

Ao exame extra-bucal odontológico foi observado perfil facial convexo, com hipoplasia de maxila e de mandíbula. Palatos duro e mole profundos (ogival), gengiva apresentava um grau moderado de inflamação, com hiperplasia gengival, com sangramento espontâneo. Presença de muita placa bacteriana e cálculos associada à superfície áspera dos dentes. Funcionalmente o paciente apresentava mordida aberta anterior e mordida cruzada posterior e classificado com oclusão classe III de Angle(Fig.18. A-F).

Os dentes permanentes erupcionados apresentavam coloração amarelo-amarronzada. O esmalte apresentava-se hipocalcificado com superfície áspera, facilmente removida e, nos dentes posteriores, superiores e inferiores, foi observada atrição com superfície oclusal plana. Na face lisa de pré-molares, molares e caninos também foram observadas hipoplasias em forma de ponto. Ao exame clínico intra-bucal o incisivo central superior tinha lesão de cárie. Os segundos pré-molares superiores estavam girados e na região do palato. Os caninos superiores e os terceiros molares não estavam erupcionados no momento do exame inicial (Fig.18. A-F).

Ao exame radiográfico foi observada a presença de todos os dentes, com ausência de diferença de densidade entre esmalte/dentina, câmaras pulpares amplas e alguns cálculos pulpares (Fig.18. G). A telerradiografia em norma lateral revelou mordida aberta anterior (Fig.18. H)

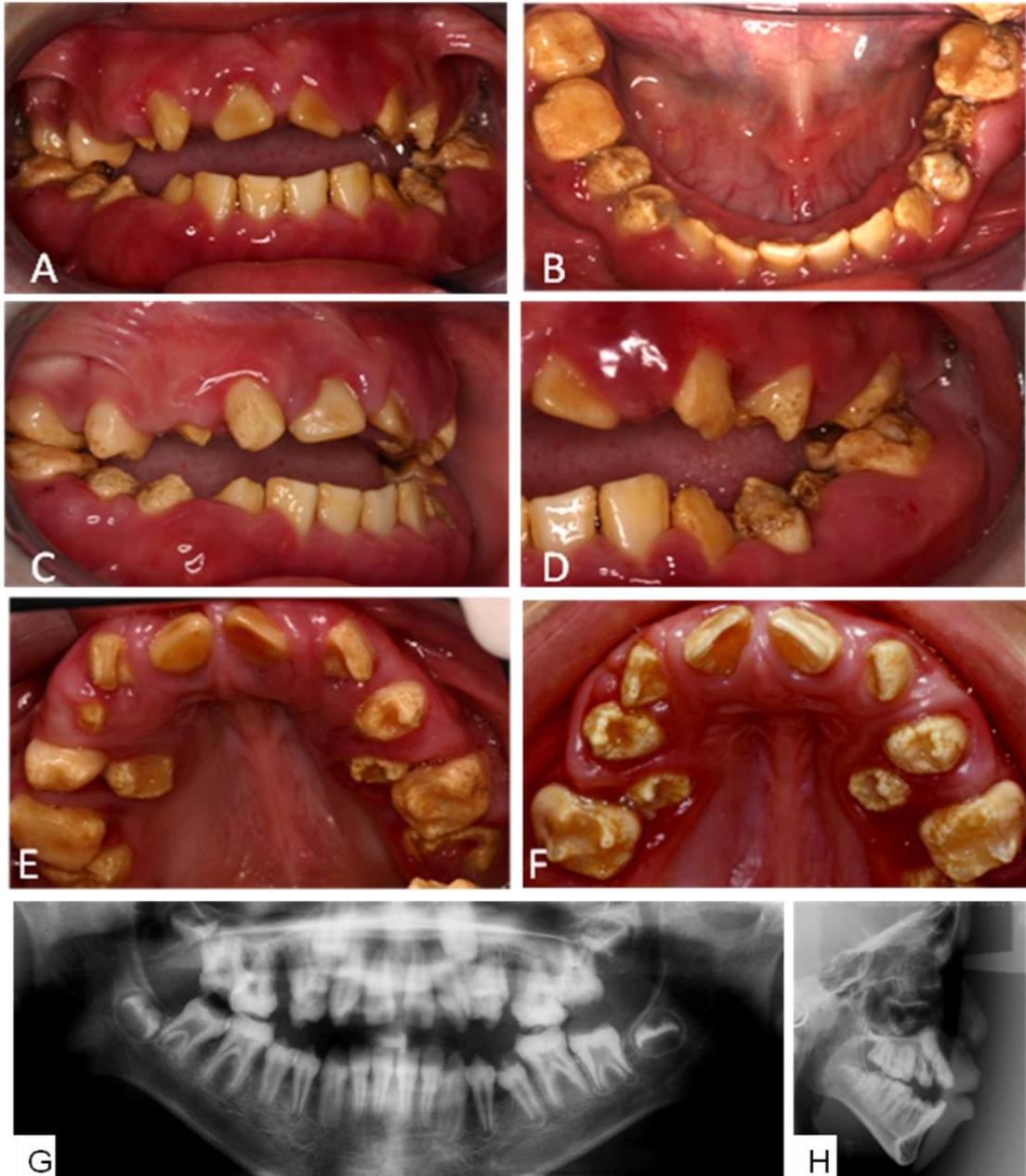


Figura 18 – Manifestações bucais ao exame clínico e radiográfico do Paciente 5 (IV:6): apresentando dentes amarelo-amarronzados, com superfície pontilhada em pré-molares e molares, exceto nas superfícies oclusais de molares devido a atrição (Fig. 18. A-E). Ao primeiro exame a superfície dos dentes se apresentava mais áspera e com rugosidades (Fig. 18. F), mas devido a falta de rigidez do esmalte esse se perdeu facilmente (Fig. 18. F-E). Também é possível visualizar a posição ectópica dos segundos pré-molares superiores (Fig. 18. F-E). Radiografia panorâmica revelando amplas câmaras pulpares e ápices abertos (Fig.18. G). Telerradiografia em norma lateral revelando mordida aberta anterior, retrognatia e hipoplasia de maxila e mandíbula (Fig.18. H).

#### 5.2.4 Análise histológica das amostras Família II

No tecido gengival associado aos dentes indicados a extração, foi possível observar alteração no epitélio que apresentava acantose em diferentes graus de severidade entre os irmãos afetados. A lâmina própria apresentava diferentes graus de severidade no inflamatório crônico entre os irmãos afetados, sendo mais severo no paciente 3 (IV-4), moderado no paciente 4 (IV-5) e menos intenso ainda no paciente 5 (IV-6) (Fig. 19. A-C). Já na submucosa do tecido gengival e no folículo pericoronário foi possível observar além do tecido conjuntivo frouxo, células epiteliais semelhantes a restos de epitélio odontogênico dispostas em cordões ou em ilhotas, associadas a focos de calcificação de padrão lamelar coradas por hematoxilina (Fig.19. D-F).

Na análise histológica de lâminas de desgaste dentário, foi possível observar uma fina camada de esmalte presente apenas em algumas regiões do dente. Em alguns dentes a dentina não apresentava alterações estruturais (Figura 19. A-F), já em outros dentes foi possível encontrar dentina interglobular, devido a falta da coalescência dos núcleos de calcificação da dentina. A dentina interglobular foi encontrada em região coronária abaixo da dentina do manto (Figura 19. H-O).

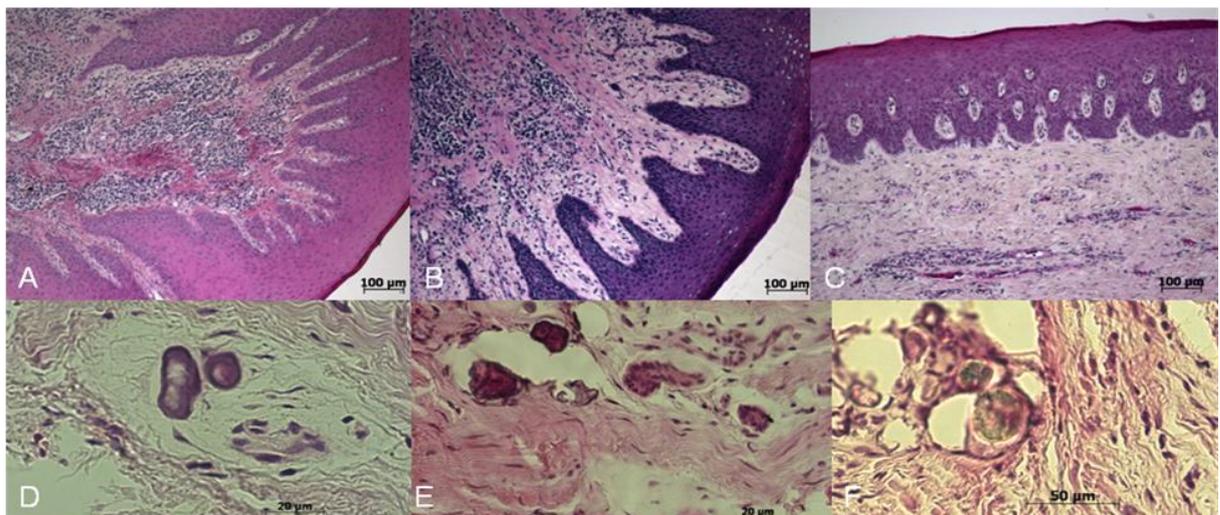


Figura 19 - Análise histológica amostras da Família II: tecido gengival paciente 3 (IV:4) (Fig.19. A), paciente 4 (Fig.19. B) e paciente 5 (Fig. 19. C) em grau decrescente de severidade do infiltrado inflamatório e acantose no epitélio. Presença de calcificações associadas a ilhotas epiteliais semelhantes a restos de epitélio odontogênico (Fig.19. D-F).

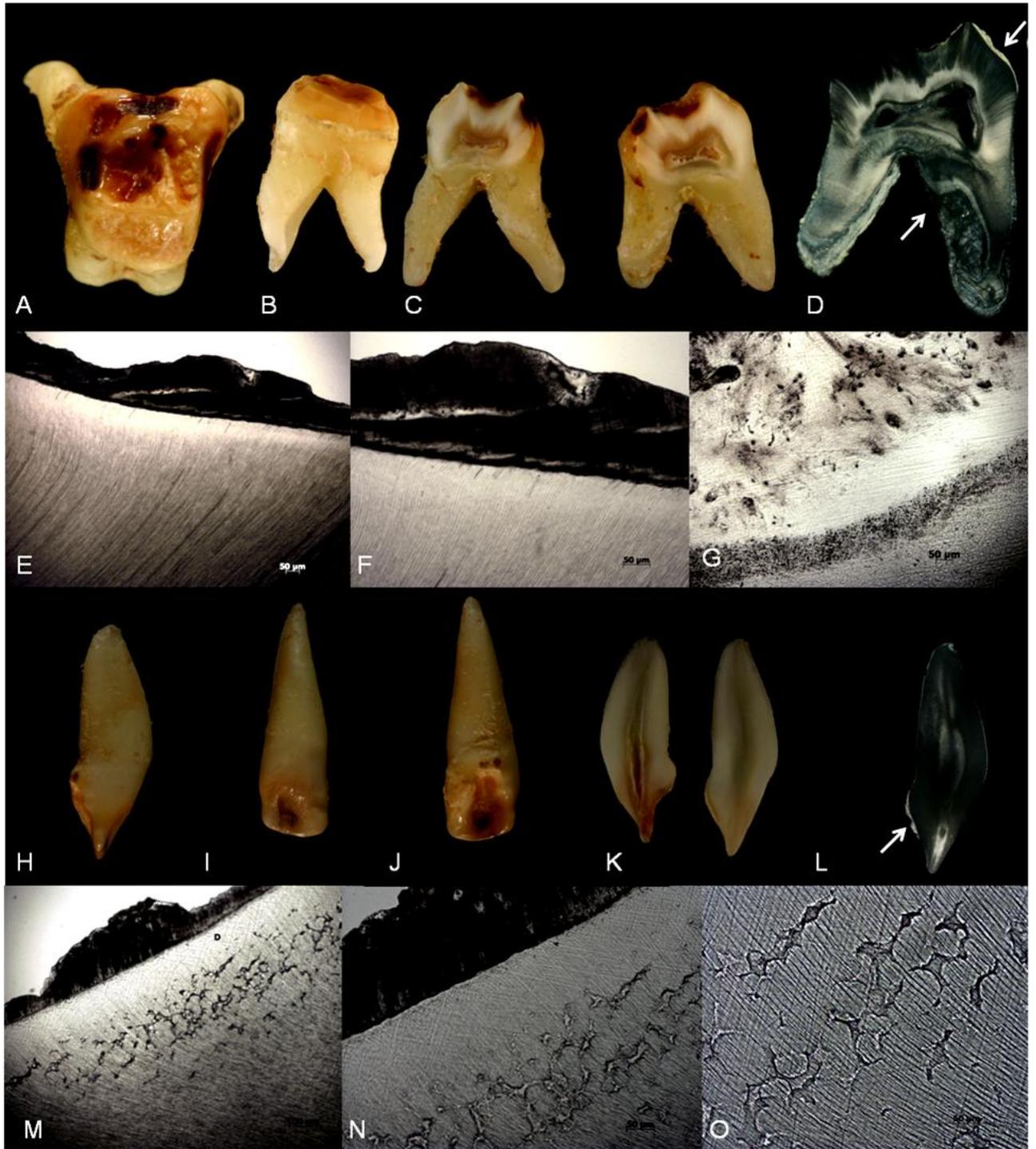


Figura 20 – Análise histológica amostras da Família II (continuação): Fotografia do dente 26 do paciente 3 (IV:4) face oclusal, mostrando lesão de cárie e hipoplasia do esmalte com superfície pontilhada (Fig.20. A).Vista proximal do mesmo dentes (Fig.20. B). Fotografia do dente seccionado pela metade, mostrando atresia da câmara pulpar (Fig. 20. C). Fotografia lâmina de desgaste longitudinal do mesmo dente mostrando uma fina região de esmalte e região semelhante a hiperцемтозе (Fig. 20.D). Esmalte com estrutura amorfa e hipoplásico e dentina sem alterações (Fig.20. E-F). Cimento em maior aumento de região indicada pela seta (Fig. G). Fotografia do dente 22 paciente 4 (IV:5) em vista proximal (Fig.20. H), vestibular (Fig.20. I) e palatina (Fig.20. J).Dente seccionado ao meio (Fig. 20. K). Fotografia da lamina de desgaste com seta na região da fina camada de esmalte (Fig.20. L). Região de esmalte e dentina da seta em maior aumento, revelando esmalte sem estrutura prismática, amorfo, e dentina interglobular logo abaixo da dentina do manto (Fig20. M).

Quadro 7 – Resumo dos resultados da caracterização fenotípica

	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4	Paciente 5
<b>Nº da família</b>	I	I	II	II	II
<b>Gênero</b>	M	M	M	M	F
<b>Consanguinidade</b>	+	+	+	+	+
<b>Origem étnica</b>	Brasil	Brasil	Brasil	Brasil	Brasil
<b>Idade atual</b>	11 anos	10 anos	24 anos	20 anos	18anos
<b>Achados Clínicos gerais</b>					
Microcefalia	+	+	+	+	-
Craniossinostose	+	+	-	-	-
Proptose ocular	+	+	+	+	+
Hipoplasia da face média	+	+	+	+	+
Depressão da raiz nasal	+	+	-	-	-
Atresia das coanas	+	n.r.	+	n.r.	n.r.
Micrognatia	-	-	-	-	-
Palato ogival ou fissurado	+	+	+	+	+
Prognatismo	-	-	-	-	+
Implantação baixa das orelhas	+	+	-	-	n.r.
Sobredobramento de hélice e anti-hélice	-	-	+	+	+
Alterações raio X de ossos longos	>Rarefação óssea ao exame de IO	>Rarefação óssea ao exame de IO	n.r.	n.r.	> Rarefação óssea localizada em clavícula
Alterações bioquímicas no sangue	<fosfatemia >fosfaturia >PTH	<fosfatemia >fosfaturia >PTH	>fosfatase alcalina	>fosfatase alcalina	<fosfatúria
Calcificações cerebrais	+	+	n.r.	n.r.	+
Convulsões	+	-	+	-	+
Alteração nos rins e fígado	microcálculo renal	microcálculo renal	-	-	Discreta dilatação pielocalicinal bilatera-
Alteração visual	+	-	-	-	-
Alteração auditiva	n.r.	n.r.	-	+	+
Dedos curtos	+	+	-	+	-
<b>Achados Odontológicos</b>					
Amelogênese Imperfeita	+	+	+	+	+
Hiperplasia gengival	+	+	+	+	+
Má oclusão	+	+	+	+	+
Alterações na dentina	+	+	+	+	+
Calcificações em biopsia de gengiva/folículo pericoronário	+	+	+	+	+
Lesões periapicais	+	+	+	+	+
Calcificações pulpares	-	-	-	+	+

(n.r.: Não realizado)

## 6. DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo caracterizar o fenótipo de famílias com hipótese diagnóstica de AI autossômica recessiva e quadro sindrômico. Por meio da avaliação odontológica clínica, identificou-se que os defeitos de esmalte eram acompanhados de outras manifestações bucais, como má oclusão dentária, alterações clínicas na gengiva e infecções periapicais. A análise histológica dos tecidos bucais afetados permitiu observar achados ainda não associados a AI, como alterações na dentina com diferentes graus de comprometimento. Além disso, histologicamente também foram observadas alterações gengivais e do folículo pericoronário. Alterações sistêmicas como distúrbios na mineralização óssea de ossos longos e crânio, alterações renais, auditivas e neurológicas também foram descritas em alguns desses pacientes, outros é necessária a confirmação por meio de exames.

Esse estudo caracterizou cinco pacientes em duas famílias consanguíneas, o padrão de herança autossômico recessivo configura apenas aproximadamente 12% dos casos da AI e são o padrão de herança mais associado a síndromes (2, 3, 92, 93). A metodologia empregada nesse trabalho consistiu em uma pesquisa qualitativa e descritiva.

A definição da AI que mais utilizada até o presente momento (94) restringe a doença a um grupo de condições hereditárias que afetam a aparência clínica do esmalte de todos ou quase todos os dentes, não associado a alterações morfológicas ou bioquímicas sistêmicas. Contudo, estudos posteriores descreveram a AI associada a outras anomalias dentárias como o taurodontismo (95) e alterações em outros sistemas tais como à síndrome de Jalili (31), e a nefrocalcinose (76). Além disso, defeitos de esmalte têm sido relatados em associação a outras síndromes e doenças metabólicas (93, 96). Assim, nos últimos anos a definição tem sido questionada, e a AI está sendo definida como um grupo de condições genéticas, que afeta a estrutura e aparência clínica do esmalte de todos ou quase todos os dentes e pode estar associada a outras alterações sistêmicas (5). Considerando os termos AI sindrômica e não sindrômica, a literatura tem relacionado à forma não-sindrômica a defeitos no esmalte isolados e não relacionados a outras alterações sistêmicas. Já a presença desses defeitos dentários associada a síndromes ou outras alterações

sistêmicas, é descrita como AI sindrômica (97).

Nas duas famílias estudadas, todos os dentes em ambas as dentições apresentavam defeitos de esmalte. Considerando-se a heterogeneidade clínica e genética na AI, um minucioso exame clínico foi necessário para o diagnóstico. O diagnóstico clínico da AI envolveu a exclusão de fatores ambientais, locais, sistêmicos ou metabólicos que pudessem afetar a formação do esmalte e a determinação do padrão de herança da AI (1). Ao contrário de alterações do esmalte provocadas por fatores locais ou sistêmicas, que resultam em defeitos simétricos e cronológicos, relacionados com o momento da ocorrência da injúria e a fase de desenvolvimento dentário, os pacientes avaliados apresentaram defeitos generalizados nas duas dentições. Além, de vários membros das duas famílias apresentaram defeitos similares sugerindo um caráter genético que foi sugerido pelo estudo familiar.

Os heredogramas das famílias estudadas sugeriram um padrão de herança autossômico recessivo, devido a casamentos consanguíneos em segundo grau entre pais não afetados pela doença e filhos afetados. Dependendo do grau de parentesco entre genitores, há um alto risco de verificar-se um fenótipo anormal, causado pela homozigose de alelos recessivos. (98). Portanto, mostra-se necessário um estudo da etiologia molecular que confirme o padrão de herança autossômico recessivo da AI nas famílias estudadas.

Constatou-se ainda, que os defeitos de desenvolvimento do esmalte apresentavam um padrão muito semelhante entre irmãos afetados de uma mesma família. Na primeira família avaliada foi diagnosticado AI do tipo hipoplásico, classificado como tipo I G segundo a Classificação de Witkop (6). Na segunda família, os dentes do caso índice e dos dois irmãos afetados apresentavam esmalte hipocalcificado e hipoplásico, o que não permitiu associá-los a nenhum dos fenótipos descritos na Classificação de Witkop (6). Esses resultados ainda confirmaram a limitação da classificação atual da AI devido à sua heterogeneidade clínica. Vários fenótipos podem ser encontrados em um mesmo paciente, além da dificuldade de diferenciar a forma hipocalcificada e hipomaturada tendo em vista que ambas são alterações ocorridas durante a maturação do esmalte dentário (99). Isso reafirma que esse sistema de classificação não permite definir todas as formas de AI sendo necessário buscar embasamento na etiologia molecular e associá-la aos achados

fenotípicos (1, 5, 10). Recentemente, avanços biotecnológicos, como o *whole exome sequencing*, tem permitido identificar a etiologia molecular de doenças raras com herança mendeliana (100). Esses avanços também permitirão uma nova classificação de doenças genéticas como a AI que possuem uma grande heterogeneidade tanto clínica, quanto em relação ao padrão de herança e etiologia molecular. Como proposto anteriormente por Aldred e Crawford (1995) essa nova classificação deveria ser baseada nos defeitos moleculares, quando conhecidos, consequentes alterações bioquímicas, quando conhecidas, modo de herança e fenótipo (9).

Atualmente, mutações em 5 genes ( *ENAM*, *KLK - 4*, *MMP - 20* e *WDR72* ) foram identificadas na etiologia da AI autossômica recessiva na forma isolada (15, 17, 19, 25). Mais recentemente, foram relatadas mutações no gene *C4ORF26* como causa da forma hipomaturada autossômica recessiva (12). Enquanto mutações no gene *ENAM* associadas com o padrão autossômico recessivo (g.13185\_13186insAG; g.12946\_12947insAG) relacionam-se com o fenótipo hipoplásico generalizado da AI (15, 34), as mutações nos genes *KLK - 4* e *MMP - 20* têm sido reportadas como responsáveis pela forma autossômica recessiva do tipo hipomaturada da AI (17, 19). Mutações em nenhum gene, até o presente momento, foram identificadas como responsáveis pelo padrão hipocalcificado da AI de forma de herança autossômica recessiva.

A análise histológica dos dentes permitiu observar que todos os afetados além da AI apresentaram alterações na dentina com diferente graus de comprometimento entre os pacientes. Das duas famílias avaliadas, a primeira família possuía a dentina mais afetada. Os afetados da primeira família aparentemente não possuíam alterações em espessura e na mineralização da dentina do manto, primeira dentina depositada localizada próximo à junção amelo-dentinária (entre o esmalte e a dentina). No entanto, a fina camada de dentina circumpulpar coronária e radicular apresentava distúrbios graves de mineralização. A dentina afetada foi identificada como interglobular, a qual é caracterizada pela hipomineralização desse tecido devido à não coalescência dos calcosferitos da dentina (101). Associada à essa estreita camada de dentina foram observadas amplas câmaras pulpare e amplos ápices abertos. Os afetados da segunda família apresentavam em alguns dentes, na região próxima à dentina do manto, também a dentina interglobular. A

dentina afetada na segunda família não possuía alterações em sua espessura e a dentina interglobular não comprometia toda a dentina primária e secundária como observado na primeira família, caracterizando um comprometimento mais leve da dentina.

O primeiro relato descrevendo um caso em que tanto a amelogênese como a dentinogênese estaria afetada foi reportado por Chaudhry (1961). Chamado de odontogênese imperfeita, apenas os dentes inferiores eram afetados e apesar da etiologia sugerida ser genética, nenhum outro familiar apresentava alterações semelhantes (102). Posteriormente casos semelhantes foram identificados como odontodisplasia regional definida como uma rara condição não hereditária de origem e de etiologia desconhecida (103), que afeta todos os tecidos dentários, tanto os de origem ectodérmica (esmalte) como os de origem ectomesenquimal (polpa, dentina e cimento). Geralmente essa patologia envolve vários dentes de um mesmo quadrante, sem cruzar a linha média caracterizando-se como um defeito regional, sem afetar outros dentes que apresentam esmalte e dentina preservados (104). Até o presente momento, excepcionalmente nove casos na literatura relataram a odontodisplasia afetando três ou quatro quadrantes, condição conhecida como odontodisplasia generalizada (105-110).

Também são associados à odontodisplasia regional, além do esmalte hipoplásico e dentina interglobular, áreas amorfas de dentina, fissuras, amplas câmaras pulpares, cálculos pulpares, assim como raízes curtas e com ápices abertos e abscessos periapicais. Além disso, hiperplasias do folículo pericoronário e ilhas de restos epiteliais associadas a calcificações foram observados em biopsias do folículo pericoronário em vários relatos de caso (111-114). Muitas dessas características relacionadas à odontodisplasia foram encontradas tanto na segunda família como, principalmente na primeira família descrita, no entanto, nos pacientes dessas famílias todos os dentes estavam afetados, além do estudo familiar sugerir um caráter hereditário da doença.

Outra manifestação bucal comum a todos os afetados era a má-oclusão do tipo mordida aberta anterior. Estudos anteriores e recentes relatam a associação da AI e mordida aberta anterior. Os resultados desse trabalho confirmam os estudos cefalométricos já descritos na literatura, indicando que a mordida aberta esquelética, relacionada ou não, à mordida aberta dento-alveolar está presente em casos de AI

(115-117).

Conhece-se pouco do caráter genético das má-oclusões dentárias. Dois fatores ambientais são considerados importantes para causa da má-oclusão mordida aberta anterior: sensibilidade dental e hábitos bucais (118). Esses fatores ambientais podem modificar a postura mandibular, influenciar a musculatura e alterar a força da mordida (119). Outros fatores locais como a forma anômala dos dentes pode alterar o desenvolvimento da mandíbula e maxila, resultando na instabilidade oclusal, deficiente trespasse dos arcos e interposição lingual (120). Os afetados foram questionados quanto aos hábitos de sucção do dedo e negaram esse hábito durante a infância. Todos os afetados apresentavam interposição lingual durante a fala, apresentando dificuldade de dicção. É importante observar que os fatores ambientais afetam as estruturas bucais quando se somam a predisposição genética, embasando a corrente que acredita que a etiologia da mordida aberta anterior é multifatorial (119). Porém, apesar da má-oclusão mordida aberta anterior esquelética ter uma alta prevalência na AI e vários fatores ambientais estarem associados a essa má-oclusão, um número maior de famílias a serem avaliadas e mais estudos funcionais deverão ser realizados para constatar se esse defeito será secundário ou primário a etiologia molecular dessa condição (99).

Além de alterações dentárias e oclusais esqueléticas, os afetados também apresentavam alterações na gengiva. Nos pacientes da primeira família descrita, a hiperplasia gengival era mais severa no irmão mais velho e moderado no outro irmão, que possuía gengiva fibrosa associada a grandes áreas edêntulas. Já na segunda família todos os irmãos igualmente apresentavam severa hiperplasia gengival e significativo grau de inflamação; apenas o irmão mais velho fazia uso de anticonvulsivante fenitoína, medicação que pode causar a hiperplasia gengival. Histologicamente, todos os pacientes apresentavam várias estruturas esféricas calcificadas de padrão laminar, observados em maior aumento, associado a restos epiteliais organizados em ilhas ou cordões semelhantes a restos epiteliais odontogênicos.

Assim toda a caracterização das manifestações bucais desses pacientes por meio do exame clínico odontológico, análise histológica dos dentes e tecidos moles por microscopia ótica e de varredura ficou claro que esses pacientes apresentavam AI sindrômica, visto que além da AI, esses pacientes possuíam alterações na

dentina, mordida aberta anterior esquelética e hiperplasia gengival. No entanto, não há na literatura nenhuma síndrome descrevendo a associação de todos esses achados e os associando a outras alterações sistêmicas.

Com o objetivo de excluir se a formação e função de outros órgãos e sistemas estariam também afetados e se os pacientes examinados possuíam algumas das síndromes associadas a AI já relatadas na literatura, foi realizada uma ampla pesquisa das alterações médicas descritas em prontuário médico, além do encaminhamento aos devidos serviços médicos para investigação de patologias já associadas à AI na literatura. Foram observadas facis sindrômica, desordens neuronais como crises epiléticas, calcificações cerebrais e atraso do desenvolvimento nas duas famílias. Já a primeira família possuía alterações nos exames bioquímicos não muito bem definidas, alterações em ossos longos e craniossinostose.

As anomalias dentárias são importantes características clínicas de muitas síndromes (54). Sua presença pode ser um importante elemento para o diagnóstico de distúrbios do crescimento e síndromes. Assim quando detectado esses defeitos, dentistas devem encaminhar pacientes para um completo exame clínico. Médicos que acompanham principalmente o desenvolvimento desde o nascimento até a erupção dos primeiros dentes, quando observados defeitos dentários podem permitir o precoce diagnóstico da AI.

A grande dificuldade desse trabalho foi definir a partir da caracterização fenotípica qual provável síndrome afetava essas famílias e se essa síndrome havia sido reportada na literatura ou não. A primeira família foi encaminhada com possível síndrome de Pfeiffer (OMIM#101600) devido à craniossinostose. No entanto, essa síndrome apresenta modo de herança autossômica dominante e anomalias características de mãos e pés, e outras manifestações não encontradas nessa família. Outras síndromes que associam à craniossinostose e consequentes dismorfismos faciais como a Síndrome de Crouzon (OMIM#123500), com padrão de herança autossômica dominante, e síndrome de Saethre Chotzen (OMIM#101400) foram excluídas as hipóteses diagnósticas dessas síndromes, pois foram encontradas nessa família outras manifestações sistêmicas e bucais não relacionados a esses quadros sindrômicos.

Por isso foram feitas várias abordagens por meio de uma equipe

multidisciplinar no intuito de buscar na literatura quais as condições que associavam as manifestações bucais encontradas e condições sistêmicas diagnosticadas nos pacientes descritos.

Semelhantemente ao encontrado na literatura sobre a síndrome AI e fibromatose gengival (OMIM 614253), os afetados avaliados nesse estudo também apresentavam AI hipoplásica, hiperplasia gengival e alterações histológicas desse tecido, herdadas de forma autossômica recessiva (35, 36, 83, 84). No entanto, as duas famílias tinham características muito heterogêneas, sendo observadas semelhanças e divergências em relação à síndrome. Como na AIFG, a primeira família apresentou alterações como atraso de erupção, agenesia, hiperplasia do folículo e modificação do eixo de erupção de dentes não erupcionados com deslocamento das raízes em direção ao seio maxilar, no entanto, não foi descrito nessa síndrome as importantes alterações da dentina, amplas câmaras pulpares, raízes curtas e ápices abertos, além das alterações sistêmicas. Já na segunda família semelhante à síndrome descrita também foi observados cálculos pulpares, no entanto, não foi observado atraso de erupção, hiperplasia do folículo, agenesia e modificação do eixo de erupção dos dentes. Portanto a partir da caracterização fenotípica detalhada desses pacientes foi excluída a síndrome AI e fibromatose gengival.

Entretanto, devido à pouca caracterização dos achados dentários em síndromes e distúrbios metabólicos, ainda é grande a dificuldade de associar manifestações bucais e síndromes já descritas.

Depois de várias pesquisas em bancos de dados sobre síndromes e suas manifestações foi observado que a primeira família possuía características semelhantes, mas de forma menos severa, a uma síndrome com poucos casos relatados, conhecida como Síndrome de Raine.

A síndrome de Raine também chamada displasia de osteosclerose óssea letal, de padrão de herança autossômico recessivo é caracterizada por osteosclerose óssea generalizada com marcada ossificação da base do crânio, produzindo características faciais como fronte ampla e proeminente, proptose ocular, hipoplasia da face média e raiz nasal baixa (121). Existem poucos casos relatos dessa síndrome, apesar da maioria dos casos serem letais, alguns relatos mais recentes descrevem pacientes vivos com sobrevida até a segunda década de vida,

sendo consideradas formas mais leves da síndrome (121-123). A principal causa de morte está associada à dificuldade respiratória ao nascimento relacionada a alguns fatores como a atresia de coanas, estenose da abertura piriforme, hipoplasia de pulmões e de tórax (122, 124, 125). Em um estudo posterior ao primeiro descrito por Raine (124), calcificações intracranianas também foram definidas como características dessa síndrome (126). Outros achados foram associados a essa síndrome como mãos planas com embotamento das falanges distais (127), calcificações na parede de vasos sanguíneos nos núcleos da base observadas em exame histopatológico post-mortem (128) e calcificações renais (123, 129). Dentre as manifestações bucais relatadas estão hiperplasia de gengivas, palato ogival, micrognatia e os poucos relatos de pacientes após os 3 anos de idade (idades de erupção dos primeiros dentes decíduos) foram descritos dentes pequenos com displasia de esmalte (123), dentes com alterações e edentulismo (121). No entanto, não foram descritos de forma detalhada, como eram esses defeitos de esmalte, nem suas características histológicas, possibilitando o questionamento desses defeitos de esmalte serem relacionados a AI sindrômica.

Mutações no gene *FAM20C* têm sido relatadas em pacientes com Síndrome de Raine (121, 123, 130). A FAM20 é uma família de proteínas composta por três membros: FAM20A, FAM20B e FAM20C em mamíferos. Essa nova família de proteínas secretoras tem funções potenciais na regulação da diferenciação e função da hematopoiese e em outros tecidos (89). Recentemente pelo método whole-exome sequencing foi identificadas mutações no gene *FAM20A* em pacientes com a síndrome AI e fibromatose gengival (OMIM 614253)(36). A fim de se conhecer a função desse gene durante a amelogenese foi realizado estudo de imunolocalização dos membros da família FAM20 em incisivos de rato (36). Embora a *FAM20A* tenha sua expressão mais limitada a determinados tecidos, foi observada a expressão do gene *FAM20A* nos ameloblastos na fase de secreção e de maturação, além das células supra-basais da gengiva, odontoblastos e células da polpa. No entanto, o único membro da família FAM20 que foi detectado tanto na matriz na fase de secreção como no citoplasma dos ameloblastos foi o *FAM20C* (36).

A proteína FAM20C já foi descrito também como DMP4, uma proteína da matriz da dentina capaz de induzir células mesenquimais indiferenciadas em células funcionalmente semelhantes aos odontoblastos, sugerindo que a DMP4 seja uma

proteína reguladora da mineralização dentinária e demonstraram as propriedades dessa proteína ser ligante ao cálcio (131).

Fortalecendo essa hipótese, na literatura recentemente foram reportados estudos funcionais em camundongos *knockout* para o gene *FAM20C* que exibiram dentes pequenos e mal formados, severos defeitos de esmalte e dentina bem fina indicando que a *FAM20C* é essencial para diferenciação e mineralização dos tecidos dentários (132). Esse mesmo grupo já havia demonstrado que nessa linhagem de camundongos *knockout* com mutação homocigótica no gene *FAM20C* foi observado raquitismo hipofosfatêmico associado ao aumento de FGF23, indicando que essa molécula é essencial na biomineralização óssea e provavelmente regula a homeostase do fósforo por meio do FGF23. Pois, em decorrência de achados como nanismo, face plana, atraso na ossificação dos ossos longos, atraso do fechamento das suturas cranianas, aumento da porosidade das diáfises e epífises mal formadas, baixa densidade óssea, em análise bioquímica do sangue foi observado baixos níveis de fosfato, altos níveis de PTH e aumento dos níveis de FGF23 (133). Manifestações consistentes com diagnóstico de raquitismo já foram observadas em pacientes sobreviventes da síndrome de Raine (121, 123), considerados casos “diferentes” dessa síndrome por não apresentarem esclerose óssea generalizada (121) e os três últimos casos não terem comprometimento no desenvolvimento psicomotor (122, 123).

Estudos recentes também demonstram que a *FAM20C* é uma quinase envolvida na regulação de moléculas críticas a diferenciação das células progenitoras das estruturas ósseas e dentárias. Identificaram o *FAM20C* responsável pela fosforilação de várias proteínas secretoras conhecidas como SIBLINGS (*The small integrin-binding ligand, N-linked glycoproteins*), compostas pelas proteínas osteopontin (*OPN*), proteína da matriz do esmalte-1 (*DMP1*), sialoproteinase óssea (*BSP*), matriz extracelular fosfo-glico-proteína, e sialofosfoproteína dentinária (*DSPP*) (134, 135). Interessante observar que mutações em homocigose no gene *DMP1* são relacionadas ao raquitismo hereditário hipofosfatêmico autossômico recessivo (136, 137). Já mutações no gene *DSPP* são causa da dentinogênese imperfeita tipo II, e displasia dentinária tipo II (138).

Semelhante ao encontrado nessa síndrome, a maioria dos pacientes descritos nesse trabalho tiveram dificuldades respiratórias ao nascimento, sendo dois entre

eles constatado a atresia de coanas. A primeira família também possui esclerose óssea no crânio, craniossinostose, produzindo características faciais semelhantes às encontradas nessa síndrome. Não só pacientes da primeira família como os pacientes da segunda família também possuem calcificações intracranianas, em núcleo de base e região periventricular, e em núcleos da base e região parieto-ocipital, respectivamente. Dedos curtos e com embotamento das falanges distais, possíveis calcificações em vasos na região de núcleos de base e cálculos renais também foram observados nos pacientes da primeira família.

Algumas manifestações compatíveis com diagnóstico de raquitismo também foram encontradas principalmente na primeira família. Apesar dos níveis bioquímicos com valores normais de fosfato, mas próximos do limite inferior, e fosfatase alcalina e PTH com valores normais e levemente elevados em alguns exames, as características radiográficas dos ossos longos nos pacientes que se submeteram a esse exame são de raquitismo em fase inicial ou com possível regressão espontânea. Pacientes com raquitismo podem apresentar abscessos associados a dentes sem lesão de cárie. Histologicamente esses dentes também apresentam amplas câmaras pulpares, ampla pré-dentina e dentina interglobular (105, 139-141). Assim, apesar da forma clássica do raquitismo hipofosfatêmico hereditário não ser diagnosticada nesses pacientes, suas manifestações bucais são severas quando comparadas ao descrito na literatura em pacientes com raquitismo, sugerindo que outros mecanismos biológicos de etiologia não conhecida estejam envolvidos na causa das alterações tanto bucais como sistêmicas.

Considerando as características sistêmicas e faciais da primeira família a hipótese diagnóstica é de Síndrome de Raine não letal. Na segunda a caracterização não permite sugerir tão facilmente que é síndrome de Raine. Porém, a hipótese diagnóstica de Síndrome de Raine na primeira família foi levantada após a completa caracterização fenotípica dessa família sendo necessária confirmação por meio de estudos moleculares.

Atualmente o estudo molecular dessas famílias está sendo realizado em colaboração com Dr. Alan J. Mighell e sua equipe no *Leeds Institute of Molecular Medicine, University of Leeds, St. James's University Hospital, Leeds, UK*. Está sendo realizado a abordagem de gene *FAM20C* na família 1 e na família 2 está sendo realizado whole exome sequencing .

## 7. CONCLUSÕES

- 1) Nas duas famílias avaliadas, os pacientes afetados por AI autossômica recessiva possuíam várias alterações de outros órgãos e sistemas associadas a esses defeitos de esmalte.
- 2) Dentre as manifestações bucais encontradas nesses pacientes foram identificados por meio do exame clínico e radiográfico a má oclusão, hiperplasia e inflamação na gengiva, infecções periapicais, atraso na erupção dentária, hiperplasia do folículo pericoronário radiograficamente e desvio do eixo de erupção dentaria
- 3) A análise histológica dos tecidos bucais afetados permitiu observar achados ainda não associados a AI, como alterações na dentina com diferentes graus de comprometimento. Além disso, histologicamente também foram observadas alterações gengivais e do folículo pericoronário.
- 4) Alterações sistêmicas como distúrbios na mineralização óssea de ossos longos e crânio, alterações renais, auditivas e neurológicas foram observadas nesses pacientes.
- 5) A completa caracterização fenotípica desses pacientes permitiu levantar hipóteses diagnósticas de possíveis síndromes relacionadas aos casos descritos, sendo necessária a abordagem molecular para confirmação dessas associações.

## 8. BIBLIOGRAFIA

1. Crawford PJ, Aldred M, Bloch-Zupan A. Amelogenesis imperfecta. *Orphanet journal of rare diseases*. 2007;2:17.
2. Backman B, Holm AK. Amelogenesis imperfecta: prevalence and incidence in a northern Swedish county. *Community dentistry and oral epidemiology*. 1986 Feb;14(1):43-7.
3. Witkop CJ. Hereditary defects in enamel and dentin. *Acta genetica et statistica medica*. 1957;7(1):236-9.
4. Pindborg JJ. Aetiology of developmental enamel defects not related to fluorosis. *International dental journal*. 1982 Jun;32(2):123-34.
5. Aldred MJ, Savarirayan R, Crawford PJ. Amelogenesis imperfecta: a classification and catalogue for the 21st century. *Oral diseases*. 2003 Jan;9(1):19-23.
6. Witkop CJ, Jr. Amelogenesis imperfecta, dentinogenesis imperfecta and dentin dysplasia revisited: problems in classification. *Journal of oral pathology*. 1988 Nov;17(9-10):547-53.
7. Hu JC, Chun YH, Al Hazzazzi T, Simmer JP. Enamel formation and amelogenesis imperfecta. *Cells, tissues, organs*. 2007;186(1):78-85.
8. Backman B. Inherited enamel defects. *Ciba Foundation symposium*. 1997;205:175-82; discussion 83-6.
9. Aldred MJ, Crawford PJ. Amelogenesis imperfecta--towards a new classification. *Oral diseases*. 1995 Mar;1(1):2-5.
10. Nusier M, Yassin O, Hart TC, Samimi A, Wright JT. Phenotypic diversity and revision of the nomenclature for autosomal recessive amelogenesis imperfecta. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 2004 Feb;97(2):220-30.
11. Stephanopoulos G, Garefalaki ME, Lyroudia K. Genes and related proteins involved in amelogenesis imperfecta. *Journal of dental research*. 2005 Dec;84(12):1117-26.
12. Parry DA, Brookes SJ, Logan CV, Poulter JA, El-Sayed W, Al-Bahlani S, et al. Mutations in C4orf26, Encoding a Peptide with In Vitro Hydroxyapatite Crystal Nucleation and Growth Activity, Cause Amelogenesis Imperfecta. *American journal of human genetics*. 2012 Aug 15.
13. Lagerstrom M, Dahl N, Nakahori Y, Nakagome Y, Backman B, Landegren U, et al. A deletion in the amelogenin gene (AMG) causes X-linked amelogenesis imperfecta (AIH1). *Genomics*. 1991 Aug;10(4):971-5.

14. Wright JT, Daly B, Simmons D, Hong S, Hart SP, Hart TC, et al. Human enamel phenotype associated with amelogenesis imperfecta and a kallikrein-4 (g.2142G>A) proteinase mutation. *European journal of oral sciences*. 2006 May;114 Suppl 1:13-7; discussion 39-41, 379.
15. Hart TC, Hart PS, Gorry MC, Michalec MD, Ryu OH, Uygur C, et al. Novel ENAM mutation responsible for autosomal recessive amelogenesis imperfecta and localised enamel defects. *Journal of medical genetics*. 2003 Dec;40(12):900-6.
16. Rajpar MH, Harley K, Laing C, Davies RM, Dixon MJ. Mutation of the gene encoding the enamel-specific protein, enamelin, causes autosomal-dominant amelogenesis imperfecta. *Human molecular genetics*. 2001 Aug 1;10(16):1673-7.
17. Kim JW, Simmer JP, Hart TC, Hart PS, Ramaswami MD, Bartlett JD, et al. MMP-20 mutation in autosomal recessive pigmented hypomaturation amelogenesis imperfecta. *Journal of medical genetics*. 2005 Mar;42(3):271-5.
18. Llano E, Pendas AM, Knauper V, Sorsa T, Salo T, Salido E, et al. Identification and structural and functional characterization of human enamelysin (MMP-20). *Biochemistry*. 1997 Dec 9;36(49):15101-8.
19. Hart PS, Hart TC, Michalec MD, Ryu OH, Simmons D, Hong S, et al. Mutation in kallikrein 4 causes autosomal recessive hypomaturation amelogenesis imperfecta. *Journal of medical genetics*. 2004 Jul;41(7):545-9.
20. Simmer JP, Hu Y, Lertlam R, Yamakoshi Y, Hu JC. Hypomaturation enamel defects in *Klk4* knockout/LacZ knockin mice. *The Journal of biological chemistry*. 2009 Jul 10;284(28):19110-21.
21. Mendoza G, Pemberton TJ, Lee K, Scarel-Caminaga R, Mehrian-Shai R, Gonzalez-Quevedo C, et al. A new locus for autosomal dominant amelogenesis imperfecta on chromosome 8q24.3. *Human genetics*. 2007 Jan;120(5):653-62.
22. Kim JW, Lee SK, Lee ZH, Park JC, Lee KE, Lee MH, et al. FAM83H mutations in families with autosomal-dominant hypocalcified amelogenesis imperfecta. *American journal of human genetics*. 2008 Feb;82(2):489-94.
23. Hart PS, Becerik S, Cogulu D, Emingil G, Ozdemir-Ozenen D, Han ST, et al. Novel FAM83H mutations in Turkish families with autosomal dominant hypocalcified amelogenesis imperfecta. *Clinical genetics*. 2009 Apr;75(4):401-4.
24. Lee SK, Seymen F, Lee KE, Kang HY, Yildirim M, Tuna EB, et al. Novel WDR72 mutation and cytoplasmic localization. *Journal of dental research*. 2010 Dec;89(12):1378-82.
25. El-Sayed W, Parry DA, Shore RC, Ahmed M, Jafri H, Rashid Y, et al. Mutations in the beta propeller WDR72 cause autosomal-recessive hypomaturation amelogenesis imperfecta. *American journal of human genetics*. 2009 Nov;85(5):699-705.
26. Lichtenstein JR, Warson RW. Syndrome of dental anomalies, curly hair and

sclerotic bones. Birth defects original article series. 1971 Jun;7(7):308-11.

27. Christodoulou J, Hall RK, Menahem S, Hopkins IJ, Rogers JG. A syndrome of epilepsy, dementia, and amelogenesis imperfecta: genetic and clinical features. *Journal of medical genetics*. 1988 Dec;25(12):827-30.

28. Verloes A, Jamblin P, Koulischer L, Bourguignon JP. A new form of skeletal dysplasia with amelogenesis imperfecta and platyspondyly. *Clinical genetics*. 1996 Jan;49(1):2-5.

29. Hall RK, Phakey P, Palamara J, McCredie DA. Amelogenesis imperfecta and nephrocalcinosis syndrome. Case studies of clinical features and ultrastructure of tooth enamel in two siblings. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 1995 May;79(5):583-92.

30. Paula LM, Melo NS, Silva Guerra EN, Mestrinho DH, Acevedo AC. Case report of a rare syndrome associating amelogenesis imperfecta and nephrocalcinosis in a consanguineous family. *Archives of oral biology*. 2005 Feb;50(2):237-42.

31. Jalili IK, Smith NJ. A progressive cone-rod dystrophy and amelogenesis imperfecta: a new syndrome. *Journal of medical genetics*. 1988 Nov;25(11):738-40.

32. Tischkowitz M, Clenaghan C, Davies S, Hunter L, Potts J, Verhoef S. Amelogenesis imperfecta, sensorineural hearing loss, and Beau's lines, a second case report of Heimler's syndrome. *Journal of medical genetics*. 1999 Dec;36(12):941-3.

33. Kim JW, Simmer JP, Lin BP, Seymen F, Bartlett JD, Hu JC. Mutational analysis of candidate genes in 24 amelogenesis imperfecta families. *European journal of oral sciences*. 2006 May;114 Suppl 1:3-12; discussion 39-41, 379.

34. Ozdemir D, Hart PS, Firatli E, Aren G, Ryu OH, Hart TC. Phenotype of ENAM mutations is dosage-dependent. *Journal of dental research*. 2005 Nov;84(11):1036-41.

35. Cho SH, Seymen F, Lee KE, Lee SK, Kweon YS, Kim KJ, et al. Novel FAM20A mutations in hypoplastic amelogenesis imperfecta. *Human mutation*. 2012 Jan;33(1):91-4.

36. O'Sullivan J, Bitu CC, Daly SB, Urquhart JE, Barron MJ, Bhaskar SS, et al. Whole-Exome sequencing identifies FAM20A mutations as a cause of amelogenesis imperfecta and gingival hyperplasia syndrome. *American journal of human genetics*. 2011 May 13;88(5):616-20.

37. Schossig A, Wolf NI, Fischer C, Fischer M, Stocker G, Pabinger S, et al. Mutations in ROGDI Cause Kohlschutter-Tonz Syndrome. *American journal of human genetics*. 2012 Apr 6;90(4):701-7.

38. Mory A, Dagan E, Illi B, Duquesnoy P, Mordechai S, Shahor I, et al. A nonsense mutation in the human homolog of *Drosophila* rogdi causes Kohlschutter-Tonz syndrome. *American journal of human genetics*. 2012 Apr 6;90(4):708-14.

39. Parry DA, Mighell AJ, El-Sayed W, Shore RC, Jalili IK, Dollfus H, et al. Mutations in CNNM4 cause Jalili syndrome, consisting of autosomal-recessive cone-rod dystrophy and amelogenesis imperfecta. *American journal of human genetics*. 2009 Feb;84(2):266-73.
40. Polok B, Escher P, Ambresin A, Chouery E, Bolay S, Meunier I, et al. Mutations in CNNM4 cause recessive cone-rod dystrophy with amelogenesis imperfecta. *American journal of human genetics*. 2009 Feb;84(2):259-65.
41. Eastoe JE. Organic matrix of tooth enamel. *Nature*. 1960 Jul 30;187:411-2.
42. Nanci A. *Ten Cate histologia oral: desenvolvimento, estrutura e função*. 7. ed ed2011.
43. Simmer JP, Fincham AG. Molecular mechanisms of dental enamel formation. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists*. 1995;6(2):84-108.
44. Zeichner-David M, Diekwisch T, Fincham A, Lau E, MacDougall M, Moradian-Oldak J, et al. Control of ameloblast differentiation. *The International journal of developmental biology*. 1995 Feb;39(1):69-92.
45. Thesleff I, Aberg T. Tooth morphogenesis and the differentiation of ameloblasts. *Ciba Foundation symposium*. 1997;205:3-12; discussion -7.
46. Suckling GW. Developmental defects of enamel--historical and present-day perspectives of their pathogenesis. *Advances in dental research*. 1989 Sep;3(2):87-94.
47. Backman B, Holmgren G. Amelogenesis imperfecta: a genetic study. *Human heredity*. 1988;38(4):189-206.
48. Hu JC, Simmer JP. Developmental biology and genetics of dental malformations. *Orthodontics & craniofacial research*. 2007 May;10(2):45-52. PubMed PMID: 17552940.
49. Collier PM, Sauk JJ, Rosenbloom SJ, Yuan ZA, Gibson CW. An amelogenin gene defect associated with human X-linked amelogenesis imperfecta. *Archives of oral biology*. 1997 Mar;42(3):235-42.
50. Mardh CK, Backman B, Holmgren G, Hu JC, Simmer JP, Forsman-Semb K. A nonsense mutation in the enamelin gene causes local hypoplastic autosomal dominant amelogenesis imperfecta (AIH2). *Human molecular genetics*. 2002 May 1;11(9):1069-74.
51. Ozdemir D, Hart PS, Ryu OH, Choi SJ, Ozdemir-Karatas M, Firatli E, et al. MMP20 active-site mutation in hypomaturational amelogenesis imperfecta. *Journal of dental research*. 2005 Nov;84(11):1031-5.
52. Hu JC, Sun X, Zhang C, Liu S, Bartlett JD, Simmer JP. Enamelysin and kallikrein-4 mRNA expression in developing mouse molars. *European journal of oral*

sciences. 2002 Aug;110(4):307-15.

53. Bailleul-Forestier I, Berdal A, Vinckier F, de Ravel T, Fryns JP, Verloes A. The genetic basis of inherited anomalies of the teeth. Part 2: syndromes with significant dental involvement. *European journal of medical genetics*. 2008 Sep-Oct;51(5):383-408.

54. Bailleul-Forestier I, Molla M, Verloes A, Berdal A. The genetic basis of inherited anomalies of the teeth. Part 1: clinical and molecular aspects of non-syndromic dental disorders. *European journal of medical genetics*. 2008 Jul-Aug;51(4):273-91.

55. Chan HC, Estrella NM, Milkovich RN, Kim JW, Simmer JP, Hu JC. Target gene analyses of 39 amelogenesis imperfecta kindreds. *European journal of oral sciences*. 2011 Dec;119 Suppl 1:311-23.

56. Lichtenstein J, Warson R, Jorgenson R, Dorst JP, McKusick VA. The trichodonto-osseous (TDO) syndrome. *American journal of human genetics*. 1972 Sep;24(5):569-82.

57. Houlston RS, Winter GB, Speight PM, Fairhurst J, Temple IK. Taurodontism and disproportionate short stature. *Clinical dysmorphology*. 1994 Jul;3(3):251-4.

58. Witkop CJ, Jr., Brearley LJ, Gentry WC, Jr. Hypoplastic enamel, onycholysis, and hypohidrosis inherited as an autosomal dominant trait. A review of ectodermal dysplasia syndromes. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*. 1975 Jan;39(1):71-86.

59. Michaels L, Lee K, Manuja SL, Soucek SO. Family with low-grade neuroendocrine carcinoma of salivary glands, severe sensorineural hearing loss, and enamel hypoplasia. *American journal of medical genetics*. 1999 Mar 19;83(3):183-6.

60. Megarbane A, Ghanem I, Waked N, Dagher F. A newly recognized autosomal recessive syndrome with short stature and oculo-skeletal involvement. *American journal of medical genetics Part A*. 2006 Jul 15;140(14):1491-6.

61. Fried K. Autosomal recessive hydrotic ectodermal dysplasia. *Journal of medical genetics*. 1977 Apr;14(2):137-9.

62. Jumlongras D, Bei M, Stimson JM, Wang WF, DePalma SR, Seidman CE, et al. A nonsense mutation in MSX1 causes Witkop syndrome. *American journal of human genetics*. 2001 Jul;69(1):67-74. PubMed PMID: 11369996.

63. Phillips RJ, Atherton DJ, Gibbs ML, Strobel S, Lake BD. Laryngo-onycho-cutaneous syndrome: an inherited epithelial defect. *Archives of disease in childhood*. 1994 Apr;70(4):319-26.

64. McLean WH, Irvine AD, Hamill KJ, Whittock NV, Coleman-Campbell CM, Mellerio JE, et al. An unusual N-terminal deletion of the laminin alpha3a isoform leads to the chronic granulation tissue disorder laryngo-onycho-cutaneous syndrome. *Human molecular genetics*. 2003 Sep 15;12(18):2395-409.

65. Howard TD, Guttmacher AE, McKinnon W, Sharma M, McKusick VA, Jabs EW. Autosomal dominant postaxial polydactyly, nail dystrophy, and dental abnormalities map to chromosome 4p16, in the region containing the Ellis-van Creveld syndrome locus. *American journal of human genetics*. 1997 Dec;61(6):1405-12.
66. Richardson RJ, Joss S, Tomkin S, Ahmed M, Sheridan E, Dixon MJ. A nonsense mutation in the first transmembrane domain of connexin 43 underlies autosomal recessive oculodentodigital syndrome. *Journal of medical genetics*. 2006 Jul;43(7):e37.
67. Schossig A, Wolf NI, Kapferer I, Kohlschutter A, Zschocke J. Epileptic encephalopathy and amelogenesis imperfecta: Kohlschutter-Tonz syndrome. *European journal of medical genetics*. 2012 May;55(5):319-22.
68. Kohlschutter A, Chappuis D, Meier C, Tonz O, Vassella F, Herschkowitz N. Familial epilepsy and yellow teeth--a disease of the CNS associated with enamel hypoplasia. *Helvetica paediatrica acta*. 1974 Oct;29(4):283-94.
69. Zlotogora J, Fuks A, Borochowitz Z, Tal Y. Kohlschutter-Tonz syndrome: epilepsy, dementia, and amelogenesis imperfecta. *American journal of medical genetics*. 1993 Jun 1;46(4):453-4.
70. Haberlandt E, Svejda C, Felber S, Baumgartner S, Gunther B, Utermann G, et al. Yellow teeth, seizures, and mental retardation: a less severe case of Kohlschutter-Tonz syndrome. *American journal of medical genetics Part A*. 2006 Feb 1;140(3):281-3.
71. Donnai D, Tomlin PI, Winter RM. Kohlschutter syndrome in siblings. *Clinical dysmorphology*. 2005 Jul;14(3):123-6.
72. Brandon NJ, Sawa A. Linking neurodevelopmental and synaptic theories of mental illness through DISC1. *Nature reviews Neuroscience*. 2011 Dec;12(12):707-22.
73. Sayer JA, Carr G, Simmons NL. Nephrocalcinosis: molecular insights into calcium precipitation within the kidney. *Clinical science*. 2004 Jun;106(6):549-61.
74. MacGibbon D. Generalized enamel hypoplasia and renal dysfunction. *Australian dental journal*. 1972 Feb;17(1):61-3.
75. Cetrullo N, Guadagni MG, Piana G. Two cases of familial hypomagnesemia with hypercalciuria and nephrocalcinosis: dental findings. *European journal of paediatric dentistry : official journal of European Academy of Paediatric Dentistry*. 2006 Sep;7(3):146-50.
76. Lubinsky M, Angle C, Marsh PW, Witkop CJ, Jr. Syndrome of amelogenesis imperfecta, nephrocalcinosis, impaired renal concentration, and possible abnormality of calcium metabolism. *American journal of medical genetics*. 1985 Feb;20(2):233-43.

77. Dellow EL, Harley KE, Unwin RJ, Wrong O, Winter GB, Parkins BJ. Amelogenesis imperfecta, nephrocalcinosis, and hypocalciuria syndrome in two siblings from a large family with consanguineous parents. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 1998 Dec;13(12):3193-6.
78. Normand de la Tranchade I, Bonarek H, Marteau JM, Boileau MJ, Nancy J. Amelogenesis imperfecta and nephrocalcinosis: a new case of this rare syndrome. *The Journal of clinical pediatric dentistry*. 2003 Winter;27(2):171-5.
79. Kirzioglu Z, Ulu KG, Sezer MT, Yuksel S. The relationship of amelogenesis imperfecta and nephrocalcinosis syndrome. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*. 2009 Nov;14(11):e579-82.
80. Michaelides M, Bloch-Zupan A, Holder GE, Hunt DM, Moore AT. An autosomal recessive cone-rod dystrophy associated with amelogenesis imperfecta. *Journal of medical genetics*. 2004 Jun;41(6):468-73.
81. Downey LM, Keen TJ, Jalili IK, McHale J, Aldred MJ, Robertson SP, et al. Identification of a locus on chromosome 2q11 at which recessive amelogenesis imperfecta and cone-rod dystrophy cosegregate. *European journal of human genetics : EJHG*. 2002 Dec;10(12):865-9.
82. Bertola DR, Antequera R, Rodovalho MJ, Honjo RS, Albano LM, Furquim IM, et al. Brachyolmia with amelogenesis imperfecta: further evidence of a distinct entity. *American journal of medical genetics Part A*. 2009 Mar;149A(3):532-4.
83. Martelli-Junior H, Bonan PR, Dos Santos LA, Santos SM, Cavalcanti MG, Coletta RD. Case reports of a new syndrome associating gingival fibromatosis and dental abnormalities in a consanguineous family. *Journal of periodontology*. 2008 Jul;79(7):1287-96.
84. dos Santos Neto P, dos Santos L, Coletta RD, Laranjeira AL, de Oliveira Santos CC, Bonan PR, et al. Imaging evaluation of the gingival fibromatosis and dental abnormalities syndrome. *Dento maxillo facial radiology*. 2011 May;40(4):236-43.
85. Peters E, Cohen M, Altini M. Rough hypoplastic amelogenesis imperfecta with follicular hyperplasia. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*. 1992 Jul;74(1):87-92.
86. Raubenheimer EJ, Noffke CE. Central odontogenic fibroma-like tumors, hypodontia, and enamel dysplasia: review of the literature and report of a case. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 2002 Jul;94(1):74-7.
87. Ooya K, Nalbandian J, Noikura T. Autosomal recessive rough hypoplastic amelogenesis imperfecta. A case report with clinical, light microscopic, radiographic, and electron microscopic observations. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*. 1988 Apr;65(4):449-58.

88. Feller L, Jadwat Y, Bouckaert M, Buskin A, Raubenheimer EJ. Enamel dysplasia with odontogenic fibroma-like hamartomas: review of the literature and report of a case. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 2006 May;101(5):620-4.
89. Nalbant D, Youn H, Nalbant SI, Sharma S, Cobos E, Beale EG, et al. FAM20: an evolutionarily conserved family of secreted proteins expressed in hematopoietic cells. *BMC genomics*. 2005;6:11.
90. Pindborg JJ. *Pathology of the dental hard tissues*. 1<sup>st</sup>.1970.
91. Proffit WRF, H. W.; Sarver, D. M. *Ortodontia contemporânea*. 4. ed.2007.
92. Backman B. Amelogenesis imperfecta--clinical manifestations in 51 families in a northern Swedish county. *Scandinavian journal of dental research*. 1988 Dec;96(6):505-16.
93. Gorlin RJ CM, Hennekam RCM *Syndromes of the head and neck*. 4th edn ed. Oxford University Press, Oxford2001.
94. Rao S, Witkop CJ, Jr. Inherited defects in tooth structure. *Birth defects original article series*. 1971 Jun;7(7):153-84..
95. Robinson GC, Miller JR. Hereditary enamel hypoplasia: its association with characteristic hair structure. *Pediatrics*. 1966 Mar;37(3):498-502.
96. Gorlin RJ, Cervenka J, Moller K, Horrobin M, Witkop CJ, Jr. Malformation syndromes. A selected miscellany. *Birth defects original article series*. 1975;11(2):39-50.
97. Simmer S, Estrella N, Milkovich R, Hu J. Autosomal dominant amelogenesis imperfecta associated with ENAM frameshift mutation p.Asn361Ilefs56. *Clinical genetics*. 2012 Apr 29.
98. Nussbaum RLM, Roderick R.; Willard, Huntington F. Thompson & Thompson; *Genética Médica Edição, editor*2008.
99. Wright T. Amelogenesis imperfecta. *European journal of oral sciences*. 2011 Dec;119 Suppl 1:338-41.
100. Ng SB, Buckingham KJ, Lee C, Bigham AW, Tabor HK, Dent KM, et al. Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. *Nature genetics*. 2010 Jan;42(1):30-5.
101. Bergman G, Lysell L, Pindborg JJ. Unilateral dental malformation. Report of two cases. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*. 1963 Jan;16:48-60.
102. Chaudhry AP, Wittich HC, Stickel FR, Holland MR. Odontogenesis imperfecta. Report of a case. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*. 1961 Sep;14:1099-103.

103. Alexander WN, Lilly GE, Irby WB. Odontodysplasia. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*. 1966 Dec;22(6):814-20.
104. Lustmann J, Ulmanky M. Structural changes in odontodysplasia. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*. 1976 Feb;41(2):193-202.
105. Crawford PJ, Aldred MJ. Regional odontodysplasia: a bibliography. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*. 1989 May;18(5):251-63.
106. Jensen JL, Ambjornsen E, Haanaes HR, Storhaug K. Case report: Unclassified syndrome involving dental enamel, dentine and lack of tooth eruption. *European archives of paediatric dentistry : official journal of the European Academy of Paediatric Dentistry*. 2009 Dec;10(4):244-7.
107. Russell K, Yacobi R. Generalized odontodysplasia concomitant with mild hypophosphatasia--a case report. *Journal*. 1993 Feb;59(2):187-90.
108. Lowe O, Duperon DF. Generalized odontodysplasia. *The Journal of pedodontics*. 1985 Spring;9(3):232-43.
109. Bagherpoor MR, Siadat H, Nokar S, Alikhasi M. Step-by-step oral rehabilitation of a generalized odontodysplastic patient with implant-supported prostheses: a clinical report. *Implant dentistry*. 2010 Apr;19(2):122-7.
110. Shah N, Gupta YK. Generalized odontodysplasia--a case report. *Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*. 1998 Jun;16(2):40-3.
111. Kahn MA, Hinson RL. Regional odontodysplasia. Case report with etiologic and treatment considerations. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*. 1991 Oct;72(4):462-7.
112. Cabral LA, Carvalho YR, Moraes E, Nogueira Tde O, Cavalcante AS, de Moraes LC. Regional odontodysplasia: a report of three cases. *Quintessence international*. 1994 Feb;25(2):141-5.
113. Fanibunda KB, Soames JV. Odontodysplasia, gingival manifestations, and accompanying abnormalities. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 1996 Jan;81(1):84-8.
114. Gerlach RF, Jorge J, Jr., de Almeida OP, Coletta RD, Zaia AA. Regional odontodysplasia. Report of two cases. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 1998 Mar;85(3):308-13.
115. Persson M, Sundell S. Facial morphology and open bite deformity in amelogenesis imperfecta. A roentgenocephalometric study. *Acta odontologica Scandinavica*. 1982;40(3):135-44.
116. Rowley R, Hill FJ, Winter GB. An investigation of the association between anterior open-bite and amelogenesis imperfecta. *American journal of orthodontics*. 1982 Mar;81(3):229-35.

117. Backman B, Adolfsson U. Craniofacial structure related to inheritance pattern in amelogenesis imperfecta. *American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics : official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics*. 1994 Jun;105(6):575-82.
118. Cangialosi TJ. Skeletal morphologic features of anterior open bite. *American journal of orthodontics*. 1984 Jan;85(1):28-36.
119. Warren JJ, Bishara SE, Steinbock KL, Yonezu T, Nowak AJ. Effects of oral habits' duration on dental characteristics in the primary dentition. *Journal of the American Dental Association*. 2001 Dec;132(12):1685-93; quiz 726.
120. Ravassipour DB, Powell CM, Phillips CL, Hart PS, Hart TC, Boyd C, et al. Variation in dental and skeletal open bite malocclusion in humans with amelogenesis imperfecta. *Archives of oral biology*. 2005 Jul;50(7):611-23.
121. Simpson MA, Scheuerle A, Hurst J, Patton MA, Stewart H, Crosby AH. Mutations in FAM20C also identified in non-lethal osteosclerotic bone dysplasia. *Clinical genetics*. 2009 Mar;75(3):271-6.
122. Koob M, Doray B, Fradin M, Astruc D, Dietemann JL. Raine syndrome: expanding the radiological spectrum. *Pediatric radiology*. 2011 Mar;41(3):389-93.
123. Fradin M, Stoetzel C, Muller J, Koob M, Christmann D, Debry C, et al. Osteosclerotic bone dysplasia in siblings with a Fam20C mutation. *Clinical genetics*. 2011 Aug;80(2):177-83.
124. Raine J, Winter RM, Davey A, Tucker SM. Unknown syndrome: microcephaly, hypoplastic nose, exophthalmos, gum hyperplasia, cleft palate, low set ears, and osteosclerosis. *Journal of medical genetics*. 1989 Dec;26(12):786-8. PubMed PMID: 2614802.
125. Kan AE, Kozlowski K. New distinct lethal osteosclerotic bone dysplasia (Raine syndrome). *American journal of medical genetics*. 1992 Jul 15;43(5):860-4.
126. Al Mane KA, Coates RK, McDonald P. Intracranial calcification in Raine syndrome. *Pediatric radiology*. 1996;26(1):55-8.
127. Mahafza T, El-Shanti H, Omari H. Raine syndrome: report of a case with hand and foot anomalies. *Clinical dysmorphology*. 2001 Jul;10(3):227-9.
128. Rickert CH, Rieder H, Rehder H, Hulskamp G, Hornig-Franz I, Louwen F, et al. Neuropathology of Raine syndrome. *Acta neuropathologica*. 2002 Mar;103(3):281-7.
129. al-Mane K, al-Dayel F, McDonald P. Intracranial calcification in Raine syndrome: radiological pathological correlation. *Pediatric radiology*. 1998 Nov;28(11):820-3.
130. Simpson MA, Hsu R, Keir LS, Hao J, Sivapalan G, Ernst LM, et al. Mutations

in FAM20C are associated with lethal osteosclerotic bone dysplasia (Raine syndrome), highlighting a crucial molecule in bone development. *American journal of human genetics*. 2007 Nov;81(5):906-12.

131. Hao J, Narayanan K, Muni T, Ramachandran A, George A. Dentin matrix protein 4, a novel secretory calcium-binding protein that modulates odontoblast differentiation. *The Journal of biological chemistry*. 2007 May 25;282(21):15357-65.

132. Wang X, Wang S, Lu Y, Gibson MP, Liu Y, Yuan B, et al. FAM20C plays an essential role in the formation of murine teeth. *The Journal of biological chemistry*. 2012 Aug 30.

133. Wang X, Wang S, Li C, Gao T, Liu Y, Rangiani A, et al. Inactivation of a novel FGF23 regulator, FAM20C, leads to hypophosphatemic rickets in mice. *PLoS genetics*. 2012 May;8(5):e1002708.

134. Tagliabracci VS, Engel JL, Wen J, Wiley SE, Worby CA, Kinch LN, et al. Secreted kinase phosphorylates extracellular proteins that regulate biomineralization. *Science*. 2012 Jun 1;336(6085):1150-3.

135. Ishikawa HO, Xu A, Ogura E, Manning G, Irvine KD. The Raine Syndrome Protein FAM20C Is a Golgi Kinase That Phosphorylates Bio-Mineralization Proteins. *PLoS one*. 2012;7(8):e42988. PubMed PMID: 22900076.

136. Feng JQ, Ward LM, Liu S, Lu Y, Xie Y, Yuan B, et al. Loss of DMP1 causes rickets and osteomalacia and identifies a role for osteocytes in mineral metabolism. *Nature genetics*. 2006 Nov;38(11):1310-5.

137. Lorenz-Depiereux B, Benet-Pages A, Eckstein G, Tenenbaum-Rakover Y, Wagenstaller J, Tiosano D, et al. Hereditary hypophosphatemic rickets with hypercalciuria is caused by mutations in the sodium-phosphate cotransporter gene SLC34A3. *American journal of human genetics*. 2006 Feb;78(2):193-201.

138. Zhang X, Zhao J, Li C, Gao S, Qiu C, Liu P, et al. DSPP mutation in dentinogenesis imperfecta Shields type II. *Nature genetics*. 2001 Feb;27(2):151-2.

139. Souza MA, Soares Junior LA, Santos MA, Vaisbich MH. Dental abnormalities and oral health in patients with Hypophosphatemic rickets. *Clinics*. 2010;65(10):1023-6.

140. Batra P, Tejani Z, Mars M. X-linked hypophosphatemia: dental and histologic findings. *Journal*. 2006 Feb;72(1):69-72.

141. Goodman JR, Gelbier MJ, Bennett JH, Winter GB. Dental problems associated with hypophosphataemic vitamin D resistant rickets. *International journal of paediatric dentistry / the British Paedodontic Society [and] the International Association of Dentistry for Children*. 1998 Mar;8(1):19-28.

## ANEXO 1 – PARECER CONEP 1440/2001



MINISTÉRIO DA SAÚDE  
Conselho Nacional de Saúde  
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP

### PARECER Nº 1440/2001

Registro CONEP = 3120. Este nº deverá ser citado nas comunicações referentes a este projeto.

Protocolo CEP = 040/2001

Processo nº 25000.125975/2001-60

Projeto de Pesquisa: *Estudo sobre Genes Responsáveis de Amelogenese imperfeita Dentinogênese imperfeita e Anomalias Dentárias de Número*

Pesquisador Responsável: Dra. Ana Carolina Acevedo Poppe

Instituição: FCS / Universidade de Brasília / UNB

Área Temática Especial: Genética Humana

Pesquisa com cooperação estrangeira

Ao se proceder a análise do protocolo em questão cabem as seguintes considerações:

a) as informações enviadas atendem de modo geral aos aspectos fundamentais das Resoluções CNS 196/96 e 292/99 sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos.

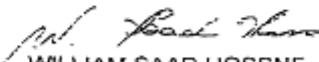
b) o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP da instituição supracitada.

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 196/96, manifesta – se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto, com a seguinte recomendação a ser acompanhada pelo CEP:

- Acrescentar o compromisso, por parte do Laboratório da Universidade do Texas – USA, de utilização do material biológico apenas para o projeto em pauta.

Situação: Projeto aprovado com recomendação

Brasília, 22 de novembro de 2001

  
WILLIAM SAAD HOSSNE  
Coordenador da CONEP-MS

## **ANEXO 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO ESCLARECIDO**

## ANEXO 3 – FICHA CLÍNICA