

RAQUEL RIBEIRO GOMES

**Agnesia dentária: avaliação clínica e
molecular**

Brasília

2015

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

RAQUEL RIBEIRO GOMES

Agnesia dentária: avaliação clínica e molecular

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde – área de concentração: Saúde Bucal.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Carolina Acevedo-Poppe

Brasília

2015

Dedico esse trabalho aos pacientes e seus familiares que voluntariamente concordaram na participação nessa pesquisa.

AGRADECIMENTOS

A Deus

A meu filho Avash, que me ensina o sentido da vida.

A meus pais, Aldenoura e Abadio, que com amor e abdicção me ensinaram a importância da educação e foram meus primeiros incentivadores na jornada do saber.

A minha irmã Rubia, de quem tenho orgulho, pela força e determinação. Por sempre cuidar de mim.

A meu irmão Olímpio, por ser exemplo e referencial. E pela família maravilhosa que me proporciona, minha cunhada Rhúbia, meus sobrinhos Lucas e Matheus.

À amiga Janaína Aparecida Calaça da Fonseca Araújo, por ter estado comigo desde os primeiros passos na jornada acadêmica, cuja contribuição, parceria, companherismo e apoio foram fundamentais para tornar esse trabalho possível. Estendo meus agradecimentos a toda sua família.

À professora Heliana Dantas Mestrinho, por ser uma inspiração como ser humano e um exemplo de dedicação profissional, por cada desafio, pelo acolhimento e carinho. Minha gratidão e admiração.

À professora Lilian Marly de Paula, pela compreensão. Por ter me introduzido ao conhecimento científico desde a graduação e convidado a trilhar os primeiros passos na iniciação científica. Principalmente por me ensinar a traduzir em palavras claras e objetivas o que por vezes só conseguia entender nos meus pensamentos.

Ao doutor Paulo Márcio Yamaguti, exemplo de profissional e pesquisador completo, competente, pela amizade e confiança. Minha gratidão por seus ensinamentos e conselhos.

À professora Eliete Neves da Silva Guerra, pelo exemplo de dedicação e persistência, pelos ensinamentos e conselhos, pelas oportunidades de aprendizado. Minha admiração por sua dedicação constante, energia contagiante e paixão pela pesquisa científica.

Aos professores André Ferreira Leite e Paulo Tadeu Figueiredo, pelo incentivo, motivação, contribuições e amizade.

Ao doutor Gustavo Barcelos Barra, pela disponibilidade, pela paciência e pelas sugestões na realização dos experimentos.

À professora Juliana F. Mazzeu, pela ajuda na interpretação dos resultados moleculares.

Ao professor Ricardo Della Coletta, por generosamente me receber em seu laboratório, e à doutora Andréia Bufalino, pelo auxílio e contribuições nos estudos do gene *RUNX2*.

Ao professor Alexandre R. Vieira, pelos comentários e sugestões.

À doutoranda Fabiana Tolentino Almeida, pelos trabalhos em cooperação.

Aos biólogos Alexandre Cesar Palermo e Pollyanna Almeida Costa dos Santos, funcionários do Laboratório de Histopatologia Bucal, pela ajuda com os experimentos e companhia.

Aos alunos e ex-alunos de iniciação científica, Clarissa D. Habckost, Larissa G. Junqueira, Isadora Portelina Moreira Carneiro, Gustavo Vinícius Sousa Carvalho e Richard Presley S. Lima, pela colaboração e aprendizado.

À professora Ana Carolina Acevedo-Poppe, minha orientadora, conselheira e incentivadora, exemplo de pesquisadora, empreendedora e de coragem, pela confiança, pelo incentivo incansável, pelo carinho acolhedor desde os primeiros estudos na graduação, pela disposição em ensinar e corrigir, pela disponibilidade e generosidade, por me mostrar e guiar no caminho a seguir, com entusiasmo, perseverança, dedicação e comprometimento. Não tenho palavras suficientes para expressar minha gratidão.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a agenesia dentária no DF por meio do estudo epidemiológico da sua prevalência na dentição decídua e sua relação com a dentição permanente, e também, por meio de estudo familiar, descrever suas características clínicas e analisar as sequências dos genes candidatos *MSX1*, *PAX9*, *RUNX2* e *WNT10A*, potencialmente envolvidos na etiologia dessa condição em famílias com agenesia dentária não-sindrômica. A prevalência da agenesia dentária na dentição decídua foi de 0,29%. Cinco das 1718 crianças examinadas apresentaram um ou mais dentes decíduos afetados, sem diferença entre os sexos. Todos foram casos de agenesia de incisivo lateral. Oitenta por cento das crianças com agenesia dentária na dentição decídua também apresentaram agenesia dos dentes sucessores permanentes. Houve associação entre agenesia dentária na dentição decídua e na permanente, especialmente nos casos de agenesia bilateral. Dezesesseis famílias com agenesia dentária não-sindrômica foram estudadas, nove com hipodontia e sete com oligodontia. O modo de herança autossômico dominante da agenesia dentária, com expressividade variável e penetrância incompleta, foi observado em 13 das 16 famílias. A presença de outras anomalias dentárias foi verificada, especialmente microdontia/dentes conóides, dentes supranumerários e taurodontia. Nas famílias em que pré-molares e molares estavam ausentes em pacientes com oligodontia, as pessoas apresentaram um risco maior de ter taurodontia, mesmo aquelas com dentição completa. Foram encontradas as variantes rs12881240 (*PAX9* c.C717T; p.His239His), rs4904210 (*PAX9* c.G718C; p.Ala240Pro), rs149245953 (*WNT10A* c.667C>T; p.Arg223Cys) e rs121908120 (*WNT10A* c.682T>A p.Phe228Ile;) em pessoas com agenesia dentária, porém não nos familiares com dentição completa, de 13 das 16 famílias estudadas. Outros estudos serão necessários para concluir o diagnóstico genético da agenesia dentária nessas famílias.

PALAVRAS-CHAVE: Agenesia dentária, *PAX9*, Taurodontia, *WNT10A*.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the nonsyndromic tooth agenesis in DF, Brazil, through the epidemiological study of its prevalence in deciduous teeth and its relationship with the permanent dentition, and also describe its clinical characteristics, and analyze the sequences of the candidate genes *MSX1*, *PAX9*, *RUNX2* e *WNT10A* potentially involved in the etiology of this condition in families with nonsyndromic tooth agenesis, through familial study approach. The prevalence of tooth agenesis in the primary dentition was 0.29%. Five of the 1718 children examined had one or more primary teeth affected, with no statistical difference between sexes. They were cases of lateral incisor agenesis. Eighty percent of children with tooth agenesis in the primary dentition also had the same condition in the succedaneous permanent teeth. There was an association between tooth agenesis in the primary and permanent dentition, especially in cases of bilateral agenesis. Sixteen families with nonsyndromic tooth agenesis were studied, nine with hypodontia and seven with oligodontia. The autosomal dominant mode of inheritance was observed in 13 out of 16 families. The presence of other dental anomalies was observed, especially microdontia/peg-shaped teeth, taurodontia and supernumerary teeth. In families which premolars and molars were missing in patients with oligodontia, individuals had a higher risk of having taurodontia, even those with complete dentition. Four variants were found in tooth agenesis patients [rs12881240 (*PAX9* c.C717T; p.His239His), rs4904210 (*PAX9* c.G718C; p.Ala240Pro), rs149245953 (*WNT10A* c.667C> T; p.Arg223Cys) and rs121908120 (*WNT10A* c.682T> A p.Phe228Ile)], but not in relatives with complete dentition. Further studies are needed to complete the genetic diagnosis of tooth agenesis in these families.

KEYWORDS: *PAX9*, Taurodontia, Tooth agenesis, *WNT10A*.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 AGENESIA DENTÁRIA	3
2.1.1 Etiopatogênese da agenesia dentária	8
2.2 Anomalias dentárias associadas à agenesia dentária	14
3 OBJETIVOS	21
3.1 OBJETIVO GERAL	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
4 SUJEITOS E MÉTODOS	22
PARTE A - Estudo epidemiológico da prevalência da agenesia dentária na dentição decídua e sua relação com a dentição permanente	22
4.1 SUJEITOS	22
4.2 MÉTODOS	22
4.2.1 Exame clínico	22
4.2.2 Exame radiográfico	23
4.2.3 Critérios de diagnóstico da agenesia dentária	23
4.2.4 Grupo Controle	24
4.2.5 Análise estatística	24
PARTE B - Estudo das características fenotípicas e genotípicas da agenesia dentária familiar	25
4.3 SUJEITOS	25
4.4 MÉTODOS	25
4.4.1 Análise fenotípica	25
4.4.1.1 Exame clínico	25
4.4.1.2 Exames complementares	26
4.4.1.3 História familiar	27

4.4.1.4	Critérios de diagnóstico das anomalias dentárias.	27
4.4.2	Estudo da associação da agenesia dentária com a taurodontia	28
4.4.2.1	Grupo de estudo	29
4.4.2.2	Grupo controle	29
4.4.2.3	Análise estatística	29
4.4.3	Análise genotípica	30
4.4.3.1	Pesquisa das variações de sequência nos genes candidatos	30
4.4.3.2	Extração de DNA genômico	30
4.4.3.3	Amplificação por reação de polimerização em cadeia (PCR)	30
4.4.3.4	Purificação e sequenciamento	31
4.4.3.5	Análise das sequências	31
5	RESULTADOS	32
5.1	Análise epidemiológica da prevalência da agenesia dentária na dentição decídua e sua relação com a dentição permanente	32
5.2	Análise das características fenotípicas e genotípicas da agenesia dentária familiar	33
5.2.1	Análise clínica	33
5.2.1.1	Famílias com Hipodontia	34
5.2.1.2	Famílias com Oligodontia	39
5.3	Associação da Agenesia dentária com a Taurodontia	44
5.4	Análise das sequências dos genes candidatos	46
5.4.1	<i>PAX9</i>	46
5.4.2	<i>MSX1</i>	49
5.4.3	<i>RUNX2</i>	49
5.4.4	<i>WNT10A</i>	49
6	DISCUSSÃO	51
7	CONCLUSÕES	62
8	REFERÊNCIAS	64
	ANEXOS	84
	APÊNDICE I	89
	APÊNDICE II	96

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Heredogramas das famílias 1 a 8 com hipodontia	35
Figura 2	Odontogramas dos indivíduos com agenesia e/ou outras anomalias dentárias observadas nas famílias 1 a 8 com hipodontia	36 37
Figura 3	Heredograma e odontograma da família 9 apresentando hipodontia, dentes supranumerários e anquiloglossia	38
Figura 4	Heredograma e odontograma da família 10 com caso esporádico de oligodontia	39
Figura 5	Heredograma e odontogramas das famílias 11 e 12 com oligodontia e anomalia cardíaca congênita do caso-índice	40
Figura 6	Heredograma e odontogramas da família 13 com oligodontia e história de câncer colorretal	41
Figura 7	Heredograma e odontogramas da família 14 com oligodontia e relato de supranumerários	42
Figura 8	Heredograma e odontogramas da família 15 com oligodontia e supranumerário	43
Figura 9	Heredograma e odontogramas da família 16 com oligodontia e taurodontia	44
Figura 10	Resultado da análise da substituição p.Ala240Pro pelos programas SIFT e PolyPhen2	47
Figura 11	Radiografias de casos-índice com hipodontia e as variantes correspondentes no exon 3 do gene <i>PAX9</i>	47
Figura 12	Resultado da análise da substituição p.Arg223Cys pelo SIFT e PolyPhen2	50
Figura 13	Radiografias de casos-índice com oligodontia e as variações correspondentes no exon 3 do gene <i>WNT10A</i>	51
Figura 14	Mutações no gene <i>MSXI</i> associadas com agenesia dentária não-sindrômica	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Distribuição por sexo das pessoas com agenesia dentária, seus familiares com dentição permanente completa e grupo controle	45
Tabela 2	Frequência da taurodontia por sexo das pessoas com agenesia dentária, seus familiares com dentição permanente completa e grupo controle	45
Tabela 3	Frequência da taurodontia segundo a classificação da agenesia dentária	46
Tabela 4	Distribuição dos casos-índice segundo as variações de sequência no <i>PAX9</i>	48
Tabela 5	Distribuição dos casos-índice de acordo com as variações de sequência no <i>WNT10A</i>	50
Tabela 6	Mutações no gene <i>MSX1</i> associadas à agenesia dentária não-sindrômica	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AXIN2	<i>Axis inhibition protein 2</i>
Bmp	<i>Bone morphogenetic protein</i>
CBF α 1	<i>Core-binding factor alpha 1</i>
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CONEP	Conselho Nacional de Ética em Pesquisa
DDE	Defeitos do desenvolvimento do esmalte
DF	Distrito Federal
DLX	<i>Distal less homeobox</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dpi	Pontos por polegada
Fgf	<i>Fibroblastic growth factor</i>
FGFR1	<i>Fibroblastic growth factor receptor1</i>
FS	Faculdade de Ciências da Saúde
Gli	<i>Gli-Kruppel family member</i>
HD	<i>Homeodomain</i>
HUB	Hospital Universitário de Brasília
IRF6	<i>Interferon regulatory factor 6</i>
Lef	<i>Lymphoid enhancer-binding factor</i>
MSX1	<i>Muscle segment homeobox1</i>
OMIM	<i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>
PAX9	<i>Paired-box transcription factor9</i>
PCR	<i>Polimerization chain reaction</i>
RNA	Ácido desoxirribonucleico
RUNX2	<i>Runt-related transcription factor 2</i>
TDO	Síndrome Trico-dento-óssea
TGF α	<i>Transforming growth factor alpha</i>
UnB	Universidade de Brasília
WNT10A	<i>Wingless-type MMTV integration site family, member 10A</i>

1 INTRODUÇÃO

A agenesia dentária é uma anomalia dentária de número caracterizada pela ausência de formação de dentes decíduos e/ou permanentes em decorrência de distúrbios na odontogênese (Symons *et al.*, 1993; Vastardis, 2000). A odontogênese é um processo complexo mediado por interações epitélio-ectomesenquimais sequenciais e recíprocas, que está sob um estrito controle genético responsável por determinar a posição, o número, a forma e o tamanho dos dentes (Miletich e Sharpe, 2003; Thesleff, 2003). Até o presente, foram identificados cerca de 300 genes que são expressos durante a odontogênese (<http://bite-it.helsinki.fi/>). Alterações em qualquer um destes genes podem potencialmente resultar em falhas na odontogênese, tendo como consequência o desenvolvimento de anomalias dentárias, que podem ser de número, forma, tamanho e posição (Thesleff, 2003; Thesleff, 2006).

A agenesia dentária é a ausência de formação de dentes em decorrência de distúrbios na odontogênese, resultando em um número reduzido de dentes (Symons *et al.*, 1993; Vastardis, 2000). É uma condição clinicamente heterogênea, que pode afetar várias combinações de dentes (Kapadia *et al.*, 2007). Também pode ocorrer em associação com fissuras lábio-palatinas e/ou síndromes (Gorlin, 2001). Clinicamente, a agenesia dentária, tanto sindrômica quanto não-sindrômica, pode ser classificada em hipodontia, oligodontia ou anodontia com base no número de dentes ausentes. Pode ocorrer como um caso esporádico ou, mais comumente, como um traço familiar (Vastardis, 2000; Courbone, 2007).

A etiopatogênese da agenesia dentária ainda não está totalmente esclarecida, mas sabe-se que tem um importante componente hereditário (Brook e Ekanayake, 1980;

Kapadia *et al.*, 2007). Embora possa eventualmente ser causada por fatores ambientais, na maioria dos casos a agenesia dentária tem uma base genética (Grahnen, 1956; Van Der Weide *et al.*, 1992). Como uma condição isolada, estudos familiares têm demonstrado que a agenesia dentária é herdada como um traço autossômico dominante com expressividade variável e penetrância incompleta ou completa (Courbone, 2007). Uma etiologia poligênica com influência de fatores ambientais também tem sido sugerida (Brook e Ekanayake, 1980; Brook, 1984; Scarel *et al.* 2000). Estudos têm demonstrado a associação da agenesia dentária com outras anomalias do desenvolvimento dentário, de forma, tamanho e posição. Alguns destes estudos propõem que estas anomalias associadas são controladas por mecanismos genéticos similares (Bacetti, 1998a; Bacetti, 1998b; Peck *et al.*, 2002).

No estudo realizado por nosso grupo de pesquisa, verificamos uma frequência da hipodontia de 6,3% em radiografias panorâmicas de pacientes com dentição permanente em tratamento ortodôntico no Distrito Federal (DF) no período de 1998 a 2000, assim como a presença de outras anomalias do desenvolvimento dentário em 98% desses pacientes com hipodontia, sendo essas, retenção de dentes decíduos, erupção ectópica de caninos, taurodontia e incisivos laterais conóides (Gomes *et al.*, 2010). A partir desses resultados, surgiu a necessidade de se estimar a frequência da agenesia dentária também na dentição decídua e sua relação com a dentição permanente. No mesmo período, foi iniciado o atendimento de famílias com agenesia dentária na Clínica de Anomalias Dentárias da Divisão de Odontologia do Hospital Universitário de Brasília (HUB). A caracterização clínica dessas famílias resultou em duas dissertações de mestrado (Fonseca, 2008; Gomes, 2008). Foram verificados diferentes manifestações clínicas da agenesia e anomalias dentárias nessas famílias.

Estes resultados levantaram questões a serem respondidas com o intuito de melhor compreender a etiologia das anomalias dentárias.

O objetivo deste estudo foi investigar a prevalência da agenesia dentária na dentição decídua de crianças com 2 a 5 anos de idade da região do DF e sua relação com a dentição permanente, investigar as características fenotípicas da agenesia dentária familiar não associada a síndromes e realizar a análise de variações de sequência pela abordagem de genes candidatos nessas famílias atendidas na Clínica de Atendimento a Pacientes Portadores de Anomalias Dentárias da Divisão de Odontologia do HUB.

O conhecimento das manifestações bucais associadas à agenesia dentária favorece uma abordagem apropriada na terapêutica possível de ser oferecida às pessoas com esta condição. Também auxilia na determinação do seu modo de herança, favorecendo o aconselhamento genético das famílias por ela acometidas. Uma caracterização detalhada das manifestações bucais e também das características sistêmicas presentes é necessária para propiciar avanços na pesquisa das possíveis variações de sequência envolvidas no risco ao desenvolvimento dessa condição.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 AGENESIA DENTÁRIA

A agenesia dentária é a ausência de formação do germe de dentes decíduos e/ou permanentes em decorrência de distúrbios no processo de odontogênese, resultando em um número reduzido de dentes (Symons *et al.*, 1993; Vastardis, 2000). A agenesia dentária é uma anomalia comum em humanos, sendo uma das mais frequentes anomalias dentárias (Vastardis, 2000). É uma condição clinicamente heterogênea, que pode afetar várias combinações de dentes e estar associada a outras anomalias do

desenvolvimento dentário (Kapadia *et al.*, 2007). Pode ocorrer como uma condição isolada, associada a fissuras lábio-palatinas e também é descrita como uma característica em mais de 120 síndromes (Gorlin, 2001; Vieira, 2003) como, por exemplo, as Displasias Ectodérmicas e a Síndrome de Down (Arte, 2001). Tanto a forma sindrômica quanto a não-sindrômica da agenesia dentária pode ser esporádica ou familiar. Tem sido descrito que a agenesia dentária familiar pode ser transmitida como uma condição autossômica dominante, autossômica recessiva ou ligada ao cromossomo X, mas também pode não mostrar um padrão claro de segregação. Nas famílias com agenesia dentária, os indivíduos afetados frequentemente exibem variabilidade com relação a número, localização e simetria dos dentes afetados (Kapadia *et al.*, 2007).

O diagnóstico da agenesia dentária é feito com base no exame clínico e radiográfico. Um dente é considerado congenitamente ausente se não erupcionou na cavidade bucal e não é visível em radiografia. O diagnóstico de agenesia dentária por inspeção clínica pode ser feito a partir dos três anos de idade para a dentição decídua e a partir dos 12 aos 14 anos para a permanente, excluindo os terceiros molares. O diagnóstico radiográfico para agenesia na dentição permanente pode ser feito mais precocemente, a partir dos seis anos de idade, se os terceiros molares não forem incluídos, uma vez que as coroas de todos os dentes permanentes, exceto os terceiros molares, geralmente estão completamente mineralizadas entre 5 e 7 anos de idade. A coroa dos terceiros molares geralmente começa sua mineralização entre 8 e 11 anos de idade (Arte, 2001).

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 considerado (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 crianças brasileiras (Kramer *et al.*, 2008) e de 0,29% em crianças do Distrito Federal (Gomes *et al.*, 2014). Na dentição decídua, a região de incisivos é mais frequentemente afetada (Daugaard-Jensen *et al.*, 1997; Yonezu *et al.*, 1997).

A dentição permanente é mais frequentemente afetada que a decídua (Vastadis, 2000). Na dentição permanente, diferentes prevalências têm sido relatadas, variando de 0,3% a 36,5%. Excluindo os terceiros molares, as prevalências variam de 2,2% a 10,1%. A amplitude de valores de prevalência observada nos estudos populacionais indica diferenças geo-demográficas (Polder *et al.*, 2004). Em uma população brasileira, 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 (Ciamponi e Frassei, 1999). Em estudo realizado com amostra do 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, excluindo os terceiros molares (Müller, 1970; Ciamponi e Frassei, 1999; Meza, 2003; Altug-Atac e Erdem, 2007; Gomes *et al.*, 2010). Em uma população japonesa, os dentes mais frequentemente ausentes foram os incisivos centrais inferiores, excluindo os terceiros molares (Davis, 1987). 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).

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 (Vastardis, 2000; Arte, 2001; Arte e Pirinen, 2003; Kapadia *et al.*, 2007). Oligodontia é a agenesia de mais de seis dentes, sem contar os terceiros molares (Van Der Weide *et al.*, 1992; Shalck-Van Der Weide *et al.*, 1993; Shalk-van der Weide *et al.*, 1994a; Shalk-van der Weide *et al.*, 1994b; Shalk-van der Weide e Bosman, 1996). Anodontia é a agenesia de todos os dentes (Arte, 2001; Arte e Pirinen, 2003).

A hipodontia é a forma mais comum da agenesia dentária e corresponde à maioria dos estudos de prevalência publicados sobre esta anomalia. Afeta mais o sexo feminino do que o masculino, mas sem diferença estatisticamente significativa (Grahnen, 1956;

Haavikko, 1971; Magnusson, 1977; Lai e Seow, 1989; Thongudomporn e Freer, 1998; Mattheeuws *et al.*, 2004; Endo *et al.*, 2006; Altug-Atac e Erdem, 2007). Determinados estudos relataram uma diferença estatisticamente significante entre os sexos (Brook, 1984; Bäckman e Wahlin, 2001; Polder *et al.*, 2004). Alguns autores chamam de hipodontia severa ou avançada os casos em que uma pessoa apresenta agenesia de quatro dentes ou mais, exceto os terceiros molares (Rune e Sarnäs, 1974; Sarnäs e Rune, 1983; Endo *et al.*, 2006; Wong *et al.*, 2007; Worsaae *et al.*, 2007).

A oligodontia é uma forma de expressão mais grave da agenesia dentária, com a ausência congênita de mais de seis dentes permanentes, sem contar os terceiros molares. Pode ocorrer de maneira isolada, sendo classificada como oligodontia não-sindrômica (OMIM 604625), ou pode ocorrer como parte de uma síndrome, sendo classificada como oligodontia sindrômica (Shalk-van der Weide *et al.*, 1994b). As pessoas com oligodontia associada à síndrome apresentam, em média, um maior número de dentes ausentes do que aquelas com oligodontia não-sindrômica (Van Der Weide *et al.*, 1992). A oligodontia é considerada rara. Uma prevalência de 0,08% foi relatada em um estudo na Holanda (Van Der Weide *et al.*, 1992), de 0,084% na Noruega (Nordgarden *et al.*, 2002) e de 0,17% na Dinamarca (Rolling e Poulsen, 2001). Polder *et al.* (2004) relataram uma prevalência de 0,14% de pacientes com agenesia de seis ou mais dentes em uma meta-análise baseada nos dados de 24 estudos realizados em populações européias, norte-americanas e australianas. Vastardis (2000) estimou uma prevalência de 0,25% e Worsaae *et al.* (2007), de 0,1 a 0,2%. Rolling e Poulsen (2001), combinando dados de seis estudos reportados em populações escandinavas, encontraram que oligodontia ocorre em aproximadamente uma a três de cada mil crianças, que é mais frequente em meninas do que em meninos, com diferença estatística significante, e que dois em cada três dentes

permanentes congenitamente ausentes são segundos pré-molares ou incisivos laterais. Os dentes mais frequentemente ausentes, exceto os terceiros molares, são os segundos pré-molares, os incisivos laterais superiores e os incisivos centrais inferiores. Os incisivos centrais superiores e os primeiros molares inferiores permanentes são considerados os dentes mais estáveis, uma vez que raramente são afetados por agenesia dentária (Rolling e Poulsen, 2001). Não há diferença estatisticamente significativa na distribuição de dentes ausentes entre maxila e mandíbula ou entre os lados direito e esquerdo (Van Der Weide *et al.*, 1992).

Se há completa ausência de desenvolvimento dos dentes, este caso extremo é conhecido como anodontia (Arte, 2001; Arte e Pirinen, 2003). A anodontia ocorre como uma característica extrema de agenesia dentária, podendo ser observada em casos de Displasia Ectodérmica. A ausência congênita de todos os dentes sem a associação com alguma outra anomalia do desenvolvimento é extremamente rara. Alguns casos relatados sugerem um modo de herança autossômico recessivo (Gorlin *et al.*, 1980).

2.1.1 Etiopatogênese da agenesia dentária

A etiopatogênese da agenesia dentária ainda não está esclarecida, mas sabe-se que tem um importante componente hereditário (Brook e Ekanayake, 1980; Kapadia *et al.*, 2007). Embora seja relatado que pode ocasionalmente ser causada por fatores ambientais, tais como substâncias químicas ou drogas (Orup *et al.*, 1998) e radioterapia (Kaste *et al.*, 1994; Kaste *et al.*, 1995), a causa é genética na maioria dos casos (Grahnen, 1956; Van Der Weide *et al.*, 1992).

É amplamente aceito que falhas na odontogênese, que resultam na agenesia dentária, são causadas por defeitos na função de genes expressos durante o desenvolvimento dentário (Goldenberg *et al.*, 2000). Avanços no conhecimento dos mecanismos moleculares envolvidos no desenvolvimento dos dentes de roedores levaram à identificação de potenciais genes candidatos na etiopatogênese da agenesia dentária em humanos (Cobourne e Sharpe, 2003). Por exemplo, as descobertas iniciais de mutações nos genes *MSX1* (Vastardis *et al.*, 1996) e do *PAX9* (Stockton *et al.*, 2000) como causas da agenesia dentária em humanos foram guiadas por estudos iniciais em camundongos transgênicos (Satokata e Maas, 1994; Peters *et al.*, 1998).

Camundongos homozigotos *Msx1*^{-/-} exibem fissura palatina e anomalias do desenvolvimento craniofacial e dentário. Nos camundongos homozigotos *Msx1*^{-/-} recém-nascidos, os germes dos incisivos não puderam ser detectados e o desenvolvimento dos primeiros e segundos molares havia falhado em progredir além da fase de botão. Este retardo do epitélio dentário no estágio de botão sugere fortemente que o *Msx1* é requerido pelo ectomesênquima para responder à indução pelo *Bmp4* (*Bone Morphogenetic Protein 4*) epitelial. A expressão do *Msx1* nas células ectomesenquimais é requerida não apenas para a diferenciação do ectomesênquima da papila dental e do folículo dental, mas também reciprocamente para a subsequente progressão do epitélio do estágio de botão para o de capuz e de campânula (Satokata e Maas, 1994).

Em camundongos homozigotos *Pax9*^{-/-} a odontogênese também não progride além do estágio de botão, mostrando que o *Pax9* é essencial para o desenvolvimento dentário progredir além desta fase. A expressão do *Pax9* é requerida para a manutenção da expressão de *Bmp4* no ectomesênquima dental (Peters *et al.*, 1998). O *Bmp4* está

envolvido na indução da formação do nó do esmalte e na expressão de *Msx1* e do próprio *Bmp4* no ectomesênquima. A expressão do *Bmp4* no ectomesênquima regula a morfogênese dentária, em particular a transição da fase de botão para a de capuz e a indução do nó do esmalte. Sabe-se que as funções dos genes *Pax9* e *Msx1* são essenciais para estabelecer o potencial odontogênico no ectomesênquima por meio da manutenção da expressão do *Bmp4* ectomesenquimal (Ogawa *et al.*, 2006). Entretanto, as relações entre estes três genes em nível molecular não estão totalmente esclarecidas (Kapadia *et al.*, 2007).

Os resultados inicialmente obtidos em modelos animais foram investigados em famílias com agenesia dentária familiar síndrômica e não-síndrômica. Em humanos, sua etiologia genética é demonstrada pela associação com mutações nos genes *MSX1*, *PAX9*, *AXIN2*, *EDA*, *EDAR*, *EDARADD* e *WNT10A* (van den Boogaard *et al.*, 2012; Arte *et al.*, 2013; Sarkar *et al.*, 2014) e, mais recentemente, no gene *GREMLIN2* (Kantaputra *et al.*, 2015).

Os primeiros genes estudados na etiopatogenia da agenesia dentária, causando agenesia de dentes permanentes em famílias com origens geográficas diferentes, foram os que codificam os fatores de transcrição *MSX1* e *PAX9* (Stockton *et al.*, 2000; Song *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2011). Diferentes mutações foram identificadas no *MSX1* (ENSG00000163132, OMIM *142983) (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) e no *PAX9* (ENSG00000198807, OMIM *167416) (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; Šerý *et al.*, 2015), todas resultando em agenesia autossômica dominante principalmente de dentes posteriores. As mutações no *MSX1* afetam preferencialmente o desenvolvimento de terceiros molares e segundos pré-molares, enquanto mutações no *PAX9* afetam o desenvolvimento de molares (Vastardis *et al.*, 1996; Mostowska *et al.*, 2003b). Nas famílias em que foram encontradas mutações no *PAX9* associadas à agenesia de pré-molares, foi sugerido que isso reflete uma diminuição indireta na atividade do *MSX1* devido a uma redução seletiva da ligação do *PAX9* a locais que regulam os níveis de expressão do *MSX1* (Ogawa *et al.*, 2006; Kapadia *et al.*, 2007).

Em 2004, estudo realizado em uma família com oligodontia autossômica dominante e câncer colorretal revelou a presença de uma mutação no gene *AXIN2* (*Axis inhibitor 2* - OMIM *604025) em todos os familiares afetados por oligodontia, mas não nos não afetados, revelando que a função deste gene é essencial para o desenvolvimento da dentição humana (Lammi *et al.*, 2004). Além disso, nesta família, foi sugerido que a oligodontia poderia estar associada com o risco para câncer colorretal, sugerindo que a agenesia dentária poderia ser usada como um indicador da susceptibilidade para câncer colorretal. Poucos outros estudos também encontraram mutações no *AXIN2* associadas à oligodontia não-sindrômica (Bergendal *et al.*, 2011; Wong *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2015).

Mais recentemente, estudos em pacientes com Displasias Ectodérmicas, cujas manifestações clínicas incluem agenesia dentária com vários dentes ausentes, identificaram mutações no gene *WNT10A* (Bohring *et al.*, 2009; Nawaz *et al.*, 2009; Van Geel *et al.*, 2010). O gene *WNT10A* (*wingless-type MMTV integration site family, member 10A* OMIM # 606268) está localizado no cromossomo 2q35. Ele contém

quatro exons e pertence a uma família de genes que codificam glicoproteínas envolvidas na estabilização da β -catenina, uma proteína que regula a adesão celular e a transcrição de outros genes essenciais no desenvolvimento embrionário de diversos órgãos (MacDonald *et al.*, 2009). No desenvolvimento dentário, a proteína foi encontrada na estabilização da β -catenina regulando a sinalização para a formação do germe dentário. Sua expressão foi detectada no nó do esmalte no germe dentário de camundongo no 12º dia de gestação (Dassule e McMahon, 1998). Em um estágio mais tardio, também foi encontrado no ectomesênquima, onde contribui para a diferenciação dos odontoblastos (Yamashiro *et al.*, 2007). Foi sugerido que a inativação dessa via de sinalização impede a formação de dentes (Järvinen *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2009). A partir destes achados, este gene também se tornou um candidato para análise de variações de sequência em pacientes com agenesia dentária não-sindrômica (Kantaputra e Sripathomsawat, 2010). Até o presente, o *WNT10A* foi o gene que mais contribuiu na etiologia da agenesia em 34 pacientes com hipodontia não-sindrômica (56% dos casos) analisados para variações de sequência nos genes *WNT10A*, *MSX1*, *PAX9* e *AXIN2*. Foi verificado ainda que sua inclusão nos testes de diagnóstico de agenesia aumentou significativamente o rendimento dos testes moleculares de 15% para 71% (van den Boogaard *et al.*, 2012).

Até o presente, as mutações conhecidas explicam um número relativamente pequeno dos casos de agenesia dentária. Embora mais de 300 genes tenham sido identificados como sendo expressos durante a odontogênese, apenas poucas correlações fenótipo-genótipo foram estabelecidas na agenesia dentaria não-sindrômica em humanos (De Coster *et al.*, 2009). Várias moléculas são expressas no epitélio dentário nos estágios iniciais do desenvolvimento, tais como *Bmp2*, *Bmp4*, *Bmp7*, *Dlx2*, *Dlx5*, *Fgf1*, *Fgf2*, *Fgf4*, *Fgf8*, *Fgf9*, *Lef1*, *Gli2* e *Gli3*, entre outros (Thesleff, 2003). A quantidade de

estudos familiares que não encontraram associação entre a agenesia dentária e variações de sequência nos genes candidatos (Nieminen *et al.*, 1995; Goldenberg *et al.*, 2000; Scarel *et al.*, 2000; Frazier-Bowers *et al.*, 2002b; Gerits *et al.*, 2006; Kapadia *et al.*, 2007; Swinnen *et al.*, 2008; Tallón-Walton *et al.*, 2014) demonstram que outros genes expressos na odontogênese também são potenciais candidatos para a agenesia dentária em humanos (Vieira, 2003). Por exemplo, o gene *RUNX2* (*Runt-related transcription factor 2*, OMIM *600211), também conhecido como *CBF α 1* (*Core-binding factor alpha 1*), é o principal regulador da diferenciação dos osteoblastos e tem sido relacionado a casos de desenvolvimento de dentes supranumerários em indivíduos com displasia cleidocraniana (Quack *et al.*, 1999; Yoshida *et al.*, 2002; Tang *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2008, Bufalino *et al.*, 2012). Mutações no gene *Runx2* estão relacionadas à agenesia de molares em camundongos (Åberg *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2005).

Além das mutações, também há evidências de que polimorfismos estão associados à agenesia dentária. Foi demonstrada a associação de polimorfismos nos genes *MSX1*, *PAX9*, *AXIN2*, *TGF α* (*Transforming growth factor alpha*, OMIM *190170) e *IRF6* (*Interferon regulatory factor 6*) com um risco aumentado para agenesia dentária (Vieira *et al.*, 2004; Peres *et al.*, 2005; Mostowska *et al.*, 2006; Vieira *et al.*, 2007; Callahan *et al.*, 2009a, Pawlowska *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2011; Paixão-Cortes *et al.*, 2011; Zhang e Zhang, 2014). A análise de sequências em famílias com agenesia dentária não-sindrômica mostraram que a agenesia de pré-molares pode estar associada com polimorfismos do *FGFR1* (*Fibroblast growth factor receptor 1*) (Vieira *et al.*, 2007). E também, há evidências de que o gene *TGF α* , expresso durante o desenvolvimento craniofacial, pode desempenhar um papel nos casos de agenesia isolada de incisivos (Vieira *et al.*, 2004; Callahan *et al.*, 2009b).

Enquanto tem sido mostrado que variações de sequência nestes genes estão envolvidas na agenesia dentária em humanos, está se tornando cada vez mais evidente que outros genes também desempenham um papel. Foi proposto que mais de um gene pode ser responsável por um padrão específico de agenesia dentária e que diferentes mutações no mesmo gene podem resultar em um mesmo fenótipo (Frazier-Bowers *et al.*, 2002b; Mostowska *et al.*, 2003b). Vieira (2003) sugere que a agenesia dentária provavelmente é causada por defeitos em vários genes independentes, atuando sozinhos ou em combinação com outros genes, levando a um padrão fenotípico específico. Há também a proposta de uma etiologia poligênica com influência de fatores ambientais, isso é, uma etiologia multifatorial (Brook e Ekanayake, 1980; Brook, 1984; Van der Weide *et al.*, 1992). Scarel e colaboradores (2000) sugerem que a agenesia dentária ocorre como uma consequência tanto de mutações em genes envolvidos na odontogênese quanto por influências epigenéticas, que podem ser modificadas por fatores ambientais, alterando assim o padrão de expressão e o campo de ação destes genes.

Levar em consideração apenas o número e o tipo de dentes afetados por agenesia não configura um critério totalmente eficaz para a escolha do gene candidato a uma possível análise destas variações. É preciso considerar também as anomalias dentárias associadas, uma vez que, além de auxiliar na determinação do modo de herança da agenesia dentária (Brook, 1984; Shalk-Van Der Weide e Bosman, 1996), estas anomalias associadas podem ser controladas por mecanismos genéticos semelhantes (Bacetti, 1998; Peck *et al.*, 1998; Peck *et al.*, 2002; Camilleri, 2005).

2.2 ANOMALIAS DENTÁRIAS ASSOCIADAS À AGENESIA DENTÁRIA

Vários estudos demonstraram a associação da agenesia dentária com anomalias dentárias de tamanho, forma e posição dos dentes, sendo essa associação mais

frequente em pessoas com agenesia do que nos grupos controle (Lai e Seow, 1989; Symons *et al.*, 1993; Shalk-van der Weide *et al.*, 1994; Townsend *et al.*, 1995; Peck *et al.*, 1993; Peck *et al.*, 1996; Bacetti, 1998; Peck *et al.*, 1998; Arte *et al.*, 2001; Shapira e Kufinec, 2001; Peck *et al.*, 2002). Determinados autores propõem que estas anomalias associadas são controladas por mecanismos genéticos similares (Bacetti, 1998; Peck *et al.*, 1998; Peck *et al.*, 2002; Camilleri, 2005). Tais anomalias dentárias incluem redução no tamanho dos dentes (Rune e Sarnas, 1974; Brook e Ekanayake, 1980; Van Der Weide *et al.*, 1992), dentes conóides, taurodontia (Shalk-Van Der Weide *et al.*, 1993), atraso na erupção dos dentes (Rune e Sarnas, 1974) e defeitos do esmalte (Lai e Seow, 1989; Wong *et al.*, 2005). Em estudo da prevalência da agenesia dentaria em Brasília, 98% das pessoas com hipodontia apresentaram também pelo menos mais uma anomalia do desenvolvimento dentário, sendo retenção de dentes decíduos, incisivos laterais conóides, erupção ectópica de caninos e/ou taurodontia (Gomes *et al.*, 2010). A presença destas anomalias também tem sido estudada em familiares de pessoas com hipodontia e/ou oligodontia (Brook, 1984; Shalk-van der Weide e Bosman, 1996; Arte *et al.*, 2001).

Estudos longitudinais demonstraram que molares decíduos permaneceram retidos onde houve agenesia dos pré-molares mesmo 15 a 20 anos após o período normal de esfoliação (Ith-Habsen e Kjaer, 2000; Bjerkin e Bennett, 2000). Bacetti (1998) demonstrou a associação recíproca entre agenesia de segundos pré-molares e infra-oclusão dos molares decíduos retidos. Infra-oclusão de molares decíduos foi encontrada em 65,7% dos indivíduos com agenesia dentária (Lai e Seow, 1989).

Uma redução no tamanho dos dentes e a presença de dentes conóides foi associada à agenesia dentária. Lavelle *et al.* (1970) observaram que indivíduos com a dentição

completa têm a dimensão méso-distal dos dentes significativamente maior ($p < 0,001$) do que aqueles que têm agenesia de terceiros molares. Lai e Seow (1989) verificaram que incisivos laterais superiores conóides foram mais prevalentes em indivíduos com hipodontia (8,9%) do que no grupo-controle ($p < 0,001$). Bacetti (1998) mostrou evidências da existência de associação recíproca significativa entre agenesia de segundos pré-molares e incisivos laterais superiores de tamanho reduzido. Incisivos laterais superiores conóides são citados como o principal exemplo de redução no tamanho da coroa dos dentes em associação com a agenesia dentária e sua presença foi considerada como expressão variável da agenesia dentária (Witkop 1987; Arte *et al.*, 2001). Um dente é considerado conóide quando a dimensão méso-distal incisal/oclusal da coroa se apresenta menor do que a cervical (Alvesalo e Portin, 1969; Townsend *et al.*, 1995; Bäckman e Wahlin, 2001). A dimensão méso-distal dos dentes dos indivíduos com oligodontia é significativamente reduzida em relação aos indivíduos do grupo-controle (Shalk-Van Der Weide *et al.*, 1992; Shalk-Van Der Weide *et al.*, 1994). Shalk-Van Der Weide e Bosman (1996) verificaram que os pais de indivíduos com oligodontia podem apresentar redução no tamanho dos dentes, sendo que aqueles com agenesia dentária apresentaram dimensão méso-distal menor do que os pais com dentição permanente completa e estes apresentaram dimensão méso-distal menor do que os do grupo-controle. Este é um dado importante a se considerar para estabelecer o modo de herança da oligodontia. Foi verificada associação entre a agenesia dentária relacionada à mutação no *PAX9* e a redução nas dimensões da coroa dos dentes remanescentes em uma família japonesa com agenesia autossômica dominante de molares, pré-molares e incisivos (Brook *et al.*, 2009).

Há relatos da ocorrência de agenesia dentária e dentes supranumerários em um mesmo indivíduo (Camilleri, 1967; Davis, 1987; Zhu *et al.*, 1996). Os termos hipodontia e

hiperdontia concomitante, hipo-hiperdontia e oligopleiodontia são usados para descrever esta situação, mas esta é uma condição rara de etiologia desconhecida (Zhu *et al.*, 1996). Um dente supranumerário é definido como um dente adicional à série normal, ou seja, aquele que excede o número normal da fórmula dentária (Garvey *et al.*, 1999). A causa para o desenvolvimento de dentes supranumerários não é bem conhecida, assim como pouco tem sido publicado sobre os defeitos genéticos e moleculares que resultam neste defeito do desenvolvimento (D'Souza e Klein, 2007). Um modelo multifatorial combinando influências poligênicas e ambientais tem sido sugerido (Brook, 1984). Mutações no gene *RUNX2* foram identificadas em indivíduos com dentes supranumerários em famílias com Displasia Cleidocraniana (Yokozeki *et al.*, 2000; Goseki-Sone *et al.*, 2001; Bergwitz *et al.*, 2001 Yoshida *et al.*, 2002). Em estudos familiares, não tem sido mencionada a ocorrência de agenesia e dentes supranumerários em diferentes indivíduos de uma mesma família. Apenas Arte (2001) relatou a presença de quartos molares na maxila da irmã de um caso-índice com hipodontia de incisivos laterais e segundos pré-molares. Enquanto mutações no *Runx2* foram relacionados à agenesia de molares em camundongos (Åberg *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2005), camundongos *knock-out* para o gene *Wnt10a* apresentaram dentes supranumerários (Yang *et al.*, 2015).

Foi sugerido que existe uma relação entre a erupção ectópica de caninos e/ou incisivos laterais superiores e agenesia dentária (Peck *et al.*, 1996; Peck *et al.*, 1998, Shapira e Kupfinc, 2001; Peck *et al.*, 2002). Erupção ectópica se refere a qualquer via anormal de erupção adotada por um dente e resulta no mau-posicionamento do dente no arco dental. Estudos indicam elevadas taxas de prevalência de agenesia dentária em indivíduos com anomalias de posição dentária como erupção ectópica de caninos no palato, transposição de incisivo lateral inferior e canino, e transposição de

canino e primeiro pré-molar superior (Peck *et al.*, 1996; Peck *et al.*, 1998; Shapira e Kupřinec, 2001; Peck *et al.*, 2002; Camilleri, 2005). Erupção ectópica de caninos no palato mostrou associação recíproca significativa com agenesia de segundos pré-molares em estudo realizado por Bacetti (1998), pois as frequências foram significativamente maiores do que no grupo controle. Arte e colaboradores (2001) verificaram uma prevalência maior de erupção ectópica de caninos permanentes em indivíduos com hipodontia e seus familiares do que na população geral, tanto nos casos-índice (9 a 10 vezes maior) quanto nos seus familiares (3,5 vezes maior). Outra má-posição dentária que tem sido associada à agenesia dentária é a rotação de pré-molares. Bacetti (1998c) realizou um estudo para analisar a prevalência de associações clínicas entre rotação de incisivos laterais superiores e pré-molares e a agenesia de dentes não adjacentes em uma amostra constituída por 1620 sujeitos e 1000 controles. A presença de associações entre todas as categorias analisadas foi estatisticamente significativa ($p < 0,01$). A rotação de pré-molares foi mais frequentemente notada em indivíduos com hipodontia e seus familiares, com uma prevalência de 2 a 4 vezes maior do que na população (Arte *et al.*, 2001).

A presença de defeitos de desenvolvimento de esmalte tem sido associada à agenesia dentária (Lai e Seow, 1989; Symons *et al.*, 1993; Bacetti, 1998; Wong *et al.*, 2005). Os defeitos de desenvolvimento do esmalte são alterações visíveis da translucidez e/ou da espessura normal do esmalte dentário, que resultam de alterações durante a amelogênese. Estas alterações podem ocorrer devido a fatores hereditários, sistêmicos ou ambientais (Suckling, 1989). Lai e Seow (1989) verificaram que hipoplasia do esmalte foi significativamente mais comum no grupo com hipodontia do que no controle (11,9%; $p < 0.001$). Bacetti (1998) evidenciou a existência de associação recíproca entre hipoplasia de esmalte e agenesia de segundos pré-molares. Wong *et*

al. (2005) compararam a prevalência de defeitos de esmalte entre um grupo com hipodontia severa e o grupo-controle, e relataram que o grupo com hipodontia severa apresentou mais defeitos de esmalte ($p < 0,043$) e hipoplasia do esmalte ($p < 0,044$). Além disso, o grupo com hipodontia tinha defeitos de desenvolvimento do esmalte mais extensos ($p = 0,003$). Kist *et al.* (2005), ao analisarem o efeito da dosagem da expressão do *Pax9*, verificaram que uma redução nesta dosagem em camundongos transgênicos resultou tanto em agenesia dentária (hipodontia e oligodontia) quanto em defeitos de esmalte e presença de dentina terciária. Concluíram que a redução da dosagem do *Pax9* afeta o desenvolvimento dos dentes como um todo e sugeriram um efeito dose-dependente do *Pax9*, em que quanto maior sua expressão, menor a quantidade de defeitos e quanto menor a expressão, maior a redução no número de dentes e maior a quantidade de defeitos de esmalte.

A taurodontia é uma anomalia dentária que também tem sido associada à agenesia dentária (Seow e Lai, 1989; Shalk-van der Weide *et al.*, 1993; Arte *et al.*, 2001). É uma anomalia de forma que resulta da invaginação atrasada das células da bainha epitelial de Hertwig, criando assim uma câmara pulpar alongada (Wright, 2007). É um distúrbio hereditário em que dentes multirradiculares apresentam uma extensão da câmara pulpar em direção ao ápice radicular e não apresentam constrição cervical, o que resulta em uma coroa com forma retangular e uma proporção alterada do tamanho da coroa em relação à raiz (Seow, 1993). Ela ocorre mais frequentemente como uma anomalia isolada (Ruprecht, 1987). Mas ocorre também como um ponto marcante em algumas síndromes, principalmente naquelas que envolvem defeitos de origem ectodérmica, como as Displasias Ectodérmicas, Síndrome trico-dento-óssea (TDO) e Síndrome de Down (Jaspers e Witkop, 1980; Bell *et al.*, 1989; Alpöz e Eronat, 1997). Seow e Lai (1989) mostraram que a presença de taurodontia é mais comum em

indivíduos com hipodontia (34,3%) do que no grupo controle (7,1%) e esta diferença foi estatisticamente significativa. Arte e colaboradores (2001) também observaram diferença estatisticamente significativa ($p = 0,003$) na prevalência de taurodontia entre um grupo de indivíduos com hipodontia e o controle. Ao investigar se a taurodontia estava associada a certos padrões de hipodontia, Seow e Lai (1989) verificaram que 56,5% dos pacientes com taurodontia apresentavam múltiplos dentes ausentes, 30,4% tinham agenesia de pré-molares, 8,7%, de incisivos laterais e 4,3%, de incisivos laterais e pré-molares. Em pacientes com oligodontia, Schalk-Van Der Weide *et al.* (1993) observaram que a prevalência de taurodontia foi de 28,9%, significativamente maior do que no grupo controle ($p < 0,01$). A etiologia da taurodontia não está esclarecida e tem sido sugerido que pode se tratar de uma característica poligênica (Wright, 2007). Até o presente, mutações no gene *DLX3* (*Distal less homeobox 3*) expresso durante a morfogênese radicular foram associadas à taurodontia na Síndrome Trico-Dento-Óssea (TDO) e em famílias com amelogênese imperfeita autossômica dominante (Dong *et al.*, 2005; Wright *et al.*, 2008).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a agenesia dentária no DF por meio da investigação (1) da sua prevalência na dentição decídua em crianças pré-escolares e a relação com a dentição permanente; (2) das características fenotípicas da agenesia dentária familiar não associada a síndromes em famílias atendidas na Clínica de Atendimento a Pacientes Portadores de Anomalias Dentárias da Divisão de Odontologia do Hospital Universitário de Brasília e (3) de variações de sequência pela abordagem de genes candidatos nessas famílias.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Investigar a prevalência da agenesia dentária na dentição decídua de crianças pré-escolares de 2 a 5 anos de idade do DF e sua relação com a dentição permanente.
2. Descrever o fenótipo e o modo de herança da agenesia dentária familiar de 16 famílias.
3. Analisar a presença de outras anomalias dentárias nos casos-índice e familiares nas 16 famílias estudadas.
4. Verificar a associação da agenesia dentária com a taurodontia por meio da comparação da frequência da taurodontia nas pessoas com agenesia dentária e familiares com um grupo controle.
5. Investigar variações de sequência nos genes *MSX1*, *PAX9* e *WNT10A* nos casos-índice das 16 famílias e familiares.
6. Investigar variações de sequência no gene *RUNX2* nos casos-índice das 16 famílias e nos familiares com dentes supranumerários.

4 SUJEITOS E MÉTODOS

Este estudo abordou duas temáticas diferentes para buscar resposta às questões levantadas com o intuito de melhor compreender a etiologia da agenesia dentária.

PARTE A - Estudo epidemiológico da prevalência da agenesia dentária na dentição decídua e sua relação com a dentição permanente.

Para conhecer a prevalência da agenesia dentária na dentição decídua no DF e a relação com a dentição permanente, foi feito um estudo epidemiológico. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências da Saúde (FS) da Universidade de Brasília (UnB) e foi conduzido de acordo com os preceitos éticos preconizados na Declaração de Helsinke em 1964. O termo de consentimento livre e esclarecido foi obtido dos pais que consentiram na participação de suas crianças (Anexo I).

4.1 SUJEITOS

Participaram deste estudo 1718 crianças de 2 a 5 anos de idade que frequentavam 20 creches do Distrito Federal. As crianças que apresentaram agenesia dentária na dentição decídua ao exame físico foram submetidas a exame clínico detalhado e exame radiográfico realizados no HUB.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Exame clínico

As crianças com hipótese diagnóstica de agenesia dentária na dentição decídua, após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido por seu responsável (Anexo

I), foram submetidas a exame clínico e radiográfico. Estas crianças receberam tratamento odontológico, de acordo com suas necessidades individuais e com os procedimentos oferecidos pelo serviço do HUB.

O exame clínico consistiu de anamnese e exame físico extra e intrabucal. A anamnese pesquisou a condição médica e odontológica pregressa e atual da criança, bem como informações sobre consaguinidade dos pais e a existência de familiares com as mesmas alterações dentárias. A possibilidade de associação com alguma síndrome ou doença sistêmica foi excluída. O exame físico foi realizado em cadeira odontológica da Divisão de Odontologia do HUB. No exame extrabucal, foram inspecionados a pele, o perfil e a simetria facial. O exame intrabucal incluiu a inspeção dos tecidos moles bucais. O exame dentário foi realizado após profilaxia e secagem dos dentes decíduos.

4.2.2 Exame Radiográfico

O exame radiográfico foi realizado com a finalidade de diagnosticar a presença de agenesia dentária na dentição permanente. Consistiu de radiografia panorâmica realizada em aparelho *Rotograph Plus® – Villa Medical System – Itália* do Centro de Radiologia Odontológica do HUB. Consistiu também de radiografia periapical da área afetada na dentição decídua.

4.2.3 Critérios de diagnóstico da agenesia dentária

1) Na dentição decídua: Um dente foi considerado congenitamente ausente quando não estava presente na cavidade bucal dentro da cronologia considerada normal para seu irrompimento, sem o relato de extração ou perda do dente em decorrência de trauma.

2) Na dentição permanente: Um dente foi considerado congenitamente ausente quando não estava presente na radiografia panorâmica, considerando a cronologia normal esperada para o desenvolvimento dentário.

4.2.4 Grupo controle

Foram selecionadas radiografias panorâmicas de crianças com 2 a 5 anos de idade, de ambos os gêneros, que apresentaram dentição decídua completa, sem anomalias de número ou forma, atendidas na clínica de Odontopediatria do HUB, sendo três controles pareados por gênero e idade para cada criança com agenesia dentária na dentição decídua.

4.2.5 Análise estatística

Foi feita a análise estatística descritiva das variáveis estudadas. Os dados coletados foram analisados por frequência, gênero, tipo de anomalia dentária, distribuição nas arcadas dentárias, tipo de dente envolvido, tipo de dentição envolvida e associação com outras anomalias do desenvolvimento dentário. A diferença na prevalência da agenesia dentária entre os gêneros foi testada utilizando o teste do qui-quadrado com um intervalo de confiança de 95% e um nível de significância de 0,05. A Razão de Prevalências (RP) foi estimada com um intervalo de confiança de 95% para crianças com agenesia dentária na dentição decídua que também apresentaram a mesma condição na dentição permanente quando comparada com o grupo controle. A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa *Statistical Package for the Social Sciences* para *Windows* (SPSS Inc., Chicago, III, USA).

PARTE B - Estudo das características fenotípicas e genotípicas da agenesia dentária familiar

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 (Anexo II).

4.3 SUJEITOS

Participam deste estudo pacientes com diagnóstico clínico e radiográfico de agenesia dentária que buscaram atendimento na Clínica de Anomalias Dentárias da Divisão de Odontologia do HUB no período a partir de março de 2002 e seus familiares (pais, irmãos, filhos, tios, primos e/ou avós) que voluntariamente consentiram em participar.

Todos os pacientes, após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo III), foram submetidos a exame clínico e exames complementares, com a finalidade de diagnosticar a presença de agenesia dentária, de definir o modo de herança da agenesia dentária e de diagnosticar a presença de outras anomalias dentárias, conforme descritas no item 4.4.1.4. Estes pacientes receberam tratamento odontológico de acordo com suas necessidades individuais e com os procedimentos oferecidos pelo serviço.

4.4 MÉTODOS

4.4.1 Análise fenotípica

4.4.1.1 Exame clínico

O exame clínico consistiu de anamnese e exame físico extrabucal e intrabucal.

Na anamnese, foi investigada a história médica e odontológica pregressa e atual do paciente e de seus familiares, incluindo a investigação sobre a existência de alguma alteração sistêmica e/ou presença de alguma síndrome. Os pacientes foram questionados sobre a existência de alterações na pele, cabelos e/ou unhas; de outros familiares com agenesia ou outra anomalia dentária; e de casos de casamentos consanguíneos na família.

Ao exame físico extrabucal foram avaliadas, por inspeção visual e palpação, a simetria e o perfil facial, a pele, os cabelos, as unhas, os linfonodos da região de cabeça/pescoço e a articulação têmporo-mandibular.

O exame físico intrabucal consistiu em minucioso exame dos tecidos moles bucais a fim de se detectar possíveis alterações nos lábios, na mucosa bucal, na região retromolar, na língua e no palato. O exame dentário foi realizado com a finalidade de se diagnosticar a presença das anomalias dentárias descritas no tópico 4.4.1.4.

4.4.1.2 Exames complementares

Os exames complementares consistiram de exame radiográfico e fotografias extrabucais e intrabucais. O exame radiográfico consistiu de radiografia panorâmica realizada em aparelho *Rotograph Plus® – Villa Medical System* - Itália, para verificar a presença de germes dentários, de dentes não erupcionados, de dentes supranumerários, de retenção de dentes decíduos e de taurodontia de primeiros molares inferiores permanentes. As fotografias foram realizadas com o objetivo de documentação utilizando câmera digital Cânon EOS REBEL 300D. Foram feitas duas tomadas fotográficas extrabucais de rosto, nas posições frente e perfil, e cinco tomadas intrabucais com auxílio de afastadores e espelho, nas posições frontal, laterais direita e esquerda, e oclusais da maxila e da mandíbula.

4.4.1.3 História familiar

Foram construídos os heredogramas de cada família com base na história familiar e nos dados obtidos no exame clínico e exames complementares utilizando o programa *Cyrillic* versão 2.1 para *Windows*, com a finalidade de se determinar o modo de herança da agenesia dentária.

4.4.1.4 Critérios de diagnóstico das anomalias dentárias.

Em todas as pessoas examinadas neste estudo, foi investigada a presença das seguintes anomalias dentárias:

1. Agenesia dentária: Um dente foi considerado congenitamente ausente quando não estava presente na cavidade bucal nem na radiografia panorâmica, sem o relato de extração ou perda do dente em decorrência de trauma. Foi considerado o diagnóstico de oligodontia para agenesia de mais de seis dentes permanentes, excluindo os terceiros molares. Quando um a seis dentes estavam ausentes, exceto os terceiros molares, o diagnóstico foi de hipodontia. A agenesia dos terceiros molares também foi investigada.

2. Dentes conóides: Um dente foi considerado conóide quando a dimensão méso-distal incisal/oclusal da coroa foi menor do que a cervical. A presença de dentes conóides foi considerada como expressividade variável da agenesia dentária.

3. Dentes supranumerários: Foram considerados dentes supranumerários aqueles que excederam o número normal de dentes, independente de sua localização ou forma.

4. Erupção ectópica de caninos e incisivos laterais superiores: Um dente foi considerado ectópico quando erupcionou fora do seu eixo normal de erupção.

5. Rotação de pré-molares: A rotação de pré-molares foi definida subjetivamente como um giro da coroa em torno de seu próprio eixo, tanto no sentido méso-lingual quanto no disto-lingual. Foi diagnosticada somente para os pré-molares totalmente erupcionados.

6. Taurodontia: A presença de taurodontia foi determinada para primeiros molares inferiores permanentes de acordo com os critérios descritos por Seow e Lai (1989). Foram excluídos da análise os primeiros molares que apresentavam destruição coronária, restaurações muito extensas ou rizogênese incompleta. Para estabelecer a relação coroa-corpo/raiz, as radiografias panorâmicas de cada indivíduo foram digitalizadas com uma resolução de 300 dpi utilizando o escaner *Epson expression 1680® Transparency Unit UE 35 – Japan*. As medições dos primeiros molares inferiores permanentes foram feitas utilizando o programa *Image Pro-Express* versão 6.0 para *Windows*. Todas as medições foram repetidas com um intervalo de uma semana. O diagnóstico final e a classificação quanto ao tipo de taurodontia foram dados com base na média entre estas duas medições. Foi considerada a presença de taurodontia quando a relação entre coroa-corpo/raiz foi igual ou maior que 1,10. Os primeiros molares inferiores permanentes foram classificados com base na relação coroa-corpo/raiz. Os primeiros molares inferiores permanentes foram classificados com hipotaurodontia quando esta relação foi de 1,10 até 1,29. Quando a relação foi de 1,30 a 2,00 eles foram considerados com mesotaurodontia e para a relação maior que 2,00, com hipertaurodontia.

4.4.2 Estudo da associação da agenesia dentária com a taurodontia.

Para verificar a associação da agenesia dentária com a taurodontia, foi feito um estudo de caso-controle. Foi comparada a frequência da taurodontia nas radiografias

panorâmicas dos pacientes com agenesia dentária e familiares examinados com um grupo controle de acordo com os critérios descritos no projeto aprovado pelo CEP/FS sob o número de registro 018/2008 (Anexo IV).

4.4.2.1 Grupo de estudo

Foram analisadas as radiografias panorâmicas de 60 pessoas das famílias estudadas. Foram incluídas radiografias de pessoas de ambos os sexos, com idade a partir dos 11 anos, que apresentaram primeiros molares inferiores permanentes com rizogênese completa e sem restaurações extensas ou destruições coronárias. Estas pessoas foram classificadas segundo o diagnóstico da agenesia dentária em: afetados com oligodontia, hipodontia, agenesia exclusiva de terceiros molares e dentição permanente completa.

4.4.2.2 Grupo controle

Para compor o grupo controle, foram selecionadas radiografias panorâmicas de 180 pessoas com dentição permanente completa de ambos os sexos, com idade a partir de 11 anos, sendo três controles pareados por gênero e idade para cada pessoa das famílias estudadas. Estas radiografias são provenientes do banco de dados da clínica radiológica Radioclinic localizada na cidade de Taguatinga (DF).

4.4.2.3 Análise estatística

A concordância no diagnóstico da taurodontia foi verificada por meio do valor de Kappa. Todas as medições foram feitas por um examinador e foram repetidas para vinte por cento dos molares medidos com um intervalo de uma semana. A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa SPSS (*Statistical Package for the*

Social Sciences) para *Windows* com um intervalo de confiança (IC) de 95% e um nível de significância de 0,05. A diferença na frequência da taurodontia entre os grupos estudados foi comparada utilizando o Teste Exato de Fisher. A diferença na frequência da taurodontia entre os gêneros foi testada por meio do Teste de Qui-quadrado. A diferença na relação coroa-corpo/raiz entre os grupos foi testada com o *One Way ANOVA Test (Post Hoc Tukey Test)*. O Risco Relativo (RR) foi usado para mensurar a agregação familiar da Taurodontia. O RR foi estimado com um IC de 95% para pessoas com agenesia dentária e familiares com dentição completa também serem afetados por taurodontia quando comparado com a população em geral usando uma prevalência de 1,6% (Küchler *et al.*, 2008b).

4.4.3 Análise genotípica

4.4.3.1 Pesquisa das variações de sequência nos genes candidatos

Para investigar as variações de sequência nos genes candidatos, 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®).

4.4.3.2 Extração de DNA genômico

O DNA foi extraído usando o *Wizard Genomic DNA purification Kit* (Promega, Madison, WI) e armazenado a -20°C.

4.4.3.3 Amplificação por reação de polimerização em cadeia (PCR)

O DNA genômico foi utilizado como substrato para amplificação dos genes *PAX9*, *MSX1*, *WNT10A* e *RUNX2*, utilizando-se pares de oligonucleotídeos iniciadores previamente descritos para cada gene: *PAX9* (Lammi *et al.*, 2003), *MSX1* (Quin *et al.*, 2013), *WNT10A* (Cluseau *et al.*, 2011) e *RUNX2* (Quack *et al.*, 1999).

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.

4.4.3.4 Purificação e sequenciamento

Os produtos da amplificação foram enviados para empresa terceirizada para purificação e sequenciamento.

4.4.3.5 Análise das sequências

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.

As variações de sequência com substituição de aminoácidos foram submetidas à análise pelos programas *Polymorphism Phenotyping v2* - PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/index.shtml>) e *Sorting Intolerant From Tolerant* – SIFT (<http://sift.jcvi.org>) para predição do efeito da substituição de aminoácidos sobre a proteína (Mu *et al.*, 2013), e pelo *Mutation Taster* (<http://www.mutationtaster.org/>) para predição como mutação causadora de doença

(Kantaputra *et al.*, 2015).

5 RESULTADOS

Parte dos resultados apresentados a seguir foram publicados em revistas internacionais indexadas: (1) “Dental anomalies in primary dentition and their corresponding permanent teeth” (Gomes *et al.*, 2014 – Apêndice I) e (2) “Taurodontism in Brazilian patients with tooth agenesis and first and second-degree relatives: A case–control study” (Gomes *et al.*, 2012 – Apêndice II).

5.1 Análise epidemiológica da prevalência da agenesia dentária na dentição decídua e sua relação com a dentição permanente (Gomes *et al.*, 2014 – Apêndice I)

A prevalência da agenesia dentária na dentição decídua foi de 0,29%. Cinco das 1718 crianças examinadas apresentaram um ou mais dentes decíduos afetados, sem diferença estatisticamente significativa entre os sexos. Nenhum dente decíduo posterior foi afetado, sendo que todos os casos foram de agenesia de incisivo lateral decíduo. Oitenta por cento das crianças com agenesia dentária na dentição decídua também apresentaram a mesma condição nos dentes sucessores permanentes. Essa frequência foi de 100% quando considerados os casos de agenesia bilateral, que foram os mais encontrados na amostra estudada. Todas as crianças com agenesia de incisivos laterais superiores decíduos apresentaram agenesia dos sucessores permanentes. Apenas uma criança apresentou agenesia unilateral de incisivo inferior decíduo e seu exame radiográfico revelou desenvolvimento normal da dentição permanente. Em comparação com o grupo controle, a presença da agenesia dentária na dentição permanente foi 74,7 vezes maior no grupo de crianças com agenesia dentária na dentição decídua.

Adicionalmente, duas crianças apresentaram agenesia dentária de incisivo lateral inferior decíduo associada à fusão do incisivo contralateral com o canino adjacente (dente duplo). Essas duas crianças com agenesia e dente duplo contralateral também apresentaram agenesia dos incisivos laterais permanentes sucessores e, neste caso, a recorrência da agenesia dentária na dentição permanente também foi de 100%, com uma razão de prevalências de 93,4 quando comparada com o grupo controle.

Portanto, há evidências de que a recorrência da agenesia dentária na dentição permanente está associada com a sua manifestação clínica na dentição decídua e esta condição foi observada principalmente nos casos bilaterais.

5.2 Análise das características fenotípicas e genotípicas da agenesia dentária familiar

5.2.1 Análise Clínica

Foram estudadas dezesseis famílias brasileiras não relacionadas, num total de 124 indivíduos examinados, com idades compreendidas entre 3 e 60 anos, de ambos os sexos, afetados e não-afetados por agenesia dentária. A média de idade dos casos-índice quando procuraram atendimento foi de 16 anos, variando de 6 a 32 anos de idade. A queixa comum dos casos-índice foi a ausência de dentes permanentes, retenção de dentes decíduos e a aparência dos dentes.

O diagnóstico de displasia ectodérmica foi descartado em todas as famílias uma vez que não foram identificadas alterações de pele, cabelos ou unhas ao exame clínico. Não foram encontradas fissuras orofaciais completas ou incompletas em nenhuma das famílias.

5.2.1.1 Famílias com Hipodontia

Nove famílias brasileiras não relacionadas foram incluídas neste estudo, num total de 60 indivíduos com idades compreendidas entre 3 e 60 anos, de ambos os sexos, afetados e não afetados por hipodontia. Foi verificado um modo de herança autossômico dominante com penetrância incompleta e expressividade variável em sete famílias e em duas não foi possível apontar o modo de herança. A figura 1 mostra os heredogramas de oito das famílias estudadas.

Pelo menos mais um indivíduo em cada família, além do caso-índice, apresentou hipodontia e/ou dente conóide. Dos 60 indivíduos examinados, dezenove eram afetados por hipodontia, sendo nove casos-índice e dez familiares. Foi observada variabilidade em relação ao número, à localização e à simetria dos dentes afetados por agenesia dentária entre as famílias.

Nos casos-índice, o número de dentes ausentes por indivíduo variou de 1 a 9 quando os terceiros molares foram considerados na contagem e de 1 a 5 quando estes dentes foram desconsiderados. Foi mais frequente a agenesia de um (3 indivíduos) e de cinco (3 indivíduos) dentes. Os dentes mais frequentemente ausentes foram os segundos pré-molares inferiores e os incisivos laterais superiores.

A figura 2 mostra a variabilidade em relação ao número, à localização e à simetria dos dentes afetados por agenesia e também as outras anomalias dentárias observadas nas famílias com hipodontia.

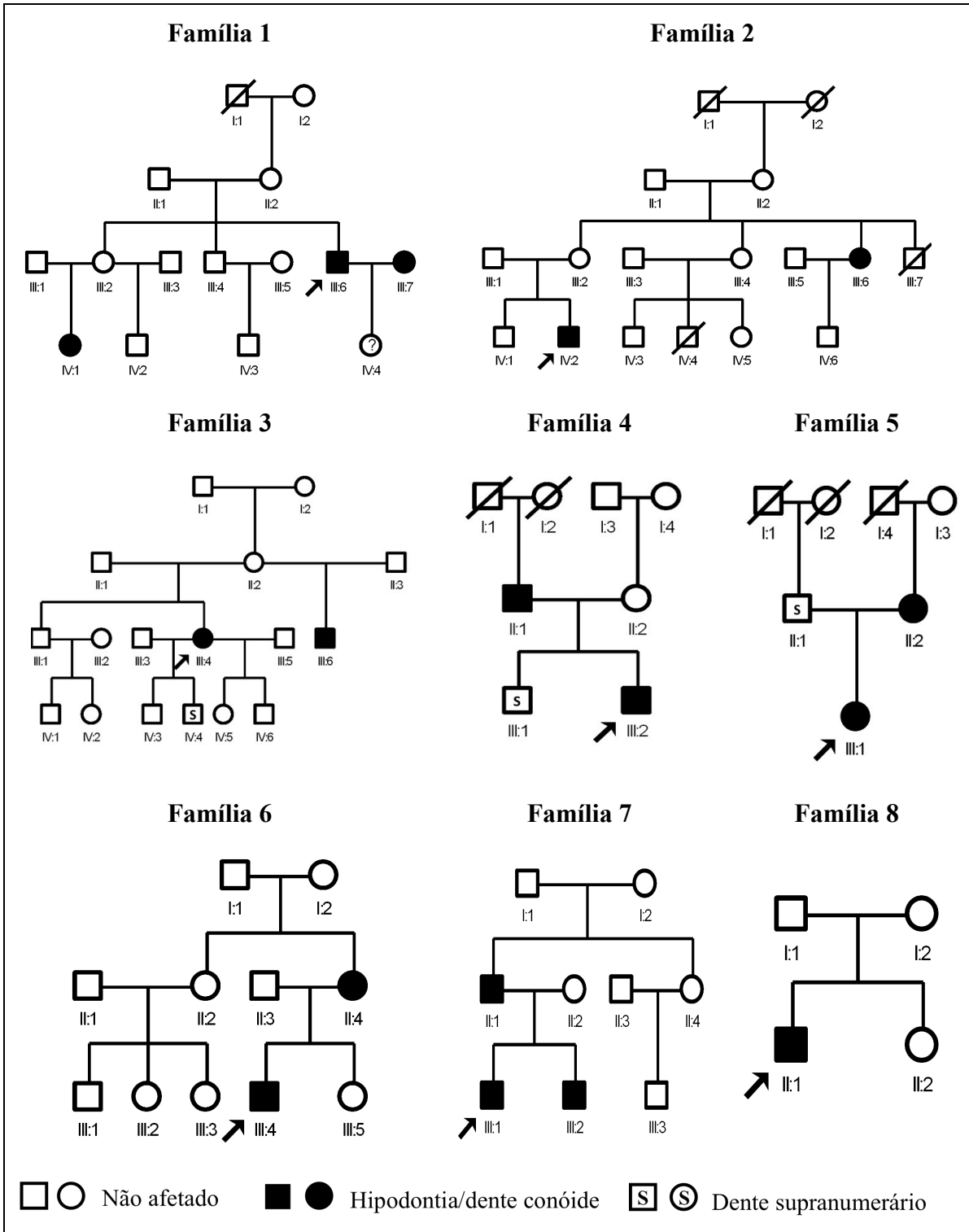
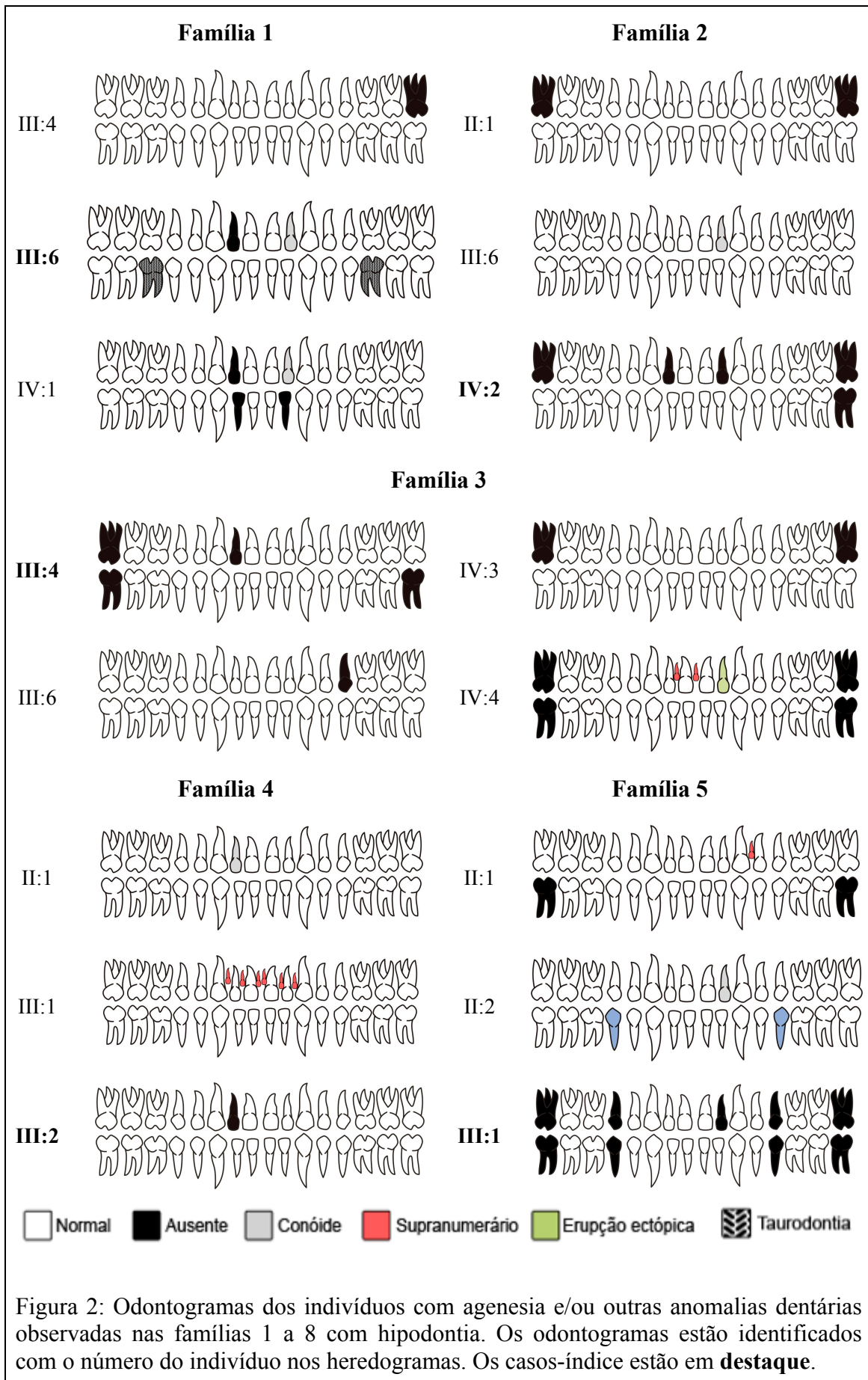
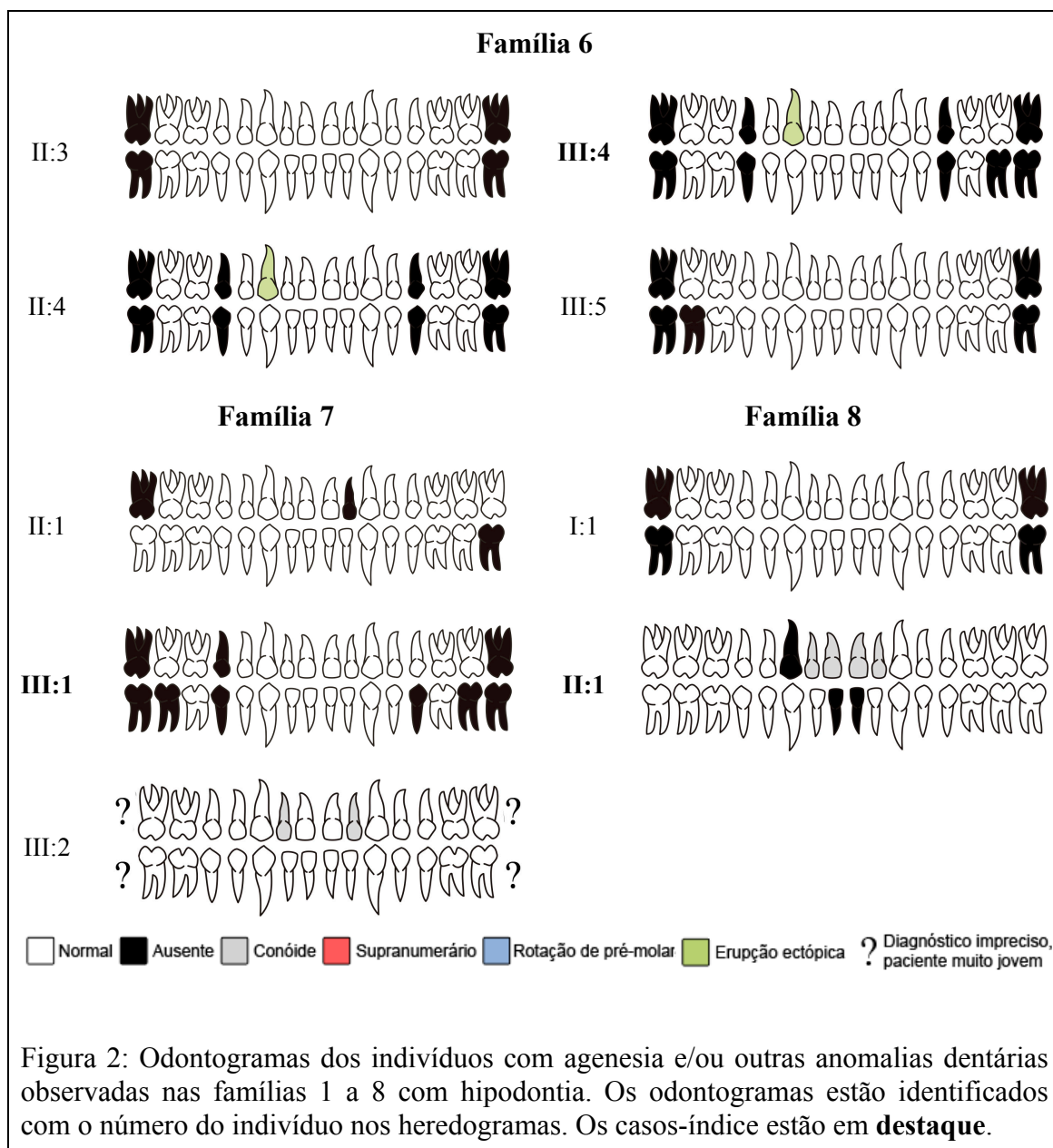


Figura 1: Heredogramas das famílias 1 a 8 com hipodontia. As setas indicam os casos-índice.





A família 9 (Figura 3) apresentou anquiloglossia e hipertrofia do freio lingual inferior segregando de modo autossômico dominante juntamente com a agenesia dos incisivos inferiores. Também foi verificada a presença de dentes supranumerários nesta família (Acevedo *et al.*, 2010).

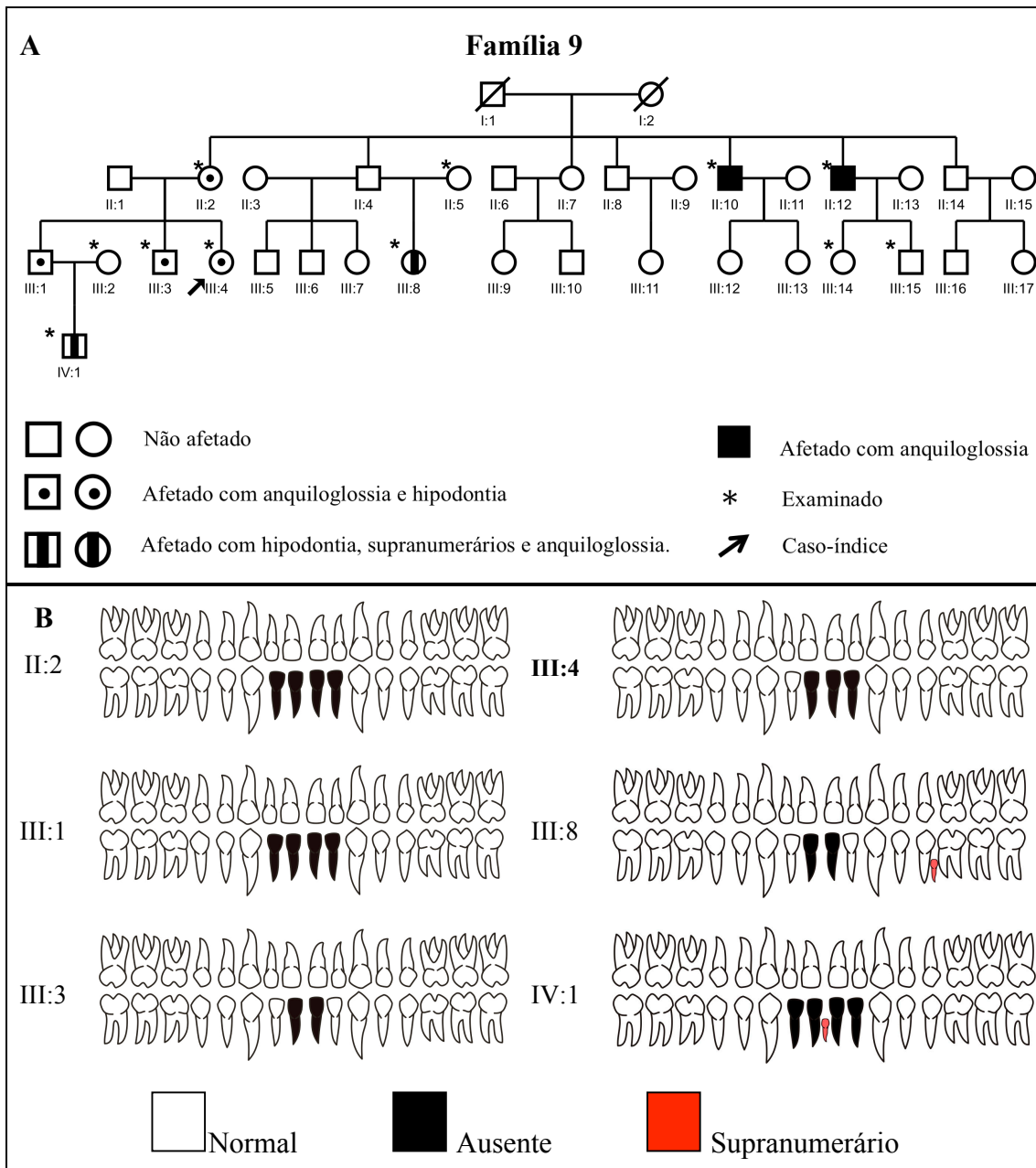


Figura 3: Heredograma e odontogramas da família 9 apresentando hipodontia, dentes supranumerários e anquiloglossia. A) Heredograma. B) Odontogramas mostrando as anomalias dentárias observadas nos indivíduos examinados. Os odontogramas estão identificados com o número do indivíduo no heredograma. O caso-índice está em destaque.

5.2.1.2 Famílias com Oligodontia

Foram estudadas sete famílias brasileiras não relacionadas num total de 64 indivíduos examinados, com idades compreendidas entre 3 e 60 anos, de ambos os sexos, afetados e não-afetados por agenesia dentária.

Os heredogramas de seis famílias indicaram um modo de herança autossômico dominante com expressividade variável e penetrância incompleta da agenesia dentária. Uma família apresentou caso esporádico de oligodontia e não foi possível sugerir o modo de herança (Figura 4).

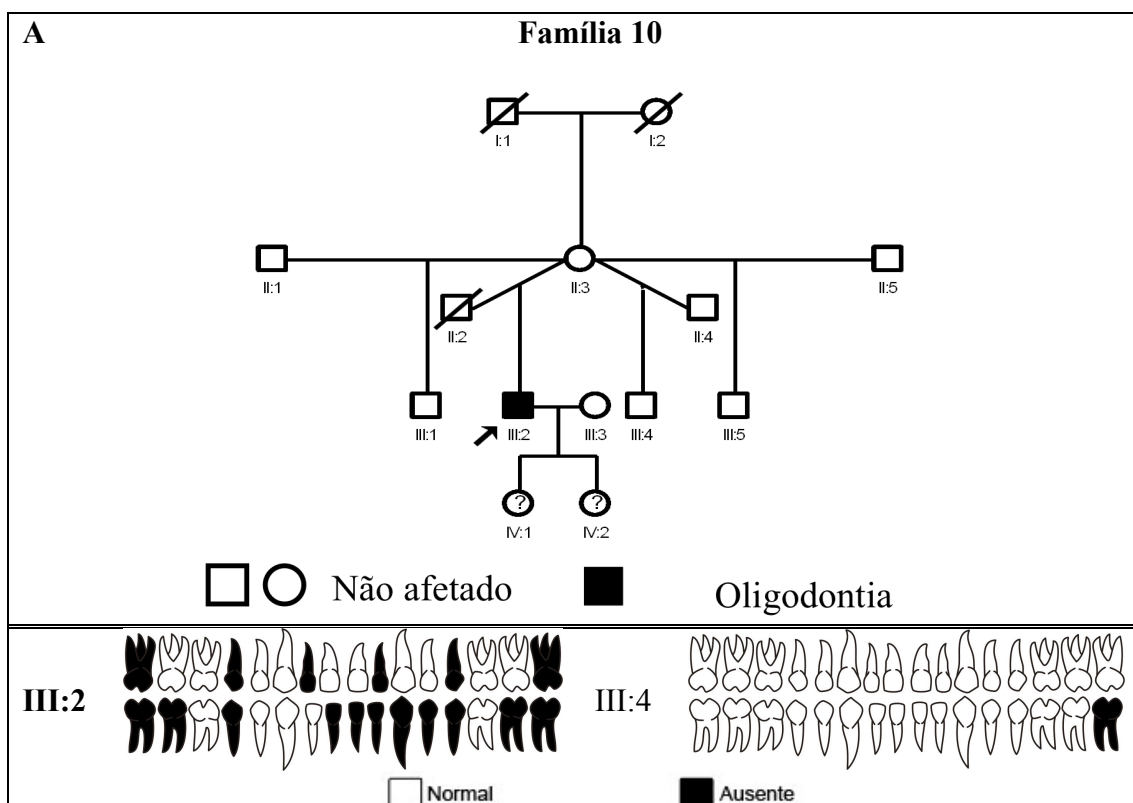


Figura 4: Família 10 com caso esporádico de oligodontia A) Heredograma. Os sinais de “?” indicam crianças em que o diagnóstico da agenesia dentária é impreciso, pois tinham três e um ano de idade, respectivamente. B) Odontogramas das pessoas com agenesia dentária na família 10.

Foi relatada anomalia cardíaca congênita, com defeito na septação átrio-ventricular, do caso-índice com oligodontia em duas famílias nas quais ambos os pais dos casos-índices apresentaram agenesia dentária (Figura 5).

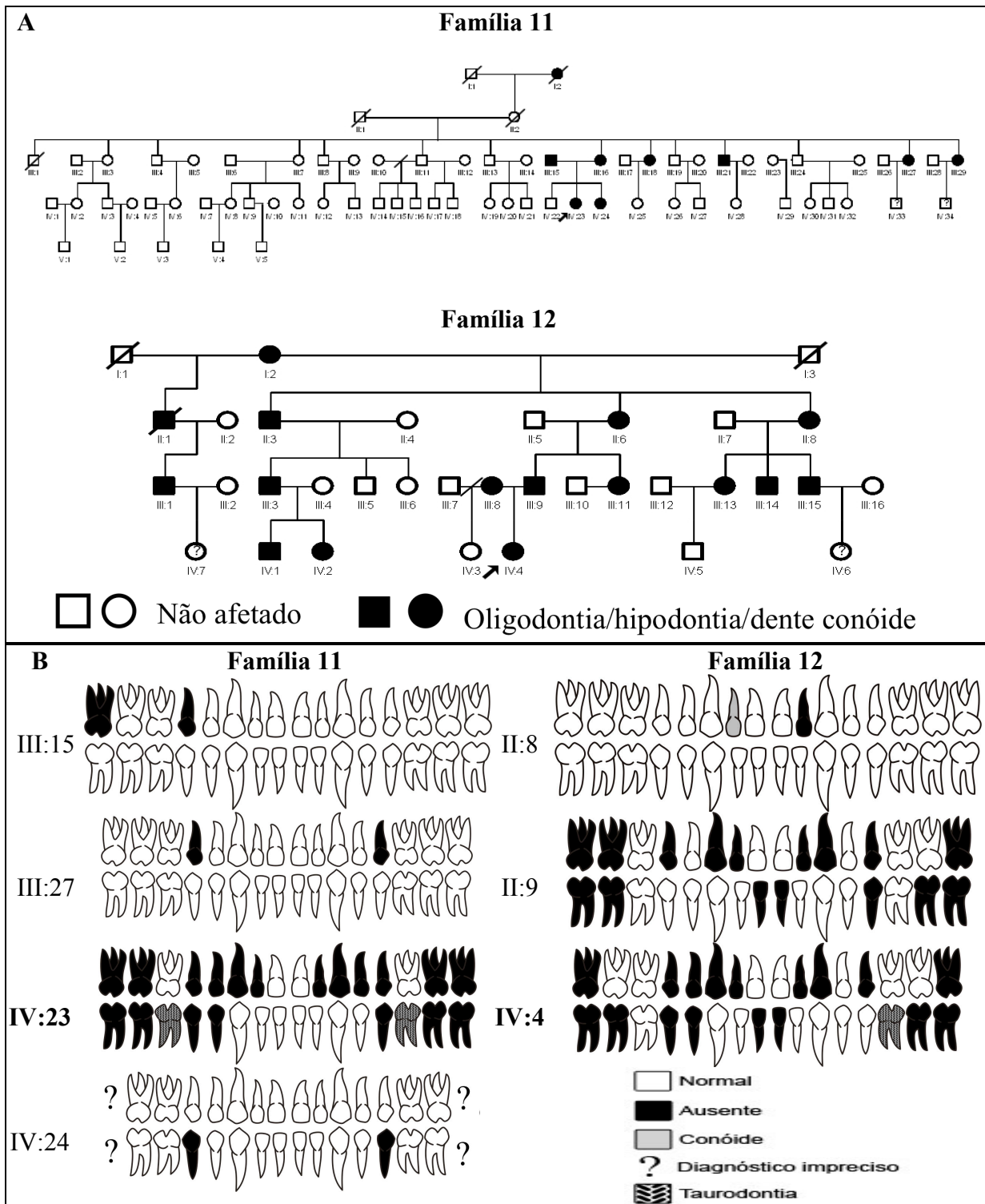


Figura 5: Famílias 11 e 12 com oligodontia e anomalia cardíaca congênita do caso-índice. A) Heredogramas. Os sinais de “?” indicam o diagnóstico impreciso da agenesia dentária na dentição permanente, pois são crianças até 6 anos de idade. B) Anomalias dentárias observadas nos indivíduos examinados. Os odontogramas estão identificados com o número do indivíduo nos heredogramas. Os casos-índice estão em **destaque**.

Na família 13, o avô (I:1) e a mãe (II:3) do caso-índice faleceram em decorrência de câncer colorretal (Figura 6).

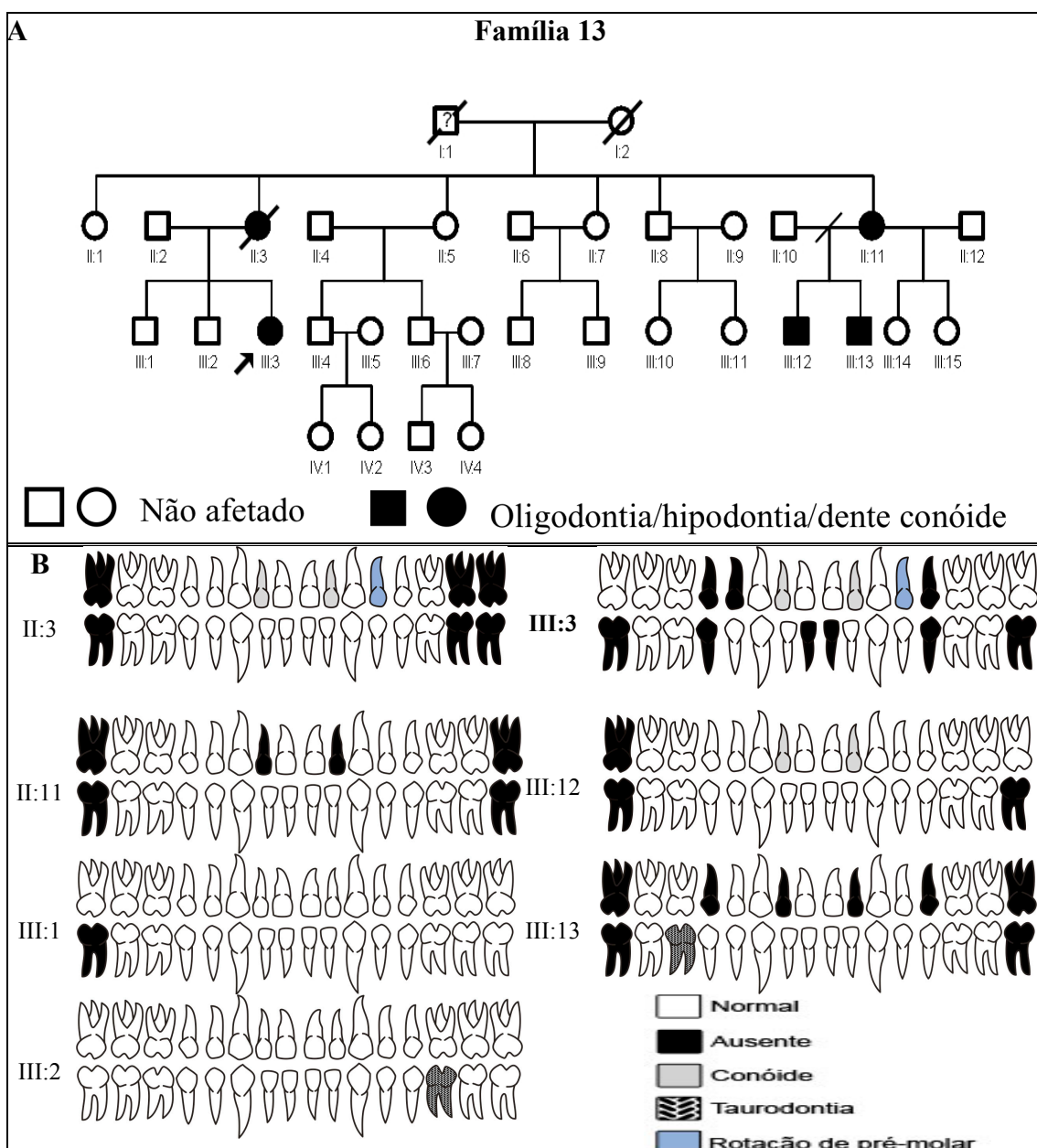


Figura 6: Família 13 com oligodontia e história de câncer colorretal. A) Heredograma. B) Anomalias dentárias observadas nos indivíduos examinados. Os odontogramas estão identificados com o número do indivíduo no heredograma. O caso-índice está em **destaque**.

Não foram relatadas alterações sistêmicas nas pessoas com agenesia dentária nas outras famílias. Não foram identificadas alterações da mucosa bucal, freios ou língua em nenhum dos examinados.

As figuras 7 e 8 mostram a variabilidade quanto a número, localização e simetria dos dentes afetados pela agenesia e outras anomalias dentárias nas famílias 14 e 15 com dentes supranumerários.

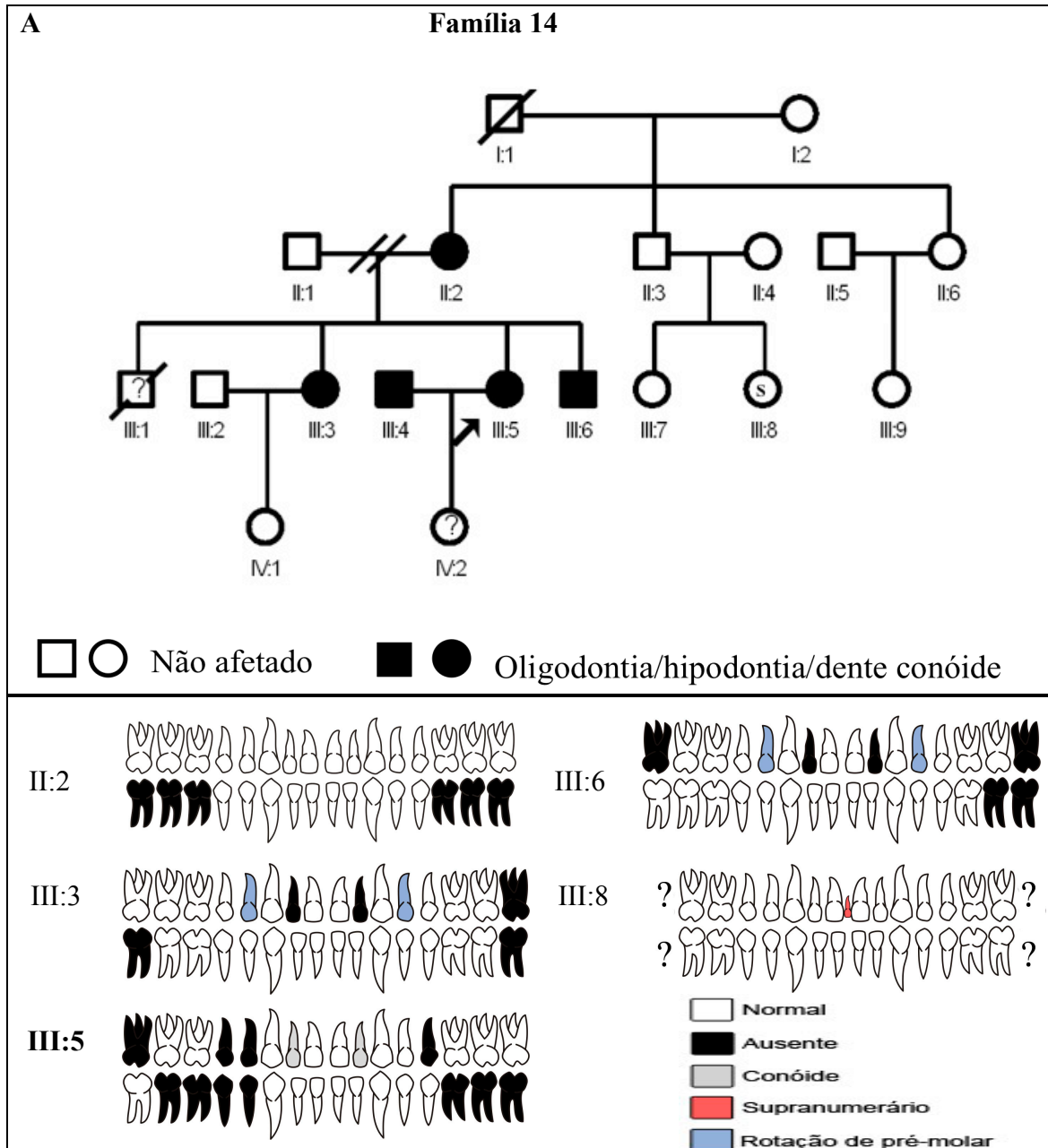


Figura 7: A) Heredograma. O sinal de “?” indica diagnóstico impreciso da agenesia dentária na dentição permanente, pois são crianças até 6 anos de idade. B) Anomalias dentárias observadas nos indivíduos examinados. O caso-índice está em **destaque**.

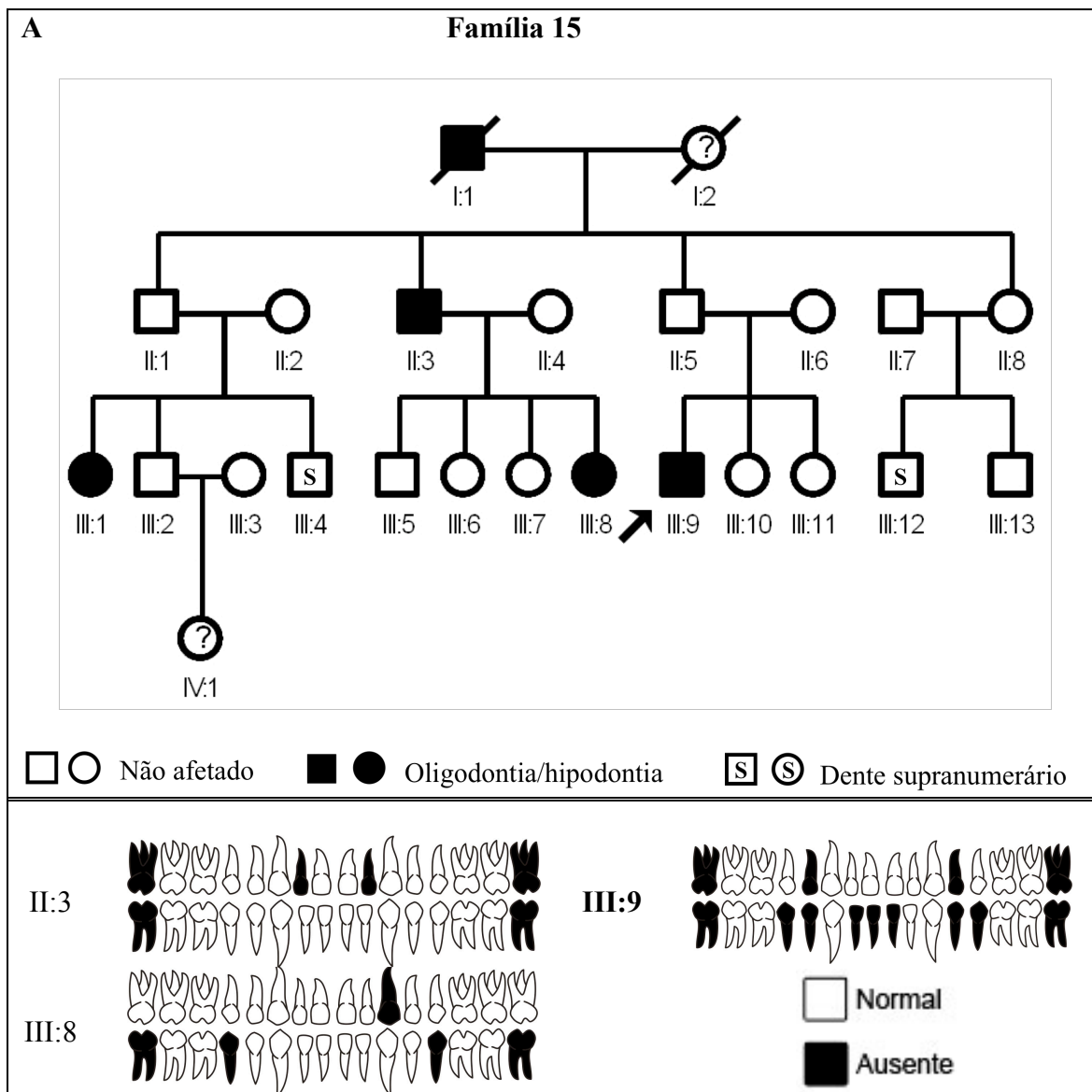


Figura 8: A) Heredograma. B) Anomalias dentárias observadas nos indivíduos examinados. Os odontogramas estão identificados com o número do indivíduo nos heredogramas. O caso-índice está em **destaque**.

A família 16 (Figura 9), em que o caso-índice foi diagnosticado com oligodontia, apresentou taurodontia segregando junto com a agenesia dentária em um modo de herança autossômico dominante (Gomes *et al.*, 2012 – Apêndice II).

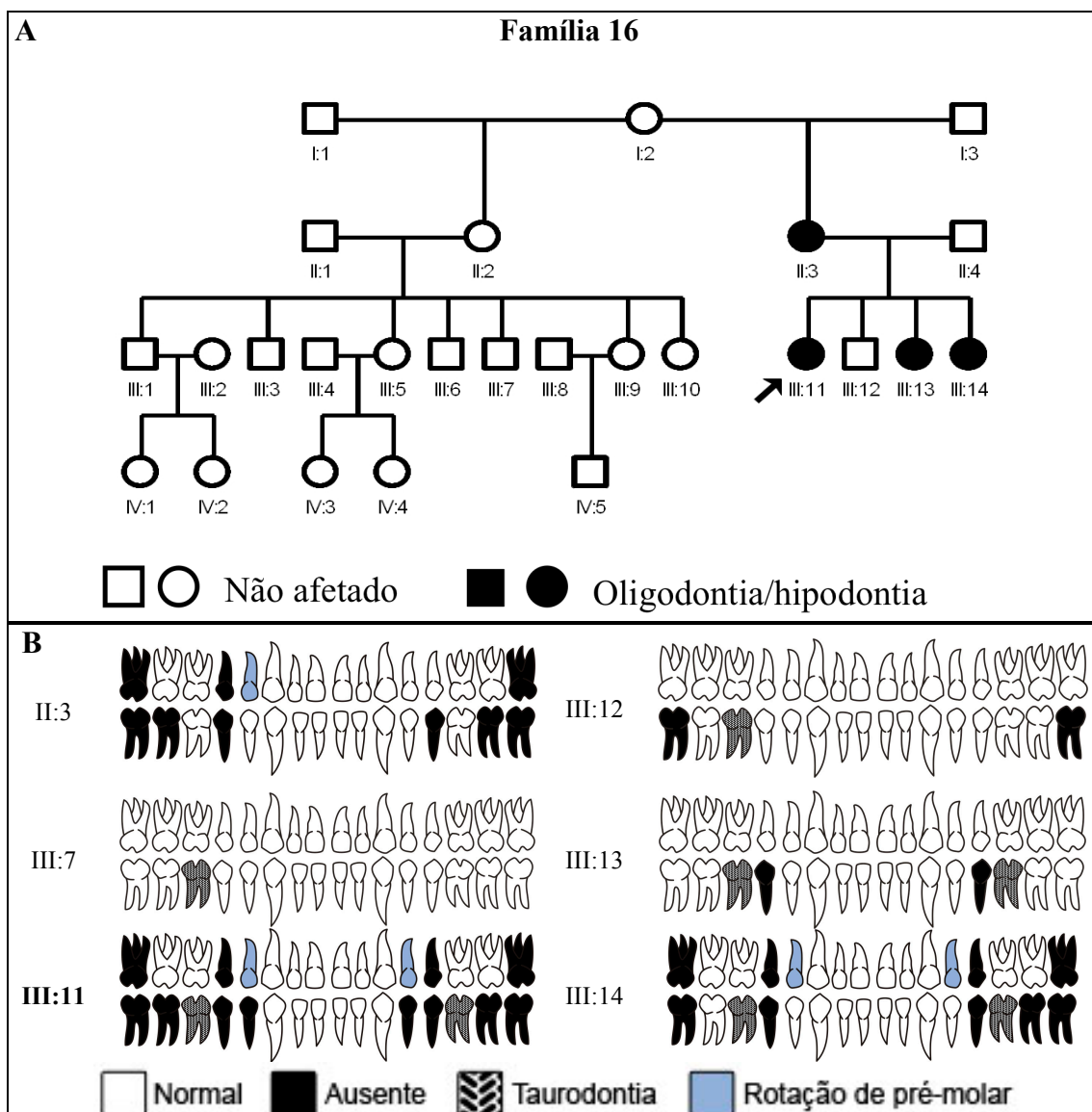


Figura 9: A) Heredograma da família 16 apresentando agenesia dentária e taurodontia segregando de modo autossômico dominante. B) Anomalias dentárias observadas nos indivíduos examinados. Os odontogramas estão identificados com o número do indivíduo no heredograma. O caso-índice está em **destaque**.

5.3 Associação da Agenesia dentária com a Taurodontia

Os resultados da associação da agenesia dentária com a taurodontia foram publicados no artigo “Taurodontism in Brazilian patients with tooth agenesis and first and second-degree relatives: A case-control study” (Gomes *et al.*, 2012 – Apêndice II).

As radiografias panorâmicas de 60 pessoas de famílias com agenesia dentária familiar não-sindrômica (Hipodontia/Oligodontia) foram estudadas. A tabela 1 mostra a

distribuição das pessoas deste estudo. O valor de Kappa para a concordância intra-examinador para o diagnóstico da taurodontia foi de 1 para os primeiros molares inferiores permanentes do lado direito e 0,86 para o lado esquerdo. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os sexos.

Tabela 1: Distribuição por sexo das pessoas com agenesia dentária, seus familiares com dentição permanente completa e grupo controle

	Distribuição		
	Homens	Mulheres	Total
Pessoas com agenesia dentária (n = 31)	17 (54,8%)	14 (45,2%)	31
Familiares (n = 29)	15 (51,7%)	14 (48,3%)	29
Grupo controle (n = 180)	96 (53,3%)	84 (46,7%)	180

Foi verificada diferença estatisticamente significativa ($p = 0,002$) entre os grupos estudados (Tabela 2). A frequência da taurodontia foi maior nas pessoas com agenesia dentária familiar não-sindrômica. O risco para uma pessoa com agenesia também ter taurodontia foi 18,12 vezes maior do que para uma pessoa da população em geral (95% IC 5,43 – 60,45). Além disso, a frequência da taurodontia também foi maior nos familiares com dentição completa do que no grupo controle. O risco para um familiar, mesmo com dentição completa, ter taurodontia foi 6,43 vezes maior que na população em geral (95% IC 1,92 – 21,43).

Tabela 2: Frequência da taurodontia por sexo das pessoas com agenesia dentária, seus familiares com dentição permanente completa e grupo controle

	Taurodontia		
	Homens n (%)	Mulheres n (%)	Total n (%)
Indivíduos com agenesia dentária (n = 31)	4 (12,9)	5 (16,1)	9 (29,0)
Familiares (n = 29)	3 (10,3)	0 (0,0)	3 (10,3)
Grupo controle (n = 180)	6 (3,3)	6 (3,3)	12 (6,6)

A taurodontia foi proporcionalmente mais frequente em pessoas com um maior número de dentes ausentes (Tabela 3). A taurodontia foi mais frequente em famílias de pessoas com diagnóstico de oligodontia. Nessas famílias, as pessoas com

taurodontia exibiram agenesia de segundos-prémolares, segundos e terceiros molares.

Tabela 3: Frequência da taurodontia segundo a classificação da agenesia dentária

Classificação da agenesia dentária	Taurodontia		Total
	Presente n (%)	Ausente n (%)	
Agenesia exclusiva de terceiros molares	1 (11,1)	8 (88,9)	9
Hipodontia	4 (26,7)	11 (73,3)	15
Oligodontia	4 (57,2)	3 (42,8)	7
Total	9 (29,0)	22 (71,0)	31

Foi verificada diferença estatística ($p = 0,019$) na proporção coroa-corpo/raiz entre os grupos estudados. Pessoas com agenesia dentária apresentaram uma proporção maior que seus familiares com dentição completa e também maior do que no grupo controle.

5.4 Análise das sequências dos genes candidatos

5.4.1 *PAX9*

Foi feita a análise de sequência dos quatro exons do gene *PAX9* dos casos-índice das 16 famílias com agenesia dentária familiar não-sindrômica. Duas variantes previamente relatadas foram encontradas no exon 3 em 11 dos 16 casos-índice analisados (Tabela 5). Então, foi feita a análise de sequência do exon 3 em onze familiares com dentição permanente completa, um de cada família em que o caso-índice apresentou variante no exon 3. As variantes encontradas foram a transversão c.C717T (p.His239His; rs12881240) em heterozigose em quatro casos-índice e a transversão c.G718C (p.Ala240Pro; rs4904210) em sete, sendo em homozigose no caso-índice da família 8 (Figura 11C). Ela resulta em uma substituição de alanina por prolina na posição 240 da proteína. A análise da substituição p.Ala240Pro pelos programas *Mutation Taster*, *SIFH* e *PolyPhen2* foi predita como um polimorfismo que não afeta a função da proteína (Figura 10).

SIFT: PREDICTIONS

User Input	ENSP	Pos	Ref	Subst	Prediction	SIFT Score
ENSP00000355245,A240P	ENSP00000355245	240	A	P	TOLERATED	0.09

This mutation is predicted to be **BENIGN** with a score of **0.000** (sensitivity: 1.00; specificity: 0.00)

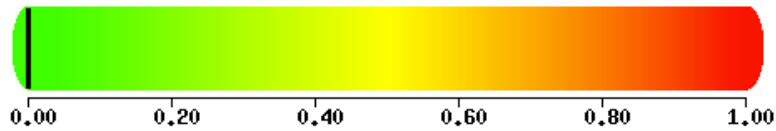


Figura 10: Resultado da análise da substituição p.Ala240Pro pelos programas SIFT e PolyPhen2.

Houve variabilidade tanto no número quanto no tipo de dentes ausentes nos casos-índice que apresentaram variações no *PAX9* (Tabela 5). A figura 11 mostra os cromatogramas das variantes encontradas no *PAX9* e radiografias correspondentes.

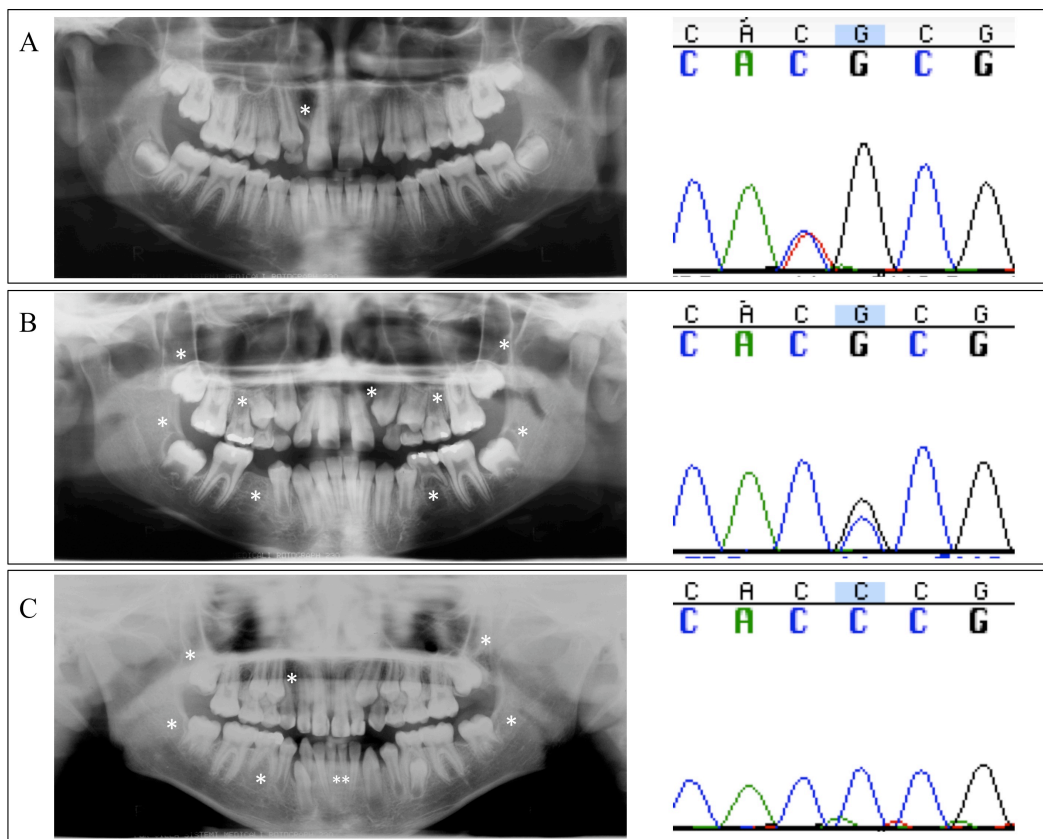
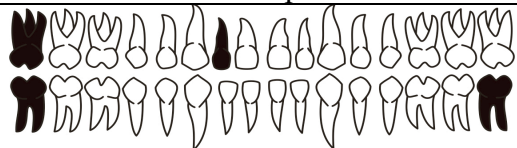












Figura 11: Radiografias de casos-índice com hipodontia e as variantes correspondentes no exon 3 do gene *PAX9*. Os asteriscos sinalizam as regiões dos dentes ausentes. A) Transversão c.C717T. B) Transversão c.G718C em heterozigose. C) Transversão c.G718C em homozigose no caso-índice da família 8.

Tabela 5: Distribuição dos casos-índice segundo as variações de sequência no *PAX9*

Família	Sexo	Idade	Genótipo	Fenótipo
3	F	33	PAX9: c.717C>T p.His239	
4	M	10	PAX9: c.717C>T p.His239	
14	F	20	PAX9: c.717C>T p.His239	
16	F	25	PAX9: c.717C>T p.His239	
9	F	22	PAX9: c.718G>C p.Ala240Pro	
1	M	25	PAX9: c.718G>C p.Ala240Pro	
2	M	10	PAX9: c.718G>C p.Ala240Pro	
8	M	9	PAX9: c.718G>C p.Ala240Pro	
5	F	11	PAX9: c.718G>C p.Ala240Pro	
12	F	11	PAX9: c.718G>C p.Ala240Pro	
11	F	12	PAX9: c.718G>C p.Ala240Pro	

F, feminino; M, masculino; Agenesia dentária é representada pelos dentes preenchidos em preto, microdontia por cinza claro e taurodontia por cinza escuro.

A tabela 5 apresenta a distribuição dos casos-índice de acordo com as variações de sequência no *PAX9*. Os pacientes com hipodontia apresentaram principalmente agenesia de incisivos laterais, enquanto os pacientes com oligodontia apresentaram agenesia de pré-molares e molares. Não foram encontradas outras variantes no *PAX9*.

5.4.2 *MSX1*

Não foram encontradas variações de sequência no exon 2 do gene *MSX1* nos 16 casos-índice analisados.

5.4.3 *RUNX2*

Foi feita a análise de sequência dos sete exons, regiões flanqueadoras exon-intron e região iniciadora do gene *RUNX2* nos 16 casos-índice com hipodontia/oligodontia e nos familiares com dentes supranumerários. Não foram encontradas variações de sequência neste gene em nenhum dos indivíduos estudados.

5.4.4 *WNT10A*

Todos os 16 casos-índice foram analisados para as regiões codificantes do gene *WNT10A*. Foram encontradas duas variantes em heterozigose, previamente relatadas, no exon três em dois deles. A tabela 5 apresenta a distribuição dos casos-índice de acordo com as variações de sequência no *WNT10A*. O caso-índice da família 13 (Figura 6, III:3), com diagnóstico de oligodontia apresentando agenesia de nove dentes (3^{os} molares, 2^{os} pré-molares e incisivos centrais inferiores) e incisivos laterais superiores microdentes, apresentou a variante c.667C>T (p.Arg223Cys; rs149245953). Essa variante foi investigada, mas não estava presente em dois familiares com dentição completa (Figura 6, III:2 e III:10). Para a substituição p.Arg223Cys, a análise pelo SIFT resultou em um escore 0.03 e pelo PolyPhen2

resultou em escore 0.997 indicando uma alteração provavelmente nociva à estrutura e função da proteína (Figura 12). Ela foi predita como uma mutação causadora de doença na análise pelo *Mutation Taster*.

SIFT: PREDICTIONS

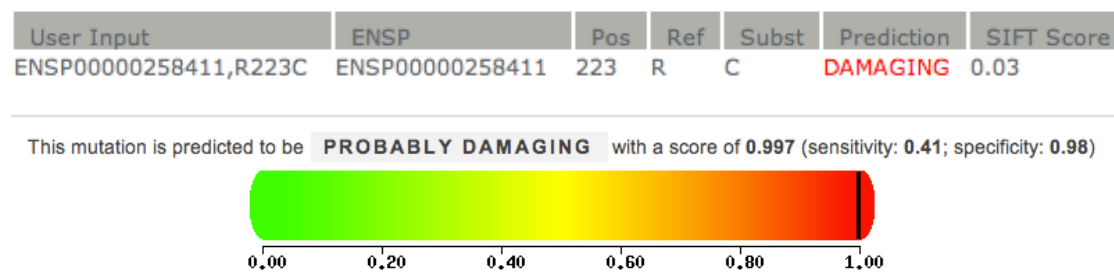


Figura 12: Resultado da análise da substituição p.Arg223Cys pelos programas SIFT e PolyPhen2.

O caso-índice da família 10 (Figura 4, III:2), com diagnóstico de oligodontia com agenesia de 17 dentes (3^{os} e 2^{os} molares, 2^{os} pré-molares, incisivos laterais, incisivos centrais inferiores e um canino inferior), apresentou a variante c.682T>A (p.Phe228Ile; rs121908120). Para a substituição p.Phe228Ile, a análise pelo SIFT resultou em um escore 0 indicando uma alteração provavelmente nociva à estrutura e função da proteína. Ela foi predita como uma mutação causadora de doença na análise pelo *Mutation Taster*.

Tabela 5: Distribuição dos casos-índice de acordo com as variações de sequência no *WNT10A*

Família	Sexo	Idade	Genótipo	Fenótipo
13	F	22	WNT10A: c.667C>T p.Arg223Cis	
10	M	24	WNT10A: c.682T>A p.Phe228Ile	

F, feminino; M, masculino; Agenesia dentária é representada pelos dentes preenchidos em preto e microdontia por cinza claro.

A figura 13 mostra as radiografias dos casos-índice com os cromatogramas das variações correspondentes no *WNT10A*.

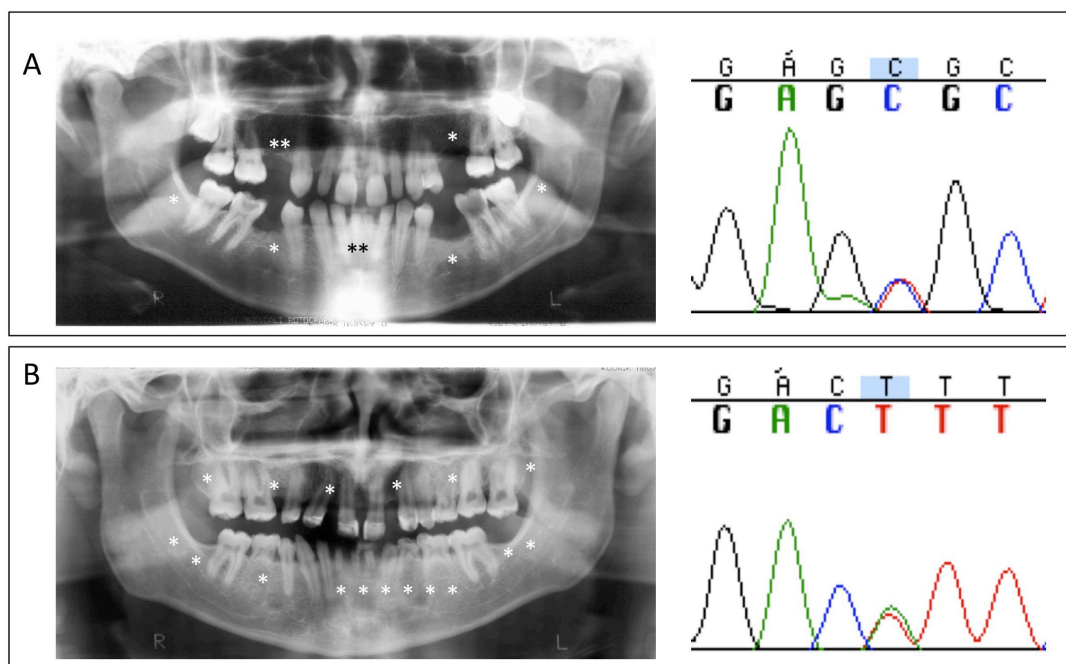


Figura 13: Radiografias de casos-índice com oligodontia e as variações correspondentes no exon 3 do gene *WNT10A*. Os asteriscos sinalizam as regiões dos dentes ausentes. A) Transversão c.667C>T. B) Transversão c.682T>A.

6 DISCUSSÃO

O objetivo geral desse trabalho foi avaliar a agenesia dentária no DF por meio do estudo epidemiológico da sua prevalência na dentição decídua e sua relação com a dentição permanente, e também por meio do estudo familiar para descrever suas características clínicas e analisar as sequências de quatro genes candidatos potencialmente envolvidos na etiologia dessa condição em famílias com agenesia dentária não-sindrômica.

A prevalência de 0,29% da agenesia dentária na dentição decídua em 1718 crianças pré-escolares do DF se mostrou entre os valores previamente relatados em diferentes regiões demográficas (Ravn, 1971; Brook, 1974; Magnusson, 1984; Whittington e

Durward, 1996; Carvalho *et al.*, 1998; Kramer *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2010). Os dentes ausentes foram um ou dois incisivos laterais, sem diferença significativa na distribuição entre os sexos ou entre maxila e mandíbula. As crianças com dentes ausentes bilateralmente também apresentaram agenesia na dentição permanente. A agenesia dentária é considerada como a anomalia do desenvolvimento que quase sistematicamente se repete na dentição permanente quando está presente na dentição decídua (Marinelli *et al.*, 2012). Uma frequência de 80% a 100% de repetição da agenesia dentária foi relatada (Ravn, 1971; Gellin, 1984; Nik-Hussein e Majid, 1996; Whittington e Durward, 1996; Marinelli *et al.*, 2012). Na amostra deste estudo, a frequência foi de 100% de repetição para os casos bilaterais, o que é consistente com relatos prévios (Gellin, 1984; Marinelli *et al.*, 2012). Nossos resultados também reforçam a hipótese de que existe associação entre a manifestação clínica da agenesia dentária na dentição permanente e na decídua (Grahnen e Granat, 1961; Ravn, 1971; Gellin, 1984; Razak e Nikk-Hussein, 1986; Nik-Hussein e Majid, 1996; Whittington e Durward, 1996; Wu *et al.*, 2010; Marinelli *et al.*, 2012).

No presente estudo da agenesia dentária familiar em 124 pessoas de 16 famílias, foi observado que as pessoas com agenesia dentária familiar não-sindrômica apresentam variabilidade quanto à expressão clínica da agenesia dentária, tanto entre as famílias quanto entre os indivíduos de uma mesma família. Além disso, também apresentaram anomalias de forma, tamanho e posição dos dentes. Estudos prévios haviam demonstrado a associação entre agenesia e a presença dessas outras anomalias dentárias (Lai e Seow, 1989; Symons *et al.*, 1993; Shalk-van der Weide *et al.*, 1994; Townsend *et al.*, 1995; Peck *et al.*, 1993; Peck *et al.*, 1996; Bacetti, 1998; Peck *et al.*, 1998; Arte *et al.*, 2001; Shapira e Kuftinec, 2001; Peck *et al.*, 2002). Em nosso estudo da prevalência da agenesia dentaria na dentição permanente no DF, 98% das pessoas

com hipodontia apresentaram também pelo menos mais uma anomalia do desenvolvimento dentário (Gomes *et al.*, 2010).

A presença de anomalias dentárias de forma, tamanho e posição também foi estudada em familiares de indivíduos com hipodontia e/ou oligodontia (Brook, 1984; Shalk-van der Weide e Bosman, 1996; Arte *et al.*, 2001). Neste estudo, familiares também apresentaram outras anomalias do desenvolvimento dentário, principalmente incisivos laterais superiores conóides, dentes supranumerários e taurodontia. A presença de dentes conóides é considerada como variabilidade da expressão clínica da agenesia dentária (Witkop, 1987; Arte *et al.*, 2001; Pinho *et al.*, 2009), portanto é esperado encontrar essa condição em familiares de pessoas com agenesia dentária.

Poucos estudos relatam a ocorrência de agenesia dentária e dentes supranumerários na mesma pessoa (Camilleri, 1967; Davis, 1987; Zhu *et al.*, 1996; Pinho *et al.*, 2009; Zadurska *et al.*, 2011; Surendran *et al.*, 2014), embora haja autores que consideram que a agenesia de incisivos laterais superiores pode estar associada à presença de mesiodens (Lara *et al.*, 2013). Entretanto trata-se de uma condição rara (Pinho *et al.*, 2009). Nesse estudo, relatamos uma família de pessoas com agenesia de incisivos inferiores, dentes supranumerários e anquiloglossia (Acevedo *et al.*, 2010). Além disso, pessoas de outras cinco famílias, não afetadas por agenesia dentária, apresentaram dentes supranumerários. Ao nosso conhecimento, os artigos publicados não descrevem familiares de pessoas com agenesia dentária afetados com dentes supranumerários (Arte *et al.*, 2001; Pardo *et al.*, 2006; Pinho *et al.*, 2009; Zadurska *et al.*, 2011).

Taurodontia em um ou dois primeiros molares inferiores permanentes foi mais frequente em pessoas com agenesia dentária e seus familiares de primeiro e segundo grau com dentição permanente completa do que no grupo controle. Enquanto a

frequência da taurodontia em pessoas com agenesia dentária neste estudo é comparável à relatada no Brasil (Küchler *et al.*, 2008b) e em pacientes com hipodontia (Seow e Lai, 1989) e oligodontia (Shalk-van der Weide *et al.*, 1993) de outras regiões geodemográficas que utilizaram os mesmos critérios de diagnóstico, a frequência da taurodontia em familiares de primeiro e segundo grau com dentição completa foi maior quando comparado com o grupo de controle, com um grupo da população brasileira (Küchler *et al.*, 2008a) e com a prevalência relatada na literatura (Darwazeh *et al.*, 1998; Dong *et al.*, 2005; Bürklein *et al.*, 2011). O risco de uma pessoa com agenesia também ter taurodontia foi cerca de 18 vezes mais elevado do que o da população. Além disso, o risco de um familiar com dentição completa ter taurodontia foi cerca de 6 vezes maior. Portanto, sugere-se que a taurodontia é mais frequente na agenesia dentária familiar não-sindrômica, mesmo em pessoas com dentição completa.

A ocorrência da taurodontia é considerada um indicador de instabilidade do desenvolvimento (Jorgenson, 1982; Shulman *et al.*, 2005) e agenesia dentária tem sido sugerida como uma expressão de uma alteração geral do desenvolvimento dentário (Kan *et al.*, 2010). Alterações na proporção coroa-raiz podem ser alterações morfológicas sutis provavelmente seguidas por outras alterações de maior relevância clínica. Uma vez que a taurodontia é relatada como sendo mais comum em indivíduos com agenesia (Lai e Seow, 1989; Seow e Lai, 1989; Shalk-van der Weide *et al.*, 1993; Darwazeh *et al.*, 1998; Arte *et al.*, 2001; Küchler *et al.*, 2008a; Küchler *et al.*, 2008b; Gome *et al.*, 2010; Kan *et al.*, 2010; Bürklein *et al.*, 2011; Puttalingaiah *et al.*, 2014), compreender a natureza desta associação pode ser de importância na determinação da etiologia de ambas as condições.

Os estudos da associação da agenesia e anomalias dentárias específicas poderiam definir subfenótipos para estudos genéticos do desenvolvimento dentário. Entretanto, apenas estudos mais recentes da etiologia genética da agenesia dentária começaram a descrever anomalias dentárias, como taurodontia e microdontia, presentes em pessoas com agenesia dentária não-sindrômica apresentando mutações gênicas (Vink *et al.*, 2014; Ceyhran *et al.*, 2014; Mostowska *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2015).

A relação da agenesia dentária com sua etiologia genética tem sido demonstrada com o avanço no conhecimento dos genes e processos envolvidos no início da formação dentária nas últimas décadas. Até o presente, oito genes apresentaram mutações associadas à agenesia dentária não-sindrômica, *MSX1*, *PAX9*, *AXIN2*, *EDA*, *EDAR*, *EDARADD* e *WNT10A* (van den Boogaard *et al.*, 2012; Arte *et al.*, 2013), e o gene *GREMLIN2* mais recentemente (Kantaputra *et al.*, 2015).

Em nosso estudo, dois pacientes apresentaram mutações previamente relatadas em regiões codificantes do *WNT10A*. A mutação c.667C>T (p.Arg223Cys) foi citada por Arzoo e colaboradores (2013) em um paciente de uma coorte de 102 pacientes com oligodontia. Essa mutação resulta na substituição de arginina por cisteína em uma região conservada da proteína, sugerindo o potencial efeito patogênico desta substituição. Ela foi observada em nosso estudo em uma paciente com agenesia de nove dentes permanentes, da família com história de câncer colorretal. A mutação c.682T>A (p.Phe228Ile) foi observada neste estudo no caso esporádico de oligodontia do paciente com agenesia de 17 dentes permanentes. Esta é a variante mais frequentemente relatada no *WNT10A* (Bohring *et al.*, 2009; van den Boogaard *et al.*, 2012; Mostowska *et al.*, 2012; Arzoo *et al.*, 2013; Prasad *et al.*, 2015). Representou 62% das mutações identificados em pacientes com agenesia dentária não-sindrômica

(van den Boogard *et al.*, 2012). Esta variante mostrou a associação mais forte com o fenótipo de oligodontia (Mostowska *et al.*, 2015).

Foi sugerido que o número de dentes ausentes na dentição permanente depende fortemente do fato de o paciente afetado ser homozigoto ou heterozigoto para mutações no *WNT10A* (Mues *et al.*, 2014). Quanto mais severa a manifestação clínica da agenesia, mais forte a correlação com variantes do gene *WNT10A* (Arzoo *et al.*, 2013; Song *et al.*, 2014). Pacientes com mutações bi-alélicas apresentaram agenesia dentária severa, enquanto indivíduos heterozigotos podiam ser afetados ou não, ou ter uma manifestação leve da condição (Mues *et al.*, 2014). Os dois pacientes com variantes no *WNT10A* neste estudo apresentaram a mutação em heterozigose.

Os dentes mais frequentemente afetados por agenesia em associação com mutações no *WNT10A* são os segundos pré-molares inferiores, seguidos pelos segundos pré-molares superiores e incisivos laterais superiores (Song *et al.*, 2014; Abdalla, 2014). Em nosso estudo, a paciente com a variante c.667C>T (p.Arg223Cis) apresentou agenesia de terceiros molares, segundos pré-molares, incisivos centrais inferiores e incisivos laterais superiores conóides/microdentes (Tabela 5 e Figura 13A) enquanto o paciente com a variante c.682T>A (p.Phe228Ile) apresentou agenesia dos terceiros e segundos molares, segundos pré-molares, incisivos laterais, incisivos centrais inferiores e um canino inferior sem outra anomalia dentária associada (Tabela 5 e Figura 13B). Recentemente, estudos de pacientes com agenesia dentária apresentando variações de sequência no gene *WNT10A* descreveram a agenesia dentária associada com outras anomalias dentárias, incluindo microdontia e taurodontia (Mostowska *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2015). Os pacientes em nosso estudo com variantes no *WNT10A* não apresentaram taurodontia.

A frequência de mutações no *WNT10A* sugere que ele desempenha um papel importante na etiologia da agenesia dentária (van den Boogaard *et al.*, 2012; Arte *et al.*, 2013). Mutações neste gene correspondem de cerca de 25% a mais de 50% dos casos de mutações já relatados (van den Boogaard *et al.*, 2012; Arzoo *et al.*, 2013; Song *et al.*, 2014). Nossos resultados corroboram com a hipótese da relevância do *WNT10A* na agenesia dentária, pois estão em consonância com estudos prévios de associação entre a condição e mutações neste gene (Kantaputra e Sripathomsawat, 2010; van den Boogaard *et al.*, 2012; Abdala *et al.*, 2014; Song *et al.*, 2014). Entretanto, quatorze casos-índice com agenesia dentária familiar não-sindrômica analisados não apresentaram variações nas regiões codificantes do *WNT10A*. É possível que variações de sequência em regiões promotoras ou intrônicas desse gene, que não foram analisadas, podem ser responsáveis por alguns dos fenótipos observados. Por outro lado, também é possível sugerir que outros genes poderiam estar envolvidos na etiologia da agenesia dentária nas famílias deste estudo, uma vez que alguns autores levantam a hipótese de que mais de um gene pode ser responsável por um padrão específico de agenesia dentária e que diferentes mutações no mesmo gene podem resultar em um mesmo fenótipo (Frazier-Bowers *et al.*, 2002; Mostowska *et al.*, 2003).

Foram encontrados dois polimorfismos no exon 3 do *PAX9* em 11 dos 16 pacientes analisados. Uma transversão c.717C>T (rs12881240) em heterozigose em quatro pacientes, que constitui uma variação silenciosa His239His já descrita em pacientes com agenesia dentária (Nieminen *et al.*, 2001; Pereira *et al.*, 2006; Paixão-Côrtés *et al.*, 2011). A outra variação encontrada foi a transversão c.718G>C (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 em vários estudos prévios

de pacientes com agenesia dentária (Nieminen *et al.*, 2001; Pereira *et al.*, 2006; Pan *et al.*, 2008; Kula *et al.*, 2008; Pawlowska *et al.*, 2010; Pinho *et al.*, 2010; Paixão-Côrtes *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2011; Mu *et al.*, 2013). Um estudo relatou esta variação em homozigose em todos os membros com agenesia dentária de uma família (Kula *et al.*, 2008). Outro sugeriu que a substituição p.Ala240Pro é um fator de risco para oligodontia na população chinesa (Wang *et al.*, 2011).

As sequências de aminoácidos correspondentes à região do exon 3 do gene *PAX9* em diferentes espécies mostram que a alanina é altamente conservada em mamíferos e aves, o que sugere que este aminoácido pode ser essencial para a função normal da proteína (Kula *et al.*, 2008). Pouco se sabe sobre o potencial significado da substituição *PAX9* c.718G>C (p.Ala240Pro; rs4904210) para a estrutura e função da proteína. Mas sabe-se que a prolina tem uma estrutura molecular única devido às ligações entre a sua cadeia lateral e o átomo de nitrogênio da cadeia principal de α -carbono. Uma vez estando presente na proteína *PAX9* alterada, foi sugerido que poderia afetar sua estrutura secundária (Mu *et al.*, 2013). Além disso, foi sugerido que este polimorfismo comum pode apresentar uma proteína *PAX9* com uma capacidade de ligação ao DNA ligeiramente reduzida, mas provavelmente funcional e pode estar associada à agenesia de terceiros molares (Pereira *et al.*, 2006).

Adicionalmente, foi sugerido que o polimorfismo rs4904210 parece estar associado tanto à agenesia de terceiros molares quanto a de incisivos laterais superiores permanentes (Kula *et al.*, 2008; Paixão-Côrtes *et al.*, 2011). Nossos resultados reforçam o papel do alelo *PAX9* c.718G>c (p.Ala240Pro; rs4904210) nestas situações. Já foi demonstrado que polimorfismos na região promotora e regiões codificantes do *PAX9* são fatores de risco para a agenesia dentária (Kobielak *et al.*, 2001; Vieira *et al.*, 2004; Peres *et al.*, 2005; Bianchi *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2011; Paixão-Cortes *et*

al., 2011). Alguns estudos falharam em encontrar uma associação entre o polimorfismo *PAX9* c.718G>c (p.Ala240Pro; rs4904210) e agenesia dentária, porém esses estudos excluíram pacientes com agenesia de terceiros molares e não selecionaram controles com dentição completa (Pinho *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2013; Zhang e Zhang, 2014). Uma vez que a variante Ala240Pro tem sido relacionada à agenesia de terceiros molares, essa falha no método de seleção dos casos e controles poderia justificar o resultado da falta de associação.

Uma das dificuldades na realização deste trabalho foi o estudo do gene *MSX1*. Trata-se de um gene rico em regiões de repetição CG, de difícil amplificação e sequenciamento. Embora tenhamos usado o kit da Quiagen® para amplificação de regiões ricas em repetições CG, não foi possível amplificar o exon 1 durante o tempo regular de realização do trabalho. Mutações no exon 2 do gene *MSX1* não foram identificadas nos 16 casos-índice com agenesia dentária familiar não-sindrômica analisados. Algumas mutações no gene *MSX1* foram relatadas associadas à etiologia de formas de agenesia dentária não-sindrômica (Tabela 6; Figura 14). O *MSX1* apresentou mutações em cerca de 2% a 8% dos casos relatados (Bergendal *et al.*, 2011; van den Boogaard *et al.*, 2012; Ceyhran *et al.*, 2014). 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 *MSX1* são conhecidas por causar oligodontia seletiva, que 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). Grande

parte 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, com hipodontia, apresentou agenesia seletiva de dentes posteriores. 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.

Tabela 7: Mutações no gene *MSX1* associadas à agenesia dentária não-sindrômica

<i>MSX1</i>		Mutação		Fenótipo	Referência
Exon	Intron	Nucleotídeo	Resíduo		
1		62-63insG	Gly22ArgfsX168	Oligodontia	Kim <i>et al.</i> , 2006
1		T182A	Met61Lys	Oligodontia	Lidral <i>et al.</i> , 2002
	*	740-751del	-	Oligodontia	Pawlowska <i>et al.</i> , 2009
2		C581T	Ala194Val	Oligodontia	Mostowska <i>et al.</i> 2006
2		G587C	Arg196Pro	Oligodontia	Vastardis <i>et al.</i> 1996
2		G655A	Ala219Thr	Oligodontia	Chishti <i>et al.</i> 2006
2		C662A	Ala221Glu	Oligodontia	Xuan <i>et al.</i> 2008
2		T671C	Leu224Pro	Hipodontia	Mostowska <i>et al.</i> 2012
2		910_911dupTA	*304Tyrext*48	Oligodontia	Wong <i>et al.</i> 2014

MSX1

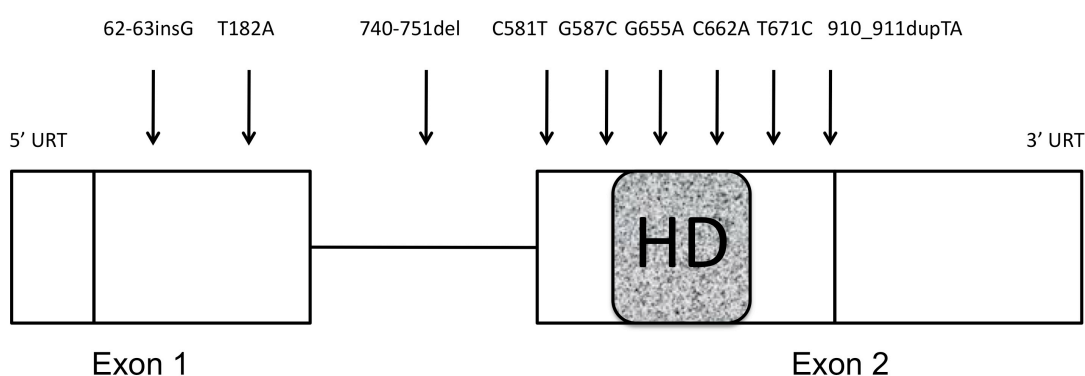


Figura 14. Mutações no gene *MSX1* associadas com agenesia dentária não-sindrômica (HD = *homeodomain*)

Publicações de resultados negativos quanto à pesquisa de mutações em genes candidatos de pacientes com agenesia dentária não são frequentes (Nieminem *et al.*,

1995; Scarel *et al.*, 2000; Gerits *et al.*, 2006; Tállon-Walton *et al.*, 2014). A publicação destes resultados, entretanto, é relevante para uma melhor compreensão da agenesia dentária e da odontogênese.

A identificação de variações de sequência em famílias com agenesia dentária com abordagem de genes candidatos tem mostrado limitações, considerando o número elevado de genes envolvidos na odontogênese. O sequenciamento de genes candidatos é um primeiro passo relevante, haja vista a grande quantidade de estudos que encontraram associação entre a agenesia dentária e tais genes. O uso de painéis com genes-alvo para sequenciamento de nova geração tem se mostrado uma ferramenta eficaz no diagnóstico molecular de condições geneticamente heterogêneas. Sua utilização em uma coorte de pacientes com agenesia dentária isolada permitiu a identificação da mutação causal em 71% dos casos (Prasad *et al.*, 2015). Embora o sequenciamento do exoma também tenha sido uma abordagem proposta (Vieira, 2013), o painel de genes-alvo para sequenciamento de nova geração apresenta uma melhor cobertura, custo mais baixo e maior facilidade na interpretação dos dados quando comparado ao sequenciamento do genoma ou do exoma (Rehm, 2013). Entretanto, devido à heterogeneidade tanto clínica quanto genética desta condição, novas abordagens podem ser adotadas.

Este trabalho foi relevante, pois (1) proveu dados inéditos da prevalência da agenesia dentária na dentição decídua de crianças do DF, sendo o estudo com o maior tamanho de amostra relatado no Brasil até sua publicação. Além disso, também reforçou o que já tem sido proposto na literatura, da manifestação clínica da agenesia dentária tanto na dentição decídua quanto na permanente. (2) Trouxe pela primeira vez dados referentes à associação clínica da taurodontia com a agenesia dentária familiar mesmo em pessoas com dentição completa. (3) Permitiu identificar quatro variações de

sequência previamente relatadas nos genes candidatos *PAX9* e *WNT10A* em 13 das 16 famílias estudadas.

Novos estudos serão necessários para concluir o diagnóstico genético da agenesia dentária nessas famílias. Outras abordagens e métodos de diagnóstico genético podem contribuir para uma melhor compreensão da sua etiologia e também a das anomalias dentárias associadas.

7. CONCLUSÕES

1. A prevalência da agenesia dentária na dentição decídua de crianças pré-escolares do DF foi de 0,29%. Foi observada uma associação entre agenesia dentária na dentição decídua e na permanente, especialmente nos casos de agenesia bilateral.
2. O modo de herança autossômico dominante com expressividade variável e penetrância incompleta da agenesia dentária foi predominante, sendo verificado em 13 das 16 famílias deste estudo. Pelo menos mais uma pessoa apresentou agenesia dentária e/ou dentes conóides em cada família. Houve variabilidade em relação ao número, à localização e à simetria dos dentes afetados por agenesia, tanto entre as famílias quanto entre as pessoas de uma mesma família.
3. A presença de outras anomalias dentárias foi observada: retenção de dentes decíduos em todas as famílias, dentes conóides em dez famílias, dentes supranumerários em seis famílias, taurodontia em cinco famílias, rotação de pré-molares em quatro famílias e erupção ectópica de incisivos laterais e/ou caninos em duas famílias.

4. A taurodontia foi mais frequente em pessoas com agenesia dentária familiar não-sindrômica e familiares. Nas famílias em que pré-molares e molares estavam ausentes em pacientes com oligodontia, as pessoas apresentaram um risco maior de ter taurodontia, mesmo aquelas com dentição completa.
5. O exon 2 do gene *MSX1* não apresentou variações de sequência nos 16 casos-índice analisados.
6. Foram encontradas as variantes rs12881240 (c.C717T; p.His239His) e rs4904210 (c.G718C; p.Ala240Pro) previamente relatadas no gene *PAX9* em 11 casos-índice com agenesia dentária, porém não nos familiares com dentição completa.
7. Não foram encontradas variações de sequência nos sete exons, regiões flanqueadoras exon-intron e região iniciadora do gene *RUNX2* nos casos-índice com hipodontia/oligodontia e em familiares com dentes supranumerários.
8. No gene *WNT10A*, foram encontradas as variantes rs149245953 (c.667C>T; p.Arg223Cis) e rs121908120 (c.682T>A; p.F228I) em dois casos-índice com oligodontia.

REFERÊNCIAS:

- Abdalla EM, Mostowska A, Jagodziński PP, Dwidar K, Ismail SR. A novel WNT10A mutation causes non-syndromic hypodontia in an Egyptian family. *Arch Oral Biol*. 2014 Jul;59(7):722-8. doi: 10.1016/j.archoralbio.2014.04.004.
- Åberg T, Cavender A, Gaikwad JS, Bronckers ALJJ, Wang XP, Waltimo-Siren J, Thesleff I, D'Souza R. Phenotypic changes in dentition of Runx2 homozygote-null mutante mice. *J Histochem Cytochem*. 2004, 52: 131-139.
- Acevedo AC, Fonseca JAC, Grinham J, Doudney K, Gomes RR, Paula LM, Stainer P. Autosomal-dominante ankyloglossia and tooth number anomalies. *J Dent Res*. 2010, 89 (2): 128-132.
- AlFawaz S, Plagnol V, Wong FS, Kelsell DP. A novel frameshift MSX1 mutation in a Saudi family with autosomal dominant premolar and third molar agenesis. *Arch Oral Biol*. 2015 Jul;60(7):982-8. doi: 10.1016/j.archoralbio.2015.02.023.
- Alpöz AR, Eronat C. Taurodontism in children associated with trisomy 21 syndrome. *J Clin Pediatr Dent*. 1997 Fall;22(1):37-9.
- Altug-Atac AT, Erdem D. Prevalence and distribution of dental anomalies in orthodontics patients. *AJODO* 2007; 131: 510-514.
- Alvesalo L, Portin P. The inheritance pattern of missing, peg-shaped, and strongly mesio-distally reduced upper lateral incisors. *Acta Odontol Scand* 1969, 27: 563-75.
- Arte S. Phenotypic and genotypic features of familial hypodontia. [Tese] Institute of Dentistry, University of Helsinki 2001.
- 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.
- Arte S, Pirinen S. Hypodontia. Orphanet encyclopedia. 2003. Disponível em: <http://www.orpha.net/data/patho/GB/uk-hypodontia.pdf>
- Arte S, Parmanen S, Pirinen S, Alaluusua S, Nieminen P. Candidate Gene Analysis of Tooth Agenesis Identifies Novel Mutations in Six Genes and Suggests Significant

Role for WNT and EDA Signaling and Allele Combinations. PLoS ONE 2013 8(8): e73705. doi:10.1371/journal.pone.0073705

Arzoo PS, Klar J, Bergendal B, Norderyd J, Dahl N. 2014. WNT10A mutations account for 1/4 of population-based isolated oligodontia and show phenotypic correlations. Am J Med Genet Part A 164A:353–359.

Bacetti, T. A clinical and statistical study of etiologic aspects related to associated tooth anomalies in number, size and position. Minerva Stomatol. 1998, 47: 655-663.

(a)

Baccetti T. A controlled study of associated dental anomalies. Angle Orthod. 1998, 68: 267-274. (b)

Bacetti T. Tooth rotation associated with aplasia of nonadjacent teeth. Angle Orthod. 1998, 68: 471-474. (c)

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.

Bell J, Civil CR, Townsend GC, Brown RH. The prevalence of taurodontism in Down's syndrome. J Ment Defic Res. 1989 Dec;33 (Pt 6):467-76.

Bergendal B, Klar J, Stecksén-Blicks C, Norderyd J, Dahl N. 2011. Isolated oligodontia associated with mutations in EDARADD, AXIN2, MSX1, and PAX9 genes. Am J Med Genet Part A 155A:1616–1622.

Bergwitz C, Prochnau A, Mayr B, Kramer FJ, Rittierodt M, Berten HL, Hausamen JE, Brabant G. Identification of novel CBFA1/RUNX2 mutations causing cleidocranial dysplasia. J Inherit Metab Dis. 2001, 24: 648-56.

Bianchi FJ, Oliveira TF, Saito CBP, Peres RCR, Line SRP. Association between polymorphism in the promoter region (G/C-915) of *PAX9* gene and third molar agenesis. J Appl Oral Sci. 2007;15(5):382-6.

Bjerklin K, Bennett J. The long-term survival of second primary molars in subjects with agenesis of the premolars. Euro J Orth. 2000, 22: 245-255.

Boeira BR Jr, Echeverrigaray S. Novel missense mutation in PAX9 gene associated with familial tooth agenesis. *J Oral Pathol Med.* 2013 Jan;42(1):99-105. doi: 10.1111/j.1600-0714.2012.01193.x.

Bohring A, Stamm T, Spaich C, Haase C, Spree K, Hehr U, Hoffmann M, Ledig S, Sel S, Wieacker P, Röppke A. WNT10A mutations are a frequent cause of a broad spectrum of ectodermal dysplasias with sexbiased manifestation pattern in heterozygotes. *Am J Hum Genet.* 2009, 85:97–105.

Brook AH, Ekanayake NO. The etiology of oligodontia: a family history. *J. Dent Child.* 1980, 32-35.

Brook AH. A unifying aetiological explanation for anomalies of human tooth number and size. *Arch Oral Biol.* 1984, 29: 373-378.

Brook AH, Elcock C, Aggarwal M, Lath DL, Russell JM, Patel PI, Smith RN. Tooth dimensions in hypodontia with a known PAX9 mutation. *Arch Oral Bio.* 2009, 54s: s57 – s62.

Bufalino A, Paranaíba LMR, Gouvêa AF, Gueiros LA, Martelli-Junior H, Junior JJ *et al.* Cleidocranial dysplasia: oral features and genetic analysis of 11 patients. *Oral Diseases* (2012) 18, 184–190 doi:10.1111/j.1601-0825.2011.01862.x

Bürklein S, Breuer D, Schäfer E. Prevalence of taurodont and pyramidal molars in a German population. *Journal of Endodontics* 2011;37(2):158–62.

Callahan N, Modesto A, Meira R, Seymen F, Patir A, Vieira AR. Axis inhibition protein 2 (AXIN2) polymorphisms and tooth agenesis. *Arch Oral Biol.* 2009, Jan;54(1):45-9. (b)

Callahan N, Modesto A, Deeley K, Meira R, Vieira AR. Transforming growth factor- α gene (TGFA), human tooth agenesis, and evidence of segmental uniparental isodisomy. *Eur J Oral Sci.* 2009, Feb;117(1):20-6. (b)

Camilleri GE. Concomitant hypodontia and hyperodontia. Case report. *Br Dent J* 1967; 123: 338-9.

Camilleri S. Maxillary canine anomalies and tooth agenesis. *Euro J Orth.* 2005, 27: 450-456.

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.

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.

Ceyhan D, Kirzioglu Z, Calapoglu NS. Mutations in the MSX1 gene in Turkish children with non-syndromic tooth agenesis and other dental anomalies. *Indian J Dent.* 2014 Oct;5(4):172-82. doi: 10.4103/0975-962X.144717.

Chen YH, Cheng NC, Wang YB, Yang CY (2010) Prevalence of congenital dental anomalies in the primary dentition in Taiwan. *Pediatr Dent* 32:525–529.

Chishti MS, Muhammad D, Haider M, Ahmad W. A novel missense mutation in MSX1 underlies autosomal recessive oligodontia with associated dental anomalies in Pakistani families. *J Hum Genet.* 2006; 51(10): 872–878.

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: 213-217.

Cluzeau C, Hadj-Rabia S, Jambou M, Mansour S, Guigue P, Masmoudi S *et al.* Only Four Genes (EDA1, EDAR, EDARADD, and WNT10A) Account for 90% of Hypohidrotic/Anhidrotic Ectodermal Dysplasia Cases. *Hum Mutat* 32:70–77, 2011.

Cobourne MT, Sharpe PT. Tooth and jaw: molecular mechanisms of patterning in the first branchial arch. *Arch Oral Biol.* 2003, 48: 1-14.

Cobourne MT. Familial human hypodontia - is it all in the genes? *Br Dent J.* 2007, 203: 203-8.

Darwazeh AM, Hamasha AA, Pillai K. Prevalence of taurodontism in Jordanian dental patients. *Dento-Maxillo-Facial Radiology* 1998;27(3):163–5.

Das P, Stockton DW, Bauer C, Shaffer LG, D'Souza RN, Wright JT, Patel PI. Haploinsufficiency of PAX9 is associated with autosomal dominant hypodontia. *Hum Genet.* 2002, 110: 371-376.

Dassule HR, McMahon AP. Analysis of epithelial-mesenchymal interactions in the initial morphogenesis of the tooth. *Dev Biol.* 1998, 202:215–227.

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.

Davis PJ. Hypodontia and hyperdontia of permanent teeth in Hong Kong schoolchildren. *Com Dent Oral Epidemio.* 1987, 15:218-220.

De Coster PJ, Marks LA, Martens LC, Huysseune A. Dental agenesis: genetic and clinical perspectives. *J Oral Pathol Med.* 2009, Jan; 38(1):1-17.

Dong J, Amor D, Aldred MJ, Gu TT, Escamilla M, MacDougall M. DLX3 Mutation Associated With Autosomal Dominant Amelogenesis Imperfecta With Taurodontism. *Am J Med Genet.* 2005, 133A:138–141.

D'Souza RN, Klein OD. Unraveling the molecular mechanisms that lead to supernumerary teeth in mice and men: current concepts and novel approaches. *Cells Tissues Organs.* 2007, 186: 60-9.

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.

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

Frazier-Bowers SA, Guo DC, Cavender A, Xue L, Evans B, King T, Milewicz D, Souza RN. A novel mutation in human PAX9 causes molar oligodontia. *Dent Res.* 2002, 81: 129-133. (a)

Frazier-Bowers SA, Scott MR, Cavender A, Mensah J, Souza RND. Mutational Analysis of families affected with molar oligodontia. *Connect Tissue Res.* 2002, 43: 290-300. (b)

Garvey MT, Barry HJ, Blake M. Supernumerary teeth – an overview of classification, diagnosis and management. *Clinical Practice.* 1999, 65: 612-616.

Gene Expression in Tooth. Disponível em: <http://www.bite-it.helsinki.fi/>

Gellin MF (1984) The distribution of anomalies of primary anterior teeth and their effect on the permanent successors. *Dent Clin North Am* 28:69-80.

Gerits A, Nieminen P, De Muynck S, Carels C. Exclusion of coding region mutations in *MSX1*, *PAX9* and *AXIN2* in eight patients with severe oligodontia phenotype. *Orthod Craniofacial Res.* 2006; 9: 129-136.

Gomes RR. Manifestações bucais em indivíduos com oligodontia e seus familiares do Hospital Universitário de Brasília. [Tese] Brasília 2008. Disponível em: http://bdtd.bce.unb.br/tesesimplificado/tde_busca/index.ph

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.

Gomes RR, Habckost CD, Junqueira LG, Leite AF, Figueiredo PT, Paula LM, Acevedo AC. Taurodontism in Brazilian patients with tooth agenesis and first and second-degree relatives: a case-control study. *Arch Oral Biol.* 2012 Aug;57(8):1062-9. doi: 10.1016/j.archoralbio.2012.04.006.

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.

Goldenberg M, Das P, Messersmith M, Stockton DW, Patel PI, D'Souza RN. Clinical, radiographic and genetic evaluation of a novel form of autosomal-dominant oligodontia. *J Dent Res.* 2000; 79(7): 1469-1475.

Gorlin RJ, Herman NG, Moss SJ. Complete absence of the permanent dentition: an autosomal recessive disorder. *Am J Med Genet.* 1980, 5: 207-209.

Gorlin, R. J. Syndromes of head and neck. 4th Ed, Oxford USA 2001.

Goseki-Sone M, Orimo H, Watanabe A, Hamatani R, Yokozeki M, Ohyama K, Kuroda T, Watanabe H, Miyazaki H, Shimada T, Oida S. Identification of a novel frameshift mutation (383insT) in the *RUNX2* (*PEBP2* alpha/*CBFA1*/*AML3*) gene in a Japanese patient with cleidocranial dysplasia. *J Bone Miner Metab.* 2001; 19: 263-6.

Grahnén H. Hypodontia in the permanent dentition. A clinical and genetical investigation. *Odont Revy*. 1956, 7(Suppl 3):1-100.

Grahnén H, Granath LE (1961) Numerical variation in primary dentition and their correlation with the permanent dentition. *Odont Revy* 12:348-357.

Haavikko K. Hypodontia of permanent teeth. An orthopantomographic study. *Suom Hammaslaak Toim*. 1971, 67: 219-225.

Hansen L, Kreiborg S, Jarlov H, Niebuhr E, Eiberg H. A novel nonsense mutation in PAX9 is associated with marked variability in number of missing teeth. *Euro J Oral Sci*. 2007, 115: 330-333.

Ith-Hansen K, Kjaer I. Persistence of deciduous molars in subjects with agenesis of second premolars. *Euro J Orth*. 2000, 22: 239-243.

Jaspers MT, Witkop Jr. Taurodontism, an isolated trait associated with syndromes and X-chromosomal aneuploidy. *Am J Hum Genet*. 1980, 32:396-413.

Järvinen E, Salazar-Ciudad I, Birchmeier W, Taketo MM, Jernvall J, Thesleff I. Continuous tooth generation in mouse is induced by activated epithelial Wnt/bcatenin signaling. *PNAS*. 2006, 103(49):18627e32.

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.

Jorgenson RJ. The conditions manifesting taurodontism. *American Journal of Human Genetics* 1982;11(4):435-42.

Jumlongras D, Lin JY, Chapra A, Seidman, CE, Seidman JG, Maas R L, Olsen BR. A novel missense mutation in the paired domain of PAX9 causes non-syndromic oligodontia. *Hum Genet*. 2004, 114: 242-249.

Kan WY, Seow WK, Holcombe T. Taurodontism in children with hypodontia and supernumerary teeth: a case control study. *Pediatric Dentistry* 2010;32(2):134-40.

Kantaputra P, Sripathomsawat W. WNT10A and isolated hypodontia. *Am J Med Genet Part A*. 2010, 155: 1119-1122.

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.

Kapadia H, Frazier-Bowers S, Ogawa T, D'Souza RN. Molecular characterization of a novel PAX9 missense mutation causing posterior tooth agenesis. *Eur J Hum Genet*. 2006, 14:403-409.

Kapadia H, Mues G, D'Souza RN. Genes affecting tooth morphogenesis. *Orthod Craniofac Res* 2007, 10: 105-113.

Kaste SC, Hopkins KP, Bowman LC. Dental abnormalities in long-term survivors of head and neck rhabdomyosarcoma. *Med Pediatr Oncol*. 1995 Aug;25(2):96-101.

Kaste SC, Hopkins KP, Jenkins JJ 3rd. Abnormal odontogenesis in children treated with radiation and chemotherapy: imaging findings. *Am J Roentgenol*. 1994 Jun;162(6):1407-11.

Kim JW, Simmer JP, Lin BP, Hu JC. Novel MSX1 frameshift causes autosomal-dominant oligodontia. *J Dent Res*. 2006, 85: 267-271.

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.

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.

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.

Kobiela A, Kobiela K, Wisniewski AS, Mostowska A, et al. (2001). The novel polymorphic variants within the paired box of the PAX9 gene are associated with selective tooth agenesis. *Folia Histochem. Cytobiol*. 39: 111-112.

Küchler EC, Risso PA, Costa MC, Modesto A, Vieira AR. Assessing the proposed

association between tooth agenesis and taurodontism in 975 paediatric subjects. *International Journal of Paediatric Dentistry* 2008;18(3):231–4. (a)

Küchler EC, Risso PA, Costa MC, Modesto A, Vieira AR. Studies of dental anomalies in a large group of school children. *Archives of Oral Biology* 2008;53:941–6. (b)

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.

Lai PY, Seow WK. A controlled study of the association of various dental anomalies with hypodontia of permanent teeth. *Pediatrics Dentistry* 1989, 11: 291-296.

Lammi L, Halonen K, Nieminen P, Arte S, Thesleff, I, Pirinen S. A missense mutation in PAX9 in a family with distinct phenotype of oligodontia. *Eur J Hum Genet.* 2003, 11: 866-871.

Lammi L, Arte S, Somer M, Järvinen H, Lahermo P, Thesleff, I, Pirinen S, Nieminen P. Mutations in AXIN2 cause familial tooth agenesis and predispose to colorectal cancer. *Am J Hum Genet.* 2004, 74:1043-1050.

Lara TS, Lancia M, da Silva Filho OG, Garib DG, Ozawa TO. Prevalence of mesiodens in orthodontic patients with deciduous and mixed dentition and its association with other dental anomalies. *Dental Press J Orthod.* 2013 Nov-Dec;18(6):93-9.

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.

Lee MT, Tsai AC, Chou CH, Sun FM, Huang LC, Yen P, Lin CC, Liu CY, Wu JY, Chen YT, Tsai FJ. Intragenic microdeletion of RUNX2 is a novel mechanism of cleidocranial dysplasia. *Genomic Med.* 2008, Jan;2(1-2):45-9.

Liang J, Song G, Li Q, Bian Z. Novel missense mutations in PAX9 causing oligodontia. *Arch Oral Biol.* 2012 Jun;57(6):784-9. doi:10.1016/j.archoralbio.2011.12.005.

Lidral AC, Reising BC. The Role of MSX1 in Human Tooth Agenesis. *J Dent Res.* 2002, 81: 274-278.

Liu H, Ding T, Zhan Y, Feng H. A Novel AXIN2 Missense Mutation Is Associated with Non-Syndromic Oligodontia. *LoS One*. 2015 Sep 25;10(9):e0138221. doi: 10.1371/journal.pone.0138221. eCollection 2015.

MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/ β -catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *NIH Public Access*. 2009, 17(1):9-26.

Magnusson TE. Prevalence of hypodontia and malformations of permanent teeth in Iceland. *Comm Dentistry Oral Epidemiol*. 1977, 5: 173-178.

Magnusson TE (1984) Hypodontia, hyperodontia, and double formation of primary teeth in Iceland. An epidemiological study. *Acta Odontol Scand* 42:137–139.

Marinelli A, Giuntini V, Franchi L, Tollaro I, Baccetti T, Defraia E (2012) Dental anomalies in the primary dentition and their repetition in the permanent dentition: a diagnostic performance study. *Odontology* 100:22-27.

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

Meza RS. Radiographic assessment of congenitally missing teeth in orthodontic patients. *Inter J Paed Dent*. 2003, 13: 112-6.

Miletich I, Sharpe PT. Normal and abnormal dental development. *Human Mol Genet*. 2003, 12 Spec N° 1:R69-73.

Mostowska A, Kobiela A, Biedziak B, Trzeciak WH. Novel mutation in the paired box sequence of PAX9 gene in a sporadic form of oligodontia. *Eur J Oral Sci*. 2003, 111: 272-276. (a)

Mostowska A, Kobiela A, Trzeciak WH. Molecular basis of non-syndromic tooth agenesis: mutations of MSX1 and PAX9 reflect their role in patterning human dentition. *Eur J Oral Sci*. 2003, 111: 365-370. (b)

Mostowska A, Biedziak B, Trzeciak WH. A novel c.581CT transition localized in a highly conserved homeobox sequence of MSX1 is it responsible for oligodontia. *J Applied Genetic*. 2006, 47: 159–164.

Mostowska A, Biedziak B, Jagodzinske PP. Axis inhibition protein 2 (AXIN2) polymorphisms may be a risk factor for selective tooth agenesis. *J Hum Genet.* 2006, 51: 262-266.

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.

Mostowska A, Biedziak B, Zadurska M, Matuszewska-Trojan S, Jagodzinski PP. WNT10A coding variants and maxillary lateral incisor agenesis with associated dental anomalies. *Eur J Oral Sci* 2015; 123: 1–8. DOI: 10.1111/eos.12165.

Mu YD, Xu Z, Contreras CI, MacDaniel JS, Donly KJ, Chen S. Mutational analysis of AXIN2, MSX1, and PAX9 in two Mexican oligodontia families. *Genet. Mol. Res.* 12 (4): 4446-4458 (2013).

Mues G, Bonds J, Xiang L, Vieira AR, Seymen F, Klein O, D'Souza RN. 2014. The WNT10A gene in ectodermal dysplasias and selective tooth agenesis. *Am J Med Genet Part A* 164A:2455–2460.

Müller TP, Hill IN, Peterson AC, Blayney JR. A survey of congenitally missing permanent teeth. *AJODO* 1970, 81:101-107.

Nawaz S, Klar J, Wajid M, Aslam M, Tariq M, Schuster J, Baig SH, Dahl N. WNT10A missense mutation associated with a complete Odonto-Onycho-Dermal Dysplasia syndrome. *Euro J Hum Genet.* 2009, (17): 1600-1605.

Nik-Hussein NN, Abdul Majid Z (1996) Dental anomalies in the primary dentition: distribution and correlation with the permanent dentition. *J Clin Pediatr Dent* 21:15-19.

Nieminen P, Arte S, Pirinen S, Peltonen L, Thesleff I. Gene defect in hypodontia: exclusion of MSX1 and MSX2 as candidate genes. *Hum Genet.* 1995; 96:305-308.

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.

Nordgarden H, Jensen JL, Storhaug K. Reported prevalence of congenitally missing teeth in two Norwegian countries. *Com Dent Healthy.* 2002, 19: 258-261.

Ogawa T, Kapadia H, Feng JQ, Raghov R, Peters H, D'Souza RN. Functional consequences of interactions between *Pax9* and *Msx1* genes in normal and abnormal tooth development. *J Biol Chem*. 2006, 281:18363-18369.

Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM.2007>

Orup HI Jr, Keith DA, Holmes LB. Prenatal anticonvulsant drug exposure: teratogenic effect on the dentition. *J Craniofac Genet Dev Biol*. 1998, Jul-Sep;18(3):129-37.

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.

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.

Pardo VRA, Castillo TS, Vieira AR. [Genetic studies of a Chilean family with three different dental anomalies]. *Rev Med Chil*. 2006 Dec;134(12):1541-8.

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.

Peck L, Peck S, Attia Y. Maxillary canine-first premolar transposition, associated dental anomalies and genetic bases. *Angle Ortho*. 1993, 63:99-109.

Peck S, Peck L, Kataja M. Prevalence of tooth agenesis and peg-shaped maxillary lateral incisor associated with palatally displaced canine (PDC) anomaly. *AJODO*. 1996, 110:441-443.

Peck S, Peck L, Kataja M. Mandibular lateral incisor – canine transposition, concomitant dental anomalies, and genetic control. *Angle Ortho*. 1998, 68: 455-466.

Peck S, Peck L, Kataja M Concomitant occurrence of canine malposition and tooth agenesis: Evidence of orofacial genetic fields. *AJODO*. 2002, 122: 657-660.

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.

Peres RCR, Scarel-Caminaga RM, Santo ARE, Line SRP. Association between PAX-9 promoter polymorphisms and hypodontia in humans. *Arch Oral Biol* 2005, 50: 861 - 871.

Peters H, Neubüser A, Kratochwil K, Balling R. Pax9-deficient mice lack pharyngeal pouch derivatives and teeth and exhibit craniofacial and limb abnormalities. *Genes Dev* 1998, 12: 2735-2747.

Pinho T, Maciel P, Pollmann C. Developmental disturbances associated with agenesis of the permanent maxillary lateral incisor. *Br Dent J*. 2009 Dec 19;207(12):E25. doi: 10.1038/sj.bdj.2009.961.

Pinho T, Silva-Fernandes A, Bousbaa H and Maciel P (2010). Mutational analysis of MSX1 and PAX9 genes in Portuguese families with maxillary lateral incisor agenesis. *Eur. J. Orthod.* 32: 582-588.

Prasad MK, Geoffroy V, Vicaire S, et al. *J Med Genet* Published Online First. doi:10.1136/jmedgenet-2015-103302

Polder BJ, Van't Hof MA, Van der Linden FPGM, Kuijpers-Jagtman AM. A meta-analysis of the prevalence of dental agenesis of permanent teeth. *Com Dentistry Oral Epidemiol.* 2004, 32: 217–26.

Puttalingaiah VD, Agarwal P, Miglani R, Gupta P, Sankaran A, Dube G. Assessing the association of taurodontism with numeric dentition anomalies in an adult central Indian population. *J Nat Sci Biol Med.* 2014 Jul;5(2):429-33. doi: 10.4103/0976-9668.136222.

Quack, Vonderstrass B, Stock M, Aylsworth AS, Becker A, Brueton L, Lee PJ, Majewski F, Mulliken JB, Suri M, Zenker M, Mundlos S, Otto F. Mutation Analysis of Core Binding Factor A1 in Patients with Cleidocranial Dysplasia. *Am J Hum Genet.* 1999, 65:1268–1278.

Qin H, Xu H, Xuan K. Clinical and genetic evaluation of a Chinese family with isolated oligodontia. *Arch Oral Biol.* 2012: 1180-1186. doi.org/10.1016/j.archoralbio.2013.04.007.

Ravn JJ (1971) Aplasia, supernumerary teeth and fused teeth in the primary dentition. *Scand J Dent Res* 79:1–6.

- Razak IA, Nik-Hussein NN (1986) A retrospective study of double teeth in the primary dentition. *Ann Acad Med Singapore* 15:393-396.
- Rehm HL. Disease-targeted sequencing: a cornerstone in the clinic. *Nat Rev Genet* 2013;14:295–300.
- Rolling S. Hypodontia of permanent teeth in Danish schoolchildren. *Scand Journal Research* 1980; 88: 365-369.
- Rolling, S; Pousen, S. Oligodontia in Danish schoolchildren. *Acta Odontol Scand.* 2001, 59: 111-112.
- Ruprecht A, Batniji S, El-Neweihi E. The incidence of taurodontism in dental patients *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1987, 63: 743-747.
- Rune B, Sarnäs KV. Tooth size and tooth formation in children with advanced hypodontia. *Angle Ortho.* 1974, 44: 316-321.
- 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.
- Sarnäs KV, Rune B. The facial profile in advanced hypodontia: a mixed longitudinal study of 141 children. *Euro J Orth.* 1983, 5: 133-143.
- Satokata I, Maas R. *Msx1* deficient mice exhibit cleft palate and abnormalities of craniofacial and tooth development. *Nat Genet.* 1994, 6: 348–356.
- Scarel RM, Trevilatto PC, Di Hipólito Jr O, Camargo LEA, Line SRP. Absence of mutations in the Homeodomain of the *MSX1* Gene in Patients With Hypodontia. *Am J Med Genet.* 2000, 92:346–349.
- Seow WK, Lai PY. Association of taurodontism with hypodontia: a controlled study. *Pediatric Dentistry.* 1989, 11: 214-218.
- Seow WK. Taurodontism of the mandibular first permanent molar distinguishes between the tricho-dento-osseous (TDO) syndrome and amelogenesis imperfecta. *Clinical Genetics.* 1993, 43:240-246.

Šerý O, Bonczek O, Hloušková A, Černochová P, Vaněk J, Míšek I, Krejčí P, Izakovičová Hollá L. A screen of a large Czech cohort of oligodontia patients implicates a novel mutation in the PAX9 gene. *Eur J Oral Sci.* 2015 Apr;123(2):65-71. doi: 10.1111/eos.12170.

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.

Shalk-van der Weide Y, Steen WA, Beemer FA, Bosman F. Reductions in size and left-right asymmetry of teeth in human oligodontia. *Arch oral Biol.* 1994, 39: 935-939. (a)

Shalk-van der Weide Y, Beemer FA, Faber JAJ, Bosman F. Symptomatology of patients with oligodontia. *J Oral Rehabil.* 1994. 21: 247-261. (b)

Shalk-van der Weide Y, Bosman F. Tooth size in relatives of individual with oligodontia. *Arch oral Biol.* 1996; 41: 469-472.

Shapira Y, Kufnec MM. Maxillary tooth transpositions: Characteristic features and accompanying dental anomalies. *AJODO* 2001, 119: 127-134.

Schulman GS, Redford-Badwal D, Poole A, Mathieu G, Bureson J, Dauser D. Taurodontism and learning disabilities in patients with Klinefelter syndrome. *Pediatric Dentistry* 2005;27(5):389–94.

Song S, Han D, Qu H, Gong Y, Wu H *et al.* EDA gene mutations underlie non-syndromic oligodontia. *J Dent Res.* 2009, 88: 126-131.

Song S, Zhao R, He H, Zang J, Feng H, Lin L. WNT10A variants are associated with non-syndromic tooth agenesis in the general population. *Hum Genet* (2014) 133:117–124 DOI 10.1007/s00439-013-1360-x

Stockton DW, Das P, Goldenberg M, D'Souza RN, Patel PI. Mutation of PAX9 is associated with oligodontia. *Nat Genet* 2000, 24:18-19.

Suckling GW. Developmental defects of enamel – historical and present-day perspectives of their pathogenesis. *Adv Dent Res.* 1989, v.3, n.2, p.87-94.

Suda N, Ogawa T, Kojima T, Saito C, Moriyama K. Non-syndromic Oligodontia with a Novel Mutation of *PAX9*. *J Dent Res*. 2011, 90(3):382-386.

Surendran S, Venkatachalapathy A, Vimalageetha K, Thomas AE. Concomitant hypo-hyperdontia with an endocrine etiology. *Natl J Maxillofac Surg*. 2014 Jan;5(1):51-3. doi: 10.4103/0975-5950.140174.

Swinnen S, Bailleul-Forestier I, Arte S, Nieminen P, Devriendt K, Carels C. Investigating the etiology of multiple tooth agenesis in three sisters with severe oligodontia. *Orthod Craniofac Res*. 2008;11:24–31.

Symons AL, Stritzel F, Stamation J. Anomalies associated with hypodontia of the permanent lateral incisor and second premolar. *J Clin Pediatr Dent*. 1993, 17:109-111

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.

Tang S, Xu Q, Xu X, Du J, Yang X, Jiang Y, Wang X, Speck N, Huang T. A novel *RUNX2* missense mutation predicted to disrupt DNA binding causes cleidocranial dysplasia in a large Chinese family with hyperplastic nails. *BMC Med Genet*. 2007 Dec 31;8:82.

Tatematsu T, Kimura M, Nakashima M, Machida J, Yamaguchi S, Shibata A, Goto H, Nakayama A, Higashi Y, Miyachi H, Shimosato K, Matsumoto N, Tokita Y. An aberrant splice acceptor site due to a novel intronic nucleotide substitution in *MSX1* gene is the cause of congenital tooth agenesis in a Japanese family. *PLoS One*. 2015 Jun 1;10(6):e0128227. doi: 10.1371/journal.pone.0128227.

Thesleff I. Epithelial-mesenchymal signaling regulating tooth morphogenesis. *J Cell Science* 2003, 116: 1647-1648.

Thesleff I. The genetic basis of tooth development and dental defects. *Am J Med Genet A*. 2006; 140: 2530-2535.

Thongudomporn U, Freer TJ. Prevalence of dental anomalies in orthodontic patients. *Australian Dental Journal* 1998, 43: 395-398.

Townsend G, Rogers J, Richards L, Brown T. Agenesis of permanent maxillary lateral incisors in South Australian twins. *Austr Dental J*. 1995, 40: 186-192.

Van den Boogaard MJ-H, Créton M, Bronkhorst Y, Hout A, Hennekam E, Lindhout D, Cune M, Amstel HKP. Mutations in WNT10A are present in more than half of isolated hypodontia cases. *J Med Genet.* 2012, 49: 327- 31.

Van der Weide Y, Steen WHA, Bosman F. Distribution of missing teeth and tooth morphology in patients with oligodontia. *J Dent Child.* 1992, 59: 133-139.

van Geel M, Gattas M, Kesler Y, Tong P, Yan H, Tran K, Steijlen PM, Murrell DF, van Steensel MA. Phenotypic variability associated with WNT10A nonsense mutations. *Br J Dermatol.* 2010, 162:1403–1406.

Vastardis H, Karimbux N, Guthua S, Seidman JG, Seidman CE. A human MSX1 homeodomain missense mutation causes selective tooth agenesis. *Nat Genet.* 1996, 13: 417-421.

Vastardis H. The genetics of human tooth agenesis: New discoveries for understanding dental anomalies. *AJODO.* 2000, 117: 650-655.

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.

Vieira AR, Meira R, Modesto A, Murray JC. MSX1, PAX9 and TGF α contribute to tooth agenesis in humans. *J Dent Res.* 2004, 83: 723-727.

Vieira AR, Modesto A, Meira R, Barbosa AR, Lidral AC, Murray JC. Interferon regulatory factor 6 (IRF6) and fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) contribute to human tooth agenesis. *Am J Med Genet A.* 2007 Mar 15;143(6):538-45.

Vieira AR. Genetics of tooth agenesis: how to move the field forward. Guest editorial. 2013 <http://dx.doi.org/10.1590/1678-77572013ed003>

Vink CP, Ockeloen CH, ten Kate S, Koolen DA, Amstel JKP, *et al.* Variability in dentofacial phenotypes in four families with WNT10A mutations. *European Journal of Human Genetics* (2014) 22, 1063–1070; doi:10.1038/ejhg.2013.300.

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.

Wang XP, Åberg T, James MJ, Levanon D, Groner Y, Thesleff I. Runx2 (cbfa1) inhibits *Shh* signaling in the lower but not upper molars of mouse embryos and prevents the budding of putative successional teeth. *J Dent Res*. 2005, 84(2): 138-143.

Wang Y, Jingfeng HU, Zhao WH, Zhang X, Mues G, D'Souza RN, Feng H, Kapadia H. Identification and Functional Analysis of Two Novel *PAX9* Mutations. *Cells Tissues Organs*. 2009, 189:80–87.

Wang XP, O'Connell DJ, Lund JJ, Saadi I, Kuraguchi M, Turbe-Doan A, Cavallesco R, Kim H, Park PJ, Harada H, Kucherlapati R, Maas RL. Apc inhibition of Wnt signaling regulates supernumerary tooth formation during embryogenesis and throughout adulthood. *Development*. 2009, 136:1939–1949.

Wang J, Jian F, Chen J, Wang H, Lin Y, Yang Z, Pan X, Lai WL. Sequence analysis of *PAX9*, *MSX1* and *AXIN2* genes in a Chinese oligodontia family. *Arch Oral Biol*. 2011, Apr 28.

Wang J, Xu Y, Chen J, Wang F, et al. (2013). *PAX9* polymorphism and susceptibility to sporadic non-syndromic severe anodontia: a case-control study in southwest China. *J. Appl. Oral Sci*. 21: 256-264.

Witkop Jr CJ. Agenesis of succedaneous teeth: An expression of the homozygous state of the gene for the pegged or missing maxillary lateral incisor trait. *Am J Med Genet*. 1987; 26: 431-436.

Whittington BR, Durward CS (1996) Survey of anomalies in primary teeth and their correlation with the permanent dentition. *N Z Dent J* 92:4–8

Wong ATY, McGrath C, McMillan AS. Oral health of southern Chinese children and adolescents with severe hypodontia. *Inter J Paedia Dent*. 2007; 15: 256-263.

Wong SW, Liu HC, Han D, Chang HG, Zhao HS, Wang YX, Feng HL. A novel non-stop mutation in *MSX1* causing autosomal dominant non-syndromic oligodontia. *Mutagenesis*. 2014 Sep;29(5):319-23. doi: 10.1093/mutage/geu019.

Wong S, Liu H, Bai B, Chang H, Zhao H, Wang Y, Han D, Feng H. Novel missense mutations in the *AXIN2* gene associated with non-syndromic oligodontia. *Arch Oral Biol*. 2014 Mar;59(3):349-53. doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.12.009.

Worsaae N, Jensen BN, Holm B, Holsko J. Treatment of severe hypodontia – oligodontia – an interdisciplinary concept. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2007; 36: 473-780.

Wright T. The molecular control of and clinical variations in root formation. *Cells Tissues Organs.* 2007; 186(1):86-93.

Wright JT, Hong SP, Simmons D, Daly B, Uebelhart D, Luder HU. DLX3 c.561_562delCT mutation causes attenuated phenotype of trichodonto-osseous syndrome. *American Journal of Medical Genetics A* 2008;146(3):343–9.

Wu CW, Lin YT, Lin YT (2010) Double primary teeth in children under 17 years old and their correlation with permanent successors. *Chang Gung Med J* 33:188-193.

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.

Yamashiro T, Zheng L, Shitaku Y et al: Wnt10a regulates dentin sialophosphoprotein mRNA expression and possibly links odontoblast differentiation and tooth morphogenesis. *Differentiation.* 2007, 75: 452-462.

Yang J, Wang SK, Choi M, Reid BM, Hu Y, Lee YL *et al.* Taurodontism, variations in tooth number, and misshapened crowns in Wnt10a null mice and human kindreds. *Molecular Genetics & Genomic Medicine.* 2015; 3(1): 40–58. doi: 10.1002/mgg3.111.

Yokozeki M, Ohyama K, Tsuji M, Goseki-Sone M, Oida S, Orimo H, Moriyama K, Kuroda T. A case of Japanese cleidocranial dysplasia with a CBFA1 frameshift mutation. *J Craniofac Genet Dev Biol.* 2000 Jul-Sep; 20(3):121-6.

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.

Yoshida T, Kanegane H, Osato M, Yanagida M, Miyawaki T, Ito Y, Shigesada K. Functional analysis of RUNX2 mutations in Japanese patients with cleidocranial dysplasia demonstrates novel genotype-phenotype correlations. *Am J Hum Genet.* 2002; 71: 724-738.

Zadurska M1, Sieminska-Piekarczyk B, Maciejak D, Wyszomirska-Zdybel B, Kurol J. Concomitant hypodontia and hyperodontia: an analysis of nine patients. *Acta Odontol Scand.* 2012 Mar;70(2):154-9. doi: 10.3109/00016357.2011.600710.

Zhang W, Qu HC, Zhang Y. Association of MSX1 and TGF- β 1 genetic polymorphisms with hypodontia: meta-analysis. *Genet Mol Res.* 2014 Nov 28;13(4):10007-16. doi: 10.4238/2014.November.28.5.

Zhu J, Marcushamer M, King AL, Henry RJ. Supernumerary and congenitally missing teeth: a literature review. *J Clin Ped Dentistry.* 1996; 20(2): 87-95.

Zhu J, Yang X, Zhang C, Ge L, Zheng S. A novel nonsense mutation in PAX9 is associated with sporadic hypodontia. *Mutagenesis.* 2012 May;27(3):313-7. doi: 10.1093/mutage/ger080.

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



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 correspondências referentes a este projeto

Protocolo CEP = 040/2001

Processo nº 25000.125975/2001-60

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

Pesquisador Responsável: Dra. Ana Carolina Acevedo Poppe

Instituição: FCS / Universidade de Brasília / UNE

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

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 Amelogênese Imperfeita, Dentinogênese 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, ___/___/___

Responsável pelo paciente

Responsável pela pesquisa



Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/FS

PROCESSO DE ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

Registro do Projeto no CEP: 018/2008

CAAE: 0015.0.012.000-08

Título do Projeto: ESTUDO RETROSPECTIVO DA PREVALÊNCIA DE TAURODONTIA EM PACIENTES COM AGENESIA DENTÁRIA E FAMILIARES ATENDIDOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA.

Pesquisadora Responsável: Raquel Ribeiro Gomes

Data de entrada: 13/03/2008

Com base nas Resoluções 196/96, do CNS/MS, que regulamenta a ética da pesquisa em seres humanos, o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, após análise dos aspectos éticos e do contexto técnico-científico, resolveu **APROVAR** o projeto 018/2008 com o título: “Estudo retrospectivo da prevalência de Taurodontia em pacientes com agenesia dentária e familiares atendidos no Hospital Universitário de Brasília”, analisado na 6ª Reunião Ordinária, realizada no dia 09 de Julho de 2008.

A pesquisadora responsável fica, desde já, notificada da obrigatoriedade da apresentação de um relatório semestral e relatório final sucinto e objetivo sobre o desenvolvimento do Projeto, no prazo de 1 (um) ano a contar da presente data (item VII.13 da Resolução 196/96).

Brasília, 9 de Julho de 2008.

Prof. Volnei Garrafa
Coordenador do CEP-FS/UnB

Dental anomalies in primary dentition and their corresponding permanent teeth

R. R. Gomes · J. A. C. Fonseca · L. M. Paula ·
A. C. Acevedo · H. D. Mestrinho

Received: 30 April 2013 / Accepted: 26 August 2013
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013

Abstract

Objectives The objectives of this paper are to estimate the prevalence of dental anomalies in primary dentition in a sample of 2- to 5-year-old Brazilian preschool children, determine their distribution, and investigate their occurrence in the succedaneous teeth of the sample compared with a control group of children with no dental anomalies in the primary dentition.

Materials and methods The one-stage sample comprised 1,718 two to five-year-old children with fully erupted primary dentition clinically examined for dental anomalies. All children presenting dental anomalies underwent panoramic radiographs. Descriptive statistics were performed for the studied variables. A control group matched by sex and age was studied to compare the prevalence ratio for dental anomalies in the permanent dentition.

Results The prevalence of dental anomalies in the primary dentition was 1.8 %, with no significant statistical difference between sexes. Double teeth were the most frequently observed. Dental anomalies on the succedaneous permanent teeth were diagnosed in 54.8 % of the children with affected primary dentition. The prevalence ratio (PR) for dental

anomalies in the succedaneous permanent teeth was 17.1 (confidence interval (CI) 5.33–54.12) higher compared with the control group, higher in children with bilateral anomalies (PR=31.2, CI 10.18–94.36).

Conclusions An association between anomalies of the permanent dentition and the presence of dental anomalies in primary teeth was observed, especially when they occur bilaterally.

Clinical relevance The results in the present study have a clinical relevance in the diagnosis of children with dental anomalies in primary dentition. Early identification of these anomalies can aid the dentist in planning dental treatment at the appropriate time.

Keywords Dental anomalies · Double teeth · Permanent dentition · Primary teeth · Supernumerary teeth · Tooth agenesis

Introduction

Dental anomalies related to number and morphology may occur in the primary and permanent dentition [1–5]. Double teeth, tooth agenesis, supernumerary, and microdontia are the most frequent anomalies [6–10]. “Double teeth” is a term that describes a defect in which one tooth is conjoined with another. It is used to describe both fusion and gemination, because of the difficulty in distinguishing between these two conditions [9, 11–16]. Fusion of two teeth is defined as the partial union of two different dental germs, while gemination of one tooth is the partial division of a single dental germ. Dental fusion results in one tooth less than normal if the affected tooth is counted as one, while gemination results in the normal number of teeth [13, 16]. Double teeth are more prevalent in the primary dentition than in the permanent dentition, with no sex predilection. The prevalence rate for double teeth in the primary dentition varies from 0.5 to 4.1 % [7, 8, 10, 12, 14, 16,

R. R. Gomes · J. A. C. Fonseca · L. M. Paula · A. C. Acevedo ·
H. D. Mestrinho
Oral Care Center for Inherited Diseases, University Hospital of
Brasília, Brasília, Brazil

R. R. Gomes · J. A. C. Fonseca · L. M. Paula · A. C. Acevedo ·
H. D. Mestrinho
Department of Dentistry, School of Health Science,
University of Brasília, Brasília, Brazil

R. R. Gomes (✉)
Faculdade de Ciências da Saúde, Laboratório de Histopatologia
Bucal, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Avenida L2 Norte,
Brasília CEP: 72400-000, Brazil
e-mail: e_maildaraquel@yahoo.com.br

17], while it has been reported to be 0.42 % in the permanent dentition [18]. Primary fused teeth occur more commonly than geminated teeth [3, 19] and are distributed mainly unilaterally in the lower lateral incisor/canine region, whereas gemination affects more frequently the upper lateral incisor [7, 15, 16, 19]. Tooth agenesis is the congenital absence of one or more teeth. It has been reported to be more common in the permanent dentition, with prevalence rates ranging from 0.03 to 10.1 % [14, 20–23]. The prevalence rates of tooth agenesis in the primary dentition range from 0.2 to 2.3 % [7, 8, 10, 12, 14, 17]. It mainly affects the lateral incisor [7, 9, 13, 14]. Supernumerary tooth is the presence of additional teeth compared to the normal series [24, 25], with a prevalence rate varying from 0.07 to 1.7 % in the primary dentition [7, 8, 10, 12, 14, 17] and from 0.1 to 3.8 % in permanent dentition [8, 20, 26, 27]. Microdontia is characterized by marked reduction in a tooth's crown diameter, with the crown's incisal mesiodistal width being shorter than its cervical width. Prevalence rates in the primary dentition range from 0.1 to 0.6 % [6, 8–10, 17]. A relationship between microdontia and tooth agenesis in the permanent dentition has been suggested [8].

Studies have shown that a high percentage of the succedaneous permanent dentition present anomalies following the presence of primary dental anomalies [1, 3, 4, 13, 16, 19], suggesting that the presence of a dental anomaly in the primary dentition represents an increased likelihood of anomalies occurrence in the permanent dentition [5].

The aim of the present study is to estimate the prevalence of dental anomalies in the primary dentition of a sample of 2- to 5-year-old Brazilian preschool children, to determine their distribution and to investigate their occurrence in the permanent dentition of the sample compared with a control group of children with no dental anomalies in the primary dentition.

Subjects and methods

Ethics

The Ethical Committee of the University of Brasília, Brazil, approved the study protocol that has therefore been performed in accordance with the ethical standards laid down in the 1964 Declaration of Helsinki. The nursery schools granted authorization to carry out clinical examinations, and written informed positive consent was obtained from the children's parents.

Sample

The original sample was drawn for a study on caries trends in Brazilian preschool children ($n=2,511$) residing in the Federal District of Brazil. Details of the size and sampling methodology have been published previously elsewhere [28, 29]. Briefly, since no previous data on the prevalence of dental

anomalies in 2- to 5-year-old residents in the Federal District of Brazil were available, the sample size was estimated based on the prevalence of dental anomalies in 400 children who were initially examined. The one-stage sample comprised 1,718 two- to five-year-old children with fully erupted primary dentition and attending 20 nursery schools. All children presenting dental anomalies in the clinical examination performed panoramic radiographs in Rotograph Plus® equipment, Villa Medical System, Italy at the University Hospital of Brasília (HUB).

Control group

Panoramic radiographs of children without dental anomalies in their primary dentition attending the Dental Clinic of the HUB were randomly chosen as control group matched by sex and age, with three controls to each child with dental anomaly to determine the presence of dental anomalies in the permanent dentition.

Clinical examination

Two examiners (RRG and JACF) made the clinical and radiographic assessments. At the time of the study, the examiners had 2 years training at the Oral Care Center for Inherited Diseases of the University Hospital of Brasília, Brazil.

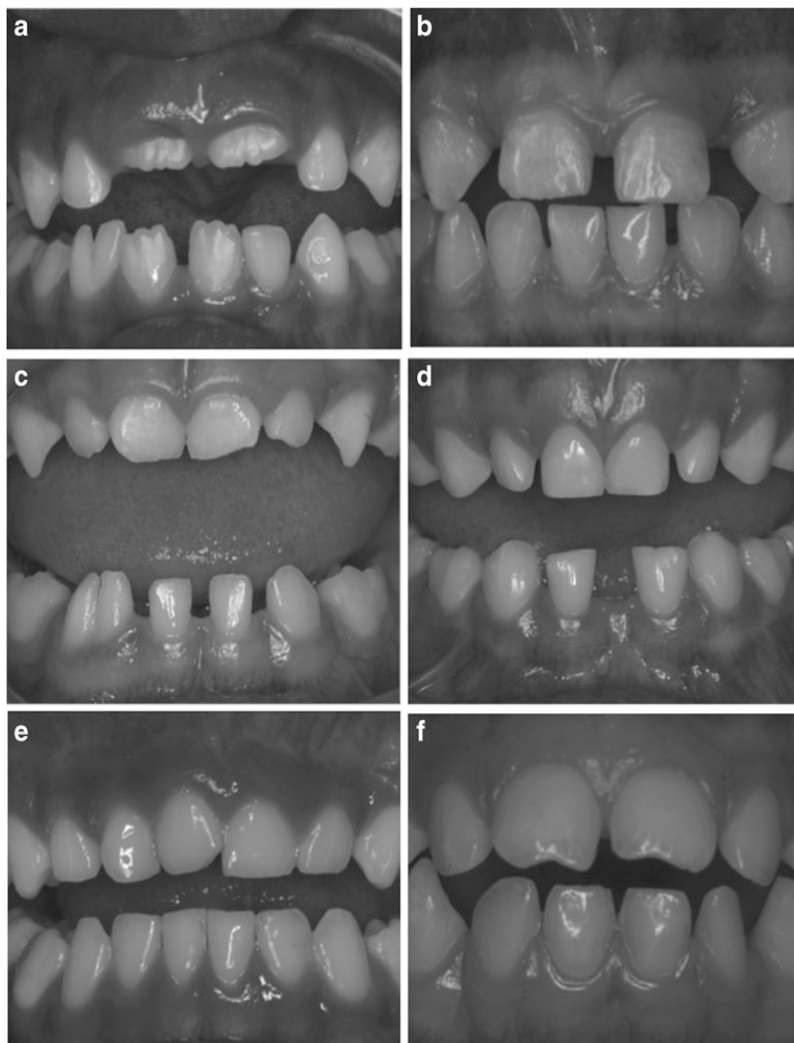
Dental anomalies

Were diagnosed according to the following criteria: double teeth, when one tooth is conjoined with another (fusion was diagnosed when the affected double tooth was counted as one and the result was one tooth less than normal; gemination was diagnosed when the affected double tooth was counted as one and the result was the normal number of teeth); tooth agenesis

Table 1 Distribution of the children according to sex and prevalence of dental anomalies in primary dentition

Dental anomaly in primary dentition	Boys, n (%)	Girls, n (%)	Total, n (%)
Total	817 (47.5)	903 (52.5)	1,718 (100)
Absent	803 (46.7)	886 (51.5)	1,689 (98.2)
Present	14 (0.82)	17 (0.98)	31 (1.80)
Double teeth	8 (0.46)	9 (0.52)	17 (0.98)
Fusion	7 (0.40)	7 (0.40)	14 (0.80)
Gemination	1 (0.06)	2 (0.12)	3 (0.18)
Tooth agenesis	1 (0.06)	4 (0.24)	5 (0.29)
Double teeth and tooth agenesis	1 (0.06)	1 (0.06)	2 (0.12)
Supernumerary	3 (0.18)	2 (0.12)	5 (0.29)
Microdontia	1 (0.06)	1 (0.06)	2 (0.12)

Fig. 1 **a** Double teeth involving primary mandibular right incisor/canine region. **b** Bilateral tooth agenesis of the primary maxillary lateral incisors. **c** Double teeth involving primary mandibular right incisor/canine region and tooth agenesis of the contralateral incisor. **d** Double teeth involving primary mandibular left lateral-central incisors and agenesis of the contralateral lateral incisor. **e** Supernumerary primary maxillary right lateral incisor. **f** Primary mandibular left microdent lateral incisor



was considered when a tooth was absent, excluding history of extraction or loss due to trauma; supernumerary teeth were diagnosed if an additional tooth to those of the normal series was detected; and microdontia were considered when the incisal mesio-distal width of the tooth's crown was shorter than its cervical width. Dental anomalies were examined in all primary teeth in the mouth. The same criteria were used to diagnose dental anomalies in the permanent dentition analyzed on the panoramic radiographs. The possibility of association with any syndrome or systemic disease was excluded whenever dental anomalies were diagnosed.

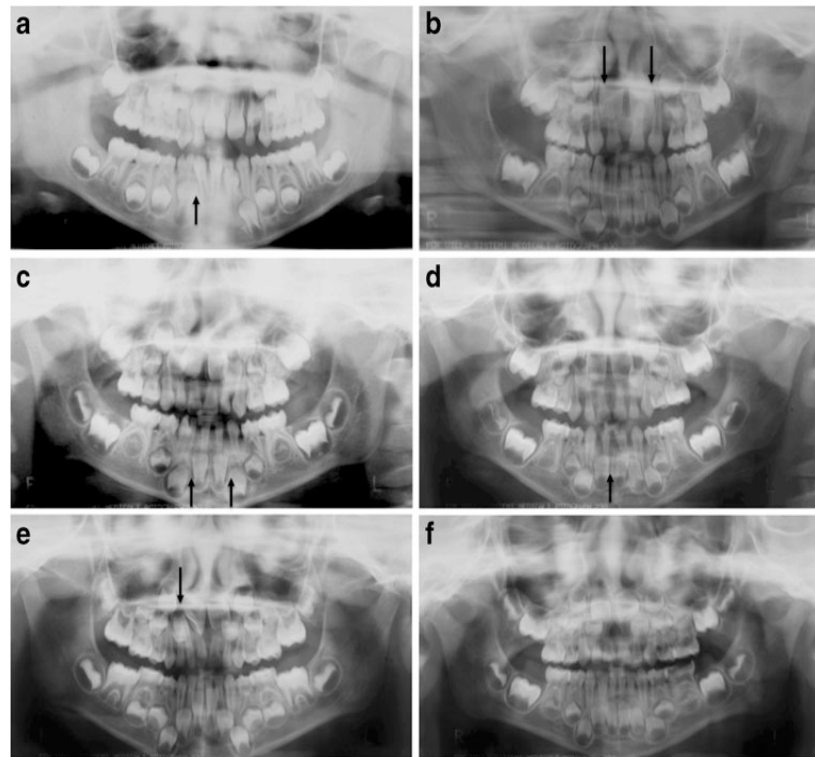
Statistical analysis

Descriptive statistics were performed and the data were analyzed for frequency, sex, type of dental anomaly, distribution

Table 2 Dental anomalies in primary dentition and presence of anomalies in permanent successors

Dental anomaly	Primary dentition <i>n</i>	Anomalies in permanent	
		<i>n</i>	%
Double teeth			
Fusion	14	8	57.1
Gemination	3	0	0
Tooth agenesis	5	4	80
Double teeth and tooth agenesis	2	2	100
Supernumerary	5	3	60
Microdontia	2	0	0
Total	31	17	54.8

Fig. 2 **a** Panoramic radiograph of the child in Fig. 1a showing agenesis of the succedaneous mandibular right lateral incisor. **b** Panoramic radiograph of the child in Fig. 1b showing agenesis of the succedaneous maxillary lateral incisors. **c** Panoramic radiograph of the child in Fig. 1c showing agenesis of the succedaneous permanent mandibular lateral incisors. **d** Panoramic radiograph of the child in Fig. 1d presenting agenesis of the succedaneous permanent mandibular right lateral incisor. **e** Panoramic radiograph of the child in Fig. 1e showing supernumerary permanent maxillary right lateral incisor. **f** Panoramic radiograph of child presenting gemination of the primary mandibular right lateral incisor with permanent dentition no affected



in the jaws, type of tooth involved, and dentition affected. The difference in the prevalence between sexes was tested with the Chi-square test at a level of significance of 0.05. The prevalence ratio (PR) was estimated with a 95 % confidence interval (CI) for children with dental anomalies in the primary dentition also presenting dental anomalies on the permanent successors when compared with the control group.

Results

Dental anomalies in the primary dentition were observed in 1.8 % of the children. The distribution of children according to sex and prevalence of dental anomalies in the primary dentition are presented in Table 1. Anomalies were observed in 31 children, with no significant statistical difference between sexes. No posterior primary teeth were affected. Figure 1 illustrates the dental anomalies in primary dentition found in this study. The panoramic radiographs of the 31 children with dental anomalies in the primary dentition revealed that 17 children (54.8 %) also had anomalies of the succedaneous permanent teeth (Table 2). Figure 2 shows panoramic radiographs with examples of the dental anomalies in the primary and permanent dentition. Ninety-three children composed the control group, three of whom (3.2 %) presented dental anomalies in the permanent dentition.

The most prevalent dental anomaly observed in primary dentition was double teeth. Fusion was diagnosed in 14 children, which accounted for 82.4 % of double teeth, and gemination in three (17.6 %). Tooth agenesis of the permanent successors was the most frequent anomaly observed in seven

Table 3 Distribution of fusion in primary dentition according to jaw, side, teeth involved, and frequency of anomalies in the permanent successors

Fusion	Anomalies in permanent		
	n	n	%
Unilateral	13	7	53.8
Mandible	11	6	54.5
Maxilla	2	1 ^a	50.0
Right	8	4	50.0
Left	5	3	60.0
Teeth involved			
Mandibular lateral incisor and canine	7	5	71.4
Mandibular central and lateral incisor	4	1	25.0
Maxillary central and lateral incisor	2	1	50.0
Bilateral mandibular lateral incisor and canine	1	1	100.0
Total	14	8	57.1

^a Fusion of maxillary central and lateral incisors of the permanent successors

Table 4 Prevalence ratio (PR) of dental anomalies in succedaneous permanent teeth in children with dental anomalies in primary dentition when compared with the control group

Primary dentition	Permanent dentition			
	Anomaly	Prevalence (%)	PR	95 % CI
Overall	Overall	54.8	17.1	5.33–54.12
Unilateral	Overall	44.0	13.7	3.26–38.17
Bilateral	Overall	100.0	31.2	10.18–94.36
Double teeth				
Fusion	Tooth agenesis	50.0	46.7	6.17–350.02
Fusion	Fusion	7.1	2.2	0.24–19.83
Gemination	–	0	–	–
Tooth agenesis	Tooth agenesis	80.0	74.7	10.09–548.67
Double teeth and tooth agenesis	Tooth agenesis	100.0	93.4	13.24–653.27
Supernumerary	Supernumerary	60.0	28.1	5.94–130.99
Microdontia	–	0	–	–

children (50 %). In all cases, the missing permanent tooth was the lateral incisor. It appeared to be related to the teeth involved in the fusion, mainly observed in cases involving mandibular lateral incisor and canines (71.4 %). The distribution of fusion in the primary dentition according to jaw, side, teeth affected, and frequency of anomalies on the permanent successors are shown in Table 3. No alterations on permanent teeth were seen following the three cases of gemination.

In all cases of tooth agenesis in the primary dentition, the missing tooth was the lateral incisor. All children with maxillary tooth agenesis in the primary dentition also showed agenesis of the permanent succedaneous teeth while only one child with mandibular unilateral tooth agenesis exhibited normal dentition on radiographic examination. In addition, the radiographs of the two children exhibiting double teeth involving the mandibular lateral incisor and canine in combination with agenesis of the contralateral lateral incisor also presented bilateral mandibular lateral incisor agenesis in the permanent dentition.

The supernumerary teeth in primary dentition were single and located in the lateral incisor region, four maxillary and one mandibular. Radiographs of the children with maxillary supernumerary revealed the presence of a permanent supernumerary lateral incisor in two cases. No anomaly was observed in the permanent dentition following the case of mandibular supernumerary tooth.

In this study, bilateral dental anomalies were detected in six children and all of them (100 %) also presented alterations in the permanent dentition: bilateral tooth agenesis in five children and unilateral tooth agenesis in one. It was noted that nine children (44 %) with unilateral dental anomalies in the primary dentition also presented dental anomalies in the permanent dentition, whereas only three (3.2 %) presented them in the control group: one girl with agenesis of both maxillary lateral incisors (1.07 %) and two boys with conical-shaped supernumerary tooth (2.13 %) in the middle region of the maxilla (*mesiodens*). In all cases, the prevalence ratios for dental anomalies in

Table 5 Prevalence of dental anomalies in primary dentition in different geodemographic regions

Reference	Sample (country)	Overall	Double teeth	Tooth agenesis	Supernumerary	Microdontia
This study	1,718 (Brazil)	1.8	0.98	0.29	0.29	0.12
Grahnén and Granat [1]	1,173 (Sweden)	1.2	0.5	0.4	0.3	–
Whittington and Durward [4]	1,680 (New Zealand)	1.4	0.84	0.36	0.18	–
Kramer et al. [6]	1,260 (Brazil)	2.5	1.3	0.6	0.3	0.3
Chen et al. [7]	2,611 (Taiwan)	5	3	2	<1	–
Brook [8]	741 (England)	3.2	1.6	0.3	0.8	0.5
Carvalho et al. [9]	750 (Belgium)	1.8	0.6	0.4	0.8	0.1
Kapdan et al. [10]	1,149 (Turkey)	2	1.3	0.2	0.3	0.5
Ravn [12]	4,564 (Denmark)	2.1	0.9	0.6	0.6	–
Magnússon [14]	572 (Iceland)	1.7	0.7	0.5	0.5	–
Yonezu et al. [17]	2,733 (Japanese)	7.2	4.1	2.38	0.07	0.55

Table 6 Frequency in percentage of the dental anomalies on permanent succedaneous teeth in children with dental anomalies in primary dentition

Reference	Cases (n)	Overall	Fusion	Gemination	Tooth agenesis	Supernumerary
This study	31	54.8	50.0	0.0	80.0	60.0
Nik-Hussein and Majid [3]	65	63.0	50.0	50.0	100.0	50.0
Whittington and Durward [4]	23	60.9	33.3	50.0	100.0	66.6
Marinelli et al. [5]	189	71.9	88.7	45.0	95.6	60.7
Ravn [12]	90	54.8	50.0	14.2	80.0	33.0
Gellin [13]	64	61.0	58.0	0.0	89.0	63.0

the succedaneous permanent teeth were higher in children with dental anomalies in the primary dentition when compared with the control group (Table 4).

Discussion

The present study aimed to investigate the prevalence and distribution of dental anomalies in the primary dentition in a sample of Brazilian preschool children, and their subsequent occurrence on the succedaneous permanent teeth. The observed prevalence of 1.8 % was among the rates previously reported in other geodemographic regions (Table 5). The distribution of the dental anomalies showed no statistical difference between genders. They were restricted to the anterior region of both maxilla and mandible with the lateral incisor teeth most commonly involved. Anomalies of the corresponding succedaneous permanent teeth were present in 54.8 % of the children whose primary dentition was affected. All children with bilateral dental anomalies in primary dentition also presented them on the succedaneous permanent teeth.

These results are consistent with the published literature and also suggest that there is an association between anomalies of the permanent dentition and the presence of dental anomalies in primary teeth [1, 3–5, 12, 13, 16, 19]. The prevalence ratios for dental anomalies in the succedaneous permanent teeth were higher in children with dental anomalies in the primary dentition when compared with the control group for all dental anomalies studied. However, each type of primary dentition anomaly should be analyzed individually, because they are associated with distinct effects in permanent dentition [6](Table 6).

Fusion in the primary dentition has been correlated with congenital absence of the succedaneous permanent teeth [3–5, 13]. Gemination, however, does not usually cause anomalies in the permanent dentition [3, 13, 19]. Tooth agenesis has been reported as the dental anomaly in the primary dentition that almost systematically re-presented itself in the permanent dentition [5]. A frequency ranging from 80 to 100 % of repetition of tooth agenesis in the

permanent dentition has been reported [3–5, 12, 13]. According to our study, it occurs in 100 % of the cases when tooth agenesis is bilateral, which is in consistent with previous reports [12, 13]. Although supernumerary teeth in the primary dentition should not be considered a strong risk factor for hyperdontia in the permanent dentition [5], its frequency was higher in the children with supernumerary teeth in primary dentition than in the control group in this study. The frequency of supernumerary teeth in the control group was similar to the frequency of 3.36 % reported in other Brazilian children [27]. In addition, microdontia did not affect the development of permanent dentition in the studied population.

Although a low prevalence of dental anomalies in primary dentition appear to have little consequence in oral health of preschool children, in most of the cases, the development of permanent teeth will be affected [3, 4, 13]. Therefore, aesthetics and occlusion impairment such spacing or crowding of the teeth, deficient facial profile, loss of arch length, midline deviation can be observed as well as delayed or ectopic eruption, caries along fusion lines, and periodontal problems may be other clinical consequences to be considered [4, 13]. The identification of these anomalies at an early age is of great importance for planning appropriate dental care [3, 9, 14]. Radiographs are recommended where anomalies in the primary dentition are noted in order to determine the number and condition of the succedaneous permanent teeth. Direct intervention will not be required in the primary dentition in most of the cases; however, early diagnosis can help to prevent complications, plan for treatment at appropriate time, improve the long-term prognosis and, in certain instances, allow less extensive intervention [4, 6, 7, 13, 14].

Acknowledgments We are grateful to the parents that allowed their children to participate on this study. We thank André Ferreira Leite for his assistance in the statistical analysis. The study was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—CAPES Foundation.

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Grahn H, Granath LE (1961) Numerical variation in primary dentition and their correlation with the permanent dentition. *Odont Revy* 12:348–357
- Järvinen S, Lehtinen L (1981) Supernumerary and congenitally missing primary teeth in Finnish children. *Acta Odontol Scand* 39:83–86
- Nik-Hussein NN, Abdul Majid Z (1996) Dental anomalies in the primary dentition: distribution and correlation with the permanent dentition. *J Clin Pediatr Dent* 21:15–19
- Whittington BR, Durward CS (1996) Survey of anomalies in primary teeth and their correlation with the permanent dentition. *N Z Dent J* 92:4–8
- Marinelli A, Giuntini V, Franchi L, Tollaro I, Baccetti T, Defraia E (2012) Dental anomalies in the primary dentition and their repetition in the permanent dentition: a diagnostic performance study. *Odontology* 100:22–27
- Kramer PF, Feldens CA, Ferreira SH, Spiguel MH, Feldens EG (2008) Dental anomalies and associated factors in 2- to 5-year old Brazilian children. *Int J Paediatr Dent* 18:434–440
- Chen YH, Cheng NC, Wang YB, Yang CY (2010) Prevalence of congenital dental anomalies in the primary dentition in Taiwan. *Pediatr Dent* 32:525–529
- Brook AH (1984) A unifying aetiological explanation for anomalies of human tooth number and size. *Arch Oral Biol* 29:373–378
- Carvalho JC, Vinker F, Declerck D (1998) Malocclusion, dental injuries and dental anomalies in the primary dentition of Belgian children. *Int J Paediatr Dent* 8:137–141
- Kapdan A, Kustarci A, Buldur B, Arslan D, Kapdan A (2012) Dental anomalies in the primary dentition of Turkish children. *Eur J Dent* 6: 178–183
- Brook AH, Winter GB, Double teeth (1970) A retrospective study of geminated and fused teeth in children. *Br Dent J* 129:123–130
- Ravn JJ (1971) Aplasia, supernumerary teeth and fused teeth in the primary dentition. *Scand J Dent Res* 79:1–6
- Gellin MF (1984) The distribution of anomalies of primary anterior teeth and their effect on the permanent successors. *Dent Clin North Am* 28:69–80
- Magnusson TE (1984) Hypodontia, hyperodontia, and double formation of primary teeth in Iceland. An epidemiological study. *Acta Odontol Scand* 42:137–139
- Aguiló L, Candia JL, Cibrian R, Cátala M (1999) Primary double teeth: a retrospective clinical study of their morphological characteristics and associated anomalies. *Int J Paediatr Dent* 9:175–183
- Wu CW, Lin YT, Lin YT (2010) Double primary teeth in children under 17 years old and their correlation with permanent successors. *Chang Gung Med J* 33:188–193
- Yonezu T, Hayashi Y, Sasaki J, Machida Y (1997) Prevalence of congenital dental anomalies of the deciduous dentition in Japanese children. *Bull Tokyo Dent Coll* 38:27–32
- Hamasha AA, Al-Khateeb T (2004) Prevalence of fused and geminated teeth in Jordanian adults. *Quintessence Int* 35:556–559
- Razak IA, Nik-Hussein NN (1986) A retrospective study of double teeth in the primary dentition. *Ann Acad Med Singapore* 15:393–396
- Davis PJ (1987) Hypodontia and hyperodontia of permanent teeth in Hong Kong school children. *Community Dent Oral Epidemiol* 15: 218–220
- Polder BJ, Van't Hof MA, Van der Linden FPGM, Kuijpers-Jagtman AM (2004) A meta-analysis of the prevalence of dental agenesis of permanent teeth. *Community Dent Oral Epidemiol* 32:217–226
- Mattheeuws N, Dermaut L, Martens G (2004) Has hypodontia increased in Caucasians during the 20th century? A meta-analysis. *Euro J Ortho* 26:99–103
- Gomes RR, Fonseca JAC, Paula LM, Faber J, Acevedo AC (2010) Prevalence of hypodontia in orthodontic patients in Brasilia, Brazil. *Euro J Ortho* 32:302–306
- Rajab LD, Hamdan MA (2002) Supernumerary teeth: review of the literature and a survey of 152 cases. *Int J Paediatr Dent* 12:244–254
- De Oliveira GC, Drummond SN, Jham BC, Abdo EN, Mesquita RA (2008) A survey of 460 supernumerary teeth in Brazilian children and adolescents. *Int J Paediatr Dent* 18:98–106
- Brabant H (1967) Comparison of the characteristics and anomalies of the deciduous and the permanent dentitions. *J Dent Res* 46:897–902
- Primo LG, Wilhelm RS, Bastos EPS (1997) Frequency and characteristics of supernumerary teeth in Brazilian children: consequences and proposed treatments. *Rev Odontol Univ São Paulo* 11:231–237
- Carvalho JC, Figueiredo MJ, Vieira EO, Mestrinho HD (2009) Caries trends in Brazilian non-privileged preschool children in 1996 and 2006. *Caries Res* 43:2–9
- Carvalho JC, Silva EF, Gomes RR, Fonseca JA, Mestrinho HD (2011) Impact of enamel defects on early caries development in preschool children. *Caries Res* 45:353–360

Available online at www.sciencedirect.com

SciVerse ScienceDirect

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/aob>

Taurodontism in Brazilian patients with tooth agenesis and first and second-degree relatives: A case–control study

Raquel R. Gomes, Clarissa D. Habckost, Larissa G. Junqueira, André F. Leite, Paulo T. Figueiredo, Lílían M. Paula, Ana C. Acevedo*

Oral Care Center for Inherited Diseases, University Hospital of Brasilia, Department of Dentistry, School of Health Science, University of Brasilia, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:
Accepted 22 April 2012

Keywords:
Taurodontism
Familial tooth agenesis
Hypodontia
Oligodontia
Dental anomalies

ABSTRACT

Aim: An association between tooth agenesis and taurodontism has been suggested. To verify if tooth agenesis and taurodontism are associated within families and specific patterns of tooth agenesis, this study aims to compare the frequency of taurodontism in patients with nonsyndromic familial tooth agenesis, their first and second-degree relatives with complete permanent dentition and a control group of unrelated healthy individuals with complete permanent dentition.

Materials and methods: Panoramic radiographs of patients with nonsyndromic familial tooth agenesis, their first and second-degree relatives and a control group of individuals with complete permanent dentition were examined. Taurodontism was assessed on permanent mandibular first molars. The difference in the frequency of taurodontism among the studied groups was tested with Fisher's Exact Test.

Results: Seventeen families with nonsyndromic familial tooth agenesis were studied. The frequency of taurodontism was 29% in patients with tooth agenesis, 10.3% in their first and second degree relatives, and 6.6% in the control group. A significant statistical difference among the studied groups was observed ($p = 0.002$). Taurodontism was proportionally more frequent in patients with a higher number of absent teeth. It was mainly observed in patients from families in which the proband was diagnosed with oligodontia.

Conclusions: Taurodontism is more frequent in nonsyndromic familial tooth agenesis. Individuals in families with second premolar and molar oligodontia are more likely to have taurodontism, even the individuals with complete dentition. This association could define a subphenotype for future genetic studies of dental development.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Taurodontism (Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) No. 272700) is an alteration in the internal morphology of the pulp chamber resulting in an apical extension of the pulp chamber extending into the root area in a multiradicular tooth. Taurodontic teeth display proportionately short roots

and enlarged pulp chamber.^{1,2} In the general population, the reported prevalence of taurodontism ranges from 0.2% to 11.3%, with no statistical difference between genders. Taurodontism affects molars and premolars in both primary and permanent dentitions. It may affect a single tooth or multiple teeth, either unilaterally or bilaterally.³

Taurodontism has been found to occur as an isolated trait with familial tendency⁴ or as a feature in a wide variety of

* Corresponding author. Tel.: +55 61 84275398.

E-mail address: raquelribeirogomes@gmail.com (A.C. Acevedo).
0003-9969/\$ – see front matter © 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2012.04.006>

multiple-system malformation syndromes, especially in conditions affecting epithelial-derived tissues such as Ectodermal Dysplasia, Trichodonto-osseous (TDO) Syndrome, Down's Syndrome,^{5–7} Klinefelter Syndrome⁸ and X-linked hypophosphatemic rickets.⁹ The trait has been suggested to be inherited as autosomal recessive,⁴ autosomal dominant¹⁰ and also has been pointed out as an association of taurodontism with X-chromosome aneuploidy.⁹ Taurodontism has been found in association with other dental anomalies such as amelogenesis imperfecta and tooth agenesis.^{2,11–18}

The aetiology of taurodontism is still unclear. The consensus is that this condition results from a developmental disturbance in the Hertwig's epithelial root sheath.^{2,9} Failure or delay of the ectomesenchyme to induce the epithelium of the root sheath, or failure of the response of the epithelium could result in the delay in the morphogenesis of roots of teeth.¹³ Root morphogenesis is under strict molecular regulation that determines cell lineage and fate, tissue composition and structure, and morphology.^{19,20} It regards a series of complex processes involving epithelial- and mesenchymal-derived tissues that interact through molecular signalling and develop terminally differentiated cells that secrete unique extracellular matrices and control the microenvironment so that the root-associated tissues can mineralize. Several mice studies indicate numerous transcription and growth factors that are expressed by cells involved in root morphogenesis, for example, *Shh*, *Dlx2*, *Patched2*, *Patched1*, *Nfic*, *Gli1* and *Smoothed*. Nevertheless, little is known about the molecular mechanisms of root morphogenesis.²¹ The genetics of taurodontism is likely to be polygenic. At present, mutations in the distal-less homeobox gene (*DLX3*) expressed during root morphogenesis have been associated with taurodontism in TDO Syndrome and in families with autosomal dominant amelogenesis imperfecta.^{10,22}

Tooth agenesis is the most common developmental tooth abnormality in humans. It is defined as the lack of deciduous and/or permanent teeth due to disturbances on odontogenesis. It most commonly involves third molars, affecting 10–25% of the general population.²³ Excluding third molars, the second most affected group of teeth is either the lower second premolars or upper lateral incisors with a frequency between 3.4% and 10.1% depending on the studied population. A higher significant prevalence of tooth agenesis in females has been suggested.²⁴

The diagnosis of tooth agenesis in the permanent dentition should be made after the age of 6²⁵ excluding third molars, and after the age of 10 years if third molars are also studied.²⁶ Tooth agenesis has a strong genetic component.^{17,27–29} It may occur as sporadic cases, as familial trait, as an isolated condition or as part of other syndromes.³⁰ It may be classified as hypodontia, oligodontia, or anodontia. Hypodontia is a term used to describe the absence of one to six teeth, whereas the term oligodontia is applied to agenesis of more than six teeth excluding third molars.²³ The absence of all teeth is termed anodontia and is a rare condition associated with syndromes.¹³ The expression 'severe hypodontia' is also used to describe the absence of four or more teeth.^{31–33}

Several tooth anomalies have been reported to be associated with tooth agenesis: small tooth size,^{34–38} peg-shaped upper lateral incisors,³⁹ malpositions of canines,^{40,41} rotation

of premolars and maxillary lateral incisors⁴² and taurodontism.¹² These anomalies were also observed at higher than normal frequency in relatives affected with hypodontia.¹⁷ It has been shown that the teeth in relatives of patients with oligodontia might show reductions in size, even in relatives with complete permanent dentition.⁴³

The aetiology of tooth agenesis is suggested to be multifactorial, with involvement of environmental and genetic factors.^{44,45} The strong genetic basis of tooth agenesis is supported by molecular studies of familial autosomal dominant tooth agenesis associated with mutations in genes expressed in early tooth development such as *PAX9*, *MSX1*, *AXIN2* and *EDA*.⁴⁶ The reports of families with known gene mutations segregating with tooth agenesis do not describe associated taurodontism.

Therefore, in order to verify if tooth agenesis and taurodontism are associated within families and specific patterns of tooth agenesis, the aim of the present study was to compare the frequency of taurodontism in: (1) patients with nonsyndromic familial tooth agenesis, (2) their first and second-degree relatives with complete permanent dentition and (3) a control group of unrelated healthy individuals with complete permanent dentition.

2. Materials and methods

The present study was approved by the Research Ethics Committee of the Faculty of Health Sciences, University of Brasilia, Brazil. All participants in the present study have signed an informed consent.

2.1. Subjects

Patients with nonsyndromic familial tooth agenesis and their first and second-degree relatives with complete permanent dentition were examined. All subjects were examined in the Oral Care Center for Inherited Diseases, University Hospital of Brasilia, Brazil, from March 2002. Panoramic radiographs of 124 patients with tooth agenesis and their relatives were collected. Radiographs of patients of both sexes, with ages ranging from 11 to 41 years with permanent mandibular first molars presenting complete root formation were included. Radiographs with permanent mandibular first molars presenting image of extensive caries or restorations were excluded. Sixty radiographs were suitable for assessing taurodontism.

2.2. Controls

Panoramic radiographs of 180 unrelated healthy individuals with complete permanent dentition were used as control. The control group was paired by sex and age being three individuals from the control group to each patient and relative.

2.3. Diagnosis criteria

2.3.1. Taurodontism

Taurodontism was analysed on permanent mandibular first molars according to the criteria described by Seow and Lai.¹²

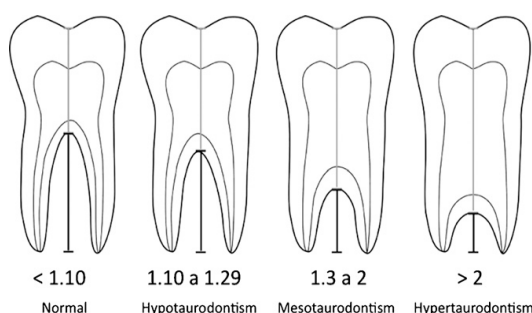


Fig. 1 – Classification of taurodontism according to crown body-root ratio (CB:R).

The tooth was considered as taurodontic when the crown body-root ratio (CB:R) was equal or greater than 1:1.10. The molars were classified as normal, hypotaurodont, mesotaurodont, or hypertaurodont depending on the amount of apical displacement of the floor of the pulp chamber (Fig. 1). A molar was classified as hypotaurodont if the CB:R was within the range 1.10–1.29. Mesotaurodontism was defined as a CB:R within the range 1.30–2.00 and hypertaurodontism if CB:R > 2.00. Pyramidal teeth, defined as molars with a fused, single conical root,¹ were also analysed. To assess crown-root ratios, the radiographs were digitalized at a resolution of 300 dpi and the measurements were performed by one examiner (CHDB) using Image Pro-Express software version 5.0 (Media Cybernetics Inc., Bethesda, MD, USA).

2.3.2. Tooth agenesis

Tooth agenesis was registered when a tooth was absent on the panoramic radiograph, excluding a history of loss due to trauma or extraction. All permanent teeth were investigated, including third molars. Third molar agenesis was diagnosed to differentiate individuals with complete dentition from individuals with only third molar agenesis. Hypodontia was diagnosed when one to six teeth were absent, excluding the third molars. Oligodontia was diagnosed if more than six teeth were absent, excluding the third molars.

2.4. Statistical analysis

Data were analysed using the SPSS (Statistical Package Social Software) at a level of significance set at $p = 0.05$. The difference in the frequency of taurodontism among the studied groups was tested with Fisher's Exact Test. The Relative Risk (RR) was used to measure familial aggregation of taurodontism. The RR was estimated with 95% confidence interval for patients with tooth agenesis and relatives with complete dentition also to be affected with taurodontism when compared with the general population using a prevalence rate of 1.6%.⁴⁷ The difference in the crown body-root ratio among the studied groups was tested with One Way ANOVA Test (Post Hoc Tukey Test). The difference in the frequency of taurodontism between sexes was tested with the Chi-Square Test. To verify intraexaminer concordance 20% of the tooth measurements (permanent mandibular first molars)

Table 1 – The distribution by sex of the patients with tooth agenesis, their first and second-degree relatives with complete permanent dentition and the control group.

	Distribution		
	Male	Female	Total
Patients with tooth agenesis	17 (54.8%)	14 (45.2%)	31
First and second-degree relatives	15 (51.7%)	14 (48.3%)	29
Control	96 (53.3%)	84 (46.7%)	180

were reanalysed after 14 days by the same examiner. The Kappa statistic was used to determine intraexaminer concordance. The Kappa statistic for intraexaminer concordance was found to be 1 for the right permanent mandibular first molar and 0.86 for the left permanent mandibular first molar.

3. Results

Seventeen families with nonsyndromic familial tooth agenesis were studied. Nine families presented hypodontia and eight families had individuals diagnosed with oligodontia. Table 1 shows the distribution of the individuals in this study. In the families with hypodontia, the missing teeth were: one or more incisors in five families, second premolars and incisors in three, and both second premolars and second molars in one. In families with oligodontia, inter- and intra-familial variations in the number of missing teeth were observed, however all teeth groups were affected by agenesis, except for maxillary central incisors. The results of the frequency of taurodontism in the studied groups are summarized in Tables 2–5. A significant statistical difference in the frequency of taurodontism among the studied groups was observed ($p = 0.002$). The frequency of taurodontism was higher in patients with nonsyndromic familial tooth agenesis. The risk for a patient with tooth agenesis to have taurodontism was 18.12 times higher than for an individual from the general population (95% CI 5.43–60.45). Moreover, taurodontism in these patients' first and second-degree relatives with complete permanent dentition was also more frequent than in the control group (Table 2). The risk for a relative with complete dentition to have taurodontism was 6.43 times higher than for an individual from the general population (95% CI 1.92–21.43). A statistical difference in the crown body-root ratio among the studied groups was observed ($p = 0.019$). Patients with nonsyndromic

Table 2 – The frequency of taurodontism by sex.

	Taurodontism		
	Male n (%)	Female n (%)	Total n (%)
Patients with tooth agenesis (n = 31)	4 (12.9)	5 (16.1)	9 (29.0)
First and second-degree relatives (n = 29)	3 (10.3)	0 (0.0)	3 (10.3)
Control (n = 180)	6 (3.3)	6 (3.3)	12 (6.6)

Table 3 – The frequency of unilateral and bilateral taurodontism and the distribution of the types of taurodontism.

	Taurodontism			
	Unilateral n (%)	Bilateral n (%)	Hypo n (%)	Meso n (%)
Patients with tooth agenesis (n = 31)	5 (16.1)	4 (12.9)	7 (22.5)	2 (6.4)
First and second-degree relatives (n = 29)	2 (6.8)	1 (3.4)	3 (10.3)	0 (0.0)
Control (n = 180)	12 (6.6)	0 (0.0)	9 (5.0)	3 (1.6)

Table 4 – The frequency of taurodontism according to the classification of tooth agenesis.

Classification of tooth agenesis	Taurodontism		Total
	Present n (%)	Absent n (%)	
Third molar agenesis	1 (11.1)	8 (88.9)	9
Hypodontia	4 (26.7)	11 (73.3)	15
Oligodontia	4 (57.2)	3 (42.8)	7
Total	9 (29.0)	22 (71.0)	31

familial tooth agenesis exhibited CB:R higher than their first and second-degree relatives with complete permanent dentition and also higher than the control group. No significant statistical difference was observed between sexes. The unilateral and bilateral frequency of taurodontism is shown in Table 3. In the control group, only unilateral taurodontism was observed. There was no difference in the distribution of taurodontism between the left and the right side. Only hypotaurodontism and mesotaurodontism were diagnosed in the studied sample (Table 3). There was no case of hypertaurodontism, pyramidal or single-rooted permanent mandibular first molars. Taurodontism was proportionally more frequent in patients with a higher number of absent teeth (Table 4). It was mainly observed in patients from families in which the proband was diagnosed with oligodontia (Table 5). Table 6 shows the distribution of individuals within the families according to the classification of tooth agenesis, type of missing teeth and the presence of taurodontism. The frequency of taurodontism in nonsyndromic familial oligodontia was statistically higher than in the control group ($p = 0.001$). In this families, individuals with taurodontism had mainly second premolars, second and third molars missing. One family with the proband diagnosed with oligodontia

presented tooth agenesis and taurodontism segregating in an autosomal-dominant inheritance mode (Fig. 2).

4. Discussion

In the seventeen families with nonsyndromic familial tooth agenesis in this study, taurodontism of one or two first permanent mandibular molars was more frequent in patients with tooth agenesis and their first and second-degree relatives with complete permanent dentition than in the control group. Whilst the frequency of taurodontism in patients with tooth agenesis in this study is comparable to the reported in Brazilian⁴³ and other geodemographic patients with hypodontia¹² and oligodontia¹³ that used the same taurodontism diagnostic criteria, the frequency of taurodontism in first and second-degree relatives with complete dentition was higher when compared to the control group, to another Brazilian populations^{48,49} and to the prevalence reported in the literature.^{10,50,51}

Several studies have investigated the association of other tooth anomalies in patients with tooth agenesis, however only a few have studied more specifically its association with taurodontism.^{12,13,17,18,47-49,51,52} Arte et al.¹⁷ studied the frequency of anomalies in familial incisor-premolar hypodontia. They concluded that hypodontia was associated with taurodontism because the frequency of taurodontism was statistically higher in both probands ($p = 0.003$) and family members with hypodontia ($p = 0.048$) compared to the control sample. They concluded that the results were not statistically significant in separate groups of relatives, however they did not distinguish between relatives with and without hypodontia when comparing first and second-degree relatives. In our study, patients with tooth agenesis were distinguished from relatives with complete dentition. The results showed

Table 5 – The frequency of taurodontism within the families according to the classification of tooth agenesis.

Subjects	Families with tooth agenesis					
	Hypodontia			Oligodontia		
	Taurodontism		Total	Taurodontism		Total
	Present n (%)	Absent n (%)		Present n (%)	Absent n (%)	
Complete dentition	0 (0.0)	9 (100)	9	3 (15.0)	17 (85.0)	20
Third molar agenesis	0 (0.0)	2 (100)	2	1 (14.2)	6 (85.8)	7
Hypodontia	1 (12.5)	8 (87.5)	9	3 (50.0)	3 (50.0)	6
Oligodontia	0 (0.0)	0 (0.0)	0	4 (57.2)	3 (42.8)	7
Total	1	19	20	11	29	40

Table 6 – The distribution of individuals within the families according to the classification of tooth agenesis, type of missing teeth and the presence of taurodontism.

		Tooth agenesis			Missing teeth	Complete dentition	
		Δ	Taurodontism			Taurodontism	
			Present	Absent		Present	Absent
Hypodontia	Family 1	2–4	0	3	MbI	0	3
	Family 2	2–5	1	1	MxLI	0	0
	Family 3	1	0	1	MxLI	0	0
	Family 4	1–4	0	2	MxLI, 3° M	0	0
	Family 5	2–5	0	0	MxLI, 3° M	0	2
	Family 6	1–4	0	1	Mx2° PM	0	1
	Family 7	3–9	0	0	2° PM	0	1
	Family 8	3–4	0	1	2° PM	0	0
	Family 9	4–9	0	1	2° PM, 2° and 3° M	0	2
Oligodontia	Family 1	1–19	1	1	MxLI, C, PM, 2° and 3° M	0	2
	Family 2	5–11	0	1	MxLI, 2° PM, M	0	2
	Family 3	1–17	1	1	MxLI, MbCI, C, PM, 2° and 3° M	0	1
	Family 4	1–9	1	2	MxLI, 2° PM, 3° M	1	2
	Family 5	1–17	1	1	MbI, 2° PM, 3° M	0	2
	Family 6	2–12	4	0	2° PM, 2° and 3° M	1	3
	Family 7	6–13	0	2	MxLI, MbCI, C, PM, 3° M	0	2
	Family 8	1–18	0	3	MxLI, MbCI, C, PM, 2° and 3° M	1	4

Δ = variation of the number of missing teeth among the individuals in each family. Missing third molars were also counted.
MbI, mandibular incisors; MbCI, mandibular central incisors; MxLI, maxillary lateral incisors; C, canines; PM, premolars; Mx2° PM, maxillary second premolars; M, molars.

that the risk for a patient with tooth agenesis to have taurodontism was about 18 times higher than that of the general population and that the risk for a relative with complete dentition to have taurodontism was about 6 times higher. We found that taurodontism is more frequent in nonsyndromic familial tooth agenesis, even the individuals with complete dentition.

Two Brazilian populational studies did not find association between tooth agenesis and taurodontism, but these results may be explained because the studied samples were mainly composed of sporadic cases of hypodontia.^{47,49} Previous studies that suggested association between tooth agenesis and taurodontism imply that it is more likely observed in cases of severe tooth agenesis,^{12,13,18,52} which is in accordance to our

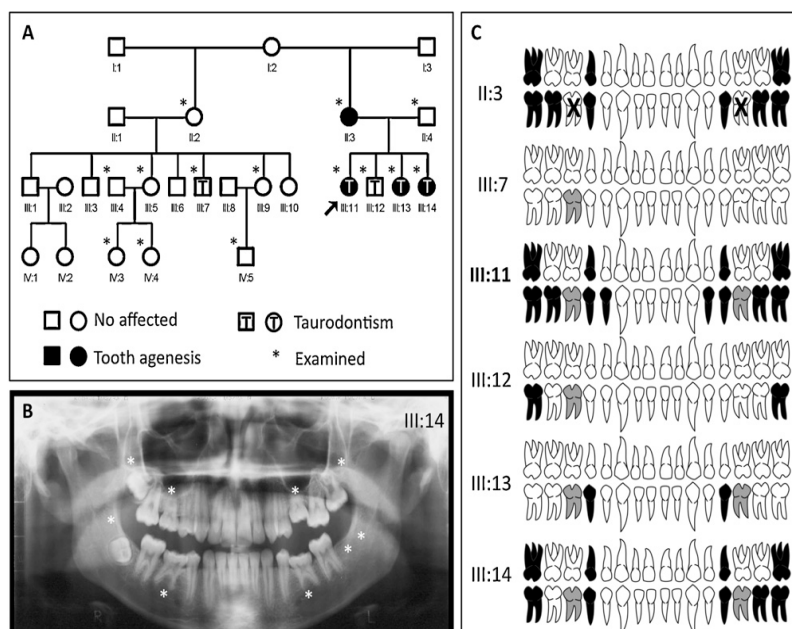


Fig. 2 – (A) Family Pedigree. (B) Panoramic radiograph showing the absence of nine permanent tooth (asterisks) and taurodontism of the permanent mandibular first molars. (C) Tooth number anomalies in the examined family members. Tooth agenesis is represented by black teeth and taurodontism by grey teeth. X represents teeth lost due to extraction.

results. The frequency of taurodontism in the different groups of this study points a correlation between taurodontism and number of missing teeth. Seow and Lai¹² investigated whether taurodontism was associated with certain patterns of tooth agenesis. They found that 56.5% of the patients with taurodontism had six or more missing teeth. Also, Kan et al.¹⁸ found that children with multiple missing teeth were significantly more susceptible to taurodontism than children with a single missing tooth. These data suggest that increased prevalence and severity of taurodontism are correlated with increased number of missing teeth. Our results suggest that individuals in families with second premolar and molar agenesis are more likely to have taurodontism.

The occurrence of taurodontism is considered an indicator of developmental instability^{2,8} and tooth agenesis has been suggested as an expression of a general abnormality of dental development.¹⁸ Alterations in crown–root ratio may be subtle morphological differences probably followed by other major alterations. Whilst our understanding of the genes and specific processes related to tooth initiation and crown formation has advanced over the past several decades,^{53,54} root development remains less well-understood.²¹ As taurodontism has been reported to be more common in individuals with tooth agenesis, understanding the nature of this association may be of importance in determining the aetiology of both conditions. This association could define a subphenotype for future genetic studies of dental development.

Genes expressed in the early stages of tooth development, such as *MSX1*, *PAX9*, *AXIN2* and *EDA* have been linked to tooth agenesis,⁴⁶ whereas the gene *DLX3* that was identified in taurodontism associated with syndromes^{10,22} is expressed later during root morphogenesis. These genes, which are expressed at two distinctly different points in time during the entire tooth formation process, are likely to provide the link between tooth agenesis and taurodontism.¹⁸ For instance, the gene *PAX9* has been linked to agenesis of second premolars and molars in families with oligodontia^{55–58} and it has been demonstrated that the reduction of *Pax9* gene dosage in an allelic series of mouse mutants causes hypodontia and oligodontia where the missing molars are arrested at different developmental stages and posterior molars are consistently arrested at an earlier stage. This is indicative that a reduction of *Pax9* gene dosage affects the dental field as a whole.⁵⁹ A potential candidate gene to be linked to tooth agenesis and taurodontism in families is *DMP1*. This gene encodes dentine matrix protein-1 (DMP-1), a non-collagenous bone matrix protein with an important role in the development and mineralization of bone and teeth. Homozygous mutations in *DMP1* cause an autosomal recessive form of hypophosphatemia with permanent and deciduous teeth displaying enlarged pulp chambers in affected individuals. Individuals with either homozygous or heterozygous mutations in *DMP1* showed tooth agenesis.⁶⁰ It has also been shown that the third molar is either missing or retarded in 10% of *Dmp-1* null mice that exhibit enlarged pulp chambers.⁶¹

The studies that reported gene mutations segregating in families with tooth agenesis did not describe associated taurodontism. The identification of families with specific associated dental anomalies would allow testing of the specific hypothesis that certain genetic factors contribute to

that specific association. Molecular studies are necessary to verify the aetiology of taurodontism associated with tooth agenesis. Further sequence variations studies of individual with nonsyndromic familial tooth agenesis and their relatives would confirm a possible association between these anomalies and could also contribute to a better understanding of root formation.

Funding

The study was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES and National Council of Technological and Scientific Development – CNPq.

Competing interest

None declared.

Ethical approval

The present study was approved by the Research Ethics Committee of the Faculty of Health Sciences, University of Brasilia, Brazil. Protocol number: 18/2008.

Acknowledgements

We are grateful to the members of the families that participated on the study. We thank Janaína Aparecida Calça da Fonseca Araújo for her assistance in the phenotypic characterization of the hypodontia families and Felipe Ferreira Costa for collaborating in the elaboration of the figures. Raquel Ribeiro Gomes was the recipient of a PhD scholarship from the CAPES Foundation.

REFERENCES

- Shifman A, Chananel I. Prevalence of taurodontism found in radiographic dental examination of 1.200 young adult Israeli patients. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 1978;**6**(4):200–3.
- Jorgenson RJ. The conditions manifesting taurodontism. *American Journal of Human Genetics* 1982;**11**(4):435–42.
- Haskova JE, Gill DS, Figueiredo JAP, Tredwin CJ, Naini FB. Taurodontism – a review. *Dental Update* 2009;**36**(4):235–43.
- Goldstein E, Gottlieb MA. Taurodontism: familial tendencies demonstrated in eleven of fourteen cases reports. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology* 1973;**36**(1):131–44.
- Jaspers MT. Taurodontism in the Down syndrome. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology* 1981;**51**(6):632–6.
- Bell J, Civil CR, Townsend GC, Brown RH. The prevalence of taurodontism in Down's syndrome. *Journal of Mental Deficiency Research* 1989;**33**:467–76.
- Alpöz AR, Eronat C. Taurodontism in children associated with trisomy 21 syndrome. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 1997;**22**(1):37–9.
- Schulman GS, Redford-Badwal D, Poole A, Mathieu G, Burleson J, Dauser D. Taurodontism and learning disabilities

- in patients with Klinefelter syndrome. *Pediatric Dentistry* 2005;27(5):389–94.
9. Jaspers MT, Witkop Jr CJ. Taurodontism, an isolated trait associated with syndromes and X-chromosomal aneuploidy. *American Journal of Human Genetics* 1980;32(3):396–413.
 10. Dong J, Amor D, Aldred MJ, Gu TT, Escamilla M, MacDougall M. DLX3 mutation associated with autosomal dominant amelogenesis imperfecta with taurodontism. *American Journal of Medical Genetics A* 2005;133(2):138–41.
 11. Stenvik A, Zachrisson BU, Svaton B. Taurodontism and concomitant hypodontia in siblings. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology* 1972;33(5):841–5.
 12. Seow WK, Lai PY. Association of taurodontism with hypodontia: a controlled study. *Pediatric Dentistry* 1989;11(3):214–9.
 13. Shalk-van der Weide Y, Steen WH, Bosman F. Taurodontism and length of teeth in patients with oligodontia. *Journal of Oral Rehabilitation* 1993;20(4):401–12.
 14. Seow WK. Trichodontoosseous (TDO) syndrome: case report and literature review. *Pediatric Dentistry* 1993;15(5):355–61.
 15. Houlston RS, Winter GB, Speight PM, Fairhurst J, Temple IK. Taurodontism and disproportionate short stature. *Clinical Dysmorphology* 1994;3(3):251–4.
 16. Seow WK. Dental development in amelogenesis imperfecta: a controlled study. *Pediatric Dentistry* 1995;17(1):26–30.
 17. Arte S, Nieminen P, Apajalahti S, Haavikko K, Thesleff I, Pirinen S. Characteristics of incisor–premolar hypodontia in families. *Journal of Dental Research* 2001;80(5):1445–50.
 18. Kan WY, Seow WK, Holcombe T. Taurodontism in children with hypodontia and supernumerary teeth: a case control study. *Pediatric Dentistry* 2010;32(2):134–40.
 19. Thomas HF. Root formation. *International Journal of Developmental Biology* 1995;39(1):231–7.
 20. Nakatomi M, Morita I, Eto K, Ota MS. Sonic Hedgehog signaling is important in tooth root development. *Journal of Dental Research* 2006;85(5):427–31.
 21. Wright T. The molecular control of and clinical variations in root formation. *Cells Tissues Organs* 2007;186(1):86–93.
 22. Wright JT, Hong SP, Simmons D, Daly B, Uebelhart D, Luder HU. DLX3 c.561_562delCT mutation causes attenuated phenotype of trichodonto-osseous syndrome. *American Journal of Medical Genetics A* 2008;146(3):343–9.
 23. Vastardis H. The genetics of human tooth agenesis: new discoveries for understanding dental anomalies. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 2000;117(6):650–6.
 24. Polder BJ, Van't Hof MA, Van der Linden FP, Kuijpers-Jagtman AM. A meta-analysis of the prevalence of dental agenesis of permanent teeth. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 2004;31(3):217–26.
 25. Pirinen S, Thesleff I. Development of the dentition. In: Thilander B, Rönning O, editors. *Introduction to orthodontics*. Stockholm: Lic Förlag; 1995. p. 41–3.
 26. Arte S, Pirinen S. Hypodontia. *Orphanet encyclopedia*. 2003 [accessed 18.02.09]<http://orpha.net/data/patho/G8/uk-hypodontia.pdf>.
 27. Grahnén H. Hypodontia in the permanent dentition. A clinical and genetic investigation. *Odontologisk Revy* 1956;7(Suppl. 3):1–100.
 28. Vastardis H, Karimbux N, Guthua SW, Seidman JG, Seidman CE. A human MSX1 homeodomain missense mutation causes selective tooth agenesis. *Nature Genetics* 1996;3:417–21.
 29. Pinho T, Maciel P, Lemos C, Sousa A. Familial aggregation of maxillary lateral incisors agenesis. *Journal of Dental Research* 2010;89(6):621–5.
 30. Cobourne MT. Familial human hypodontia – is it all in the genes? *British Dental Journal* 2007;203(4):203–8.
 31. Wong AT, McGrath C, McMillan AS. Oral health of southern Chinese children and adolescents with severe hypodontia. *International Journal of Paediatric Dentistry* 2005;15(4):256–63.
 32. Endo T, Ozoe R, Yoshino S, Shimooka S. Hypodontia patterns and variations in craniofacial morphology in Japanese orthodontic patients. *Angle Orthodontist* 2006;76(6):996–1003.
 33. Worsaae N, Jensen BN, Holm B, Holsko J. Treatment of severe hypodontia–oligodontia – an interdisciplinary concept. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2007;36(6):473–80.
 34. Brook AH. A unifying aetiological explanation for anomalies of human tooth number and size. *Archives of Oral Biology* 1984;29(5):373–8.
 35. Shalk-van der Weide Y, Steen WH, Bosman F. Distribution of missing teeth and tooth morphology in patients with oligodontia. *ASDC Journal of Dentistry for Children* 1992;59(2):133–40.
 36. Shalk-van der Weide Y, Steen WH, Beemer FA, Bosman F. Reductions in size and left-right asymmetry of teeth in human oligodontia. *Archives of Oral Biology* 1994;39(11):935–9.
 37. Baccetti T. A controlled study of associated dental anomalies. *Angle Orthodontist* 1998;68(3):267–74.
 38. Brook AH, Elcock C, Aggarwal M, Lath DL, Russell JM, Patel PI, et al. Tooth dimensions in hypodontia with a known PAX9 mutation. *Archives of Oral Biology* 2009;54s:57–62.
 39. Alvesalo L, Portin P. The inheritance pattern of missing, peg-shaped, and strongly mesio-distally reduced upper lateral incisors. *Acta Odontologica Scandinavica* 1969;27(6):563–75.
 40. Peck S, Peck L, Kataja M. The palatally displaced canine as a dental anomaly of genetic origin. *Angle Orthodontist* 1994;64(4):249–56.
 41. Pirinen S, Arte S, Apajalahti S. Palatal displacement of canine is genetic and related to congenital absence of teeth. *Journal of Dental Research* 1996;75(10):1742–6.
 42. Baccetti T. Tooth rotation associated with aplasia of nonadjacent teeth. *Angle Orthodontist* 1998;68(5):471–4.
 43. Shalk-van der Weide Y, Bosman F. Tooth size in relatives of individuals with oligodontia. *Archives of Oral Biology* 1996;41(5):469–72.
 44. Townsend GC, Richards L, Hughes T, Pinkerton S, Schwerdt W. Epigenetic influences may explain dental differences in monozygotic twin pairs. *Australian Dental Journal* 2005;50(2):95–100.
 45. De Coster PJ, Marks LA, Martens LC, Huysseune A. Dental agenesis: genetic and clinical perspectives. *Journal of Oral Pathology and Medicine* 2009;38(1):1–17.
 46. Mues G, Kapadia H, Wang Y, D'Souza RN. Genetics and human malformations. *Journal of Craniofacial Surgery* 2009;20:1652–4.
 47. Küchler EC, Rizzo PA, Costa MC, Modesto A, Vieira AR. Assessing the proposed association between tooth agenesis and taurodontism in 975 paediatric subjects. *International Journal of Paediatric Dentistry* 2008;18(3):231–4.
 48. Gomes RR, da Fonseca JA, Paula LM, Faber J, Acededo AC. Prevalence of hypodontia in orthodontic patients in Brasilia, Brazil. *European Journal of Orthodontics* 2010;32(June (3)):302–6.
 49. Küchler EC, Rizzo PA, Costa MC, Modesto A, Vieira AR. Studies of dental anomalies in a large group of school children. *Archives of Oral Biology* 2008;53:941–6.
 50. Darwazeh AM, Hamasha AA, Pillai K. Prevalence of taurodontism in Jordanian dental patients. *Dento-Maxillo-Facial Radiology* 1998;27(3):163–5.
 51. Bürklein S, Breuer D, Schäfer E. Prevalence of taurodont and pyramidal molars in a German population. *Journal of Endodontics* 2011;37(2):158–62.

52. Lai PY, Seow WK. A controlled study of the association of various dental anomalies with hypodontia of permanent teeth. *Pediatric Dentistry* 1989;**11**(4):291–6.
53. Thesleff I. Epithelial–mesenchymal signaling regulating tooth morphogenesis. *Journal of Cell Science* 2003;**116** (Pt 9):1647–8.
54. Ohazama A, Sharpe PT. TNF signaling in tooth development. *Current Opinion in Genetics and Development* 2004;**14**(5):513–9.
55. Frazier-Bowers SA, Guo DC, Cavender A, Xue L, Evans B, King T, et al. A novel mutation in human PAX9 causes molar oligodontia. *Journal of Dental Research* 2002;**81**(2):129–33.
56. Lammi L, Halonen K, Pirinen S, Thesleff I, Arte S, Nieminen P. A missense mutation in PAX9 in a family with distinct phenotype of oligodontia. *European Journal of Human Genetics* 2003;**11**(11):866–71.
57. Tallón-Walton V, Manzanares-Céspedes MC, Arte S, Carvalho-Lobato P, Valdivia-Gandur I, Garcia-Susperregui A, et al. Identification of a novel mutation in the PAX9 gene in a family affected by oligodontia and other dental anomalies. *European Journal of Oral Sciences* 2007;**115**(6):427–32.
58. Klein ML, Nieminen P, Lammi L, Niebuhr E, Kreiborg S. Novel mutation of the initiation codon of PAX9 causes oligodontia. *Journal of Dental Research* 2005;**84**(1):43–7.
59. Kist R, Watson M, Wang X, Cairns P, Miles C, Reid DJ, et al. Reduction of Pax9 gene dosage in an allelic series of mouse mutants causes hypodontia and oligodontia. *Human Molecular Genetics* 2005;**14**(23):3605–17.
60. Turan S, Aydin C, Bereket A, Akcay T, Güran T, Yaralioglu BA, et al. Identification of a novel dentin matrix protein-1 (DMP-1) mutation and dental anomalies in a kindred with autosomal recessive hypophosphatemia. *Bone* 2010;**46**(2):402–9.
61. Ye L, MacDougall M, Zhang S, Xie Y, Zhang J, Li Z, et al. Deletion of dentin matrix protein-1 leads to a partial failure of maturation of predentin into dentin, hypomineralization, and expanded cavities of pulp and root canal during postnatal tooth development. *Journal of Biological Chemistry* 2004;**279**(18):19141–8.