

Gustavo Vinícius Sousa de Carvalho

Análise de mutações nos genes *MSX1* e *PAX9* em
pacientes com agenesia dentária familiar não-sindrômica

Brasília
2017

Gustavo Vinícius Sousa de Carvalho

Análise de mutações nos genes *MSX1* e *PAX9* em
pacientes com agenesia dentária familiar não-sindrômica

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Departamento de Odontologia da Faculdade de
Ciências da Saúde da Universidade de Brasília,
como requisito parcial para a conclusão do curso
de Graduação em Odontologia.

Orientador: Profa. Dra. Ana Carolina Acevedo-
Poppe

Brasília
2017

Dedico esse trabalho ao autor de toda ciencia e conhecimento humano: Deus

AGRADECIMENTOS

À Deus.

Ao meus pais Reginaldo Braga e Yana Maria, minha segunda “mãe” Rose Braga por tudo. Minha irmã Regyana Alice pelo carinho e apoio. Não tenho palavras que possam expressar esse grande sentimento de gratidão.

À grande parceira da minha vida, Danniella Alencar a qual acredita, apoia e investe em todos os meus sonhos.

Aos amigos que me acolheram em Brasília e me apoiaram nessa jornada de estudo, se fosse citar nomes poderia cometer a falha de esquecer alguém.

À Raquel Ribeiro Gomes, pesquisadora que ensinou através do exemplo e dedicação a pesquisa, além de constar como profissional exemplo que carregarei na minha vida.

Aos professores ao longo do curso que marcaram minha jornada pela competência e exemplo de dedicação ao ensino. Profa. Eliete Neves Guerra, Prof. Paulo Tadeu Figueiredo, Prof. André Leite, Profa. Lilian de Paula, Profa. Heliana Mestrinho, Prof. André Cortez, Prof. João Milki, Prof. Roberto Cruz, Profa. Aline Ursula.

À Alessandra Di Paula, por todo conhecimento compartilhado, pelo carinho, pela inspiração que me concedeu e modificou conceitos de vida. Pelo exemplo de profissional que direcionou minhas escolhas profissionais.

À Profa. Ana Carolina Acevedo Poppe, grande pesquisadora a qual tenho orgulho de ter trabalhado junto. Me orgulho do tempo que passei ao seu lado, aprendendo com seu vasto conhecimento, humildade, amor à pesquisa e dedicação.

Obrigado pelos ideais de vida que me passaste e por toda paciência comigo.

À todas as pessoas que contribuíram de alguma forma com a realização dessa pesquisa. Obrigado pelo apoio.

EPÍGRAFE

Isso de ser exatamente o que se é ainda vai nos levar além.
Paulo Leminski

RESUMO

CARVALHO, Gustavo Vinícius Sousa. Análise de mutações nos genes *MSX1* e *PAX9* em pacientes com agenesia dentária familiar não-sindrômica. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Departamento de Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

A agenesia dentária, anomalia dentária mais frequente em humanos, é a ausência de formação de dentes decíduos e/ou permanentes em decorrência de distúrbios na odontogênese. Clinicamente, a agenesia dentária tanto sindrômica quanto não-sindrômica, esporádica ou familiar, pode ser classificada em hipodontia, oligodontia ou anodontia com base no número de dentes ausentes. Sua etiologia genética é demonstrada pela associação com mutações em genes importantes no desenvolvimento embrionário. Estudos moleculares em famílias com agenesia dentária têm identificado mutações em diversos genes que codificam fatores de transcrição dentre eles o *MSX1* e o *PAX9*. O objetivo deste estudo foi investigar mutações nos genes *MSX1* e *PAX9* em famílias com agenesia dentária acompanhadas na Clínica de Anomalias Dentárias da Divisão de Odontologia do Hospital Universitário de Brasília. Este estudo incluiu pacientes com diagnóstico clínico e radiográfico de agenesia dentária. Para a análise de mutações dos genes foi realizada a coleta de amostra de sangue dos casos-índice (n=16 pacientes) de cada família, extração do DNA genômico, amplificação por reação de polimerização em cadeia, purificação e sequenciamento automático. As sequências foram analisadas com o auxílio do software Sequencher®. A caracterização clínica mostrou variabilidade da agenesia dentária com relação ao número, à localização e à simetria dos dentes afetados, tanto entre as famílias quanto entre os indivíduos de uma mesma

família. Nove famílias apresentaram hipodontia e sete, oligodontia. O sequenciamento não revelou mutações no exon 1 do gene MSX1 porém para o gene PAX9 foram identificadas variações (c.717C>T rs12881240 e c.718G>C p.Ala240Pro rs4904210) de sequência já relatadas na literatura como polimorfismos. Novos estudos utilizando a abordagem com sequenciamento de nova geração poderão contribuir na identificação das bases moleculares da agenesia dentária nos pacientes estudados.

Palavras-chave: Agenesia Dentária; Análise molecular; gene MSX1, gene PAX9

Relevância Clínica O diagnóstico molecular da agenesia dentária, anomalia dentária mais frequente em humanos, permitirá fazer aconselhamento genético para as famílias assim como permitirá compreender melhor a etiopatogenia da agenesia dentária.

ABSTRACT

Tooth agenesis is the most common dental anomaly in humans. It is defined as the absence of formation of teeth due to disturbances in odontogenesis. It can be clinically classified as hypodontia, oligodontia or anodontia based on the number of missing teeth. Molecular studies of families with non-syndromic tooth agenesis have shown mutations affecting mainly two genes encoding transcription factors, MSX1 and PAX9. The aim of this study it was to investigate mutations on genes MSX1 and PAX9 in families with dental agenesis. This study included patients with clinical and radiographic diagnosis of tooth agenesis from Oral Care Center for Inherited Diseases at University Hospital of Brasília. Venous blood samples were collected from all index cases (n = 16), and genomic DNA was isolated. PCR primers for intronic sequences flanking the two exons of MSX1 gene were used to amplify DNA templates for sequence analysis. Sequence traces were analyzed with the Sequencher® software. Clinical characterization showed variability in number, location and symmetry of affected teeth, both among families and among individuals of the same family teeth. Nine families had hypodontia and seven had oligodontia. Sequencing revealed no mutations in the coding region of the homeodomain of MSX1. However, on PAX9's gene was found sequences variations(c.717C>T rs12881240 e c.718G>C p.Ala240Pro rs4904210) already known as Polymorphisms. Newer studies on sequencing approach of next generation can contribute to a better understanding to genetic mechanisms involved in dental agenesis manifestation on studied cases.

KEYWORD: Tooth agenesis; Molecular analysis; gene MSX1; gene PAX9

Clinical Relevance: The molecular diagnosis of dental agenesis, a more frequent dental anomaly in humans, will allow genetic counseling for families as well as better understanding the etiopathogenesis of dental agenesis.

SUMÁRIO

Artigo Científico	19
Folha de Título	21
Resumo	22
Abstract	24
Introdução	26
Sujeitos e Métodos.....	30
Resultados	32
Discussão.....	36
Conclusão	38
Referências	38
Anexos.....	45
Normas da Revista.....	45

ARTIGO CIENTÍFICO

Este trabalho de Conclusão de Curso é baseado no artigo científico:

CARVALHO GV; Acevedo AC; Gomes RR. Análise de mutações nos genes *MSX1* e *PAX9* em pacientes com agenesia dentária familiar não-sindrômica.

Apresentado sob as normas de publicação da Revista Journal of Dental Research

FOLHA DE TÍTULO

Análise de mutações nos genes *MSX1* e *PAX9* em pacientes com agenesia dentária familiar não-sindrômica.

Analysis of mutations in *MSX1* and *PAX9* genes in patients with non-syndromic familial dental agenesis.

Gustavo Vinícius Sousa de Carvalho¹

Raquel Ribeiro Gomes²

Ana Carolina Acevedo-Poppe³

¹ Aluno de Graduação em Odontologia da Universidade de Brasília.

² Cirurgiã dentista, doutora em Ciências da Saúde, Laboratório de Histopatologia Bucal, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília

³ Professora Associada, Laboratório de Histopatologia Bucal, Departamento de Odontologia, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.

Correspondência: Profa. Dra. Ana Carolina Acevedo-Poppe
Campus Universitário Darcy Ribeiro - UnB - Faculdade de
Ciências da Saúde - Departamento de Odontologia - 70910-900 -
Asa Norte - Brasília - DF

E-mail: acevpoppe@gmail.com / Telefone: (61) 31071849

RESUMO

Análise de mutações nos genes *MSX1* e *PAX9* em pacientes com agenesia dentária familiar não-sindrômica.

Resumo

A agenesia dentária, anomalia dentária mais frequente em humanos, é a ausência de formação de dentes decíduos e/ou permanentes em decorrência de distúrbios na odontogênese. Clinicamente, a agenesia dentária tantoindrômica quanto não-sindrômica, esporádica ou familiar, pode ser classificada em hipodontia, oligodontia ou anodontia com base no número de dentes ausentes. Sua etiologia genética é demonstrada pela associação com mutações em genes importantes no desenvolvimento embrionário. Estudos moleculares em famílias com agenesia dentária têm identificado mutações em diversos genes que codificam fatores de transcrição dentre eles o *MSX1* e o *PAX9*. O objetivo deste estudo foi investigar mutações nos genes *MSX1* e *PAX9* em famílias com agenesia dentária acompanhadas na Clínica de Anomalias Dentárias da Divisão de Odontologia do Hospital Universitário de Brasília. Este estudo incluiu pacientes com diagnóstico clínico e radiográfico de agenesia dentária. Para a análise de mutações dos genes foi realizada a coleta de amostra de sangue dos casos-índice (n=16 pacientes) de cada família, extração do DNA genômico, amplificação por reação de polimerização em cadeia, purificação e sequenciamento automático. As sequências foram analisadas com o auxílio do software Sequencher®. A caracterização clínica mostrou variabilidade da agenesia dentária com relação ao número, à localização e à simetria dos dentes afetados, tanto entre as famílias quanto entre os indivíduos de uma mesma família. Nove famílias apresentaram hipodontia e sete, oligodontia. O sequenciamento não revelou mutações no exon 1

do gene MSX1 porém para o gene PAX9 foram identificadas variações (c.717C>T rs12881240 e c.718G>C p.Ala240Pro rs4904210) de sequência já relatadas na literatura como polimorfismos. Novos estudos utilizando a abordagem com sequenciamento de nova geração poderão contribuir na identificação das bases moleculares da agenesia dentária nos pacientes estudados.

Palavras-chave: Agenesia Dentária; Análise molecular; gene MSX1, gene PAX9

Relevância Clínica: O diagnóstico molecular da agenesia dentária, anomalia dentária mais frequente em humanos, permitirá fazer aconselhamento genético para as famílias assim como permitirá compreender melhor a etiopatogenia da agenesia dentária.

ABSTRACT

Tooth agenesis is the most common dental anomaly in humans. It is defined as the absence of formation of teeth due to disturbances in odontogenesis. It can be clinically classified as hypodontia, oligodontia or anodontia based on the number of missing teeth. Molecular studies of families with non-syndromic tooth agenesis have shown mutations affecting mainly two genes encoding transcription factors, MSX1 and PAX9. The aim of this study it was to investigate mutations on genes MSX1 and PAX9 in families with dental agenesis. This study included patients with clinical and radiographic diagnosis of tooth agenesis from Oral Care Center for Inherited Diseases at University Hospital of Brasília. Venous blood samples were collected from all index cases (n = 16), and genomic DNA was isolated. PCR primers for intronic sequences flanking the two exons of MSX1 gene were used to amplify DNA templates for sequence analysis. Sequence traces were analyzed with the Sequencher® software. Clinical characterization showed variability in number, location and symmetry of affected teeth, both among families and among individuals of the same family teeth. Nine families had hypodontia and seven had oligodontia. Sequencing revealed no mutations in the coding region of the homeodomain of MSX1. However, on PAX9's gene was found sequences variations(c.717C>T rs12881240 e c.718G>C p.Ala240Pro rs4904210) already known as Polymorphisms. Newer studies on sequencing approach of next generation can contribute to a better understanding to genetic mechanisms involved in dental agenesis manifestation on studied cases.

KEYWORD: Tooth agenesis; Molecular analysis; gene MSX1; gene PAX9

Clinical Relevance: The molecular diagnosis of dental agenesis, a more frequent dental anomaly in humans, will allow genetic counseling for families as well as better understanding the etiopathogenesis of dental agenesis.

INTRODUÇÃO

A Odontogênese é orquestrada por células de origem epitelial e ectomesenquimal, as quais progridem em estágios morfológicos e funcionais bem definidos. O centro desse processo é uma serie sequencial e cuidadosamente coordenada de interações recíprocas epitélio-mesenquimais (Thesleff, 2003; Frazier *et al.*, 2017). As interações recíprocas entre tecidos epiteliais e mesenquimais desempenham um papel fundamental na morfogênese dos dentes e regulam todos os aspectos do desenvolvimento dentário (Balic *et al.*, 2015). Distúrbios no desenvolvimento dentário podem gerar anomalias de número, tamanho, forma ou estrutura dental. A anomalia de desenvolvimento craniofacial mais comum em humanos é a agenesia dentária. É definida como a ausência na formação de dentes decíduos e/ou permanentes em decorrência de falhas na odontogênese (Vastardis, 2000). Pode ocorrer como uma condição isolada, associada a fissuras lábio-palatinas e também é descrita como uma característica em mais de 120 síndromes (Arte e Pirinen, 2003; Vieira, 2003).

Clinicamente, a agenesia dentária tanto sindrômica quanto não-sindrômica, esporádica ou familiar, pode ser classificada em hipodontia, oligodontia ou anodontia com base no número de dentes ausentes (Courbone, 2007). A agenesia de um a seis dentes, exceto os terceiros molares, é denominada hipodontia (; Arte *et al.*, 2001; Arte e Pirinen, 2003; Kapadia *et al.*, 2007). A agenesia de mais de seis dentes, exceto os terceiros molares, é denominada oligodontia (Shalk-van der Weide *et al.*, 1993). A completa ausência de desenvolvimento dos dentes é conhecida como anodontia e ocorre em casos raros associados a síndromes (Arte e Pirinen, 2003). Alguns autores também denominam de hipodontia severa ou hipodontia grave os casos

em que um indivíduo apresenta agenesia mais de seis dentes, exceto os terceiros molares (Rune e Sarnäs, 1974; Wong *et al.*, 2005; Endo *et al.*, 2006).

O diagnóstico da agenesia dentária é realizado a partir do exame clínico completo e radiografia panorâmica, para dentes decíduos a partir dos três anos e para dentes permanentes a partir dos doze anos, excluindo os terceiros molares. A agenesia dentária é diagnosticada quando o dente não está presente clinicamente nem radiograficamente, sem histórico de exodontia prévia.

A prevalência da agenesia de um ou mais dentes varia de acordo com o tipo de dentição observada (decídua ou permanente), com a ancestralidade da população estudada e com o grupo de dentes considerados (Vastardis, 2000). A prevalência na dentição decídua varia de 0,4% em populações européias (Carvalho *et al.*, 1998) a 2,4% em crianças japonesas (Yonezu *et al.*, 1997). Uma prevalência de 0,6% foi relatada em um estudo feito com crianças no Sul do Brasil (Kramer *et al.*, 2008) e de 0,29% em crianças do Distrito Federal (Gomes *et al.*, 2014). Na dentição decídua em um estudo realizado na Dinamarca com crianças com agenesia dentária mais da metade das crianças (54,9%) apresentaram agenesia de apenas um dente decíduo e 7,8% de mais de dois dentes decíduos. A ausência congênita de molares primários, caninos e incisivos centrais superiores foi extremamente rara. (Daugaard-Jensen *et al.*, 1997). Em um estudo com crianças japonesas o incisivo lateral decíduo inferior foi o dente com maior prevalência de ausência. (Yonezu *et al.*, 1997).

A dentição permanente é mais frequentemente afetada que a decídua (Vastadis, 2000). A amplitude de valores de prevalência observada nos estudos populacionais indica diferenças geodemográficas (Polder *et al.*, 2004). Em um estudo em São José

dos Campos, foi relatada uma prevalência de 24,37% da agenesia dentária, sendo de 20,39% para agenesia apenas de terceiros molares, 2,89% para agenesia de outros dentes e terceiros molares e de 1,49% para agenesia de outros dentes sem agenesia de terceiros molares (Castilho *et al.*, 1990). Excluindo os terceiros molares, uma prevalência de 9,3% foi relatada em estudo realizado na cidade de São Paulo (Ciamponi e Frassei, 1999). Em estudo realizado em pacientes ortodônticos DF, a frequência encontrada foi de 6,3% (Gomes *et al.*, 2010).

Os dentes mais frequentemente ausentes na dentição permanente são os terceiros molares (Lavelle *et al.*, 1970; Müller, 1970; Castilho *et al.*, 1990; Meza, 2003). Excluindo os terceiros molares, o segundo grupo de dentes mais frequentemente afetados varia em diferentes populações. Vários trabalhos relatam que o grupo de dentes mais afetado por agenesia, excluindo os terceiros molares, são os segundos pré-molares (Rolling, 1980; Thongudomporn e Freer, 1998; Bäckman e Wahlin, 2001; Polder *et al.*, 2004; Mattheeuws *et al.*, 2004; Endo *et al.*, 2006). Outros autores encontraram que os incisivos laterais superiores são o grupo de dentes mais afetado por agenesia (Müller, 1970; Ciamponi e Frassei, 1999; Meza, 2003; Altug-Atac e Erdem, 2007; Gomes *et al.*, 2010). A agenesia de caninos inferiores, primeiros e segundos molares e incisivos centrais superiores é considerada rara (Polder *et al.*, 2004). A agenesia de um ou dois dentes é mais frequentemente observada correspondendo de 58,7% a 88% dos casos de indivíduos afetados com agenesia (Haavikko, 1971; Rolling, 1980; Davis, 1987; Polder *et al.*, 2004; Endo *et al.*, 2006). Em cerca de 2% dos indivíduos com agenesia dentária, seis ou mais dentes estão ausentes (Haavikko, 1971; Polder *et al.*, 2004).

Sabe-se que a etiologia da agenesia dentária possui um importante componente hereditário (Brook e Ekanayake, 1980;

Kapadia *et al.*, 2007). Os estudos demonstram um modo de herança autossômica dominante com expressividade variável e penetrância incompleta em famílias nas quais vários indivíduos apresentam agenesia dentária (Kim e Simmer, 2004; De Muynck *et al.* 2004; Xuan *et al.*, 2008; Mostowska *et al.*, 2012; Wong *et al.*, 2014). Até o presente, a etiologia genética da agenesia dentária tem sido demonstrada pela identificação de mutações nos genes *MSX1*, *PAX9*, *AXIN2*, *EDA*, *EDAR*, *EDARADD*, *WNT10A*, *GREMLIN2* (van den Boogaard *et al.*, 2012; Arte *et al.*, 2014 Sarkar *et al.*, 2014, Frazier *et al.*, 2017 Kantaputra *et al.*, 2015).

Mutações associadas à agenesia dentária foram identificadas primeiro no gene *MSX1* (Vastardis *et al.*, 1996). O *MSX1* (ENSG00000163132, OMIM *142983) está localizado no cromossomo 4 (4p16.1) e contém dois exons. Ele codifica o fator de transcrição *MSX1*, que é fundamental no desenvolvimento embrionário e na odontogênese (Sarapura *et al.*, 1997; Shetty *et al.*, 1999). Ele é expresso no ectomesênquima do germe dental, especialmente nos estágios de botão e capuz, como resposta aos sinais moleculares do epitélio odontogênico (Thesleff, 2003). Mutações no *MSX1* constituem fatores de risco para a agenesia dentária. Estas mutações afetam preferencialmente o desenvolvimento de terceiros molares e segundos pré-molares resultando em oligodontia seletiva (Vastardis *et al.*, 1996; Nieminen, 2009; Mostowska *et al.*, 2012).

O gene *PAX9* (ENSG00000198807, OMIM *167416) está localizado no cromossomo 14q13.3 e é formado por quatro exons. Evidências demonstram que a proteína PAX 9 desempenha um importante papel no desenvolvimento crânio-facial (Wang J *et al.*, 2011). *PAX9* é um fator de transcrição contendo domínios pareados que desempenha um papel essencial na padronização da dentição murina (Mensah JK *et al.*, 2004). Mutações e polimorfismos no *PAX9* foram associados à

agenesia dentária em humanos (Nieminen *et al.*, 2001; Kula *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2012). Nos seres humanos, as mutações no *PAX9* estão associadas a fenótipos de agenesia dentária familiar que envolvem principalmente dentes posteriores. Além disso, mutações no *PAX9* foram relatadas principalmente na região do exon 2, mas também nos exons 1 e 4. O exon 2 codifica o domínio de ligação, que é uma importante área do fator de transcrição, pois ela que permite a ligação com o gene-alvo e, portanto, afeta a função do fator de transcrição e do gene-alvo (Klein *et al.*, 2005).

O objetivo deste estudo foi investigar mutações nos genes *MSX1* e *PAX9* em famílias com agenesia dentária acompanhadas na Clínica de Anomalias Dentárias da Divisão de Odontologia do Hospital Universitário de Brasília.

SUJEITOS E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), Ministério da Saúde, em 22 de novembro de 2001, parecer 1440/2001, registro 3120.

Este estudo fez parte da pesquisa de doutorado da Raquel Ribeiro Gomes. (GOMES, Raquel Ribeiro. Agenesia dentária: avaliação clínica e molecular. 2015. Xii, 103 f., il. Tese Doutorado em Ciências da Saúde – Universidade de Brasília, 2015.)

Participaram pacientes com diagnóstico clínico e radiográfico de agenesia dentária familiar não-sindrômica atendidos na Clínica de Anomalias Dentárias da Divisão de Odontologia do HUB a partir de março de 2003 e que concordaram em participar deste estudo.

Para investigar as variantes nos genes *MSX1* e *PAX9*, foi realizada a coleta de amostra de 10 a 20 ml de sangue venoso

de todos os pacientes examinados em tubos *Vaccuntainer* contendo EDTA como agente anticoagulante (Coming®). O DNA foi extraído usando o *Wizard Genomic DNA purification Kit* (Promega, Madison, WI) e armazenado a -20°C. O DNA genômico foi utilizado como substrato para amplificação dos genes *MSX1* e *PAX9*, utilizando-se pares de oligonucleotídeos iniciadores previamente descritos para cada gene: *PAX9* (Lammi *et al.*, 2003), *MSX1* (Quin *et al.*, 2013). Na reação de amplificação foram utilizados 50 ng de DNA genômico, 0,2 mM de cada desoxinucleotídeo (dNTP), 50 ng de cada oligonucleotídeo iniciador, 1,25 U da enzima Taq *platinum* DNA polimerase (Invitrogen®), tampão de reação e cloreto de magnésio fornecidos e usados conforme recomendado pelo fabricante, resultando em um volume final de 50 µL. A amplificação foi realizada em termociclador PTC-100 (MJ Research, Inc. Waltham, MA). Para confirmação da amplificação dos fragmentos de interesse, os produtos de PCR foram corados com brometo de etídio (0,5 µg/mL), submetidos à eletroforese em gel de agarose 1%, visualizados em luz ultravioleta e fotografados. Os produtos da amplificação foram enviados para empresa terceirizada para purificação e sequenciamento. A análise dos cromatogramas, alinhamentos e comparações entre as sequências foram realizadas com o auxílio do *software* Sequencher® versão 4.8 demo (Gene Codes corporation). As sequências foram comparadas utilizando-se como referência as sequências genômicas descritas na base de dados ENSEMBLE Human Gen View disponível em www.ensembl.org/homo_sapiens/geneview.

Minha participação nesse estudo foi na extração do DNA, amplificação, acompanhamento da análise dos resultados e correlação dos resultados moleculares com o fenótipo dental dos pacientes.

RESULTADOS:

Foi realizada a análise molecular do gene *MSX1* e *PAX9* em 16 casos-índice das famílias com agenesia dentária familiar não-sindrômica. A caracterização clínica mostrou variabilidade quanto ao número, à localização e à simetria dos dentes afetados por agenesia, tanto entre as famílias quanto entre os indivíduos de uma mesma família. Nove famílias apresentaram hipodontia e sete apresentaram oligodontia. Nas famílias com diagnóstico de hipodontia, os dentes ausentes foram: um ou mais incisivos em cinco famílias, segundos pré-molares e incisivos em três famílias e segundos molares e segundos pré-molares em uma. Nas sete famílias que apresentaram oligodontia, todos os grupos dentários foram afetados, exceto os incisivos centrais superiores.

Foram amplificadas e sequenciadas todas as amostras dos casos-índice para o exon 2 do *MSX1*. Não foram encontradas mutações no exon amplificado.

Foi feita a análise de sequência dos quatro exons do gene *PAX9*. Dois polimorfismos previamente relatados foram encontrados no exon 3, a transversão c.717C>T (p.His239His; rs12881240) em heterozigose em quatro pacientes e a transversão c.718G>C (p.Ala240Pro; rs4904210) em sete, sendo um caso em homozigose. Não foram encontradas outras variantes no *PAX9* (Figura 1).

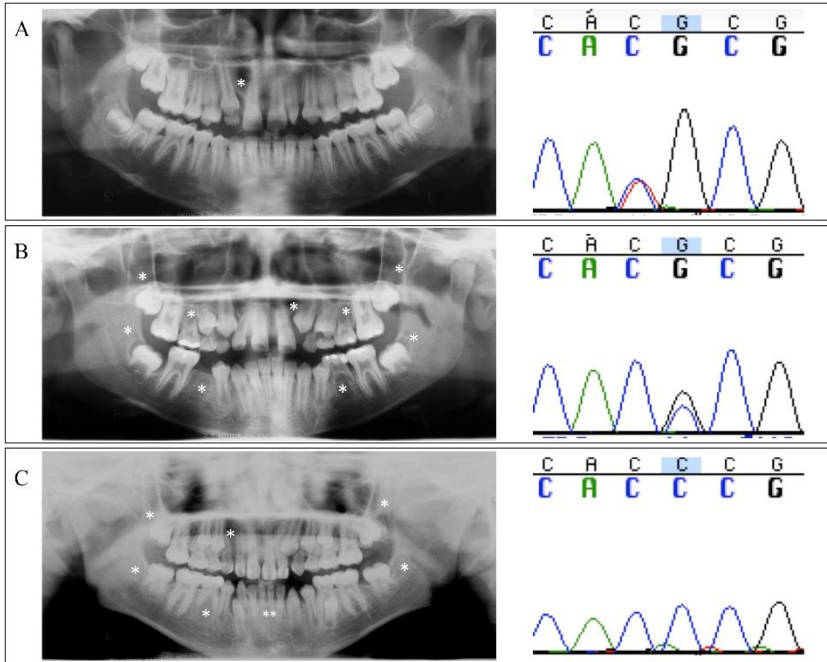


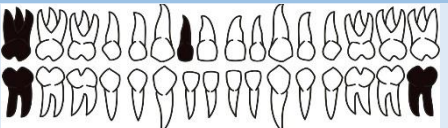

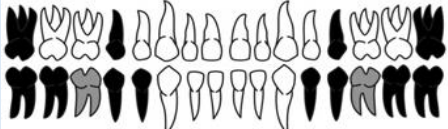

Figura 1: Radiografias de pacientes com agenesia dentária não-sindrômica e os polimorfismos correspondentes no exon 3 do gene PAX9. A) Transversão c.717C>T p.His239 B) Transversão c.718G>C p.Ala240Pro em heterozigose. C) Transversão c.718G>C p.Ala240Pro em homozigose. Os asteriscos nas radiografias correspondem aos dentes ausentes.

A Transversão c.717C>T p.His239 foi encontrada em dois pacientes com diagnóstico de hipodontia e dois com diagnóstico de oligodontia. Os pacientes com hipodontia apresentaram agenesia de incisivos laterais e os com oligodontia apresentaram agenesia de pré-molares e molares. Cinco pacientes com hipodontia apresentaram a Transversão c.718G>C p.Ala240Pro e apenas um com oligodontia. Estes pacientes apresentaram principalmente agenesia de incisivos, enquanto o paciente com oligodontia apresentou todos os grupos de dentes afetados. A tabela apresenta a distribuição dos pacientes com agenesia dentária familiar não-sindrômica de acordo com o polimorfismo encontrado.


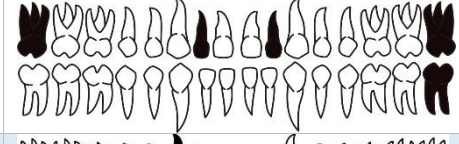

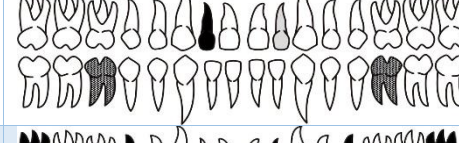



A Transversão c.717C>T p.His239 constitui uma variação silenciosa e a Transversão c.718G>C p.Ala240Pro resulta em uma substituição de Alanina por Prolina no códon 240.

Tabela 1: Distribuição dos pacientes com agenesia dentária familiar não-sindrômica de acordo com o polimorfismo encontrado.

Gene PAX9 Exon3 Polimorfismo rs12881240 Transversão c.717C>T p.His239

Paciente	Diagnóstico	Fenótipo
HYPBR2	Hipodontia	
HYPBR8	Hipodontia	
OLIBR2	Oligodontia	
OLIBR3	Oligodontia	

**PAX9 Exon3 Polimorfismo rs4904210 Transversão c.718G>C
p.Ala240Pro**

Paciente	Diagnóstico	Fenótipo
HYPBR1	Hipodontia	
HYPBR3	Hipodontia	
HYPBR4	Hipodontia	
HYPBR7	Hipodontia	
HYPBR10	Hipodontia	
OLIBR1	Oligodontia	
OLIBR4	Oligodontia	

Os dentes preenchidos em preto correspondem aos dentes ausentes e em cinza, dentes pequenos/conóides.

DISCUSSÃO

A abordagem do presente estudo foi a de genes candidatos. Mutações no exon 2 do gene *MSX1* não foram identificadas nos 16 casos-índice com agenesia dentária familiar não-sindrômica analisados neste estudo. Mutações no gene *MSX1* (OMIM *142983) têm sido relatadas associadas à etiologia de formas de agenesia dentária não-sindrômica (Vastardis *et al.*, 1996; Lidral e Reising, 2002; Kim *et al.*, 2006; Mostowska *et al.*, 2006; Xuan *et al.*, 2008; Mostowska *et al.*, 2012; Wong *et al.*, 2014; AlFawaz *et al.*, 2015; Tatematsu *et al.*, 2015). A maioria destas mutações ocorrem no exon 2, na região que codifica o *homeodomain* (HD) do fator de transcrição. O HD é importante para que o *MSX1* exerça sua função de sinalização na odontogênese, a partir do ectomesênquima para a cascata morfogênica epitelial, uma vez que é a região do HD que faz a ligação para regular a transcrição dos genes-alvo (Kist *et al.*, 2005; Jernvall *et al.*, 2012).

Mutações no genes *MSX1* representam somente de 3% dos casos de agenesia (van den Boogaard *et al.*, 2012). Até o presente 13 mutações tem sido relatadas no gene *MSX1* associadas à agenesia dentária (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>). Mutações no *MSX1* são conhecidas por causar oligodontia seletiva e afetam predominantemente terceiros molares e segundos pré-molares (Vastardis *et al.*, 1996; van den Boogaard *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2006; Pawlowska *et al.*, 2009). A maioria dos pacientes analisados neste estudo tinham diagnóstico de hipodontia e aqueles pacientes com oligodontia apresentaram todos os grupos de dentes afetados por agenesia dentária, exceto os incisivos centrais superiores. Apenas uma família apresentou agenesia seletiva de dentes posteriores, porém eram pacientes com hipodontia. Não foi identificar nenhuma mutação.

Não é possível excluir que variações de sequência no exon 1 ou em regiões intrônicas do próprio *MSX1* podem estar associadas ao fenótipo de algum dos pacientes analisados neste estudo, mas também é plausível sugerir variantes em outros genes podem ser a causa da agenesia dentária nos indivíduos estudados. . a ultima opção é a mais provável

Referente ao gene *PAX9* (OMIM *167416) 22 mutações foram relatadas associadas com a agenesia dentaria (Stockton *et al.*,

2000; Nieminen *et al.*, 2001; Das *et al.*, 2002; Frazier-Bowers *et al.*, 2002a; Lammi *et al.*, 2003; Mostowska *et al.*, 2003a; Jumlongras *et al.*, 2004; Klein *et al.*, 2005; Kapadia *et al.*, 2006; Hansen *et al.*, 2007; Tallon-Walton *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2009; Suda *et al.*, 2011; Liang *et al.*, 2012; Zhu *et al.*, 2012; Boeira e Echeverrigaray, 2013; Šery *et al.*, 2015).

Neste estudo foram encontradas duas variantes no exon 3 do *PAX9* em 11 dos 16 pacientes analisados. A primeira é uma transversoão c.717C>T (rs12881240) em heterozigose em quatro pacientes e constitui uma variação silenciosa His239 já descrita. Foi considerada um polimorfismo numa pequena população afro-americana (Pawlowska *et al.*, 2010). A outra variação encontrada foi a transversoão c.718G>C p.Ala240Pro (rs4904210) em sete pacientes, sendo um caso em homozigose. Ela resulta em uma substituição de alanina por prolina na posição 240 da proteína. Foi relatada como sendo polimórfica em muitas subpopulações africanas, americanas e europeias (Pawlowska *et al.*, 2010). Os pacientes com polimorfismos no *PAX9* apresentaram variabilidade quanto ao número e tipo de dentes ausentes.

A transversoão c.718G>C p.Ala240Pro no exon 3 do *PAX9* já foi relatada em estudos prévios, porém os autores não foram capazes de associá-la à agenesia dentária devido a alta frequência na população geral (Nieminen *et al.*, 2001; Pereira *et al.*, 2005; Pan *et al.*, 2008; Pawlowska *et al.*, 2010; Paixão-Côrtes *et al.*, 2011). Em um estudo, esta transversoão não foi associada à agenesia dentária porque os membros afetados de uma família também tinham uma mutação adicional A340T no exon 2 (Nieminen *et al.*, 2001). Um estudo relatou esta variação em homozigose em todos os membros com agenesia dentária de uma família (Kula *et al.*, 2008). Outro estudo sugeriu que a variante *PAX9* p.Ala240Pro é um fator de risco para oligodontia na população chinesa. A variante p.Ala240Pro é susceptível que possa ser uma causa genética da oligodontia, embora a literatura anterior tenha sugerido que seja apenas um polimorfismo (Wang *et al.*, 2011).

O cenário evolutivo relacionado com a origem e prevalência dos polimorfismos do *PAX9* sugere que o exon 3 é importante na capacidade de evolução deste gene (Paixão Côrtes *et al.*, 2011). Pouco se sabe sobre o impacto da transversoão c.718G>C p.Ala240Pro na estrutura e função da proteína *PAX9*. Especula-

se que a prolina, devido aos laços entre sua cadeia lateral com o átomo de nitrogênio da cadeia principal e um teor de carbono, presente na proteína PAX9 mutante, provavelmente poderia afetar sua estrutura secundária (Pawlowska E. et al. 2011).

Atualmente as pesquisas tem usado a abordagem de sequenciamento de nova geração, já que a abordagem de genes candidatos utilizando o método de Sanger não foi tão elucidativa. (Prasad *et al.*, 2016). Com a nova ferramenta metodológica, são utilizados painéis com genes conhecidos permitindo assim analisar os genes candidatos simultaneamente.

CONCLUSÃO

No presente estudo não foi possível identificar mutações nos dois genes estudados, porém foram encontradas variantes já relatadas na literatura como polimorfismos no gene *PAX9*. Uma análise com uma abordagem diferente, utilizando painéis de sequenciamento de nova geração pode contribuir para uma melhor compreensão dos mecanismos moleculares da agenesia dentária.

REFERÊNCIAS

1. Altug-Atac AT, Erdem D. Prevalence and distribution of dental anomalies in orthodontics patients. *AJODO* 2007; 131: 510-514.
2. Arte S, Nieminen S, Apajalahti S, Haavikko K, Thesleff I, Pirinen S. Characteristics of incisor premolar hypodontia in families. *J Dent Res*. 2001, 80: 1445-1450.
3. Arte S. Phenotypic and genotypic features of familial hypodontia. [Tese] Institute of Dentistry, University of Helsinki 2001.
4. Arte S, Pirinen S. Hypodontia. Orphanet encyclopedia. 2003. Disponível em: <http://www.orpha.net/data/patho/GB/uk-hypodontia.pdf>

5. Balic A, Thesleff I. Tissue interactions regulating tooth development and renewal. *Curr Top Dev Biol.* 2015;115:157–86. doi:10.1016/bs.ctdb.2015.07.006.
6. Bäckman B, Wahlin YB. Variations in number and morphology of permanent teeth in 7-year-old Swedish children. *Int J Paediatr Dent.* 2001, 11: 11-7.
7. Brook AH, Ekanayake NO. The etiology of oligodontia: a family history. *J. Dent Child.* 1980, 32-35.
8. Carvalho JC, Vinker F, Declerck D. Malocclusion, dental injuries and dental anomalies in the primary dentition of Belgian children. *Int J Paediatr Dent.* 1998, 8:137-141.
9. Castilho JCM, Nicodemo RA, Bazzarella CB, Moraes LC. Prevalência de anodontia entre estudantes do 2º grau da cidade de São José dos Campos – correlação dessa anomalia entre terceiros molares e outros órgãos dentários. *Rev Odont UNESP.* 1990,19: 269-76.
10. Ciamponi AL, Frassei VAS. Anodontias parciais congênitas de dentes permanentes: estudo da prevalência em crianças residentes na cidade de São Paulo. *RPG Rev Pos-Grad.* 1999, 6: 213217.
11. Cobourne MT. Familial human hypodontia - is it all in the genes? *Br Dent J.* 2007, 203: 203-8.
12. Daugaard-Jensen J, Nodal M, Kjaer I. Pattern of agenesis in the primary dentition: a radiographic study of 193 cases. *Int J Pediatr Dent.* 1997, 7:3-7.
13. De Muyneck S, Schollen E, Matthijs G, Verdonck A, Devriendt K, Carels C. A novel MSX1 mutation in hipodontia. *Am J Med Genet.* 2004, 128: 401-403.
14. Endo T, Ozoe R, Kubota M, Akiyama M, Shimooka S. A survey of hypodontia in Japanese orthodontic patients. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics.* 2006; 129: 29-35.

15. Fonseca JAC. Caracterização fenotípica de famílias com hipodontia no Hospital Universitário de Brasília, Brasília-DF. [Tese] Brasília 2008. Disponível em: http://bdtd.bce.unb.br/tesesimplificado/tde_busca/index.ph
16. Frazier-Bowers, S.A. & Vora, S.R. Curr Osteoporos Rep (2017) 15: 9. doi:10.1007/s11914-017-0342-7
17. Gomes RR, Fonseca JAC, Paula LM, Faber J, Acevedo AC. Prevalence of hypodontia in orthodontic patients in Brasilia, Brazil. Eur J Orthod. 2010 Jun;32(3):302-6.
18. Gomes RR, Fonseca JA, Paula LM, Acevedo AC, Mestrinho HD. Dental anomalies in primary dentition and their corresponding permanent teeth. Clin Oral Investig. 2014 May;18(4):1361-7. doi: 10.1007/s00784-013-1100-6.
19. Haavikko K. Hypodontia of permanent teeth. An orthopantomographic study. Suom Hammaslaak Toim. 1971, 67: 219-225.
20. Jernvall J, Thesleff I. Tooth shape formation and tooth renewal: evolving with the same signals. Development 2012; 139: 3487-3497. doi: 10.1242/dev.085084. PubMed: 22949612.
21. Kantaputra PN, Kaewgahya M, Hatsadaloi A, Vogel P, Kawasaki K, Ohazama A, Ketudat Cairns JR. GREMLIN 2 Mutations and Dental Anomalies. J Dent Res. 2015 Sep 28. Doi: 0022034515608168.
22. Kapadia H, Mues G, D'Souza RN. Genes affecting tooth morphogenesis. Orthod Craniofacial Res 2007, 10: 105-113.
23. Kim JW, Simmer JP, Lin BP, Hu JC. Novel MSX1 frameshift causes autosomaldominant oligodontia. J Dent Res. 2006, 85: 267-271.
24. Kist R, Watson M, Wang X, Cairns P, Miles C, Reid DJ, Peters H. Reduction on *Pax9* gene dosage in an allelic series of mouse mutants causes hypodontia and oligodontia. Hum Mol Genet. 2005, 14: 3605-3617.
25. Klein ML, Nieminen P, Lammi L, Niebuhr E, Kreiborg S. Novel mutation of the initiation codon of PAX9 causes oligodontia. J Dent Res. 2005, 84: 43-47.

26. Kramer PF, Feldens CA, Ferreira SH, Spiguel MH, Feldens EG. Dental anomalies and associated factors in 2- to 5-year-old Brazilian children. *Int J Paediatr Dent*. 2008 Nov;18(6):434-40.
27. Kula K, Trimmell J, Lu Y, Briscoe P, Feng JQ. Tooth agenesis in a family and homozygous PAX9 mutation in exon 3: a case report. *World J Orthod* 2008;9:e55–61.
28. Lavelle CLB, Ashton EH, Flinn RM. Cusp pattern, tooth size and third molar agenesis in the human mandibular dentition. *Arch Oral Biol*. 1970, 15: 227-237.
29. Mattheeuws N, Dermaut L, Martens G. Has hypodontia increase in Caucasians during the 20th century? A meta-analysis. *Euro J Orth*. 2004, 26: 99-103
30. Mensah J. K. , Ogawa T. , Kapadia H. , Cavender A. C. , D'Souza R. N. (2004) *J. Biol. Chem*279:5924–5933.
31. Meza RS. Radiographic assessment of congenitally missing teeth in orthodontic patients. *Inter J Paed Dent*. 2003, 13: 112-6.
32. Mostowska A, Biedziak B, Jagodzinski PP. Novel MSX1 mutation in a family with autosomal-dominant hypodontia of second premolars and third molars. *Arch Oral Biol*. 2012 Jun;57(6):790-5. doi: 10.1016/j.archoralbio.2012.01.003.
33. Müller TP, Hill IN, Peterson AC, Blayney JR. A survey of congenitally missing permanent teeth. *AJODO* 1970, 81:101-107.
34. Nieminen P, Arte S, Tanner D, Paulin L, Alaluusua S, Thesleff I, Pirinen S. Identification of a nonsense mutation in PAX9 gene in molar oligodontia. *Euro J Hum Genet*. 2001, 9: 743-746.
35. Nieminen P. Genetic basis of Tooth agenesis. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*. 2009;312(4):320–342. doi: 10.1002/jez.b.21277.
36. Paixão-Cortes VR, Braga T, Mauro Salzano FM, Mundstock K, Mundstock CA, Maria Bortolini MC. PAX9 and MSX1 transcription factor genes in non-syndromic dental agenesis. *Arch Oral Biol*. 2011, 56 : 337 – 344.

37. Pan YC, Wang L, Ma JQ, Zhang WB, Wang ML, Zhong WJ, et al. PAX9 polymorphisms and susceptibility to sporadic tooth agenesis: a case-control study in southeast China. *Eur J Oral Sci* 2008;116(2):98–103.
38. Pawlowska E, Janik-Papis K, Wisniewska-Jarosinska M, Szczepanska J, Blasiak J. Mutations in the human homeobox MSX1 gene in the congenital lack of Tohoku *J Exp Med* 2009;217(4):307–12.
39. Pawlowska E, Janik-Papis K, Poplawski T, Blasiak J, Szczepanska J. Mutations in the PAX9 gene in sporadic oligodontia. *Orthod Craniofac Res.* 2010; 13:142–152.
40. Pereira TV, Salzano FM, Mostowska A, Ruiz-Linares WR, Chies JA, Saavedra C, et al. Natural selection and molecular evolution in primate PAX9 gene, a major determinant of tooth development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:5676–81.
41. Polder BJ, Van't Hof MA, Van der Linden FPGM, Kuijpers-Jagtman AM. A metaanalysis of the prevalence of dental agenesis of permanent teeth. *Com Dentistry Oral Epidemio.* 2004, 32: 217–26.
42. Rolling S. Hypodontia of permanent teeth in Danish schoolchildren. *Scand Journal Research* 1980; 88: 365-369.
43. Rune B, Sarnäs KV. Tooth size and tooth formation in children with advanced hypodontia. *Angle Ortho.* 1974, 44: 316-321.
44. Sarapura VD, Strouth HL, Gordon DF. "Msx1 is present in thyrotropic cells and binds to a consensus site on the glycoprotein hormone alpha-subunit promoter." *Mol. Endocrinol.* 1997; 11 (12): 1782–94.
45. Sarkar T, Bansal R, Das P. Whole genome sequencing reveals novel non-synonymous mutation in ectodysplasin A (EDA) associated with non-syndromic X-linked dominant congenital tooth agenesis. *PLoS One.* 2014 Sep 9;9(9):e106811. doi:10.1371/journal.pone.0106811.
46. Shalk-van der Weide Y, Steen WHA, Bosman F. Taurodontism and length of teeth in patients with oligodontia. *J Oral Rehabil.* 1993, 20: 401-412.

47. Tallon-Walton V, Manzanares-Céspedes MC, Arte S, Carvalho-Lobato P, Valdivia- Gandur I, Garcia Susperregui A, Ventura F, Nieminen P. Identification of a novel mutation in the PAX9 gene in a family affected by oligodontia and other dental anomalies. *Euro J Oral Sci.* 2007, Dec;115(6):427-32.
48. Thesleff I. Epithelial-mesenchymal signaling regulating tooth morphogenesis. *J Cell Science* 2003, 116: 1647-1648.
49. Thongudomporn U, Freer TJ. Prevalence of dental anomalies in orthodontic patients. *Australian Dental Journal* 1998, 43: 395-398.
50. Shetty S, Takahashi T, Matsui H. & quot; Transcriptional autorepression of Msx1 gene is mediated by interactions of Msx1 protein with a multi-protein transcriptional complex containing TATA-binding protein, Sp1 and cAMP-response-element-binding protein-binding protein (CBP/p300)". *Biochem. J.*1999; 339 (3): 751–8.
51. van den Boogaard MJ, Créton M, Bronkhorst Y, van der Hout A, Hennekam E et al. Mutations in WNT10A are present in more than half of isolated hypodontia cases. *J Med Genet* 2012; 49: 327-331. doi:10.1136/jmedgenet-2012-100750. PubMed: 22581971.
52. Vastardis H, Karimbux N, Guthua SW, Seidman JG, Seidman CE. A human MSX1 homeodomain missense mutation causes selective tooth agenesis. *Nat Genet.* 1996;13(4):417–21. doi:10.1038/ng0896-417
53. Vastardis H. The genetics of human tooth agenesis: New discoveries for understanding dental anomalies. *AJODO.* 2000, 117: 650-655.
54. Vieira AR. Oral clefts and syndromic forms of tooth agenesis as model for genetics of isolated tooth agenesis. *J Dent Res.* 2003, 82:162-165.
55. Wang J, Jian F, Chen J, Wang H, Lin Y, Yang Z, Pan X, Lai W. Sequence analysis of PAX9, MSX1 and AXIN2 genes in a Chinese oligodontia family. *Arch Oral Biol.* 2011 Oct;56(10):1027-34.
56. Xuan K, Jin F, Liu YL, Yuan LT, Wen LY, Yang FS, Wang XJ, Wang GH, Jin Y. Identification of a novel missense mutation of

- MSX1 gene in Chinese family with autosomal-dominant oligodontia. *Arch Oral Biol.* 2008 Aug;53(8):773-9.
57. Wong ATY, McGrath C, McMillan AS. Oral health of southern Chinese children and adolescents with severe hypodontia. *Inter J Paedia Dent.* 2005; 15:256-263.
 58. Wong SW, Liu HC, Han D, Chang HG, Zhao HS, Wang YX, Feng HL. A novel nonstop mutation in MSX1 causing autosomal dominant non-syndromic oligodontia. *Mutagenesis.* 2014 Sep;29(5):319-23. doi: 10.1093/mutage/geu019.
 59. Yonezu T, Hayashi Y, Sasaki J, Machida Y. Prevalence of congenital dental anomalies of the deciduous dentition in Japanese children. *Bull Tokyo Dent Coll.* 1997; 38: 27-32.

ANEXOS

NORMAS DA REVISTA

O Journal of Dental Research:

Estes manuscritos são baseados em dados clínicos, biológicos, Biomateriais e bioengenharia. Manuscritos submetidos como pesquisa têm um limite de 3.200 palavras (incluindo introdução, materiais, resultados de métodos, Discussão e; Excluindo resumos, reconhecimentos, lendas de figuras e referências); Um total de 5 figuras ou tabelas; 40 referências; E deve conter um resumo de 300 palavras.

ANEXO 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Srs. pais ou responsável, seu filho(a) está convidado a participar de uma pesquisa científica. Este documento destina-se a prestar maiores esclarecimentos sobre esta pesquisa e está redigido em duas vias, sendo uma para o(a) senhor(a) e outra para a cirurgiã-dentista pesquisadora. Por favor, leia com atenção e pergunte qualquer coisa que o(a) senhor(a) considerar necessária sobre as informações fornecidas a seguir. A pesquisadora poderá esclarecer todas as dúvidas que o(a) senhor(a) tiver a respeito deste documento e da pesquisa. Seu filho(a) apresentou uma alteração no desenvolvimento dos dentes decíduos (de leite) chamada de anomalia dentária de número. Neste caso, a criança apresenta dentes a mais ou a menos do que o normal. Não é uma doença, mas apenas uma variação do normal. Em muitos casos não é necessária intervenção na dentição decídua, porém é importante detectar o mais cedo possível quando ocorrem alterações dentárias, pois o diagnóstico precoce irá auxiliar na prevenção de complicações na dentição permanente. É recomendada a realização de exame radiográfico em crianças que apresentam alterações dentárias na dentição decídua para diagnosticar se há também alterações nos dentes permanentes.

O objetivo desta pesquisa é verificar se existe esta relação entre as anomalias dentárias de número na dentição decídua e na dentição permanente. Para diagnosticar a presença de anomalias dentárias, seu filho(a) deverá ser submetido a exame físico e radiográfico, que são procedimentos rotineiramente utilizados em Odontologia, com duração de cerca de 40 minutos. O exame físico consistirá na inspeção visual dos dentes da criança, a fim de se contar o número de dentes decíduos presentes na boca. O exame radiográfico consistirá de radiografia panorâmica e periapical, a fim de se observar a presença dos dentes permanentes em formação no interior dos ossos maxilares. A dose de radiação a qual seu filho será submetido é extremamente pequena, assim, o risco deste exame é mínimo. Seu filho(a) poderá sentir desconforto passageiro durante a realização dos exames em decorrência da colocação no interior da boca de instrumentos rotineiramente utilizados em

exames odontológicos, como, por exemplo, o espelho bucal e a película radiográfica periapical. A participação é voluntária, por isso o(a) senhor(a) poderá recusar ou desistir que seu filho(a) participe. Isso não irá prejudicar o atendimento do seu filho(a) no Hospital Universitário de Brasília, nem agora, nem no futuro. O(a) senhor(a) não pagará nenhuma quantia para que seu filho(a) participe deste estudo, como também não receberá qualquer forma de recompensa financeira. Seu filho receberá tratamento odontológico de acordo com as necessidades apresentadas durante os exames, dentro das limitações dos procedimentos disponíveis no serviço público de Odontologia do HUB. Os dados dos exames de seu filho(a) ficarão arquivados em prontuário da Divisão de Odontologia do HUB, disponíveis para qualquer momento em que seu filho(a) procure atendimento odontológico nesta Divisão.

Declaro que li e entendi este documento e que todas as minhas dúvidas foram esclarecidas.

Eu _____
_____ concordo voluntariamente que meu filho(a)
_____ participe deste estudo e autorizo a divulgação dos resultados obtidos em publicações científicas e apresentações em eventos científicos (a criança não será identificada, apenas os profissionais responsáveis pelo exame terão acesso à ficha com os dados de identificação da criança).

BRASÍLIA, ___ / ___ / _____

Assinatura do responsável:

Assinatura da pesquisadora:

Pesquisadora responsável: Raquel Ribeiro Gomes CRO-DF
6793 Telefone: (61) 8159-1629

Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos Telefone: (61)
3307-3799

ANEXO 2

PARECER N° 1440/2001

Registro CONEP = 3120, este nº deveria ser citado nas correspondências referentes a este projeto

Protocolo CEP = 040/2001

Processo nº 25000.125975/2001-60

Projeto de Pesquisa: *Estudo sobre Genes Responsáveis de Amelogenesis Imperfecta Dentinogenesis Imperfecta e Anomalias Dentárias de Número*

Pesquisador Responsável: Dra. Ana Carolina Acevedo Poque

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 292/96 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 3

Termo de consentimento livre e esclarecido, pós-informação

O Sr(a) _____ declara ter lido e ouvido o presente termo de responsabilidades que lhe informa estar ciente do seguinte:

- a) Que pelo presente instrumento concorda em participar de pesquisa com o objetivo de determinar o diagnóstico das doenças hereditárias Amelogenese Imperfeita, Dentinogenese Imperfeita e Anomalias Dentárias de número que são alterações que podem afetar vários membros da sua família e que afetam a formação dos dentes e os tecidos que-os formam, o esmalte e a dentina.
- b) Que esse exame será realizado no Hospital Universitário de Brasília (HUB), Universidade de Brasília.
- c) Que esta participação implicará na realização de exame odontológico de tecidos moles e de tecidos duros dentários, profilaxia dos dentes, radiografias panorâmicas, moldagens e tomadas de fotografias intrabucais. Estes procedimentos são métodos rotineiros de diagnóstico na Odontologia, que implica em menor risco para a saúde, podendo porém provocar desconforto passageiro.
- d) Que ao paciente será garantido o acesso aos resultados de seus exames.
- e) Que será garantida ao paciente assistência odontológica continuada, na Clínica de Odontologia do Hospital Universitário de Brasília, ficando porém a seu critério a eventual procura por outro serviço ou profissional para orientação e tratamento.
- f) Que sua recusa em participar da presente pesquisa não implicará em prejuízo presente ou futuro na prestação de assistência profissional pelas equipes médicas do Hospital Universitário de Brasília, ficando também ressaltado que, mesmo após a assinatura do presente termo de consentimento o paciente ficará livre para abandonar a pesquisa a qualquer momento.
- g) Que a responsável pela pesquisa será a Dra. Ana Carolina Acevedo-Poppe que poderá ser contactada no HUB no telefone 061 448 5257 e no celular 061 9979 5020.

Brasília, ___ / ___ / ____

Universidade de Brasília
 Decanato de Pesquisa e Pós-Graduação
 Programa de Iniciação Científica – PInC

Período do Congresso:
 3 a 6 de novembro de 2014

Local:
 Universidade de Brasília - UnB

Certificado

20°
 Congresso de Iniciação Científica da UnB

11°
 Congresso de Iniciação Científica do DF

Certificamos que o trabalho "Análise de variações de sequência do gene PAX3 em pacientes com agenesia dentária não sindrômica", elaborado pelo/a estudante **Gustavo Vinicius Sousa de Carvalho**, sob a orientação do/a **Prof./a Dr./a Ana Carolina Acevedo Poppe**, foi agraciado com **Menção Honrosa** no 20º Congresso de Iniciação Científica da UnB e 11º Congresso de Iniciação Científica do DF.


 Prof. Dr. Jaime Martins de Santana
 Decanato de Pesquisa e Pós-Graduação – DIPP/UnB


 Prof. Dra. Heloisa Maria M. L. Salles
 Diretora de Fomento à Iniciação Científica da – DIPP/UnB


 Universidade de Brasília
 RECTORIA EM TOULOUSE


 UDF
 Centro Universitário


 Cnespe


 Cebraspe


 UNICEUB
 Fomento profissional de verdade


 Universidade de Brasília
 Decanato de Pesquisa e Pós-Graduação


 caesb


 GOVERNO FEDERAL


 fapdf


 CNPq