

KÊMELLY KAROLLINY MOREIRA RESENDE

**AMELOGÊNESE IMPERFEITA AUTOSSÔMICA RECESSIVA: ASPECTOS
CLÍNICOS E GENÉTICOS.**

BRASÍLIA, 2022.

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

KÊMELLY KAROLLINY MOREIRA RESENDE

**AMELOGÊNESE IMPERFEITA AUTOSSÔMICA RECESSIVA: ASPECTOS
CLÍNICOS E GENÉTICOS.**

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

ORIENTADORA: PROFA. DRA. ANA CAROLINA ACEVEDO POPPE

BRASÍLIA

2022

KÊMELLY KAROLLINY MOREIRA RESENDE

AMELOGÊNESE IMPERFEITA AUTOSSÔMICA RECESSIVA: ASPECTOS CLÍNICOS E GENÉTICOS.

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

Aprovado em 22 DE SETEMBRO DE 2022.

BANCA EXAMINADORA

Ana Carolina Acevedo Poppe - presidente
Universidade de Brasília

Juliana Forte Mazzeu de Araújo – 1º membro
Universidade de Brasília

Paulo Márcio Yamaguti – 2º membro
Fundação Universidade de Brasília

Lilian Marly de Paula – suplente
Universidade de Brasília

Dedico esta dissertação a Deus e a minha família.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me permitir vivenciar essas oportunidades inimagináveis, por ser meu refúgio e meu porto seguro.

Aos meus pais, por serem meu apoio, por abdicarem seus próprios sonhos pelos meus, por sempre acreditarem em meus sonhos e me ensinarem a jamais desistir deles.

Ao meu irmão, por cada risada, incentivo e companheirismo durante toda minha vida.

Aos meus familiares, por sempre apoiarem e vibrarem com cada conquista.

À minha orientadora professora Dra. Ana Carolina Acevedo, por ser minha orientadora não só na dissertação, mas, também, na vida, sendo uma segunda mãe para todos da nossa equipe. Você é um exemplo de pesquisadora, de mãe e de amiga.

Ao professor Dr. Paulo Marcio Yamaguti, por sempre estar disposto a dividir o seu tempo e conhecimento conosco, por nos ensinar a sermos pesquisadores que valorizam nossos pacientes.

À professora Dra. Juliana Mazzeu, exemplo de pesquisadora, que sempre se dispôs em contribuir e auxiliar durante toda a pesquisa.

À professora Dra. Lilian Marly de Paula, por toda contribuição nessa pesquisa.

Ao professor Dr. Cláudio Costa, por acreditar em meus sonhos e não medir esforços para me apoiar.

À minha amiga Lídia Rosa, por auxiliar e ensinar nesses primeiros passos da vida laboratorial, além disso por toda amizade, companheirismo e risadas.

À minha amiga Yorindel Juliana, por me apoiar, acompanhar, incentivar e ensinar tanto sobre a vida acadêmica e sobre a vida.

Aos meu amigo Luan Deives, pelo companheirismo e contribuição.

Aos meus amigos, por todas as palavras de incentivo e amizade indispensável.

Aos pacientes e famílias que participaram deste estudo, pela disponibilidade e confiança em nosso projeto.

RESUMO

A amelogênese imperfeita (AI) é uma condição genética caracterizada por alterações quantitativas e/ou qualitativas do esmalte dentário. A AI pode manifestar-se de forma isolada ou como manifestação de alguma síndrome. Nos últimos anos, variantes em 26 genes foram identificadas em casos de AI. O objetivo deste estudo foi realizar a caracterização clínica e diagnóstico molecular de cinco famílias com hipótese diagnóstica de AI autossômica recessiva (AIAR) em acompanhamento no Centro de Atendimento Odontológico de Doenças Raras, do Hospital Universitário de Brasília. Foram avaliados prontuários clínicos, coletado sangue de pacientes e familiares para extração de DNA pelo método salting out, e enviado para o sequenciamento de exoma. Novas variantes foram validadas por sequenciamento Sanger. Os sequenciamentos foram analisados nas plataformas Varstation® de Varsomics e Franklin, Genoox. Foram identificadas variantes bialélicas ou em homozigose em 3 diferentes genes. Variantes em homozigose no gene *RELT* foram identificadas em duas irmãs com AI isolada (c.120+1G>A,p.?); Dois pacientes com hipótese diagnóstica de Síndrome Esmalte Renal (ERS) apresentaram variantes no gene *FAM20A*, (c.343_362delTCGCTCCTGGCCAGCCAGGA, p. Ser115Glyfs*48 e c.406C>T, p. Arg136*; c.1112G>A, p. Trp371*); Uma paciente com hipótese diagnóstica de Anomalias dentárias e baixa estatura apresentou duas variantes no gene *LTBP3* (c.85_105delCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG, p. Leu29_Leu35del; c.3214C>T, p. Gln1072Ter) ; e em um paciente não foi identificado variantes patogênicas em genes associadas a AI. Os resultados desse estudo ampliam o conhecimento do fenótipo orodental de pacientes com amelogênese imperfeita autossômica recessiva isolada e sindrômica no Distrito Federal e do espectro de variantes nos genes *LTBP3*, *FAM20A* e *RELT*. Além disso, evidenciam a importância da caracterização fenotípica detalhada, e da equipe multiprofissional no diagnóstico de pacientes com AI.

PALAVRAS-CHAVES: Amelogênese Imperfeita; Esmalte dentário; Genes, recessivos; Técnicas de diagnóstico molecular; Sequenciamento de exoma completo.

ABSTRACT

Amelogenesis imperfecta (AI) is a genetic condition characterized by quantitative and/or qualitative alterations of tooth enamel. AI can manifest as an isolated trait or part of a syndrome. In recent years, variants in 26 genes have been identified in AI cases. The aim of this study was to carry out the clinical characterization and molecular diagnosis of four families with the diagnostic hypothesis of autosomal recessive IA (AIAR) being followed-up in the Oral Care Center for Inherited Diseases, of the University Hospital of Brasilia, Brazil. Clinical records were evaluated, and blood from patients and families was collected for DNA extraction by the salting out method and sent for exome sequencing. New variants were validated by Sanger sequencing. Sequences were analyzed on the Varstation® from Varsomics and Franklin, Genoox platforms. Biallelic or homozygous variants in 3 different genes were identified. Homozygous variants in the *RELT* gene were identified in two sisters with isolated AI (c.120+1G>A,p.?); Two patients with a diagnostic hypothesis of Renal Enamel Syndrome (ERS) had variants in the *FAM20A* gene, (c.343_362delTCGCTCCTGGCCAGCCAGGA, p. Ser115Glyfs*48 and c.406C>T, p. Arg136*; c.1112 G>A, p. Trp371*); One patient with a diagnosis of dental anomalies and short stature (DASS) had two variants in the *LTBP3* gene (c.85_105delCTGCTGCTGCTGCTGCTG, p. Leu29_Leu35del; c.3214C>T, p. Gln1072Ter); and in one patient no pathogenic variants were identified. The results of this study extend the knowledge of the orodental phenotype of patients with isolated and syndromic autosomal recessive amelogenesis imperfecta in Distrito Federal and the spectrum of variants in *LTBP3*, *FAM20A*, and *RELT* genes. Furthermore, they highlight the importance of detailed phenotypic characterization and the multi-professional team in the diagnosis of patients with AI.

Key Words: Amelogenesis imperfecta; Dental Enamel; Genes, Recessive; Molecular Diagnostic Techniques; Whole Exome Sequencing.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Heredograma da família 1 (pacientes IV:1 e IV:2)	25
Figura 2. Exame clínico intraoral (paciente IV:2)	26
Figura 3. Exames radiográficos odontológicos (paciente IV:2).	27
Figura 4. Exame clínico intra oral (paciente IV:1).....	28
Figura 5. Exame radiográfico odontológico (paciente IV:1).	29
Figura 6. IGV de confirmação de resultado de exoma – paciente (IV:2).....	30
Figura 7. Cromatograma do sequenciamento de Sanger (pacientes IV:1 e IV:2)	31
Figura 8. Heredograma da família 2 (paciente III:2).....	31
Figura 9. Exame clínico intraoral (paciente III:2).	34
Figura 10. IGV de confirmação de resultado de exoma – paciente III:2	35
Figura 11. IGV de confirmação de resultado de exoma – paciente III:2	35
Figura 12. Heredograma da família 3 (paciente IV:2).....	36
Figura 13. Exame clínico intraoral (paciente IV:2).....	37
Figura 14. Exame radiográfico e tomográfico odontológico (paciente IV:2).	39
Figura 15. Heredograma da família 4 (pacientes II:3)	42
Figura 16. Exame clínico intraoral (paciente II:3).	44
Figura 17. Exame radiográfico odontológico (paciente II:3)..	45
Figura 18. IGV de confirmação de resultado de exoma – paciente II:3.	46
Figura 19. IGV de confirmação de resultado de exoma – paciente II:3.....	47
Figura 20. Cromatograma do sequenciamento de Sanger (paciente II:3).....	47
Figura 21. Heredograma da família 5 (paciente IV:1).....	48
Figura 22. Exame clínico intraoral e radiográfico (paciente IV:1).	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição primers reverse (R) e forward (F) utilizados para sequenciamento <i>Sanger</i>	23
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS:

AI – Amelogênese Imperfeita

AD – Autossômico dominante

AIAR – Amelogênese Imperfeita Autossômica Recessiva

AMBN – Gene que codifica a proteína ameloblastina

AMELX – Gene que codifica a proteína amelogenina

AR – Autossômico recessivo

C4orf26 – Gene que codifica a fosfoproteína associada a odontogênese

CLDN16 – Gene que codifica a proteína de junção oclusiva claudina 16

CLDN19 – Gene que codifica a proteína de junção oclusiva claudina 19

CNNM4 – Gene que codifica a proteína transportadora de metal cyclin M-4

CNV – Variação de número de cópias

COL17A1 – Gene que codifica colágeno tipo 17

DASS – Anomalias dentárias e baixa estatura

DDE – Defeitos do desenvolvimento do esmalte dentário

DLX3 – Gene que codifica a proteína homeobox *DLX-3*

DNAJC21 – Gene que codifica a proteína de DNAJ 40

ENAM – Gene que codifica a proteína enamelinina

ERS – Síndrome esmalte renal

FAM20A – Gene que codifica a pseudoquinase *FAM20A*

FAM20C – Gene que codifica a quinase *FAM20C*

FAM83H – Gene que codifica a proteína *FAM83H*

GPR68 – Gene que codifica o receptor 1 acoplado à proteína G

HUB – Hospital Universitário de Brasília

ITGB4 – Gene que codifica a integrina beta 4

ITGB6 – Gene que codifica a integrina beta 6

KLK4 – Gene que codifica a protease calicreína

LAMA3 – Gene que codifica a subunidade alfa-3 da laminina

LAMB3 – Gene que codifica a subunidade beta-3 da laminina

LTBP3 – Gene que codifica a proteína LTBP3

MIH – Hipomineralização Molar-Incisivo

MMP20 – Gene que codifica a protease metaloproteinase-20

PEX1 – Gene que codifica a proteína PEX1

PEX6 – Gene que codifica a proteína PEX6

ROGDI – Gene que codifica a proteína ROGDI

AIGFS – Síndrome de amelogênese imperfeita e fibromatose gengival

SLC24A4 – Gene que codifica a proteína SLC24A4

STIM1 – Gene que codifica a proteína STIM1

WDR72 – Gene que codifica a proteína 72

XLR – Ligado ao cromossomo X

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	6
LISTA DE FIGURAS.....	7
LISTA DE TABELAS.....	8
1.INTRODUÇÃO	12
2.REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 AMELOGÊNESE	14
2.2 DEFEITOS DE DESENVOLVIMENTO DE ESMALTE (DDE):	16
2.3 AMELOGÊNESE IMPERFEITA	16
2.4 CLASSIFICAÇÃO DE AMELOGÊNESE IMPERFEITA E ETIOLOGIA.....	17
2.5 QUALIDADE DE VIDA DOS PACIENTES COM AI	18
3.OBJETIVOS.....	19
3.1 OBJETIVO GERAL	19
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
4.MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA	20
4.2 AVALIAÇÃO NEFROLÓGICA	21
4.3 COLETA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS E ISOLAMENTO DE DNA/ EXOMA COMPLETO	21
4.4 ANÁLISE DO SEQUENCIAMENTO DE EXOMA	21
4.5 VALIDAÇÃO POR SEQUENCIAMENTO <i>SANGER</i>	22
5.RESULTADOS	24
5.1 FAMÍLIA 1 - PACIENTE IV:1 E IV:2	24
5.2 FAMÍLIA 2 - PACIENTE III:2	31
5.3 FAMÍLIA 3 - PACIENTE IV:2	35
5.4 FAMÍLIA 4 - PACIENTE II:3	41
5.4 FAMÍLIA 5 - PACIENTE IV:1	47
6.DISSCUSSÃO	51
7.CONCLUSÃO	56
8.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:	57
9.ANEXOS	66

1.INTRODUÇÃO

Amelogênese imperfeita (AI) é um grupo de condições hereditárias, que afetam a qualidade e/ou quantidade do esmalte dentário, podendo estar ou não associada a outras alterações sistêmicas (1-4). A AI pode ter modo de herança autossômico dominante, autossômico recessivo, ligado ao cromossomo X (1,5). A primeira classificação de AI foi proposta em 1971 por Rao e Witkop (6), e baseou-se no aspecto clínico e radiográfico dos defeitos do desenvolvimento de esmalte (DDE) e modo de herança. Devido à heterogeneidade fenotípica, uma nova forma de classificação foi proposta em 1995 por Aldred e Crawford (7), que sugeria a inclusão das alterações moleculares e bioquímicas. Nos últimos anos, devido a um aumento no conhecimento das bases moleculares e a observações de outros sistemas afetados em pacientes com AI tem se classificado em AI não síndrômica e AI síndrômica (1).

Até o presente momento, variantes patogênicas foram identificadas em 14 genes nas formas não síndrômicas de AI (*AMELX*, *ENAM*, *MMP20*, *KLK4*, *FAM83H*, *WDR72*, *ITGB6*, *SLC24A4*, *COL17A1*, *LAMB3*, *LAMA3*, *GPR68*, *AMBN* e *C4orf26*). Já nas formas síndrômicas foram identificados 15 genes (*LTBP3*, *COL17A1*, *DLX3*, *FAM20A*, *CNNM4*, *ROGDI*, *LAMA3*, *LAMB3*, *ITGB4*, *CLDN16*, *CLDN19*, *PEX1*, *PEX6*, *STIM1* e *FAM20C*) (8,9). Os primeiros sequenciamentos genéticos demonstraram uma grande heterogeneidade clínica dependente do gene específico envolvido, da localização e do tipo de variante e do efeito em nível proteico (10,11). Esta heterogeneidade clínica pode tornar o diagnóstico genético desafiador. Devido ao grande número de genes envolvidos na amelogênese, as bases moleculares da AI ainda não foram totalmente desvendadas (12).

No ano de 2002, foi criado o Projeto de Extensão de Ação Continuada “Atendimento a Pacientes Portadores de Anomalias de Desenvolvimento Dentário”, renomeada posteriormente em “Centro de Atendimento Odontológico de Doenças Raras”, na Unidade de Saúde Bucal, do Hospital Universitário de Brasília (HUB), com a finalidade de diagnosticar e acompanhar pacientes com doenças raras e defeitos de desenvolvimento dentário, incluindo pacientes com AI. Desde a criação do serviço até

o presente, um total de 217 pacientes com algum tipo de DDE são acompanhados na Unidade de Saúde Bucal. Trinta e oito desses pacientes índices apresentaram diagnóstico clínico de AI sendo que 22 desses casos são formas não sindrômicas e 16 sindrômicas. Em relação ao modo de herança, estudos de segregação mostraram que em 18 famílias o modo de herança mais provável era autossômico dominante, 13 famílias autossômica recessiva e em 7 casos a AI era esporádica. Até o presente momento, a análise molecular foi realizada o sequenciamento genético molecular em 12 famílias, foram identificadas variantes nos genes *FAM20A*, *FAM20C*, *CLDN16*, *CLDN19* em 7 famílias com AI sindrômicas autossômicas recessivas (13-15).

Estudos com abordagem de genes candidatos têm permitido identificar variantes somente em cerca de 50% dos casos (16-17). Prasad et al. (12), relataram 50 casos de AI não sindrômica, mas em apenas 14 casos foram identificadas variantes causativas (27%). Outros estudos com abordagem de genes candidatos confirmam essa dificuldade e comprovam que um grande número de pacientes com AI continua com diagnóstico molecular indefinido. Assim, o uso de uma técnica de *screening* como o sequenciamento do exoma naqueles casos sem diagnóstico molecular parece ser a melhor alternativa atualmente (18). O objetivo deste estudo foi realizar a caracterização fenotípica e diagnóstico genético de cinco famílias com hipótese diagnóstica de AI autossômica recessiva (AIAR) em acompanhamento no Centro de Atendimento Odontológico de Doenças Raras, na Unidade de Saúde Bucal, do HUB.

A partir do momento que conseguirmos integrar dados genéticos com as características clínico-epidemiológicas, melhores serão as condições de diagnóstico e acompanhamento dos pacientes. Além disso, terá um impacto importante nas abordagens terapêuticas odontológicas realizadas no Centro de Atendimento Odontológico de Doenças Raras, e por consequência em uma melhoria na qualidade de vida dos pacientes. A inclusão da avaliação odontológica e promoção de saúde bucal desses pacientes contribui para a atenção integral à saúde, que constitui a base para as políticas públicas da saúde brasileira atual.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 AMELOGÊNESE

Durante o desenvolvimento embrionário humano, os dentes decíduos e permanentes se desenvolvem a partir do ectoderma oral e das células do ectomesênquima subjacentes, que migram da crista neural para os processos maxilares e mandibulares (4,19-20). As interações epitélio-mesenquimais sequenciais e recíprocas, mediadas por vias de sinalização, modulam as funções celulares, e conseqüentemente o desenvolvimento dentário (20-22;). Durante o processo de desenvolvimento dentário, também denominado odontogênese, formam-se os tecidos dentários que compõem a coroa e raiz dentária: esmalte, complexo dentina-polpa e cimento (23).

O esmalte dentário é um tecido acelular e mineralizado de origem epitelial que recobre a coroa dos dentes (24-25). O desenvolvimento de esmalte dentário, denominado de amelogênese, é um processo biológico complexo, controlado geneticamente, que envolve mecanismos dinâmicos celulares e físico-químicos. A amelogênese pode ser dividida em três estágios distintos, em razão das características morfológicas e funcionais dos ameloblastos, são eles: pré-secreção, secreção e maturação (25-29). Os ameloblastos são células epiteliais, de origem ectodérmica, que apresentam um ciclo vital com contínuas modificações morfofuncionais, sendo capazes de sintetizar e secretar proteínas, mineralizar a matriz orgânica e proteger o esmalte dentário até sua erupção.

O estágio de pré-secreção é caracterizado pela diferenciação das células do epitélio interno do esmalte em pré-ameloblastos. Nesse estágio, as células invertem a polaridade, desenvolvem um extenso aparelho de organelas para a síntese de proteínas, e se preparam para secretar a matriz orgânica do esmalte (20,25). O estágio de secreção é caracterizado pela intensa atividade de síntese e secreção de proteínas amelogeninas e não amelogeninas pelos ameloblastos secretores. Os ameloblastos adquirem, em sua porção apical, prolongamentos secretores, denominados Processo de Tomes, que serão responsáveis pela secreção de

proteínas e orientação dos cristais de hidroxiapatita em aprismático e prismático (26, 30,31).

No estágio de secreção os ameloblastos sintetizam e secretam proteínas que compõem a matriz orgânica do esmalte dentário, constituída por 90% de proteínas amelogeninas e 10 % de proteínas não amelogeninas. As amelogeninas regulam o crescimento dos cristais em espessura e largura. As proteínas não amelogeninas, principalmente enamelinina e ameloblastina, controlam o alongamento cristalino, se ligando especificamente aos cristais de hidroxiapatita (32-33). Nesse estágio, os cristais crescem em comprimento, mas não em espessura. Distúrbios durante o estágio secretor resultam em alongamento insuficiente do cristal, resultando em uma camada de esmalte hipoplásica (20).

Cerca de 30% da matriz orgânica depositada no estágio de secreção, serão degradadas por proteases tais com a enamelinina (MMP-20) e calícreina-4 (KLK-4) contribuindo com a nucleação cristalina. A mineralização final será adquirida durante o estágio de maturação (34). O estágio de maturação é caracterizado pelo crescimento em diâmetro dos cristais de hidroxiapatita. Os ameloblastos maduros em suas porções apicais se modulam ciclicamente entre terminações apicais rugosas e lisas (30,35-36). A modulação dos ameloblastos é um mecanismo único que permite a incorporação de íons de cálcio e fosfato, regulação do pH e reabsorção de água e matriz orgânica (37-40). Distúrbios durante o estágio de maturação da amelogênese resultam em esmalte hipomineralizado ou hipocalcificado de espessura normal (24).

Ao longo dos estágios de transição e maturação, cerca de 50% dos ameloblastos sofrem apoptose (41). Os ameloblastos restantes se fundirão, posteriormente, com as células do epitélio externo do esmalte dentário, retículo estrelado e estrato intermediário, formando o epitélio reduzido do esmalte. O epitélio reduzido do esmalte se adere à superfície do esmalte dentário formado, exercendo função de proteção até o momento de erupção dentária. Durante a erupção dentária na cavidade oral, o epitélio reduzido do esmalte se fundirá ao epitélio oral para formar o epitélio juncional (8,42). Logo, o esmalte formado é acelular, o que impede qualquer regeneração de esmalte após esse momento (43). O esmalte maduro é composto por 96% de material inorgânico, de 1% de matriz orgânica residual e 3% de água (20).

2.2 DEFEITOS DE DESENVOLVIMENTO DE ESMALTE (DDE):

A integridade do esmalte dentário depende da função adequada dos ameloblastos, da deposição adequada das proteínas do esmalte, e da fosforilação e clivagem oportuna das proteínas da matriz orgânica do esmalte, que permitem a migração dos ameloblastos, e organização dos cristais de hidroxiapatita prismático e interprismático (44). Fatores ambientais ou genéticos podem afetar a amelogênese e consequentemente a estrutura do esmalte dentário. Essas alterações podem ser localizadas ou generalizadas (11,45). Os fatores ambientais e genéticos podem resultar em defeitos do esmalte quantitativos (hipoplasias) e qualitativos (opacidades). Independentemente da origem etiológica dos DDE as características clínicas podem ser semelhantes, o que pode causar dificuldades quanto ao diagnóstico diferencial, sendo fundamental uma minuciosa anamnese, identificando possíveis exposições de risco potencial a fatores ambientais e informações sobre a história familiar (4). Fatores ambientais intrínsecos, como inflamação e febre alta, e extrínsecos como infecções, ingestão de flúor e traumatismo dentário devem ser considerados. Exemplos de DDE de origem ambiental ou sistêmica são a fluorose dentária, e a hipomineralização molar-incisivo (MIH) (2,46).

2.3 AMELOGÊNESE IMPERFEITA

Os DDE de origem genética são denominados amelogênese imperfeita (AI), caracterizada por alterações na quantidade e/ou qualidade do esmalte (1,32,47). A AI afeta os dentes decíduos e permanentes (2,8), podendo ter padrão de herança autossômico dominante (AD), autossômico recessivo (AR) ou relacionado ao cromossomo X (XLR). Podem se manifestar isoladamente ou como manifestação clínica de uma síndrome (48).

As características clínicas da AI incluem a diminuição da espessura do esmalte dentário, rugosidade da superfície, presença de cavitações (*pits*), alterações na translucidez do esmalte. Além disso, podem ocorrer atraso na erupção dentária, retenção prolongada de dentes decíduos, mordida aberta anterior, palato ogival,

dentes com diminuição da coroa clínica e presença de diastemas (49-51). Radiograficamente, nos casos de AI hipomineralizada a radiodensidade é similar ou diminuída entre esmalte e dentina (1). Outros achados radiográficos relatados em casos de AI sindrômica são calcificações intrapulpares, taurodontismo, agenesia dentária e hamartomas (49,52).

2.4 CLASSIFICAÇÃO DE AMELOGÊNESE IMPERFEITA E ETIOLOGIA

Em 1971 foi proposto por Rao e Witkop (6), uma classificação baseada nos aspectos clínicos e radiográficos dos defeitos do desenvolvimento de esmalte e modo de herança, sugerindo a subclassificação dos casos de AI em 14 subtipos baseados nos critérios delineados previamente (53). Com os avanços no conhecimento e metodologias de sequenciamento genético, um novo sistema de classificação foi proposto em 1995 por Aldred e Crawford (7), o qual se baseava no fenótipo, no modo de herança, na base molecular e bioquímica. Nos últimos anos, devido a um aumento no conhecimento das bases moleculares e a observações de outros sistemas afetados em pacientes com AI tem se classificado a AI, antes de qualquer subdivisão, em AI não sindrômica e AI sindrômica.

Atualmente, a AI é dividida em três tipos: AI hipoplásica, AI hipomaturada e AI hipocalcificada. Associações de fenótipos podem ser observadas em um paciente ou em membros de uma família. Na AI hipoplásica, o esmalte dentário encontra-se mineralizado e com uma diminuição de sua espessura (8,54). A AI hipomaturada ou hipomineralizada é decorrente de falhas no estágio de maturação da amelogênese, no qual não há a remoção adequada da matriz orgânica e conseqüente, a mineralização do esmalte dentário é afetada, o que resulta no esmalte dentário com espessura normal, entretanto, com alterações na translucidez do esmalte (24). A AI hipocalcificada resulta também de alterações no estágio de maturação, a qual afeta gravemente a mineralização do esmalte dentário e afeta a dureza (55).

Síndromes com manifestação clínica de AI apresentam uma variedade de manifestações que podem envolver os rins, a pele, ossos, coração e outros tecidos e órgãos (56). Até a presente momento, 26 genes foram identificados em famílias com AI, 14 genes nas formas isoladas de AI (*AMELX*, *ENAM*, *MMP20*, *KLK4*, *FAM83H*,

WDR72, ITGB6, SLC24A4, COL17A1, LAMB3, LAMA3, GPR68, AMBN e C4orf26) e 15 genes nas formas sindrômicas (*LTBP3, COL17A1, DLX3, FAM20A, CNNM4, ROGDI, LAMA3, LAMB3, ITGB4, CLDN16, CLDN19, PEX1, PEX6, STIM1 e FAM20C*) (8-9,57-59).

2.5 QUALIDADE DE VIDA DOS PACIENTES COM AI

Os pacientes com AI sofrem um impacto significativo em sua qualidade de vida. Geralmente, os pacientes diagnosticados com AI relatam sensibilidade dentinária, distúrbios funcionais, deficiência na estética dentária, e conseqüentemente, problemas de socialização, o que pode resultar em redução da sua qualidade de vida (60-61). Por se tratar de uma condição genética rara, o diagnóstico e intervenção odontológica precoce são recomendadas, permitindo a promoção da saúde e limitação das sequelas nestes pacientes (5,61).

3.OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar as alterações sistêmicas, bucais e dentárias de 5 famílias diagnosticadas com Amelogênese Imperfeita Autossômica Recessiva em atendimento no Centro de Saúde Bucal de Doenças Raras, na Unidade de Saúde Bucal, do Hospital Universitário e identificar variantes patogênicas pelo método de sequenciamento de exoma e *Sanger*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar as manifestações sistêmicas.
2. Caracterizar clinicamente e radiograficamente as manifestações orodentais.
3. Investigar a presença de variantes patogênicas pelo método de sequenciamento de exoma.
4. Validar as novas variantes patogênicas identificadas pelo sequenciamento *Sanger*.

4.MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética de Pesquisa em Seres Humanos da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília (CEP/FS – UnB) sob o registro 43064320.3.0000.0030 (Anexo 1). Foi explicado aos participantes e responsáveis os objetivos da pesquisa, os riscos e benefícios, o uso de fotografias e exames de imagem que envolvem a pesquisa. Uma vez esclarecido e em concordância, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) aos pacientes dos 6-17 anos, Termo de Cessão de Uso de Imagem e/ou Voz para Fins Científicos e Acadêmicos foi apresentado e assinado por todos os participantes da pesquisa e seus familiares (Anexo 2).

4.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Foram avaliadas nesse estudo cinco famílias com AI entre os anos de 2002 até março de 2022 no Centro de Atendimento Odontológico de Doenças Raras, na Unidade de Saúde Bucal, do Hospital Universitário de Brasília. Foram incluídos no estudo pacientes previamente diagnosticados com AIAR e sem diagnóstico genético. Foram analisados os dados registrados nos prontuários médicos e odontológicos dos pacientes.

Em relação aos prontuários odontológicos foram analisadas as informações descritas na anamnese e exame físico intrabucal e extrabucal, assim como os exames complementares. Posteriormente, tais informações foram complementadas com informações adicionais obtidas com os parentes de primeiro grau, visando ampliar o conhecimento da história médica das pacientes. Todos os pacientes receberam tratamento odontológico necessário e manutenção preventiva.

4.2 AVALIAÇÃO NEFROLÓGICA

Os pacientes em que foram observadas manifestações orodentais clínicas e radiográficas sugestivas de Síndrome Esmalte Renal, foram encaminhadas para avaliação nefrológica na Unidade de Nefrologia Pediátrica, no Hospital Universitário de Brasília.

4.3 COLETA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS E ISOLAMENTO DE DNA/ EXOMA COMPLETO

Foram coletados 4 mL de sangue venoso dos pacientes e pais em tubos com EDTA. A extração de DNA genômico foi realizada no Laboratório de Histopatologia Oral pelo método *salting out* – Método Puregene, seguida de sua quantificação no Nanovue Plus (GE®) e Qubit de acordo com Amorin et al. (2019). Um total de 10 ng de DNA por amostra foi enviada para sequenciamento de exoma completo na empresa Macrogen, Coreia do Sul, na plataforma Illumina HiSeq 4000 com cobertura média de 50 vezes e comprimento de leitura de 2 x 100 pb.

4.4 ANÁLISE DO SEQUENCIAMENTO DE EXOMA

O exoma foi utilizado na investigação de cinco casos com diagnóstico clínico de AI, com suspeita de modo de herança autossômico recessivo. A técnica de sequenciamento de exoma é utilizada por sua capacidade na detecção de diversas alterações na região codificante do genoma. A partir do upload de arquivos FASTQ, BAM e VCF na plataforma VarStation, em que as variantes detectadas são pré-classificadas por algoritmos próprio e filtros de análise que auxiliam na busca por

variantes correlacionadas a alterações patológicas já descritas em bancos de dados anteriormente.

A análise das variantes foi realizada utilizando a plataforma Franklin (www.genoox.com) e Varsome (<https://varsome.com/>) para a análise dos dados. Os filtros aplicados para obtenção do conjunto de variantes candidatas causadoras de doenças: (1) filtros baseados no impacto funcional reteve apenas variantes que fossem não sinônimas, sinônimas, frameshift, nonsense, ou que afetassem sítios canônicos doadores/aceptores de splicing; (2) filtros de características fenotípicas dos probandos foram utilizados ; (3) ontologia do fenótipo humano (HPO) com a análise de 31 genes, sendo eles: *ACP4*, *AMBN*, *AMELX*, *AMTN*, *CLDN19*, *CNNM4*, *DLX3*, *DNAJC21*, *ENAM*, *FAM20A*, *FAM83H*, *GPR68*, *ITGB6*, *KLK4*, *LAMA3*, *LAMB3*, *LTBP3*, *MMP20*, *ODAPH*, *ORAI1*, *PEX1*, *RELT*, *ROGDI*, *SATB1*, *SLC10A7*, *SLC13A5*, *SLC24A4*, *SMARCD2*, *STIM1*, *TMEM165*, *WDR72*.

A classificação das variantes foi realizada de acordo com as orientações do American College of Medical Genetics and Genomics de acordo com Richards et al. (62). As variantes classificadas como melhores candidatos foram visualizadas no *Software Integrative Genomics Viewer* (IGV) (Broad Institute of MIT and Harvard). Nos pacientes com novas variantes suspeitas e não relatadas previamente na literatura foram validadas pelo Sequenciamento *Sanger*.

4.5 VALIDAÇÃO POR SEQUENCIAMENTO SANGER

O DNA genômico foi utilizado como substrato para amplificação do gene de interesse utilizando-se pares de oligonucleotídeos iniciadores (primer). Os primers foram desenvolvidos na plataforma ExonPrimer do Institute of Human Genetics (<https://ihg.helmholtz-muenchen.de/ihg/ExonPrimer.html>), no qual se introduziu regiões de DNA específico (gene de interesse). O fragmento referência foi identificado na base de dados ENSEMBLE Human Gene View disponível em www.ensembl.org/homo_sapiens/geneview, em que se selecionou na região de interesse pares de base (pb) anteriores e posteriores a região de interesse para amplificação do DNA. Uma vez desenhado os primers Reverse e Forward (Tabela 1) foi realizada

a validação na plataforma In-Silico PCR da UCSC Genome Browser (<https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr>).

Na reação de amplificação utilizou-se 5 µl 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 fornecido e usado 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). A confirmação da amplificação dos fragmentos de interesse, os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1%, corados com brometo de etídio (0,5 µg/ml), visualizados em luz ultravioleta e fotografados. Os produtos da amplificação passaram por purificação e enviados para sequenciamento na empresa Biotecnologia pesquisa e inovação (BPI), Brasil.

A análise dos cromatogramas, alinhamentos e comparações entre as sequências serão realizados com o auxílio do *software* Bioedit versão 7.2 (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.

Tabela 1. Descrição primers reverse (R) e forward (F) utilizados para sequenciamento Sanger. pb(pares de bases)

Gene	Exon / Sentido primer	Sequencia Primer	Tamanho do amplicon (pb)
<i>RELT</i>	Exon 3F	GTCCCTACCACTGGGGTTTC	269 pb
	Exon 3R	AAGCCTGAGGACCCTTGG	
<i>LTBP3</i>	Exon 1F	CTCTCCGATGAGCGTCATGTT	472 pb
	Exon 1R	CGCTGTCCAGTCTGCATCTC	
	Exon 23F	CTTTTCCTCCCTGCAGACGT	160 pb
	Exon 23R	CCTCACCCATCTCTTCCGG	

5.RESULTADOS

Seis pacientes de cinco famílias, sem grau de parentesco, com diagnóstico de AI em atendimento no Centro de Atendimento Odontológico de Doenças Raras, do HUB foram avaliados. Dentre os casos estudados, as cinco famílias apresentavam diagnóstico de AI com modo de herança autossômico recessivo. Três famílias tinham hipótese diagnóstica de AI síndrome e duas famílias hipótese diagnóstica de AI não síndrome. Em relação a distribuição por sexo e idade dos pacientes índices, foram estudados quatro pacientes do sexo feminino e dois do sexo masculino, com idades compreendidas entre 8 a 23 anos de idade, na ocasião da primeira consulta. Todos os pacientes estão em acompanhamento desde a consulta inicial.

5.1 FAMÍLIA 1 - PACIENTE IV:1 E IV:2

O exame clínico inicial da família foi realizado em 2016. A paciente índice (IV:2), de sexo feminino, natural de Planaltina, Distrito Federal, foi encaminhada aos 8 anos de idade para o Centro de Atendimento Odontológico de Doenças Raras, na Unidade de Saúde Bucal, do HUB, com diagnóstico provável de amelogenese imperfeita. A queixa principal foi dor e sensibilidade dentinária, além de dificuldade de socialização no ambiente escolar. Durante a anamnese foi relatado que os pais são consanguíneos, primos de primeiro grau, e uma irmã (IV:1) também apresentava alterações dentárias (Figura 1). Não foram relatadas complicações durante a gravidez. No prontuário médico não foram identificados relatos de alterações sistêmicas prévias. No entanto, os pais relataram que houve o diagnóstico de problema cardíaco perinatal, descrito como sopro cardíaco, sendo acompanhada por médico cardiologista até os 4 anos de idade.

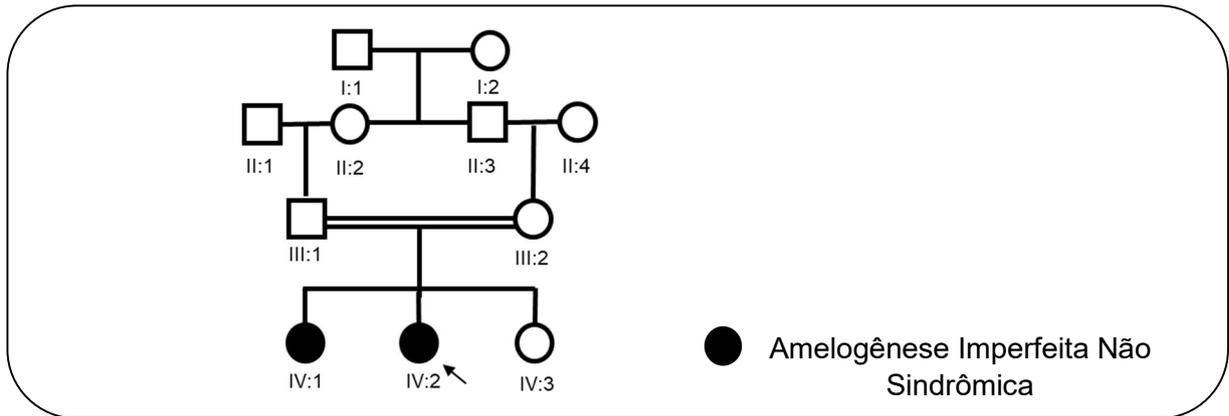


Figura 1. Heredograma da família 1 (pacientes IV:1 e IV:2): história de consanguinidade. Seta preta: paciente índice.

Na consulta inicial aos 8 anos de idade, no exame físico intrabucal, observou-se a presença de dentição mista e mordida aberta anterior (Figura 2-A). Os dentes decíduos caninos e molares superiores e inferiores (Figura 2-C), apresentavam uma coloração amarelo-acastanhada e hipoplasias pontuais do esmalte dentário limitadas ao terço médio e oclusal dos dentes, sugerindo um esmalte hipoplásico. Foi observado também, desgastes nas faces incisais dos caninos decíduos e aplainamento das cúspides dos molares decíduos (Figura 2-D). Os dentes molares decíduos superiores apresentavam material restaurador compatível a cimento de ionômero de vidro nas faces oclusais (Figura 2-E).

Os incisivos centrais e laterais superiores permanentes apresentaram-se mais afetados que os dentes decíduos (Figura 2-B), com coloração amarelo-amarronzada, aspecto vítreo, opacidades difusas, fissuras e rugosidades generalizadas nas superfícies e esmalte hipoplásico. As superfícies oclusais dos primeiros molares permanentes superiores e inferiores apresentavam perda do esmalte dentário, e paredes finas de esmalte no terço cervical do dente, similares a um anel (Figura 2-F).



Figura 2. Exame clínico intraoral (paciente IV:2) aos 8 anos de idade. (A)Vista frontal; (B)Vista frontal dos incisivos superiores e inferiores permanentes; (C) Vista lateral caninos e molares inferiores e superiores decíduos; (D) Vista oclusal da arcada dentária superior; (E) Vista oclusal da arcada dentária inferior; (F) Vista oclusal do primeiro molar inferior direito.

No exame radiográfico odontológico inicial realizado aos 8 anos de idade (Figura 3-A), observou-se que os dentes decíduos apresentam diminuição da espessura do esmalte sugerindo um esmalte hipoplásico. Também, nos dentes permanentes erupcionados e inclusos foi observada a redução na espessura do esmalte dentário. No exame radiográfico realizado aos 13 anos de idade (Figura 3-B),

observou-se a presença e do canino superior direito incluído e retenção prolongada do canino superior direito decíduo.

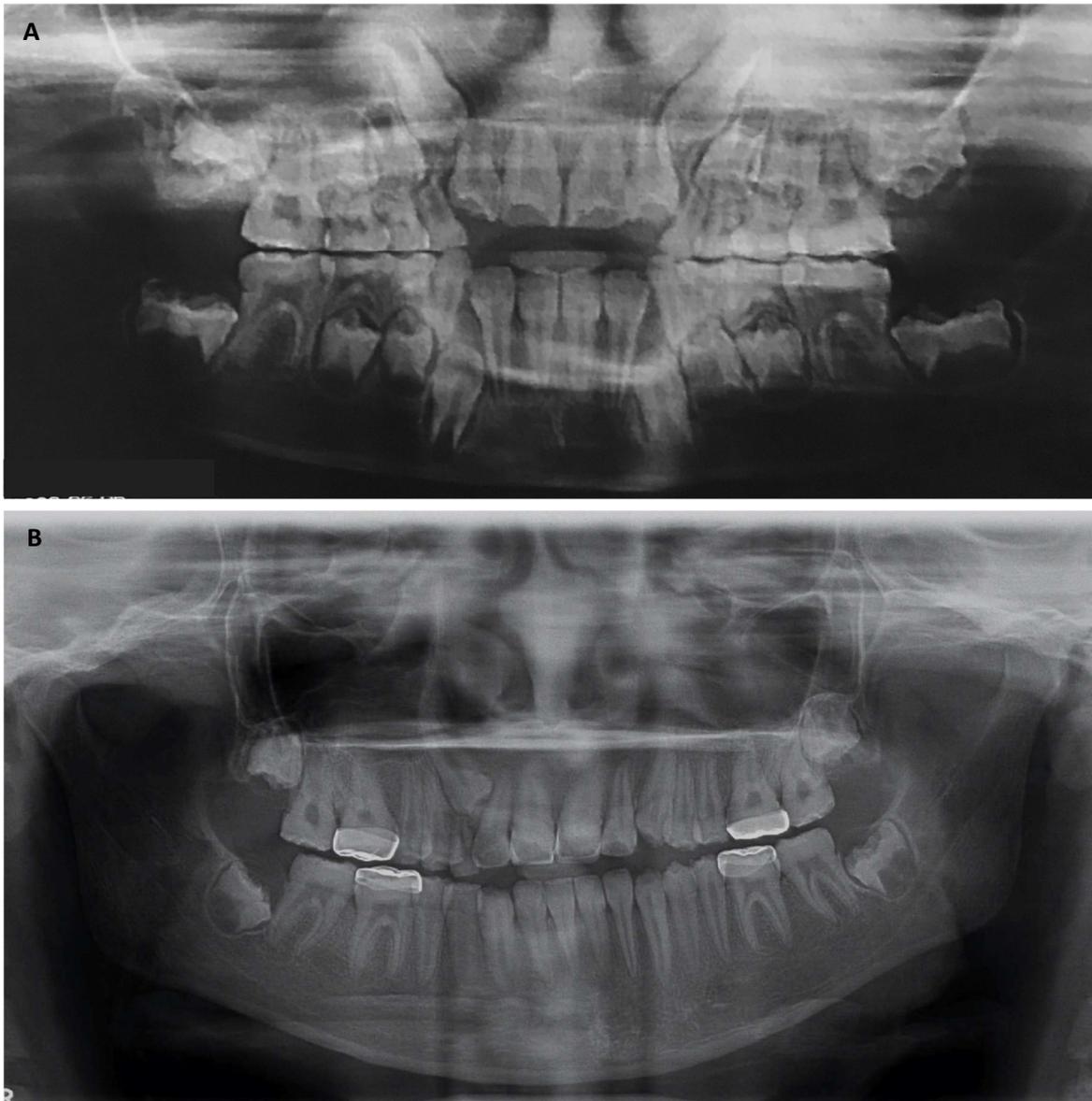


Figura 3. Exames radiográficos odontológicos (paciente IV:2). (A) Exame radiográfico odontológico aos 8 anos de idade. (B) Exame radiográfico odontológico aos 13 anos de idade.

A irmã da paciente índice (IV:1), sexo feminino, consultou-se pela primeira vez aos 10 anos de idade no Centro de Atendimento Odontológico de Doenças Raras. Nenhuma alteração sistêmica foi relatada. O exame clínico odontológico inicial, revelou a presença de dentição mista, em que os dentes caninos e molares superiores e inferiores decíduos, se apresentavam com coloração branco-amarelada (Figura 4-A). Foi verificado também, a presença de hipoplasias pontuais no terço médio e oclusal dos dentes decíduos, evidenciando um padrão de fenótipo na dentição

decídua similar ao da paciente caso índice (Figura 4-B). Nos dentes posteriores decíduos identificou aplainamento das superfícies oclusais. Nos molares decíduos inferiores do lado esquerdo, observou-se a presença de material restaurador nas faces oclusais e proximais, de coloração branco opaca (Figura 4-C; 4- D; 4-E).



Figura 4. Exame clínico intra oral (paciente IV:I) aos 10 anos de idade. (A) Vista frontal; (B) Vista fronto-lateral direita; (C) Vista oclusal superior; (D) Vista oclusal da arcada dentária superior; (E) Vista oclusal da arcada inferior; (F) Vista frontal dos incisivos inferiores permanentes.

Em relação a dentição permanente, foi observado a presença de hipoplasias pontuais generalizadas nos incisivos e molares superiores e inferiores permanentes (Figura 4-B; 4-F). Opacidades difusas nos incisivos laterais superiores (Figura 4-B).

Os molares permanentes inferiores apresentavam desgaste acentuado das superfícies oclusais com relativa integridade das paredes circundantes do terço médio e cervical de esmalte dentário (Figura 4-D), além de áreas cavitadas amarronzadas escurecidas, sugestivas de cáries (Figura 4-E).

O exame radiográfico odontológico da paciente (IV:1) aos 15 anos de idade (Figura 5) revelou a presença de toda dentição permanente e espessura reduzida do esmalte dentário. Lesão radiopaca em região de mandíbula do lado direito, sugestiva de esclerose óssea idiopática.

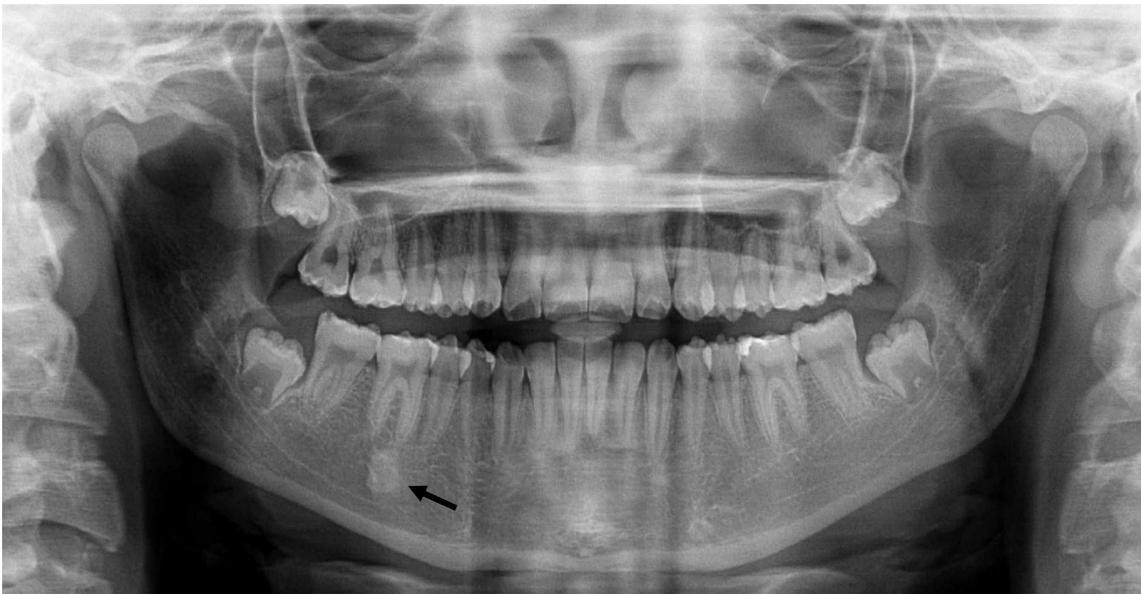


Figura 5. Exame radiográfico odontológico (paciente IV:1). Seta preta: lesão radiopaca sugestiva de esclerose óssea idiopática.

O sequenciamento de exoma foi realizado na paciente índice (IV:2). Uma nova variante em homozigose em região de *splicing* foi identificada na região do íntron 3 do gene *RELT* (NM_152222.2:c.120+1G>A,p.?), também visualizada no IGV (Figura 6). O efeito da variante na proteína não pode ser determinado por estar presente em sítio de *splicing*, fora da região codificante. A variante possui frequência populacional de 0.004%, frequência alélica de 1.00, profundidade de cobertura de 130. A variante foi prevista como incerta de acordo com as diretrizes do American College of Medical Genetics and Genomics (PM2, PVS1), prevista como "Disease causing" pelo Mutation Taster com e pela CADD como tolerável, com score de 4.2690 e rankstore de 0.5720.



Figura 6. IGV de confirmação de resultado de exoma – paciente (IV:2)

O sequenciamento Sanger do gene *RELT* foi realizado com amostra de DNA das pacientes IV:2, IV:1 e dos pais. Identificou-se a variante no cromatograma (Figura 7), em homozigose nas pacientes IV:1 e IV:2 e em heterozigose na mãe e pai (III:1 e III:2). Não foi identificada descrição dessa variante em bancos de dados da literatura e no LOVD (<http://dna2.leeds.ac.uk/LOVD/>).

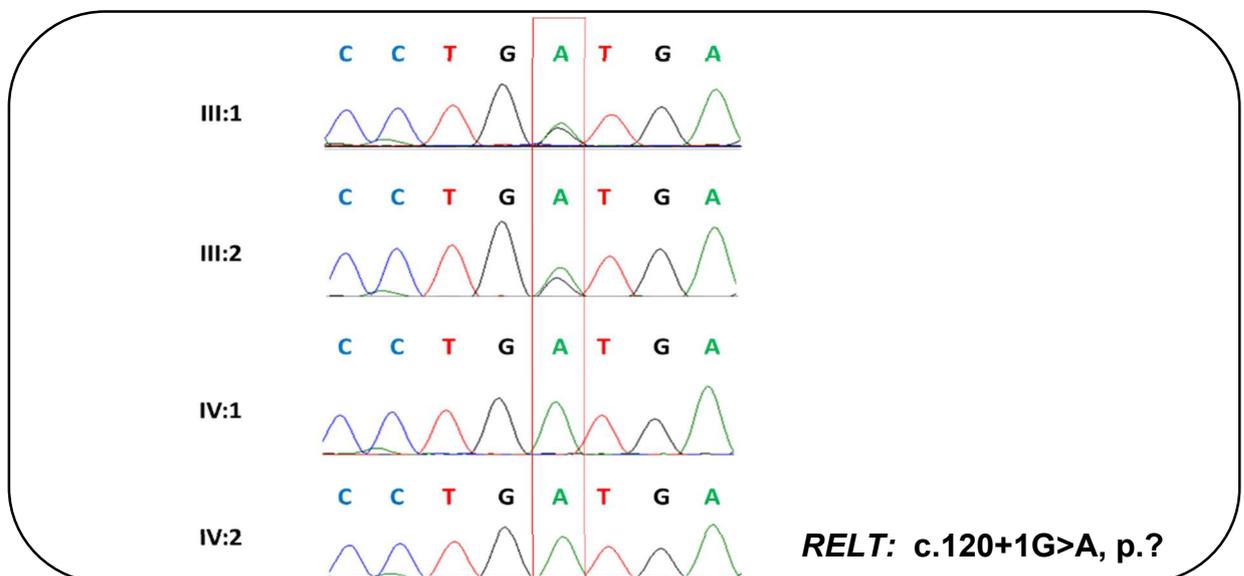


Figura 7. Cromatograma do sequenciamento de Sanger (pacientes IV:1 e IV:2), confirmou a presença da variante em sítio de *splicing* no gene *REL1*:c.120+1G>A,p.?

5.2 FAMÍLIA 2 - PACIENTE III:2

Paciente do sexo masculino (III:2), 17 anos de idade, natural do estado de Goiás, Brasil, foi encaminhado ao Centro de Atendimento Odontológico de Doenças Raras, na Unidade de Saúde Bucal, do Hospital Universitário de Brasília, se queixando de dentes que não nasciam e hipoplasia do esmalte dentário. Embora haja registro de paternidade em seus documentos, a mãe informa que não há confirmação que o pai biológico seja o que consta no registro, mas nega possibilidade de consanguinidade (Figura 8). No entanto, embora haja registro de paternidade em seus documentos, a mãe informa que não há confirmação que o pai biológico seja o que consta no registro, mas nega possibilidade de consanguinidade. Na história médica, foi informado que o paciente é respirador bucal, e queixa-se de cefaleias recorrentes e polidipsia. Não há relatos de alterações sistêmicas e uso de medicamentos. Foi feito o encaminhamento do paciente para avaliação nefrológica na Unidade de Nefrologia Pediátrica, no Hospital Universitário de Brasília, no qual não foi evidenciada nefrocalcinose.

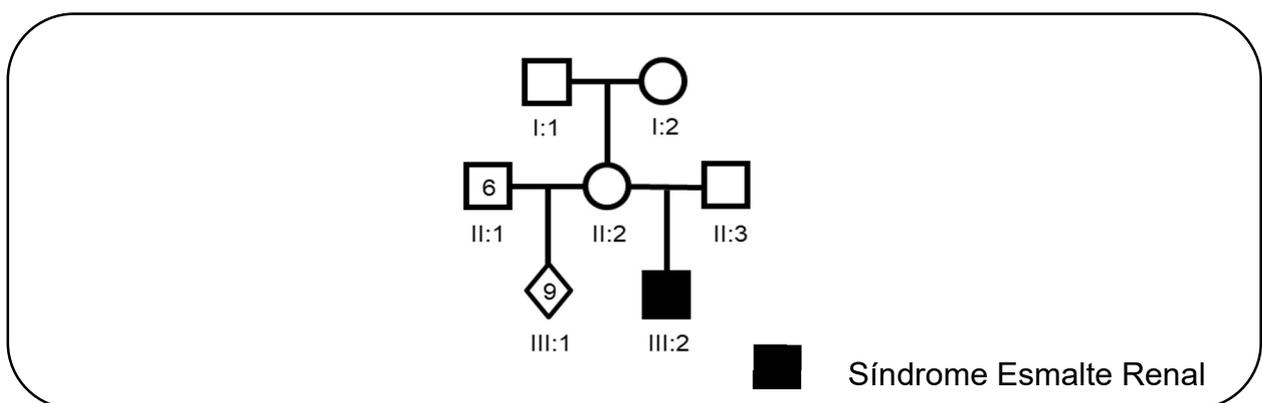


Figura 8. Heredograma da família 2 (paciente III:2): não há histórico de consanguinidade.

Ao exame clínico intraoral aos 17 anos de idade o paciente apresentava dentição mista, os dentes decíduos e permanentes apresentavam coloração amarelada, coroa clínica reduzida, espaços interproximais aumentados (Figura 9-A),

ausências de dentes permanentes e hiperplasia gengival (Figura 9-B). Retenção prolongada dos dentes decíduos: primeiros e segundos molares superiores direito e esquerdo, caninos inferiores direito e esquerdo, primeiros e segundos molares inferiores direito e esquerdo (Figura 9-C; 9-D). Molares superiores (Figura 9-C) e inferiores (Figura 9-D) decíduos apresentavam aplainamento de suas faces oclusais. Foi observado formato semi lunar dos incisivos inferiores permanentes (Figura 9-A), não foi possível identificar se os incisivos superiores apresentavam essa característica pois já haviam sido previamente reabilitados por outro cirurgião dentista em outra unidade odontológica. Primeiro molar superior direito permanente se apresenta semi incluso com a presença de pólipos pulpar (Figura 9-C).

Os achados clínicos radiográficos odontológico aos 13 anos de idade (Figura 9-E) revelou a presença de todos os dentes permanentes, descartando o diagnóstico de agenesia dentária. Foi observada a redução da espessura do esmalte dentário. Foi observada a destruição coronária dos primeiros molares inferiores permanentes inclusos. Foi observada a presença de dilacerações radiculares nos segundos molares inferiores permanentes. Foi observada imagem radiolúcida sugestiva de hiperplasia do folículo pericoronário na região do canino inferior permanente e molares superiores e inferiores permanentes inclusos. Foram identificadas calcificações intrapulpares no primeiro e segundo molares decíduos superiores direito, e nos primeiros molares inferiores permanentes e segundo molar permanente inferior direito (Figura 9-E). No exame radiográfico aos 15 anos de idade (Figura 9-F), foi observado a destruição coronária dos molares inferior esquerdo permanente.

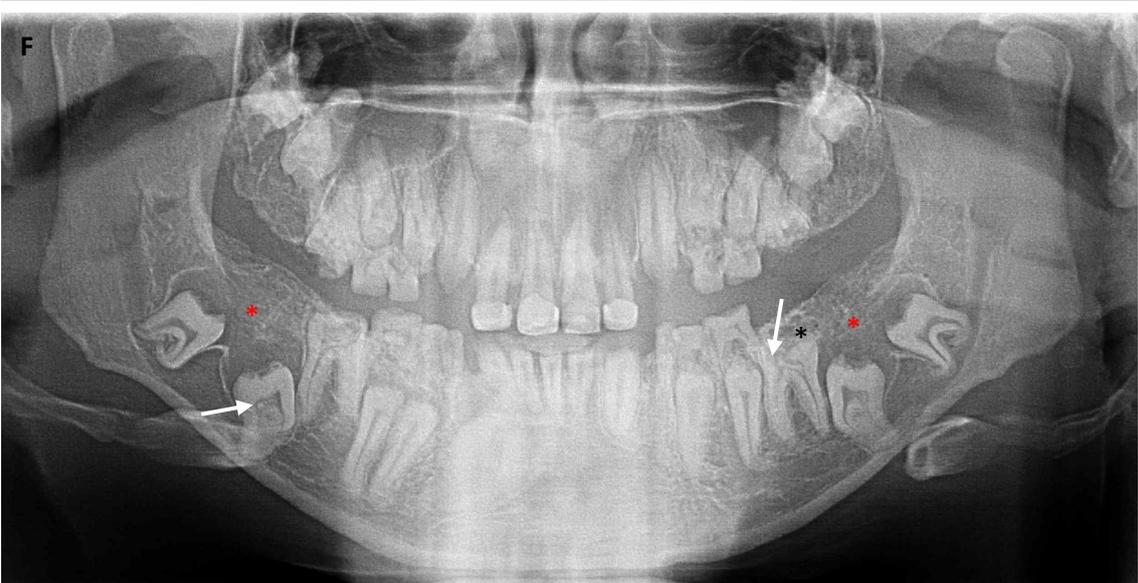
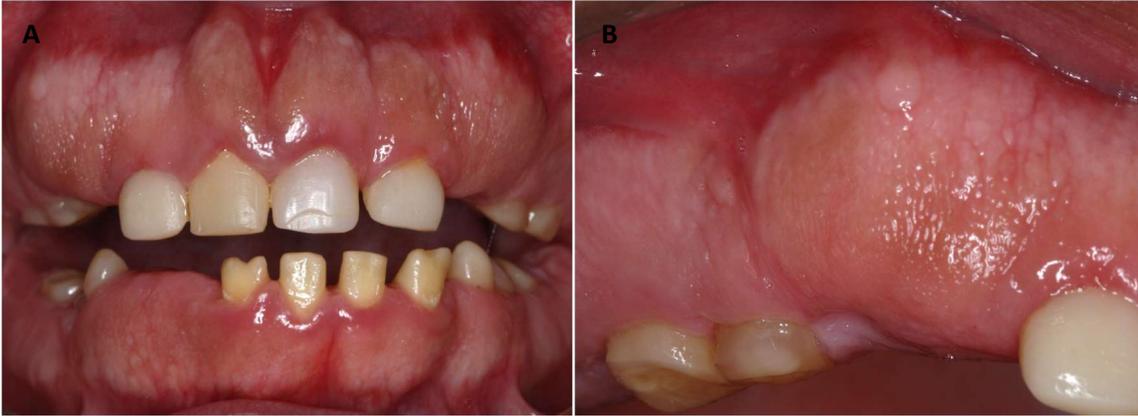


Figura 9. Exame clínico intraoral (paciente III:2). (A) Vista frontal; (B) Hiperplasia gengival; (C) Vista oclusal superior; (D) Vista oclusal inferior; (E) Exame radiográfico odontológico aos 13 anos de idade; (F) Exame radiográfico odontológico aos 15 anos de idade; (G) Exame tomográfico odontológico aos 15 anos de idade. Asterisco vermelho: hiperplasia folicular pericoronária; Seta branca: cálculo intrapulpar; Asterisco preto: destruição coronária.

O sequenciamento do exoma do paciente índice (III:2) revelou duas variantes em heterozigose composta no gene *FAM20A*. A primeira variante patogênica identificada (Figura 10) trata-se de uma variante missense no exon 2 do gene *FAM20A* (NM_017565.4:c.406C>T,p.(Arg136*), com frequência alélica de 0.47 e profundidade de cobertura de 66. A variante foi classificada como patogênica (PM2,PP5,PVS1) pelo American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), pelo ClinVar como patogênica, pelo Mutation Taster como “Disease causing automatic” e pelo CADD, como tolerável, com score de 12.5310 e rankscore de 0.9840. Além disso, uma variante patogênica nunca relatada foi identificada (Figura 11) no exon 1 do gene *FAM20A* (NM_017565.4: c.343_362delTCGCTCCTGGCCAGCCAGGA, p. Ser115Glyfs*48), com frequência na população menor de 0.001%, frequência alélica de 0.46 e profundidade de cobertura de 81. Esta variante foi classificada pela ACMG como provavelmente patogênica (PVS1,PM2).

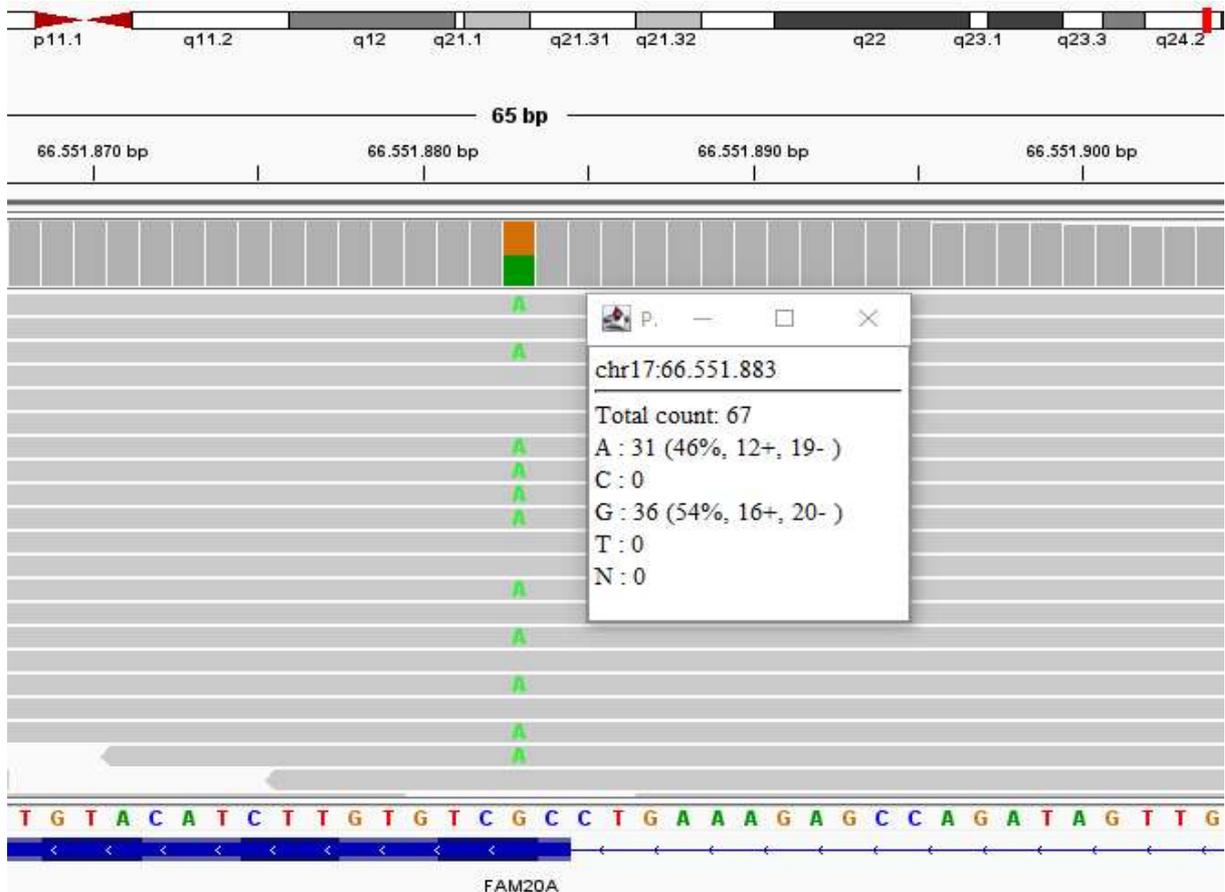


Figura 10. IGV de confirmação de resultado de exoma – paciente III:2

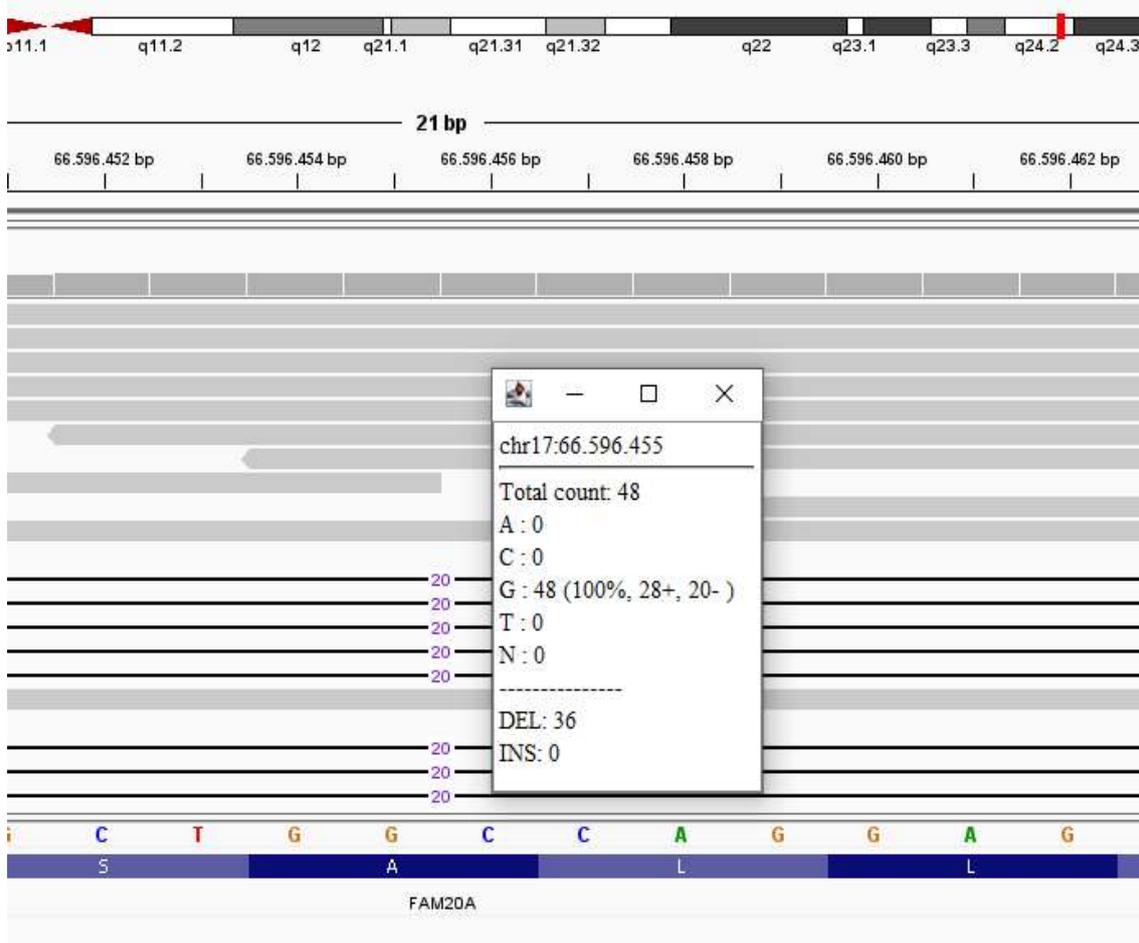


Figura 11. IGV de confirmação de resultado de exoma – paciente III:2

5.3 FAMÍLIA 3 - PACIENTE IV:2

Paciente do sexo feminino (IV:2), 11 anos de idade, natural do Distrito Federal, Brasil, foi encaminhada para tratamento odontológico no Centro de Atendimento Odontológico de Doenças Raras, na Unidade de Saúde Bucal, do Hospital Universitário de Brasília com a queixa principal ausência dos dentes permanentes. Na história familiar foi relatada dupla consanguinidade (Figura 12), pais são primos em primeiro grau e o grau de consanguinidade dos avós é desconhecido. A mãe relatou que a paciente índice nasceu com 2,5 kg. Foram relatados sintomas de polidipsia e

polifagia, além de dificuldade de aprendizagem da paciente. Não foram relatadas anomalias dentárias ou sistêmicas em nenhum dos membros da família.

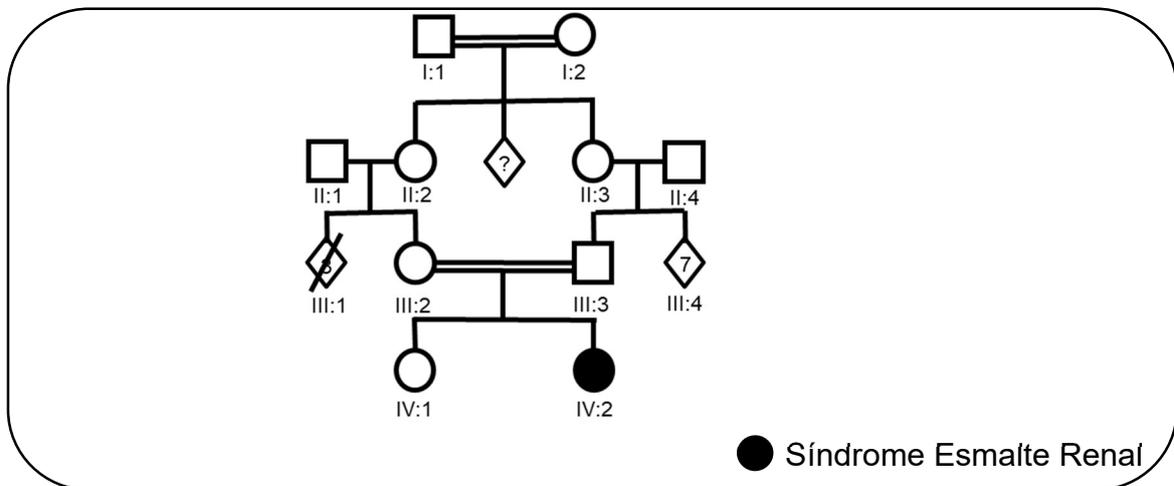


Figura 12. Heredograma da família 3 (paciente IV:2): dupla consanguinidade.

A paciente foi encaminhada para exame nefrológico na Unidade de Nefrologia Pediátrica do Hospital Universitário de Brasília. Os parâmetros bioquímicos séricos iniciais não apresentavam anormalidades. No entanto, a ultrassonografia renal (Figura 13-F; 13-G) revelou nefrocalcinose bilateral e nefrolitíase. Após 1 ano de acompanhamento nefrológico, foi diagnosticada hipocitratúria e iniciado tratamento com citrato. Ao exame clínico intraoral aos 11 anos de idade observou-se hiperplasia e pigmentação melânica gengival (Figura 13-C). Foi identificada a presença de dentição mista com coloração amarelo-acastanhada (Figura 13-A) e ausência de dentes permanentes (Figura 13-B; 13-E). Os dentes decíduos apresentavam coroas clínicas reduzidas, contato interproximal espaçados devido redução da espessura do esmalte. Os molares decíduos superiores (Figura 13-B) e inferiores (Figura 13-E) apresentavam superfícies oclusais planas, no segundo molar decíduo direito superior observou-se presença de material restaurador na face oclusal. No primeiro molar decíduo direito e esquerdo superior e segundo molar decíduo esquerdo superior a presença de cavitações amarronzadas, sugestivas de cárie. Após procedimento de ulectomia para exposição dos dentes incisivos centrais superiores permanentes, verificou-se que os mesmos apresentavam superfície rugosa e borda incisal irregular com formato semilunar, (Figura 13-D).

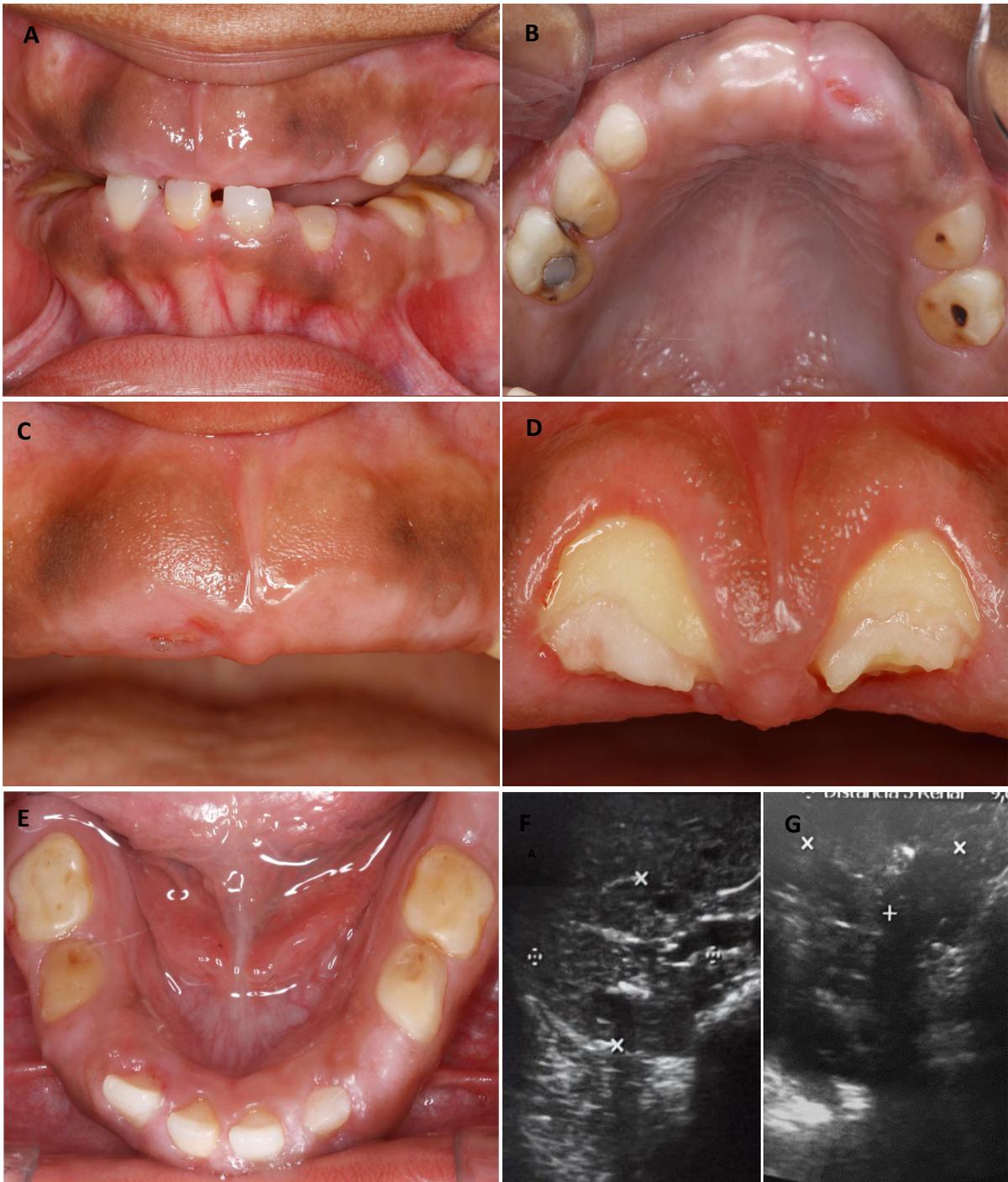


Figura 13.Exame clínico intraoral (paciente IV:2). (A) Vista frontal; (B) Vista oclusal superior; (C) Hiperplasia gengival e pigmentação melânica racial em gengiva no arco superior; (D) Vista frontal incisivos centrais permanentes superiores; (E) Vista oclusal inferior; (F) Ultrassonografia rim direito; (G) Ultrassonografia rim esquerdo.

O exame radiográfico aos 11 anos de idade (Figura 14-A) revelou a presença de todos os dentes permanentes e incisivos superiores permanentes inclusos com formato semilunar. Presença de calcificações intrapulpares em primeiros molares

inferiores permanentes. Imagens radiolúcidas sugestivas de hiperplasia do folículo pericoronário dentário e nos dentes molares inferiores permanentes foi observada destruição coronária da superfície oclusal do primeiro molar inferior direito permanente incluso.

No exame radiográfico odontológico aos 13 anos de idade (Figura 14-B) foi identificada a retenção prolongada do canino, primeiro e segundo molar superior decíduo direito, primeiro e segundo molar superior decíduo esquerdo, e primeiros e segundos molares decíduos inferiores. Foi observada a presença de calcificações intrapulpares em pré-molares inferiores e molares superiores e inferiores. Foi identificado materiais radiopacos referentes a resina composta e coroas de aço nos incisivos centrais permanentes superiores e primeiros e segundos molares decíduos superiores e inferiores. Foi observada a rizogênese incompleta dos segundos e terceiros molares superiores e inferiores permanentes. Assim como, foi observada destruição coronária do primeiro molar inferior permanente esquerdo e direito inclusos. No exame radiográfico aos 14 anos de idade (Figura 14-C; 14-D), foram realizadas tomadas radiográficas em cada semestre do ano, e evidenciou-se o aumento das imagens radiolúcidas sugestivas de hiperplasia folicular pericoronária.

Ao exame radiográfico odontológico aos 15 anos de idade (Figura 14-E) foi observada a progressão da destruição coronária nos primeiros molares inferiores permanentes. Nas tomografias odontológicas realizadas aos 15 anos, foi observada com maior detalhamento a presença de calcificações intrapulpares no segundo pré molar superior esquerdo permanente, primeiro pré molar inferior esquerdo permanente, primeiro e segundo molar inferior esquerdo permanente, primeiro pré molar inferior direito permanente e segundo molar inferior direito permanente (Figura 14-E e 14-G), e de severa destruição coronária dos dentes inclusos: primeiro molar superior direito permanente, primeiros molares inferiores permanentes, e segundo molar inferior direito permanente. (Figura 14-H). Outro aspecto a se observar, é que em comparação a radiografia aos 11 anos de idade (Figura 14-A), é possível identificar o deslocamento dos dentes em direção a base do corpo da mandíbula. Aos 17 anos de idade (Figura 14-F) foi observado a retenção prolongada dos primeiros e segundos molares inferiores e superiores decíduos. Foi observado também nos dentes incisivo central direito superior permanente e caninos inferiores permanentes, a presença de material obturador radiopaco de tratamento endodôntico previamente realizados.

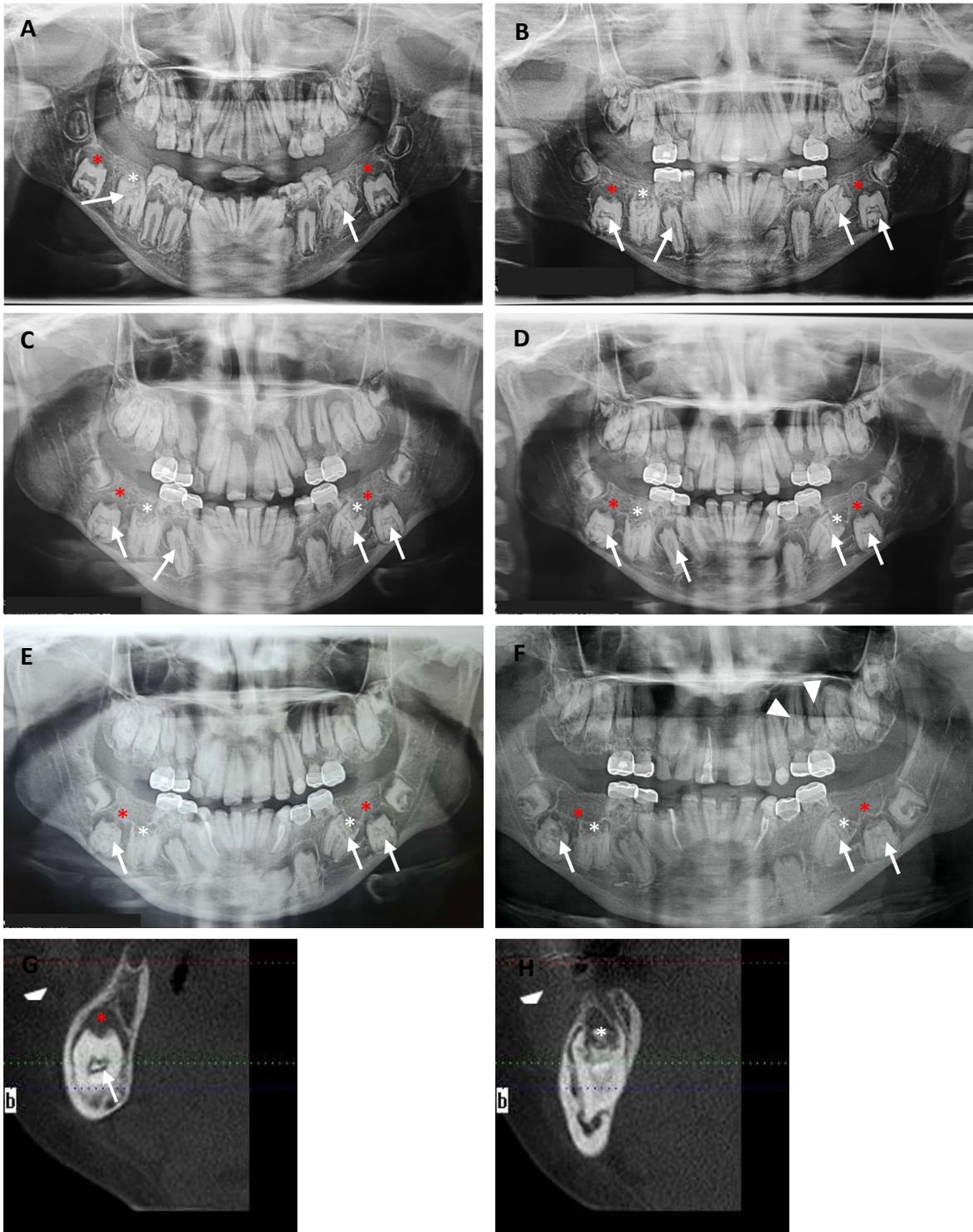


Figura 14. Exame radiográfico e tomográfico odontológico (paciente IV:2). (A) Exame radiográfico odontológico aos 11 anos de idade; (B) Exame radiográfico odontológico aos 13 anos de idade; (C) Exame radiográfico odontológico aos 14 anos de idade – 1º Semestre; (D)

Exame radiográfico odontológico aos 14 anos de idade – 2º Semestre; (E) Exame radiográfico odontológico aos 15 anos de idade; (F) Exame radiográfico odontológico aos 17 anos de idade; (G) Exame tomográfico odontológico aos 15 anos de idade; (H) Exame tomográfico odontológico aos 15 anos de idade. Asterisco vermelho: hiperplasia do folículo pericoronário; Seta branca: cálculo intrapulpár; Asterisco branco: destruição coronária.

Inicialmente em 2014, na paciente índice (IV:2) foi identificada por sequenciamento Sanger, uma nova variante no gene *FAM20A* (NM_017565.4:c.1112G>A,p.Trp371*) em colaboração com uma equipe belga. Após essa identificação, a amostra de DNA da paciente e de outros pacientes diagnosticados com a síndrome ERS e com variantes no gene *FAM20A*, foram analisados por secretoma. No resultado do secretoma da paciente índice (IV:2), foi identificado uma diferença em comparação aos demais pacientes avaliados, pois foram identificadas proteínas expressas entre *FAM20A* e *FAM20C*, sendo proposto o sequenciamento do exoma para identificar se havia, também, variantes em *FAM20C*.

Identificou-se a variante no gene *FAM20A* (NM_017565.4:c.1112G>A,p.Trp371*), previamente identificada no sequenciamento de Sanger em 2014 (Figura 15), com frequência populacional de <0.001, frequência alélica de 1.00 e a cobertura de 25. Os pais apresentavam a variante em heterozigose, enquanto a paciente caso índice apresentava a variante em homozigose (Figura 15). Essa nova variante nunca havia sido relatada na literatura e foi prevista como causadora de doenças pelo Mutation Taster. De acordo com as diretrizes da ACMG, essa variante foi prevista como provavelmente patogênica.

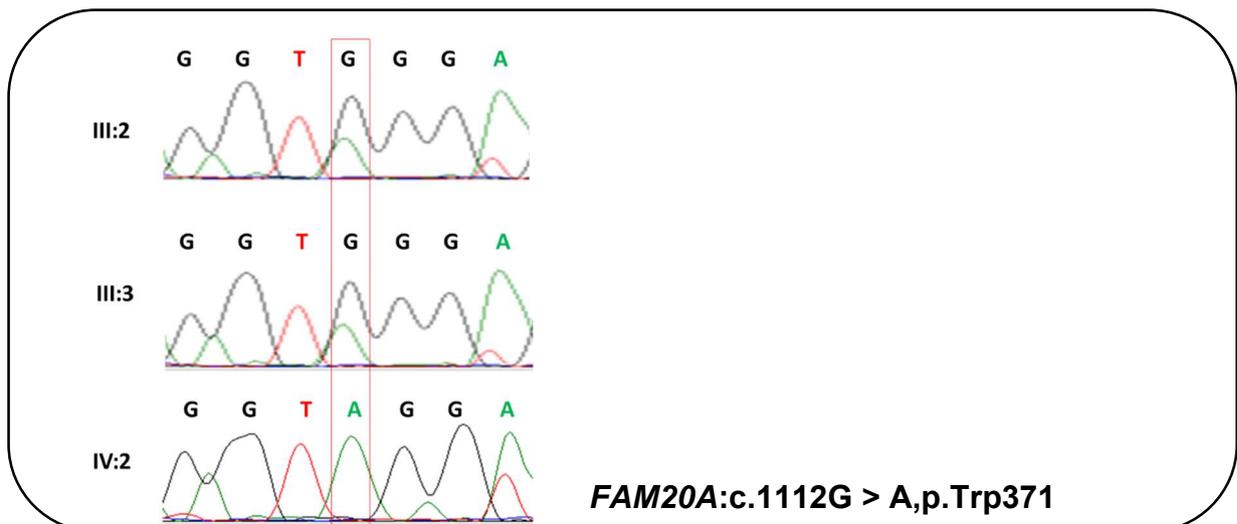
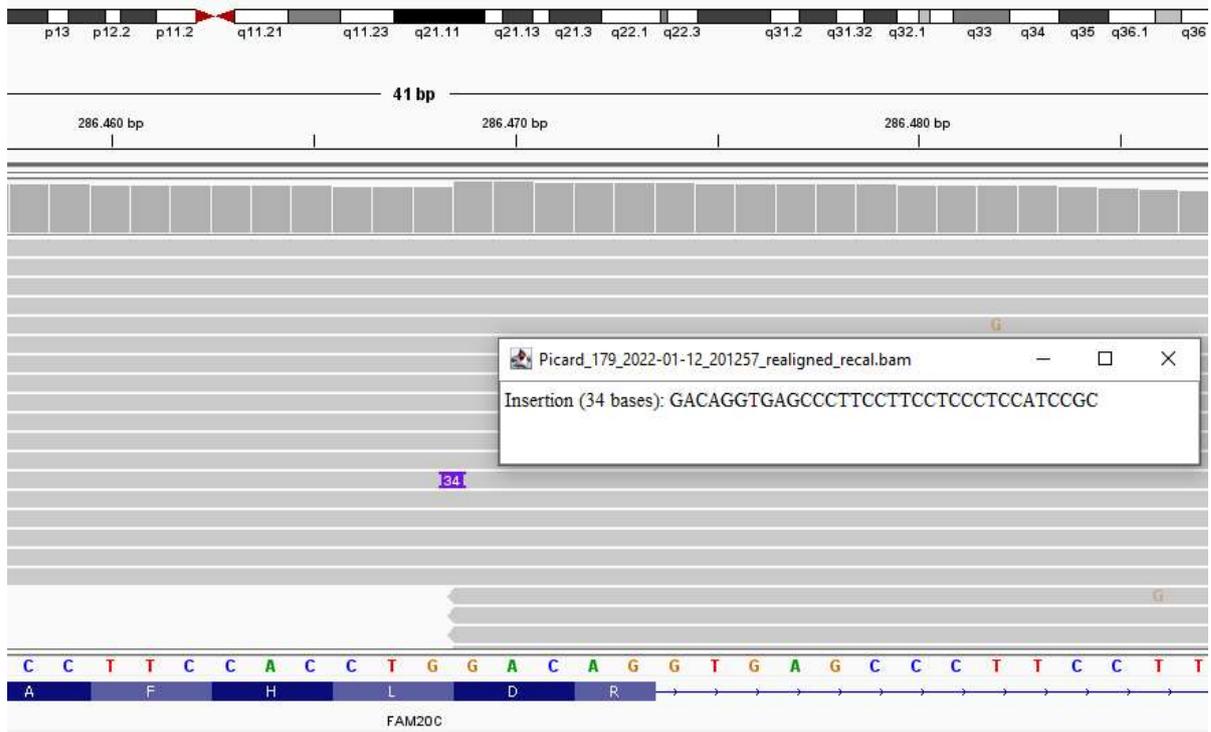


Figura 15. Cromatograma do sequenciamento de Sanger (paciente IV:2), confirmou a presença da variante em sítio de *splicing* no gene *FAM20A*:c.1112G>A,p.Trp371

O sequenciamento do exoma foi realizado na paciente caso índice. Uma nova variante nonsense em heterozigose foi identificada no sequenciamento de exoma (Figura 16) no exon 4 do gene *FAM20C* (NM_020223.44:c.951_952insGACAGGTGAGCCCTTCCTTCCTCCCTCCATCCGC,p.Ile320*). A frequência alélica é de 0.41 e cobertura de 64. De acordo com a Variação Clinicamente Relevante (ClinVar), esta variante foi prevista como benigna. No entanto, de acordo com a ACMG, essa variante é identificada como provavelmente patogênica.



5.4 FAMÍLIA 4 - PACIENTE II:3

Paciente do sexo feminino (II:3), natural do Distrito Federal, Brasil, foi encaminhada aos 8 anos de idade ao Centro de Atendimento Odontológico de Doenças Raras, na Unidade de Saúde Bucal, do Hospital Universitário de Brasília, com queixa principal que os dentes não nasciam. Na história familiar não foi relatado histórico de consanguinidade (Figura 17). Além disso, a mãe relatou que não houve intercorrências durante a gestação e parto, e que a paciente nasceu com 2 kg. No seu primeiro mês de vida, ocorreu a inalação acidental de óleo de cânfora, sendo

necessária à internação por uma semana e o emprego de suporte de oxigênio. Durante os 5 primeiros anos de vida, a mãe também relatou a história de diagnóstico de quadro temporário de bronquite asmática. Foi mencionado também, a marcha equina como hábito da paciente durante a infância, e relatos de outros familiares com a mesma característica.

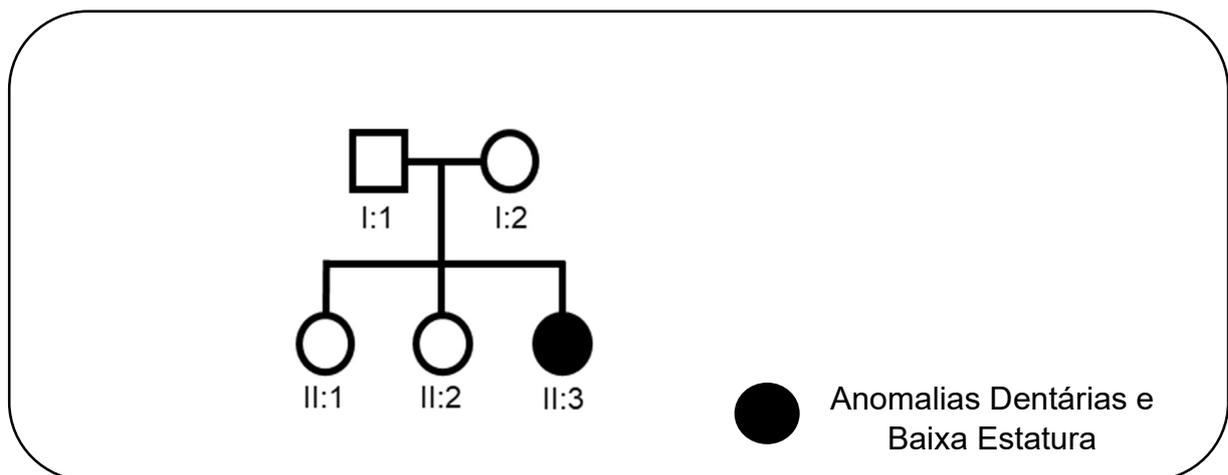


Figura 15. Heredograma da família 4 (pacientes II:3): sem história de consanguinidade.

Quanto a história de doenças renais, foi relatado que a irmã (II:2) e em uma tia paterna apresentaram alterações renais. A irmã (II:2) aos 2 anos apresentou quadro de nefrose não especificado, não há informação sobre tratamento ou progressão do quadro clínico. A tia apresenta deficiência parcial visual, suspeita de deficiência auditiva e infecções urinárias recorrentes. Os dois familiares não foram investigados em relação às alterações renais. A paciente foi encaminhada para exame nefrológico na Unidade de Nefrologia Pediátrica, no Hospital Universitário de Brasília, no qual não foi identificado alterações nefrológicas.

No exame físico extraoral, observou-se aos 8 anos baixa estatura da paciente. Atualmente aos 23 anos de idade, ela pesa 47 kg e mede 1,53m. No exame físico intraoral aos 8 anos foi observada a presença de dentição mista (Figura 18-A) e retenção prolongada dos dentes decíduos: incisivo lateral superior direito, primeiro molar superior direito, primeiro molar superior esquerdo, incisivo central e lateral inferior esquerdo, primeiro molar inferior esquerdo, incisivo central e lateral inferior direito, primeiro molar inferior esquerdo, além da ausência de alguns dentes

permanentes. Os dentes apresentavam uma camada fina e/ou inexistente de esmalte dentário, contato interproximal reduzido (Figura 18-C; 18-D) e coloração amarelo-amarronzado (Figura 18-D). Os dentes decíduos anteriores e posteriores apresentavam coroas clínicas reduzidas, com desgaste das faces incisais e oclusais, com características arredondadas (Figura 18-E; 18-F). Canino superior esquerdo decíduo apresentava coloração amarronzada (Figura 18-D) e material restaurador em sua incisal (Figura 18-B). Os incisivos centrais superiores permanentes apresentavam o formato semilunar (Figura 18-A) e os dentes posteriores permanentes revelaram aplainamento de sua superfície oclusal (Figura 18-C). O Molar superior esquerdo permanente apresentava material restaurador em sua face oclusal (Figura 18-B).



Figura 16. Exame clínico intraoral (paciente II:3) aos 8 anos de idade. (A) Vista frontal; (B) Vista oclusal superior; (C) Vista lateral direito; (D) Vista lateral esquerda; (E) Vista oclusal da arcada inferior; (F) Vista frontal dos incisivos inferiores permanentes.

No exame radiográfico aos 8 anos de idade (Figura 19-A) foi observada a presença de calcificações intrapulpares nos molares decíduos e permanentes. Incisivos centrais superiores permanentes e canino superior esquerdo decíduo tratados endodonticamente. Foi observada a redução da espessura do esmalte dentário. Quanto aos dentes permanentes ausentes na cavidade oral ao exame clínico foi descartado o diagnóstico de agenesia dentária ao exame radiográfico, revelando a presença de dentes inclusos: incisivos laterais, caninos, primeiros molares e segundo molares superiores permanentes, além dos incisivos centrais, laterais, caninos, primeiro pré-molar, e terceiros molares inferiores permanentes. No exame radiográfico aos 23 anos de idade (Figura 19-B) verificou-se a presença de dentes decíduos com retenção prolongada: os caninos inferiores esquerdo e direito, primeiros molares inferiores esquerdo. Foi identificada a presença de germes dentários permanentes, incisivo lateral e canino superior direito, além do canino superior esquerdo em região de maxila próximo ao seio maxilar; na região mentoniana de mandíbula, os germes dos dentes caninos inferiores direito e esquerdo e primeiros pré-molares inferiores direito e esquerdo. Há também, a presença de cálculos intrapulpares em pré-molares e molares inferiores permanentes; além de lesão radiolúcida em torno das raízes dos incisivos centrais inferiores permanentes.

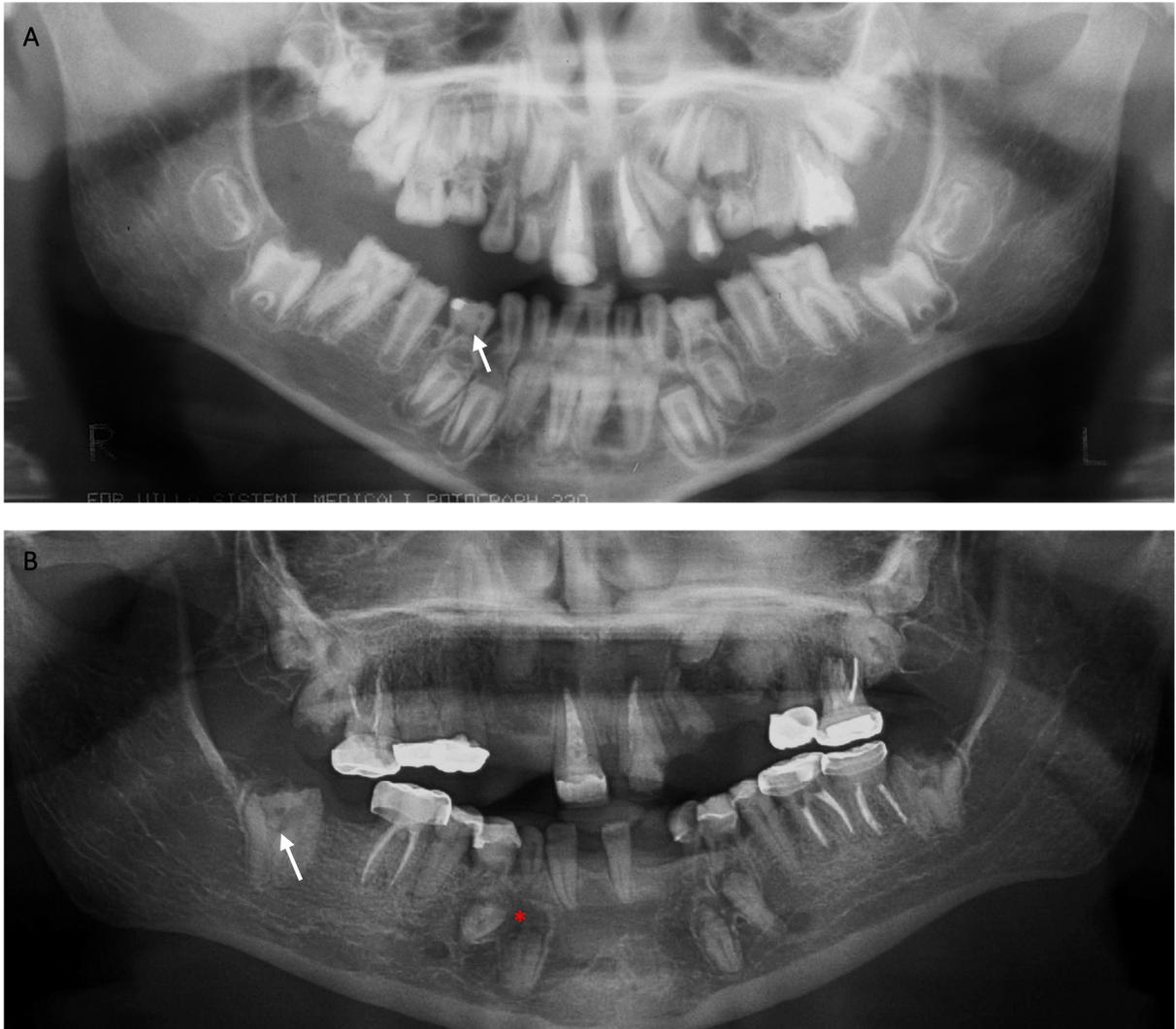


Figura 17. Exame radiográfico odontológico (paciente II:3). (A) Exame radiográfico aos 8 anos de idade; (B) Exame radiográfico aos 23 anos de idade; Seta branca: calcificações intrapulpares; Asterisco vermelho: hiperplasia do folículo pericoronário.

Foi realizado o diagnóstico de amelogenese imperfeita hipoplásica. Como as características orodentais da paciente eram patognomônicas para Síndrome Esmalte-Renal (ERS/OMIM #204690). Inicialmente foi realizado o sequenciamento de Sanger para investigação de variante no gene candidato *FAM20A*. No entanto, não foram identificadas variantes no gene *FAM20A* pelo sequenciamento Sanger, descartando o diagnóstico de Síndrome Esmalte-Renal.

O sequenciamento de exoma revelou duas novas variantes em heterozigose composta. A primeira variante heterozigótica (Figura 20) refere a uma deleção foi identificada, no exon 1 do gene *LTBP3* (NM_001130144.2:

Figura 19. IGV de confirmação de resultado de exoma – paciente II:3

O sequenciamento Sanger do gene *LTBP3* (Figura 20) foi realizado com amostra de DNA da paciente índice (II:3) e da mãe (I:2), não sendo possível realizar sequenciamento com o DNA do pai por ele não residir no Distrito Federal. Foi possível validar a variante no gene *LTBP3* no éxon 23 na paciente, mas não foi constatada no sequenciamento materno. Não foi possível amplificar a variante do éxon 1.

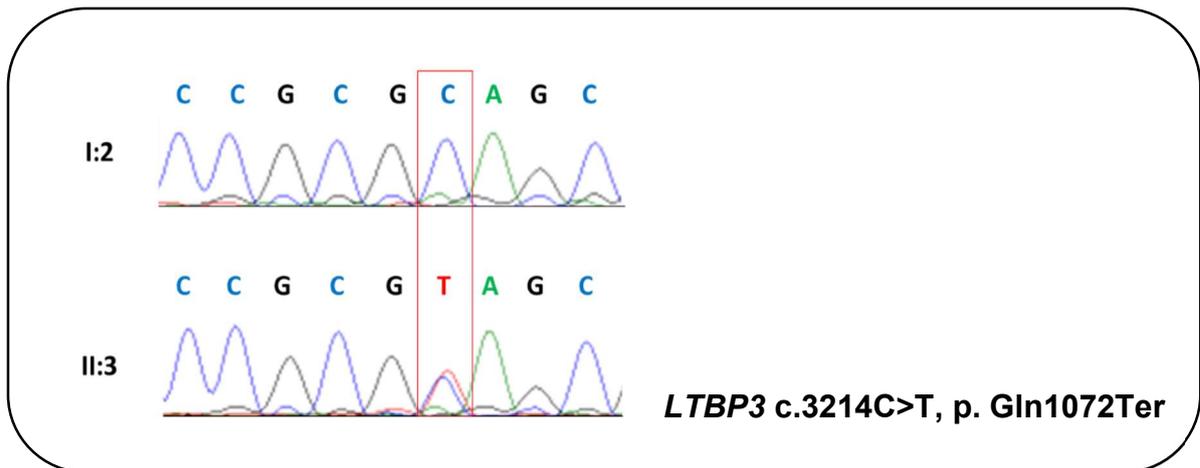


Figura 20. Cromatograma do sequenciamento de Sanger (paciente II:3), confirmou a presença da variante em sítio de *splicing* no gene *LTBP3*: c.3214C>T, p.Gln1072Ter

5.4 FAMÍLIA 5 - PACIENTE IV:1

Paciente do sexo masculino (IV:1), 12 anos de idade, natural do Distrito Federal, Brasil, foi encaminhado com diagnóstico prévio de AI ao Centro de Saúde Bucal de Doenças Hereditárias do Hospital Universitário de Brasília, Brasil, se queixando de falta de esmalte na coroa dentária. Durante a anamnese foi relatada consanguinidade na família, pais são primos em primeiro grau, não há relatos de

casos similares na família (Figura 21). Não houve complicações durante a gestação e infância. Na história médica não foi relatado alterações a nível sistêmico.

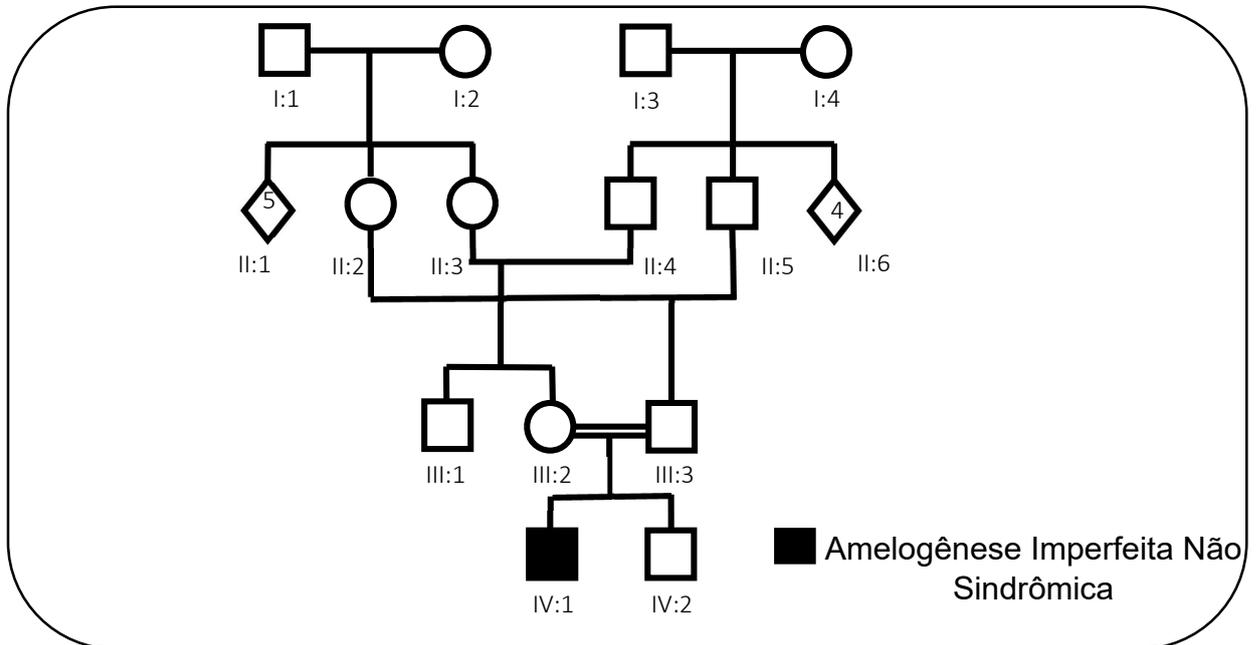


Figura 21. Heredograma da família 5 (paciente IV:1): história de consanguinidade.

Na consulta inicial aos 12 anos de idade, ao exame físico intrabucal observou-se a presença de dentição mista, apinhamento dos incisivos laterais superiores permanentes e mordida aberta anterior (Figura 22-A). Os dentes decíduos caninos e molares superiores e inferiores (Figura 22-B) apresentavam uma coloração amarelada e hipoplasias pontuais sobre toda superfície do esmalte dentário, em maior concentração no terço médio dos dentes, sugerindo um esmalte hipoplásico. Foi observado também, desgastes nas faces incisais dos caninos decíduos e aplainamento da superfície oclusal dos molares decíduos (Figura 22-B). Os dentes molares decíduos superiores apresentavam uma coloração amarelo-amarronzada em comparação aos outros dentes, devido a maior quantidade de dentina exposta (Figura 22-C). No primeiro molar decíduo inferior permanente observa-se material restaurador compatível com amálgama nas faces oclusais e vestibular (Figura 22-D). O segundo molar decíduo direito inferior está desgastado em sua face oclusal, no entanto, é possível visualizar, no terço médio medial e médio distal da face oclusal, esmalte remanescente hipoplásico (Figura 22-E).

Os incisivos centrais e laterais superiores permanentes apresentavam apinhamento (Figura 22-A), dentes com coloração amarelada, hipoplasia pontuais no esmalte dentário e pigmentação extrínseca amarronzada sobre as hipoplasias. Opacidades demarcadas na borda incisal dos incisivos laterais superiores permanentes (Figura 22-B). Erupção parcial de primeiro pré-molar superior direito (Figura 22-C). As superfícies oclusais dos molares permanentes superiores (Figura 22-C) e inferiores (Figura 22-D) apresentavam cúspides irregulares, decorrente ao desgaste do esmalte dentário, entretanto com exposição de dentina acentuada nas paredes vestibulares (Figura 22-E). Tais áreas de ausência e/ou diminuição de esmalte dentário são referentes a áreas de contatos oclusais, o que pode justificar a motivação de maiores desgastes na região.

O exame radiográfico odontológico (Figura 22-F) aos 12 anos de idade, revelou a presença de todos os dentes permanentes. Radiopacidade referente a material restaurador na região coronária do segundo pré-molar decíduo inferior esquerdo. Na dentição decídua e permanente, inclusive os dentes inclusos, é possível observar a diminuição da espessura do esmalte dentário. Dilaceração radicular de primeiros e segundos molares inferiores permanentes.



Figura 22. Exame clínico intraoral e radiográfico (paciente IV:1). (A) Vista frontal; (B) Vista lateral direita; (C) Vista oclusal superior; (D) Vista oclusal inferior; (E) Vista oclusal molares inferiores direitos; (F) Exame radiográfico odontológico aos 12 anos de idade.

Nenhuma variante candidata foi identificada como causadora do quadro clínico de AI. Foi realizada uma busca generalizada, e nenhuma variante candidata classificada como incerta, provavelmente patogênica ou patogênica foi identificada como relacionada a casos de alterações no desenvolvimento dentário.

6.DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo caracterizar os aspectos clínicos e genéticos de 5 famílias com diagnóstico prévio de AIAR. Considerando-se a heterogeneidade clínica e genética nos casos de AI, um minucioso exame clínico foi fundamental para o diagnóstico, o qual envolveu a exclusão da etiologia ambiental, a definição do modo de herança e a investigação de alterações sistêmicas e orais (1). Todos os casos avaliados apresentaram AI do tipo hipoplásico. A história familiar das 5 famílias, sugeriu um padrão de herança autossômico recessivo, 3 famílias relataram consanguinidade entre pais. Dos 5 pacientes diagnosticados com AIAR, estabeleceu-se o diagnóstico de possível AI sindrômica em 3 famílias, e possível AI não sindrômica em 2 famílias. Sendo identificadas na avaliação sistêmica: alterações renais em um paciente, e suspeita de alterações ósseas e cardíacas em uma paciente.

O diagnóstico molecular dos casos de AI, pode ser um desafio. No entanto, com os estudos sobre a correlação fenótipo-genótipo e os avanços das ferramentas de sequenciamento genético, principalmente de plataformas de análise que permitem a utilização de filtros, tornou-se possível ampliar o espectro de variantes (12). Dentre os genes já relatados em casos de AI, 14 genes estão envolvidos nas formas não sindrômicas (*AMELX*, *ENAM*, *MMP20*, *KLK4*, *FAM83H*, *WDR72*, *ITGB6*, *SLC24A4*, *COL17A1*, *LAMB3*, *LAMA3*, *GPR68*, *AMBN* e *C4orf26*), e 15 genes nas formas sindrômicas (*LTBP3*, *COL17A1*, *DLX3*, *FAM20A*, *CNNM4*, *ROGDI*, *LAMA3*, *LAMB3*, *ITGB4*, *CLDN16*, *CLDN19*, *PEX1*, *PEX6*, *STIM1* e *FAM20C*) (8-9). Neste estudo, utilizando o filtro dos genes previamente relatados na literatura, foram identificadas variantes nos genes *LTBP3*, *FAM20A* e *RELT* em 5 pacientes e em um paciente não foi identificada nenhuma variante candidata.

A variante patogênica identificada na família I, se localizava em sítio de splicing no gene *RELT* (Receptor Expressed in Lymphoid Tissues). As primeiras variantes patogênicas identificadas no gene *RELT* em casos de AI, foram relatadas por KIM e colaboradores em 2019 (63) em três famílias, que apresentavam o fenótipo orodental semelhante ao de nossas pacientes. Posteriormente em 2020, Nikopoulos e colaboradores (64), relataram duas novas variantes no gene *RELT* em quatro famílias. A família 1 é a oitava família relatada com variante patogênica no gene *RELT*, a

variante em homozigose não foi relatada anteriormente e se localiza no intron 3 que a variante *RELT*:c.121-2A>G,p.(?) previamente relatada (63).

Dos casos relatados na literatura, um estudo em três famílias relatou infecções recorrentes na infância e baixo peso ao nascimento (KIM et al., 2019). No entanto, em quatro famílias e na família incluída nesse estudo, não foram constatadas alterações sistêmicas (64). À medida que novos relatos de casos de AI com variantes patogênicas no gene *RELT* forem identificadas, poderá ser elucidado se trata de casos síndromicos ou casos síndromicos e não síndromicos. Nos outros relatos de famílias afetadas, observou-se um fenótipo orodental semelhante ao da família I. No entanto, não foram caracterizadas manifestações orodontais na dentição decídua nos outros estudos. As irmãs da família I apresentavam hipoplasias pontuais localizadas no terço incisal e médio dos dentes decíduos (63-64). Em relação à dentição permanente a gravidade e tipo de defeito de esmalte foi variável em todos os pacientes. Todos os pacientes relatados até este momento, apresentaram perda de esmalte oclusal nos terços oclusais e médios das faces vestibulares e linguais/palatinas de pré-molares e molares. Além disso, foi observada uma fina camada de esmalte no terço cervical, formando um anel na coroa dentária.

O gene *RELT*, é um membro da superfamília TNFR (Tumor Necrosis Factor Receptors), descrito pela primeira vez em 2001 (65). A expressão do gene *RELT* foi identificada em células linfoides, e sugere-se sua função na diferenciação e apoptose de leucócitos T (66-68). Kim e colaboradores (2019), avaliaram a expressão gênica do *Relt* durante a odontogênese, e foi evidenciada a marcação em ameloblastos secretores e em odontoblastos. Estudo com camundongos *knockout RELT* demonstrou nos camundongos homozigotos (^{-/-}) esmalte rugoso e hipomineralizado (63). Em 2019, Ikeda e colaboradores demonstraram a interação entre *RELT* e ADAM10, uma protease, que poderia fazer a proteólise do domínio extracelular da proteína RELT sugerindo um papel da proteína na modulação da tradução de sinais nos ameloblastos durante a amelogênese (69).

Nas famílias 2 e 3, as manifestações orodontais sugeriram o diagnóstico de Síndrome Esmalte Renal (ERS- OMIM#204690), uma condição autossômica recessiva rara caracterizada principalmente por fibromatose gengival, AI, calcificações intra-pulpare, alteração cronológica da erupção dentária, hamartomas e nefrocalcinose (70-72). A ERS é causada por variantes patogênicas no gene *FAM20A*. A ERS também, já foi denominada de Síndrome de MacGibbon (73) ou como uma

outra condição, denominada de Síndrome da Amelogênese Imperfeita e Fibromatose Gengival (AIGFS-#61425), quando não havia manifestação de nefrocalcinose. No entanto, com os avanços dos métodos de investigação molecular, verificou-se que ambas as síndromes apresentavam a mesma etiologia (75), porém com heterogeneidade nos fenótipos renais (76). O paciente da família 2 não foi diagnosticado com nefrocalcinose, e na paciente da família 3, foi diagnosticada nefrocalcinose e nefrolítiase, reforçando a variabilidade do fenótipo renal dos indivíduos diagnosticados com ERS.

Neste estudo foram identificadas três variantes patogênicas no gene *FAM20A*, duas variantes em heterozigose composta na família 2, sendo a primeira uma variante nunca relatada e a segunda já relatada quatro vezes na literatura (13,75-78); e uma nova variante em homozigose na família 3. A família de proteínas FAM20 (family with sequence similarity 20) é formada por três membros: *FAM20A*, *FAM20B* e *FAM20C*, sugere-se que as proteínas *FAM20A* e *C* desempenham um papel importante na biomineralização (77,79-80). O gene *FAM20A* codifica a *FAM20A* que é uma pseudoquinase da via secretora fortemente expressa em matrizes extracelulares dentárias e fibroblastos gengivais (81). Estudos *in vitro* tem demonstrado que *FAM20A* forma um complexo com *FAM20C* potencializando sua atividade quinase (82).

Como variantes no gene *FAM20A* afetam a odontogênese, amelogênese, dentinogênese, erupção dentaria e a homeostasia da gengiva não está esclarecido atualmente. Dois estudos recentes avaliaram a composição proteica da fibromatose gengival de pacientes ERS e foi evidenciado alterações na expressão das fibras colágenas, glicosaminoglicanas, proteoglicanas, glicoproteínas de adesão e outras proteínas tais TGFb 2 envolvidas na patogênese da fibrose tecidual. (81,83).

Os casos relatados na literatura, em geral apresentam dentes impactados e hiperplasias dos folículos pericoronários, sugestivos de hamartomas, em torno dos dentes não irrompidos. A elongação radicular de pacientes com ERS parece não estar afetada e tem sido sugerido que as dilacerações radiculares observadas possam estar relacionadas a presença dos hamartomas foliculares, porém não existem modelos experimentais que tenham avaliado o papel de *FAM20A* na formação radicular e erupção. (52,70,84-85). Nos exames radiográficos da paciente IV:2 da família 3, foi possível visualizar a progressão da destruição coronária dos dentes impactados posteriores em um período de 6 anos. Foi sugerido que as reabsorções dentárias

observadas em dentes não erupcionados podem ser causadas pela interação entre o hamartoma e o esmalte dentário hipoplásico. No paciente deste estudo os molares com maiores reabsorções coronárias não apresentavam grandes hamartomas (86).

Na família 4, observou-se no exame odontológico manifestações orodentais na paciente II:3, que sugeriram hipótese diagnóstica de ERS. Porém, a paciente não apresentava nefrocalcinose. Em 2014, foi realizado o sequenciamento de Sanger, no qual não foram identificadas variantes patogênicas no gene *FAM20A*. Então, optou-se por realizar exoma, identificando-se duas novas variantes em heterozigose composta no gene *LTBP3*. O gene *LTBP3* foi identificado inicialmente em 1995 e é um integrante da família de proteínas de matriz celular, as proteínas de ligação do fator de crescimento LTBPs 1, 2, 3, e 4 (87-89). Sugere-se que a proteína LTBP3 é expressa durante a morfogênese craniofacial e mineralização de tecidos, participando da ativação do fator de crescimento TGF- β (90-93). Variantes patogênicas no gene *LTBP3* causam Displasia Acromicrica (ACMICD; OMIM #102370), Displasia geleofísica (GPHYSD3; OMIM #617809) e Anomalias dentárias e baixa estatura (DASS; OMIM #601216) (94).

DASS é uma condição autossômica recessiva rara, caracterizada principalmente, por baixa estatura e anomalias dentárias, incluindo amelogênese imperfeita, taurodontismo, defeitos de desenvolvimento da dentina, calcificações intrapulpare, oligodontia, prognatismo mandibular e dentes impactados. Além de alterações sistêmicas, tais como aneurisma do septo interatrial, prolapso da válvula tricúspide, luxação da articulação glenoumeral recorrente, braquiolmia e escoliose (95-97). Recentemente, foi descrito que pacientes com variantes patogênicas em heterozigose no gene *LTBP3*, podem apresentar manifestações mais leves da DASS, como baixa estatura e aneurisma do septo interatrial (97).

Na paciente II:3 da família 4 de nosso estudo, foi identificada baixa estatura, e inicialmente, foi descartado o diagnóstico de braquiolmia pela avaliação clínica extraoral. Uma avaliação radiográfica completa foi solicitada, no entanto, a paciente ainda não realizou os exames. No exame intraoral foram identificadas AI hipoplásica, alteração na coloração dentária e erupção tardia dos dentes. Todos os 11 casos relatados na literatura de DASS, manifestaram AI do tipo hipoplásico (94,96-100). Estudos com camundongos *Ltbp3*^(-/-) demonstraram irregularidade da superfície do esmalte dentário, sugerindo que a expressão de LTBP3 seja essencial para a

secreção adequada das proteínas do esmalte dentário (98). Morkmued e colaboradores (90), demonstraram que os ameloblastos secretores dos camundongos *Ltbp3* (^{-/-}) não apresentaram mudanças morfológicas, mas, a camada papilar adjacente aos ameloblastos apresentava um aumento na vascularização, sugerindo que as alterações na funcionalidade dos ameloblastos podem ser causados por defeitos de vascularização.

Na família 5, foi reportado que os pais do paciente IV:1 eram consanguíneos, sugerindo o modo de herança AR. Clinicamente, foi diagnosticada AI hipoplásica, caracterizada pela presença de hipoplasias pontuais generalizadas. Na análise do exoma do paciente, não foram identificadas variantes patogênicas causadoras de AI, com a utilização dos filtros. Uma segunda análise foi realizada, após a busca por casos clínicos que apresentassem uma similaridade com as manifestações orais do paciente em estudo. Foram identificadas semelhanças no fenótipo do esmalte dentário em casos de AI com variantes patogênicas nos genes *LAMA3*, *LAMB3* e *ITGB6*. Entretanto, não foram identificadas no exoma, variantes patogênicas nestes genes, sendo necessária a utilização de outras análises genéticas, tais como a verificação da presença de variações do número de cópias (CNV).

Diante das informações obtidas na caracterização clínica e genética dos pacientes diagnosticados com AIAR neste estudo, evidencia-se a heterogeneidade fenotípica oral e sistêmica dos pacientes afetados com AI. A complexidade clínica desta condição demonstra a importância do diagnóstico precoce a longo prazo, para melhoria da qualidade de vida dos pacientes; da contribuição e necessidade de uma equipe multidisciplinar especializada integrada no diagnóstico e tratamento.

7.CONCLUSÃO

Os resultados desse estudo permitiram caracterizar manifestações sistêmicas em pacientes afetados com Amelogênese Imperfeita Autossômica Recessiva; caracterizar detalhadamente as manifestações clínicas e radiográficas do orodentais de pacientes com Amelogênese imperfeita Autossômica Recessiva isolada e sindrômica no Distrito Federal. Além de, possibilitar a identificação de variantes patogênicas em 5 pacientes, o que permitiu ampliar o espectro de variantes nos genes *RELT* (NM_152222.2: c.120+1G>A); *FAM20A* (NM_017565.4: c.343_362delTCGCTCCTGGCCAGCCAGGA), (NM_017565.4: c. 406C>T), (NM_017565.4:c.1112G>A);*FAM20C*(NM_020223.44:c.951_952insGACAGGTGAG CCCTTCCTTCCTCCCTCCATCCGC) e *LTBP3* (NM_001130144.2: c.85_105delCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG), (NM_001130144.2: c.3214C>T).

8.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Crawford PJ, Aldred M, Bloch-Zupan A. Amelogenesis imperfecta. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2007;2(1).
2. Gadhia K, McDonald S, Arkutu N, Malik K. Amelogenesis imperfecta: an introduction. *British Dental Journal*. 2012;212(8):377–9.
3. Lacruz RS, Habelitz S, Wright JT, Paine ML. Dental Enamel Formation and Implications for Oral Health and Disease. *Physiological Reviews*. 2017;97(3):939–93.
4. Bailleul-Forestier I, Berdal A, Vinckier F, de Ravel T, Fryns JP, Verloes A. The genetic basis of inherited anomalies of the teeth. Part 2: Syndromes with significant dental involvement. *European Journal of Medical Genetics*. 2008;51(5):383–408.
5. Aldred M, Savarirayan R, Crawford P. Amelogenesis imperfecta: a classification and catalogue for the 21st century. *Oral Diseases*. 2003;9(1):19–23.
6. Rao S, Witkop CJ. Inherited defects in tooth structure. *Birth Defects Original Article Series*. 1971;7(7):153–84.
7. Aldred MJ, Crawford PJ. Amelogenesis imperfecta--towards a new classification. *Oral diseases*. 1995, 1(1):2-5
8. Smith CEL, Poulter JA, Antanaviciute A, Kirkham J, Brookes SJ, Inglehearn CF, et al. Amelogenesis Imperfecta; Genes, Proteins, and Pathways. *Frontiers in Physiology*. 2017;8.
9. Yamaguti PM, Cabral N. Developmental Defects of Enamel. *Pediatric Restorative Dentistry*., 2019:93-116.
10. Santos MCLG dos, Line SRP. The genetics of amelogenesis imperfecta: a review of the literature. *Journal of Applied Oral Science*. 2005;13(3):212–7.
11. Hart PS, Michalec MD, Seow WK, Hart TC, Wright JT. Identification of the enamelin (g.8344delG) mutation in a new kindred and presentation of a standardized ENAM nomenclature. *Archives of Oral Biology*. 2003;48(8):589–96.
12. Prasad MK, Geoffroy V, Vicaire S, Jost B, Dumas M, Le Gras S, et al. A targeted next-generation sequencing assay for the molecular diagnosis of genetic

- disorders with orodental involvement. **Journal of Medical Genetics**. 2016;53(2):98–110.
13. Jaureguiberry G, de la Dure-Molla M, Parry D, Quentric M, Himmerkus N, Koike T, et al. Nephrocalcinosis (Enamel Renal Syndrome) Caused by Autosomal Recessive FAM20A Mutations. **Nephron Physiology**. 2012;122(1-2):1–6.
 14. Acevedo AC, Poulter JA, Alves PG, de Lima CL, Castro LC, Yamaguti PM, et al. Variability of systemic and oro-dental phenotype in two families with non-lethal Raine syndrome with *FAM20C* mutations. **BMC Medical Genetics**. 2015; 16:1–11.
 15. Yamaguti PM, Neves F de AR, Hotton D, Bardet C, de La Dure-Molla M, Castro LC, et al. Amelogenesis imperfecta in familial hypomagnesaemia and hypercalciuria with nephrocalcinosis caused by *CLDN19* gene mutations. **Journal of Medical Genetics**. 2016;54(1):26–37.
 16. Kim JW, Simmer JP, Lin BPL, Seymen F, Bartlett JD, Hu JCC. Mutational analysis of candidate genes in 24 amelogenesis imperfecta families. **European Journal of Oral Sciences**. 2006;114: p.3-12, 2006.
 17. Chan HC, Estrella NMRP, Milkovich RN, Kim JW, Simmer JP, Hu JCC. Target gene analyses of 39 amelogenesis imperfecta kindreds. **European Journal of Oral Sciences**. 2011; 119:311–23.
 18. Amorim BR, Dos Santos PAC, de Lima CL, Andia DC, Mazzeu JF, Acevedo AC. Protocols for Genetic and Epigenetic Studies of Rare Diseases Affecting Dental Tissues. **Methods in Molecular Biology**. 2019; 1922:453–92.
 19. Thesleff I, Nieminen P. Tooth morphogenesis and cell differentiation. **Current Opinion in Cell Biology**. 1996;8(6):844–50.
 20. Simmer JP, Hu JC. Dental enamel formation and its impact on clinical dentistry. **Journal of Dental Education**. 2001;65(9):896–905.
 21. Emfietzoglou R, Pachymanolis E, Piperi C. Impact of Epigenetic alterations in the development of oral diseases. **Current Medicinal Chemistry**. 2020;27.
 22. McKinney R, Olmo H. *Developmental Disturbances Of The Teeth, Anomalies Of Structure*. Treasure Island: StatPearls Publishing; 2022.
 23. Kim HE, Hong JH. The overview of channels, transporters, and calcium signaling molecules during amelogenesis. **Archives of Oral Biology**. 2018; 93:47–55.
 24. Hu JCC., Chun YHP, Al Hazzazzi T, Simmer JP. Enamel Formation and

- Amelogenesis Imperfecta. **Cells Tissues Organs**. 2007;186(1):78–85.
25. Nanci A. *Ten cate histologia oral: desenvolvimento, estrutura e função*. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2019.
26. Simmer JP, Hu JCC. Expression, Structure, and Function of Enamel Proteinases. **Connective Tissue Research**. 2002;43(2-3):441–9.
27. Margolis HC, Beniash E, Fowler CE. Role of Macromolecular Assembly of Enamel Matrix Proteins in Enamel Formation. **Journal of Dental Research**. 2006;85(9):775–93.
28. Pandya M, Diekwisch TGH. Amelogenesis: Transformation of a protein-mineral matrix into tooth enamel. **Journal of Structural Biology**. 2021;213(4):107809.
29. Katsura K, Nakano Y, Zhang Y, Shemirani R, Li W, Den Besten P. WDR72 regulates vesicle trafficking in ameloblasts. **Scientific Reports**. 2022;12(1):2820.
30. Hata M, Kawamoto T, Kawai M, Yamamoto T. Differential expression patterns of the tight junction-associated proteins occludin and claudins in secretory and mature ameloblasts in mouse incisor. **Medical Molecular Morphology**. 2010;43(2):102–6.
31. Simmer JP, Papagerakis P, Smith CE, Fisher DC, Rountrey AN, Zheng L, et al. Regulation of dental enamel shape and hardness. **Journal of Dental Research**. 2010;89(10):1024-1038.
32. Hu CC ., Fukae M, Uchida T, Qian Q, Zhang CH, Ryu OH, et al. Cloning and Characterization of Porcine Enamelin mRNAs. **Journal of Dental Research**. 1997;76(11):1720–9.
33. Uskoković V. Prospects and Pits on the Path of Biomimetics: The Case of Tooth Enamel. **Journal of Biomimetics, Biomaterials and Tissue Engineering**. 2010; 8:45–78.
34. Sire J-Y, Davit-Béal T, Delgado S, Gu X. The Origin and Evolution of Enamel Mineralization Genes. **Cells Tissues Organs**. 2007;186(1):25–48.
35. Jin Y, Wang C, Cheng S, Zhao Z, Li J. MicroRNA control of tooth formation and eruption. **Archives of Oral Biology**. 2017; 73:302–10.
36. Lacruz RS, Nanci A, Kurtz I, Wright JT, Paine ML. Regulation of pH During Amelogenesis. **Calcified Tissue International**. 2009;86(2):91–103.
37. Smith CE, Nanci A. Overview of morphological changes in enamel organ cells associated with major events in amelogenesis. **The International Journal of**

- Developmental Biology**. 1995;39(1):153–61.
38. Zhu L, Liu H, Witkowska HE, Huang Y, Tanimoto K, Li W. Preferential and selective degradation and removal of amelogenin adsorbed on hydroxyapatites by MMP20 and KLK4 in vitro. **Frontiers in Physiology**. 2014; 5:268.
39. Bronckers ALJJ. Ion Transport by Ameloblasts during Amelogenesis. **Journal of Dental Research**. 2016;96(3):243–53.
40. Varga G, DenBesten P, Rácz R, Zsembery Á. Importance of bicarbonate transport in pH control during amelogenesis - need for functional studies. **Oral Diseases**. 2018;24(6):879–90.
41. Smith CE, Warshawsky H. Quantitative analysis of cell turnover in the enamel organ of the rat incisor. Evidence for ameloblast death immediately after enamel matrix secretion. **The Anatomical Record**. 1977;187(1):63–97.
42. Bosshardt DD, Lang NP. The Junctional Epithelium: from Health to Disease. **Journal of Dental Research**. 2005;84(1):9–20.
43. Fehrenbach MJ, Popowics T. Anatomia, Histologia e Embriologia dos Dentes e das Estruturas Orofaciais. 5. ed. Rio de Janeiro: Grupo GEN; 2022.
44. Baranova J, Büchner D, Götz W, Schulze M, Tobiasch E. Tooth Formation: Are the Hardest Tissues of Human Body Hard to Regenerate? **International Journal of Molecular Sciences**. 2020; 21(11):4031.
45. Lee Y, Zhang H, Seymen F, Kim YJ, Kasimoglu Y, Koruyucu M, et al. Novel KLK4 Mutations Cause Hypomaturation Amelogenesis Imperfecta. **Journal of Personalized Medicine**. 2022;12(2):150.
46. Emfietzoglou R, Pachymanolis E, Piperi C. Impact of Epigenetic alterations in the development of oral diseases. **Current Medicinal Chemistry**. 2020;27.
47. Roma M, Hegde P, Durga Nandhini M, Hegde S. Management guidelines for amelogenesis imperfecta: a case report and review of the literature. **Journal of Medical Case Reports**. 2021;15(1).
48. Bailleul-Forestier I, Molla M, Verloes A, Berdal A. The genetic basis of inherited anomalies of the teeth. **European Journal of Medical Genetics**. 2008;51(4):273–91.
49. Poulsen S, Gjørup H, Haubek D, Haukali G, Hintze H, Løvschall H, et al. Amelogenesis imperfecta – a systematic literature review of associated dental and oro-facial abnormalities and their impact on patients. **Acta Odontologica Scandinavica**. 2008;66(4):193–9.

50. Pousette Lundgren G, Karsten A, Dahllöf G. Oral health-related quality of life before and after crown therapy in young patients with amelogenesis imperfecta. **Health and Quality of Life Outcomes**. 2015;13(1).
51. Adorno-Farias D, Ortega-Pinto A, Gajardo P, Salazar A, Morales-Bozo I, Werlinger F, et al. Diversity of clinical, radiographic and genealogical findings in 41 families with amelogenesis imperfecta. **Journal of Applied Oral Science**. 2019;27.
52. Paula LM, Melo NS, Silva Guerra EN, Mestrinho DH, Acevedo AC. Case report of a rare syndrome associating amelogenesis imperfecta and nephrocalcinosis in a consanguineous family. **Archives of Oral Biology**. 2005;50(2):237–42.
53. Witkop CJ. Amelogenesis imperfecta, dentinogenesis imperfecta and dentin dysplasia revisited: problems in classification. **Journal of Oral Pathology and Medicine**. 1988;17(9-10):547–53.
54. Simmer JP, Hu JCC., Hu Y, Zhang S, Liang T, Wang S-K, et al. A genetic model for the secretory stage of dental enamel formation. **Journal of Structural Biology**. 2021;213(4):107805.
55. Masoud AI, Tsay TP. Multiloop edgewise archwire treatment for a patient with a severe anterior open bite and amelogenesis imperfecta. **The Angle Orthodontist**. 2021.
56. Wright JT, Carrion IA, Morris C. The Molecular Basis of Hereditary Enamel Defects in Humans. **Journal of Dental Research**. 2014;94(1):52–61.
57. Suzuki A, Yoshioka H, Liu T, Gull A, Singh N, Le T, et al. Crucial Roles of microRNA-16-5p and microRNA-27b-3p in Ameloblast Differentiation Through Regulation of Genes Associated With Amelogenesis Imperfecta. **Frontiers in Genetics**. 2022;13:788259.
58. Farrow E, Rengasamy Venugopalan S, Thiffault I, Saunders C. Examination of rare genetic variants in dental enamel genes: The potential role of next-generation sequencing in primary dental care. **Orthodontics & Craniofacial Research**. 2019; 22:49–55.
59. Wright JT. The Molecular Etiologies and Associated Phenotypes of Amelogenesis Imperfecta. **American journal of medical genetics Part A**. 2006;140(23):2547–55.
60. Mascarell S, Citterio H, Martiano V, Friedlander L. Full-mouth rehabilitation choices depending on amelogenesis imperfecta's type: A familial case report.

- Clinical Case Reports.** 2022;10(4).
61. Appelstrand SB, Robertson A, Sabel N. Patient-reported outcome measures in individuals with amelogenesis imperfecta: a systematic review. **European Archives of Paediatric Dentistry: Official Journal of the European Academy of Paediatric Dentistry.** 2022.
 62. Lyne A, Parekh S, Patel N, Lafferty F, Brown C, Rodd H, et al. Patient-reported outcome measure for children and young people with amelogenesis imperfecta. **British Dental Journal.** 2021.
 63. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. **Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics.** 2015;17(5):405–24.
 64. Kim J, Zhang H, Seymen F, Koruyucu M, Hu Y, Kang J, et al. Mutations in *RELT* cause autosomal recessive amelogenesis imperfecta. **Clinical Genetics.** 2019;95(3):375–83.
 65. Nikolopoulos G, Smith CEL, Brookes SJ, El-Asrag ME, Brown CJ, Patel A, et al. New missense variants in *RELT* causing hypomineralised amelogenesis imperfecta. **Clinical Genetics.** 2020;97(5):688–95.
 66. Sica GL, Zhu G, Tamada K, Liu D, Ni J, Chen L. RELT, a new member of the tumor necrosis factor receptor superfamily, is selectively expressed in hematopoietic tissues and activates transcription factor NF-kappaB. **Blood.** 2001;97(9):2702–7.
 67. Polek TC, Talpaz M, Spivak-Kroizman T. The TNF receptor, RELT, binds SPAK and uses it to mediate p38 and JNK activation. **Biochemical and Biophysical Research Communications.** 2006;343(1):125–34.
 68. Cusick JK, Mustian A, Goldberg K, Reyland ME. RELT induces cellular death in HEK 293 epithelial cells. **Cellular Immunology.** 2010;261(1):1–8.
 69. Choi BK, Kim S-H, Kim YH, Lee DG, Oh HS, Han C, et al. RELT negatively regulates the early phase of the T-cell response in mice. **European Journal of Immunology.** 2018;48(10):1739–49.
 70. Ikeda A, Shahid S, Blumberg BR, Suzuki M, Bartlett JD. ADAM10 is Expressed by Ameloblasts, Cleaves the RELT TNF Receptor Extracellular Domain and Facilitates Enamel Development. **Scientific Reports.** 2019;9(1):14086.

71. de la Dure-Molla M, Quentric M, Yamaguti P, Acevedo A-C, Mighell AJ, Vikkula M, et al. Pathognomonic oral profile of Enamel Renal Syndrome (ERS) caused by recessive FAM20A mutations. **Orphanet Journal of Rare Diseases**. 2014;9(1):84.
72. Cui J, Zhu Q, Zhang H, Cianfrocco MA, Leschziner AE, Dixon JE, et al. Structure of Fam20A reveals a pseudokinase featuring a unique disulfide pattern and inverted ATP-binding. **eLife**. 2017;6:e23990.
73. Dourado MR, dos Santos CRR, Dumitriu S, Iancu D, Albanyan S, Kleta R, et al. Enamel renal syndrome: A novel homozygous FAM20A founder mutation in 5 new Brazilian families. **European Journal of Medical Genetics**. 2019;62(11):103561.
74. MacGibbon D. Generalized enamel hypoplasia and renal dysfunction. **Australian Dental Journal**. 1972;17(1):61–3.
75. O'Sullivan J, Bitu Carolina C, Daly Sarah B, Urquhart Jill E, Barron Martin J, Bhaskar Sanjeev S, et al. Whole-Exome Sequencing Identifies FAM20A Mutations as a Cause of Amelogenesis Imperfecta and Gingival Hyperplasia Syndrome. **The American Journal of Human Genetics**. 2011;88(5):616–20.
76. Kantaputra PN, Bongkochwilawan C, Kaewgahya M, Ohazama A, Kayserili H, Erdem AP, et al. Enamel-Renal-Gingival syndrome, hypodontia, and a novel FAM20A mutation. **American Journal of Medical Genetics Part A**. 2014;164(8):2124–8.
77. Wang SK, Aref P, Hu Y, Milkovich RN, Simmer JP, El-Khateeb M, et al. FAM20A Mutations Can Cause Enamel-Renal Syndrome (ERS). **PLoS Genetics**. 2013;9(2):e1003302.
78. Pêgo SPB, Coletta RD, Dumitriu S, Iancu D, Albanyan S, Kleta R, et al. Enamel-renal syndrome in 2 patients with a mutation in FAM20A and atypical hypertrichosis and hearing loss phenotypes. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology**. 2017;123(2):229-234.e2.
79. Xiao J, Tagliabracci VS, Wen J, Kim Soo-A, Dixon JE. Crystal structure of the Golgi casein kinase. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 2013; 110(26):10574–9.
80. Li L, Saiyin W, Zhang H, Wang S, Xu Q, Qin C, et al. FAM20A is Essential for Amelogenesis, but is Dispensable for Dentinogenesis. **Journal of molecular histology**. 2019;50(6):581–91.

81. Escorcía VS, Diarra A, Naveau A, Dessombz A, Felizardo R, Cannaya V, et al. Lack of FAM20A, Ectopic Gingival Mineralization and Chondro/Osteogenic Modifications in Enamel Renal Syndrome. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**. 2020;8.
82. Cui J, Xiao J, Tagliabracci VS, Wen J, Rahdar M, Dixon JE. A secretory kinase complex regulates extracellular protein phosphorylation. **eLife**. 2015;4:e06120.
83. Escorcía VS, Guillou C, Abbad L, Derrien L, Rodrigues Rezende Costa C, Cannaya V, et al. Pathogenesis of Enamel-Renal Syndrome Associated Gingival Fibromatosis: A Proteomic Approach. **Frontiers in Endocrinology**. 2021; 12:752568.
84. Cho SH, Seymen F, Lee KE, Lee SK, Kweon YS, Kim KJ, et al. Novel *FAM20A* mutations in hypoplastic amelogenesis imperfecta. **Human Mutation**. 2011;33(1):91–4.
85. Hassib NF, Shoeib MA, ElSadek HA, Wali ME, Mostafa MI, Abdel-Hamid MS. Two new families with enamel renal syndrome: A novel *FAM20A* gene mutation and review of literature. **European Journal of Medical Genetics**. 2020;63(11):104045.
86. Koruyucu M, Seymen F, Gencay G, Gencay K, Tuna E, Shin T, et al. Nephrocalcinosis in Amelogenesis Imperfecta Caused by the *FAM20A* Mutation. **Nephron**. 2018;139(2):189–96.
87. Yin W, Smiley E, Germiller J, Mecham RP, Florer JB, Wenstrup RJ, et al. Isolation of a Novel Latent Transforming Growth Factor- β Binding Protein Gene (LTBP-3). **Journal of Biological Chemistry**. 1995;270(17):10147–60.
88. Brooke JS, Cha J-H, Eidels L. Latent transforming growth factor beta-binding protein-3 and fibulin-1C interact with the extracellular domain of the heparin-binding EGF-like growth factor precursor. **BMC cell biology**. 2002; 3:2.
89. Andersson ML, Eggen RI. Transcription of the fish Latent TGF β -binding protein gene is controlled by estrogen receptor α . **Toxicology in Vitro**. 2006;20(4):417–25.
90. Morkmued S, Hemmerle J, Mathieu E, Laugel-Haushalter V, Dabovic B, Rifkin DB, et al. Enamel and dental anomalies in latent-transforming growth factor beta-binding protein 3 mutant mice. **Eur J Oral Sci**. 2017;125(1):8-17.

91. Chen Y, Dabovic B, Annes JP, Rifkin DB. Latent TGF- β binding protein-3 (LTBP-3) requires binding to TGF- β for secretion. **FEBS Letters**. 2002;517(1-3):277–80.
92. Annes JP, Chen Y, Munger JS, Rifkin DB. Integrin α V β 6-mediated activation of latent TGF- β requires the latent TGF- β binding protein-1. **Journal of Cell Biology**. 2004;165(5):723–34.
93. Robertson IB, Horiguchi M, Zilberberg L, Dabovic B, Hadjiolova K, Rifkin DB. Latent TGF- β -binding proteins. **Matrix Biology**. 2015; 47:44–53.
94. Intarak N, Theerapanon T, Thaweessaphithak S, Suphapeetiporn K, Pornraveetus T, Shotelersuk V. Genotype–phenotype correlation and expansion of orodontal anomalies in LTBP3-related disorders. **Molecular Genetics and Genomics**. 2019;294(3):773–87.
95. Dugan SL, Temme RT, Olson RA, Mikhailov A, Law R, Mahmood H, et al. New recessive truncating mutation in LTBP3 in a family with oligodontia, short stature, and mitral valve prolapse. **American Journal of Medical Genetics Part A**. 2015;167(6):1396–9.
96. Kaur R, Siddiqui I, Mathur V, Jana M, Kabra M, Gupta N. Bi-allelic loss-of-function novel variants in LTBP3 -related skeletal dysplasia: Report of first patient from India. **American Journal of Medical Genetics Part A**. 2020;182(8):1944–6.
97. Kantaputra P, Guven Y, Kalayci T, Özer PK, Panyarak W, Intachai W, et al. Expanding genotypic and phenotypic spectrums of LTBP3 variants in dental anomalies and short stature syndrome. **Clinical Genetics**. 2022;102(1):66–71.
98. Huckert M, Stoetzel C, Morkmued S, Laugel-Haushalter V, Geoffroy V, Muller J, et al. Mutations in the latent TGF-beta binding protein 3 (LTBP3) gene cause brachyolmia with amelogenesis imperfecta. **Human Molecular Genetics**. 2015;24(11):3038–49.
99. Flex E, Imperatore V, Carpentieri G, Bruselles A, Ciolfi A, Pizzi S, et al. A Rare Case of Brachyolmia with Amelogenesis Imperfecta Caused by a New Pathogenic Splicing Variant in LTBP3. **Genes**. 2021;12(9):1406.
100. Nouara F, Amalou G, Bouzidi A, Charif M, Charoute H, Lenaers G, et al. First characterization of LTBP3 variants in two Moroccan families with hypoplastic amelogenesis imperfecta. **Archives of Oral Biology**. 2022; 142:105518.

9.ANEXOS

Anexo 1 – PARECER CEP

UNB - FACULDADE DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DA
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ASPECTOS CLÍNICOS E GENÉTICOS DE PACIENTES COM AMELOGÊNESE IMPERFEITA NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA

Pesquisador: Ana Carolina Acevedo Poppe

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 3

CAAE: 43064320.3.0000.0030

Instituição Proponente: FACULDADE DE SAÚDE - FS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.766.613

Apresentação do Projeto:

Conforme "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1661610.pdf", postado em 17/05/2021:

Resumo: "Amelogênese Imperfeita (AI) é um grupo de condições hereditárias, que afetam a qualidade e/ou quantidade do esmalte dentário, podendo estar ou não associada a outras alterações sistêmicas (CRAWFORD et al, 2007). O objetivo geral do projeto é caracterizar as alterações dentárias e bucais dos pacientes diagnosticados com AI síndrômicas e não síndrômicas em atendimento na Clínica de Anomalias Dentárias do Hospital Universitário de Brasília assim como identificar variantes patogênicas pelo método de sequenciamento de nova geração e Sanger."

Hipótese nula: "O uso de sequenciamento de nova geração auxiliará o diagnóstico molecular de pacientes com amelogênese imperfeita e permitirá fazer correlação fenótipo-genótipo."

Metodologia Proposta: "Todos os pacientes que concordarem em participar deste estudo assinarão o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Avaliação clínica odontológica: A avaliação e acompanhamento odontológico dos pacientes com AI e seus familiares (pais, irmãos, filhos, tios, primos e/ou avós) serão realizados na Clínica de Atendimento a Pacientes Portadores de

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília - Campus Darcy Ribeiro
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-1947 **E-mail:** cepfsunb@gmail.com

Anexo 2 –

Pág. 1/2



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Ciências da Saúde

Campus Universitário Darcy Ribeiro – Asa Norte – Brasília-DF CEP : 70910-900

Termo de assentimento para crianças de 6 a 9 anos

Olá! Estamos convidando você a participar de uma pesquisa! Vamos estudar uma doença que afeta seus dentes.

Também precisamos olhar seus dentes e sua boca e fazer algumas perguntas sobre sua saúde. Também podemos tirar fotos e radiografias dos seus dentes.

Para isso, precisamos tirar um pouquinho do seu sangue, uma quantidade igual a duas colheres. Você fará isso apenas uma vez.



Não contaremos a ninguém sobre isso, e você pode nos procurar a qualquer momento!

Seus pais já deixaram você participar, mas você só participará se quiser. Ninguém ficará bravo ou com raiva se você não quiser participar ou quiser desistir.



Uma via deste documento ficará com você e seus pais, e a outra ficará conosco.



Se você tiver alguma dúvida sobre a pesquisa peça para seus pais ligarem para a pesquisadora Dra. Ana Carolina Acevedo Poppe.

Assinatura do participante de pesquisa

Assinatura do(a) pesquisador(a)

Brasília, ____ de ____ de ____.



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Ciências da Saúde

Campus Universitário Darcy Ribeiro – Asa Norte – Brasília-DF CEP : 70910-900

Pág. 1/2

Termo de Assentimento Livre e Esclarecido – Participantes de 13 a 17 anos de idade

Você está sendo convidado(a) a participar do projeto “**Aspectos clínicos e genéticos de pacientes com Amelogênese Imperfeita no Hospital Universitário de Brasília**”. Queremos estudar as causas das alterações encontradas nos seus dentes e sua participação é muito importante. Abaixo estão algumas informações sobre a pesquisa :

A sua participação ocorrerá por meio da realização de exames clínicos, laboratoriais e acesso ao prontuário médico. Os exames laboratoriais serão realizados a partir da coleta de sangue para extração de

DNA. O procedimento de coleta de 4 a 8 mL de sangue por punção venosa (introdução de agulha na veia para retirada de sangue) será realizado com material estéril descartável de boa qualidade por profissional habilitado, podendo ocasionar um pouco de dor e formação de hematoma no local. A coleta está prevista para uma única vez, mas poderão ser necessárias outras coletas a critério médico ou do dentista.

O sangue coletado será utilizado para examinar seu DNA e serve para detectar alterações nos genes que são responsáveis pela ocorrência da sua doença. As informações serão usadas para melhorar o diagnóstico e aconselhamento de pessoas com sua doença genética.

Durante o exame clínico serão observadas as estruturas da sua boca e da sua face. Você também responderá alguns questionários. Se for necessário, serão realizados exames de imagem tais com fotografias, radiografias panorâmicas ou de dentes isolados. Os procedimentos do exame clínico são comuns em odontologia, podendo às vezes incomodar um pouco, porém com risco mínimo para a saúde. As avaliações serão interrompidas se você ficar cansado ou indisposto. O exame clínico será feito por profissionais treinados, e nos esforçaremos para evitar e diminuir desconfortos.

Você e seus pais ou responsável não irão receber nada por sua colaboração e também não terão nenhum custo com sua participação. Se você e seu responsável tiverem gastos diretamente relacionados à pesquisa, como alimentação, transporte e exames, estas despesas serão pagas pelo pesquisador responsável. Você não precisa responder as questões que não quiser, pode se recusar a participar de qualquer procedimento edesistir

 Rubrica Participante

 Rubrica Pesquisador



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Ciências da Saúde

Campus Universitário Darcy Ribeiro – Asa Norte – Brasília-DF CEP : 70910-900

de participar da pesquisa quando quiser, e isso não irá te prejudicar. Além disso, se você sofrer qualquer dano decorrente da participação na pesquisa, receberá assistência imediata e integral pelo tempo necessário, e será indenizado.

Iremos oferecer acompanhamento clínico nas devidas especialidades odontológicas do Hospital Universitário de Brasília, sem custos para você, seus pais ou responsável. Além disso. Iremos oferecer consulta de aconselhamento genético no ambulatório de genética do Hospital Universitário de Brasília com a Dra. Juliana Forte Mazzeu de Araújo e acompanhamento clínico nas devidas especialidades, sem custos para você, seus pais ou responsável.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Universidade de Brasília, podendo ser publicados posteriormente. Após conclusão da pesquisa, os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sobre a guarda do pesquisador.

Sempre que desejar receber esclarecimentos antes, durante e depois da pesquisa e quando desejar saber sobre os resultados, entre em contato com a pesquisadora responsável Dra Ana Carolina Acevedo-Poppe pelo telefone (61) 99854-9011.

Este projeto foi Aprovado Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidos através do telefone: (61) 3107-1947, horário de atendimento de 10:00hs às 12:00hs e de 13:30hs às 15:30hs, de segunda a sexta-feira.

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com você e seus responsáveis.

Se você estiver de acordo, por favor, assine este documento.

Nome / assinatura

Profa. Dra. Ana Carolina Acevedo Poppe

Brasília, ____ de ____ de ____



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Ciências da Saúde

Campus Universitário Darcy Ribeiro – Asa Norte – Brasília-DF CEP : 70910-900

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

Você está sendo convidado(a) a participar do projeto **“Aspectos clínicos e genéticos de pacientes com Amelogênese Imperfeita no Hospital Universitário de Brasília”**. O objetivo desta pesquisa é estudar os aspectos clínicos e genéticos das alterações encontradas no seus dentes e a sua participação é muito importante.

O (A) Senhor (a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome não aparecerá, sendo mantido o mais rigoroso sigilo através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo (a).

A sua participação ocorrerá por meio da realização de exames clínicos, laboratoriais e consulta ao prontuário do dependente participante da pesquisa. Os exames laboratoriais serão realizados a partir da coleta de sangue para extração de DNA. O procedimento de coleta de 4 a 8 mL de sangue por punção venosa (introdução de agulha na veia para retirada de sangue) será realizado com material estéril descartável de boa qualidade por profissional habilitado, podendo ocasionar um pouco de dor e formação de hematoma no local. A coleta está prevista para uma única vez, mas poderão ser necessárias outras coletas a critério médico ou do dentista.

O sangue coletado será utilizado para examinar seu DNA e serve para detectar alterações nos genes que são responsáveis pela ocorrência da sua doença. As informações serão usadas para melhorar o diagnóstico e aconselhamento de pessoas com sua doença genética.

Durante o exame clínico serão observadas as estruturas da sua boca e da sua face. Você também responderá alguns questionários. Se for necessário, serão realizados exames de imagem tais como fotografias radiografias panorâmicas ou de dentes isolados. Os procedimentos do exame clínico são comuns em odontologia, podendo às vezes incomodar um pouco, porém com risco mínimo para a saúde. As avaliações serão interrompidas se você ficar cansado ou indisposto. O exame clínico será feito por profissionais treinados, e nos esforçaremos para evitar e diminuir desconfortos.

Rubrica Participante

Rubrica Pesquisador



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Ciências da Saúde

Campus Universitário Darcy Ribeiro – Asa Norte – Brasília-DF CEP : 70910-900

Os procedimentos do exame clínico são comuns em odontologia, podendo às vezes incomodar um pouco, porém oferecem risco mínimo para a saúde. O exame físico será feito por profissionais capacitados, sempre supervisionados por professores e/ou pesquisadores. Quando necessário para a investigação de alguma alteração odontológica, poderão ser solicitados exames de imagem como por exemplo radiografias panorâmicas, periapicais, tomografias da boca. A dose de radiação envolvida nos exames radiográficos odontológicos é pequena e dentro dos padrões de segurança. Além disso, o setor de radiologia odontológica do HUB utiliza o exame radiográfico digital que permite a obtenção da imagem de forma mais fácil e rápida e a diminuição das doses de radiação no paciente.

O(a) senhor(a) não será pago por sua colaboração e também não terá nenhum custo com a participação. Caso o(a) senhor(a) tenha gastos diretamente relacionados à pesquisa, como alimentação, transporte e exames, estas despesas serão pagas pelo pesquisador responsável.

Se for necessária a presença de acompanhante, as despesas dele relacionadas à pesquisa também serão pagas pelo pesquisador. O(a) senhor(a) pode se negar a responder questões que lhe deixem constrangido, se recusar a participar de qualquer procedimento e desistir de participar da pesquisa quando quiser, sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a). Além disso, será garantido atendimento imediato e /ou indenização diante de eventuais danos decorrentes dessa pesquisa, vistas as medidas administrativas e judiciais cabíveis.

Informamos que será oferecida a(o) senhor(a) acompanhamento clínico nas devidas especialidades odontológicas do Hospital Universitário de Brasília, sem que isto lhe cause custos. Também será oferecida consulta de aconselhamento genético no ambulatório de genética do Hospital Universitário de Brasília com a Dra. Juliana Forte Mazzeu de Araújo.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Universidade de Brasília, podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sobre a guarda do pesquisador. Em qualquer momento, você poderá ter acesso aos resultados. Você também poderá decidir se quer ou não ter conhecimento do seu resultado. Sempre que desejar receber esclarecimentos antes, durante e depois da pesquisa e quando desejar saber sobre os resultados, entre em contato com a pesquisadora responsável Dra Ana Carolina Acevedo-Poppe pelo telefone (61) 99854-9011.

Rubrica Participante

Rubrica Pesquisador



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Ciências da Saúde

Campus Universitário Darcy Ribeiro – Asa Norte – Brasília-DF CEP : 70910-900

Solicitamos também sua autorização para armazenamento de sua amostra biológica de sangue para possíveis outros estudos futuros em biorrepositório no Laboratório de Genética da Universidade de Brasília. A amostra apresentará uma codificação alfanumérica e só poderá ser manuseada pelos indivíduos diretamente relacionados com o projeto.

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. O(a) senhor(a) pode pedir esclarecimentos e conhecer seus direitos como participante quando desejar, por meio do telefone: (61) 3107-1947 ou do e-mail cepfs@umb.br ou cepfsunb@gmail.com, horário de atendimento de 10:00hs às 12:00hs e de 13:30hs às 15:30hs, de segunda a sexta-feira. O papel do CEP é avaliar e acompanhar os aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos, além de identificar os riscos associados à pesquisa; verificar se foram tomadas as medidas necessárias para minimizar tais riscos (físicos, psíquicos, morais, intelectuais, sociais, culturais ou espirituais); identificar os prováveis benefícios que a pesquisa pode gerar e assegurar que os participantes receberão uma adequada descrição e informação dos riscos.

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com você.

(Assinatura do participante)

Profª. Dra. Ana Carolina Acevedo Poppe

Brasília, _____ de _____ de _____



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Ciências da Saúde

Pág. 1/3

Campus Universitário Darcy Ribeiro – Asa Norte – Brasília-DF CEP : 70910-900

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Responsável - TCLE

Seu filho/menor de idade pelo qual o senhor(a) é responsável está sendo convidado a participar do projeto **“Aspectos clínicos e genéticos de pacientes com Amelogênese Imperfeita no Hospital Universitário de Brasília”**. O objetivo da pesquisa é estudar os aspectos clínicos e genéticos das alterações encontradas nos dentes de seu dependente e a participação dele é muito importante.

O (A) Senhor (a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome ou de seu dependente não aparecerá, sendo mantido o mais rigoroso sigilo através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo (a). A sua participação ocorrerá por meio da realização de exames clínicos e laboratoriais:

A sua participação ocorrerá por meio da realização de exames clínicos, laboratoriais e consulta ao prontuário do dependente participante da pesquisa. Os exames laboratoriais serão realizados a partir da coleta de sangue para extração de DNA. O procedimento de coleta de 4 a 8 mL de sangue por punção venosa (introdução de agulha na veia para retirada de sangue) será realizado com material estéril descartável de boa qualidade por profissional habilitado, podendo ocasionar um pouco de dor e formação de hematoma no local. A coleta está prevista para uma única vez, mas poderão ser necessárias outras coletas a critério médico ou do dentista.

O sangue coletado será utilizado para examinar seu DNA e serve para detectar alterações nos genes que são responsáveis pela ocorrência da sua doença. As informações serão usadas para melhorar o diagnóstico e aconselhamento de pessoas com sua doença genética.

Durante o exame clínico serão observadas as estruturas da sua boca e da sua face. Você também responderá alguns questionários. Se for necessário, serão realizados exames de imagem tais como fotografias, radiografias panorâmicas ou de dentes isolados. Os procedimentos do exame clínico são comuns em odontologia, podendo às vezes incomodar um pouco, porém com risco mínimo para a saúde. As avaliações serão interrompidas se você ficar cansado ou indisposto. O exame clínico será feito por profissionais treinados, e nos esforçaremos para evitar e diminuir desconfortos.

Rubrica Participante

Rubrica Pesquisador



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Ciências da Saúde

Pág. 2/3

Campus Universitário Darcy Ribeiro – Asa Norte – Brasília-DF CEP : 70910-900

Os procedimentos do exame clínico são comuns em odontologia, podendo às vezes incomodar um pouco, porém oferecem risco mínimo para a saúde. O exame físico será feito por profissionais capacitados, sempre supervisionados por professores e/ou pesquisadores. Quando necessário para a investigação de alguma alteração odontológica, poderão ser solicitados exames de imagem como por exemplo radiografias panorâmicas, periapicais, tomografias da boca. A dose de radiação envolvida nos exames radiográficos odontológicos é pequena e dentro dos padrões de segurança. Além disso, o setor de radiologia odontológica do HUB utiliza o exame radiográfico digital que permite a obtenção da imagem de forma mais fácil e rápida e a diminuição das doses de radiação no paciente.

O(a) senhor(a) ou seu dependente não será pago por sua colaboração e também não terá nenhum custo com a participação. Caso o(a) senhor(a) ou seu dependente tenha gastos diretamente relacionados à pesquisa, como alimentação, transporte e exames, estas despesas serão pagas pelo pesquisador responsável. Se for necessária a presença de acompanhante, as despesas dele relacionadas à pesquisa também serão pagas pelo pesquisador. O(a) senhor(a) ou seu dependente pode se negar a responder questões que lhe deixem constrangido, se recusar a participar de qualquer procedimento e desistir de participar da pesquisa quando quiser, sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a) e seu dependente. Além disso, será garantido atendimento imediato e/ou indenização diante de eventuais danos decorrentes dessa pesquisa, vistas as medidas administrativas e judiciais cabíveis.

Informamos que será oferecida a(o) senhor(a) acompanhamento clínico nas devidas especialidades odontológicas do Hospital Universitário de Brasília, sem que isto lhe cause custos. Também será oferecida consulta de aconselhamento genético no ambulatório de genética do Hospital Universitário de Brasília com a Dra. Juliana Forte Mazzeu de Araújo.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Universidade de Brasília, podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sobre a guarda do pesquisador. Em qualquer momento, você poderá ter acesso aos resultados. Você também poderá decidir se quer ou não ter conhecimento do seu resultado.

Rubrica Participante

Rubrica Pesquisador



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Ciências da Saúde

Pág. 3/3

Campus Universitário Darcy Ribeiro – Asa Norte – Brasília-DF CEP : 70910-900

Sempre que desejar receber esclarecimentos antes, durante e depois da pesquisa e quando desejar saber sobre os resultados, entre em contato com a pesquisadora responsável Dra Ana Carolina Acevedo-Poppe pelo telefone (61) 99854-9011.

Solicitamos também sua autorização para armazenamento de sua amostra biológica de sangue para possíveis outros estudos futuros em biorrepositório no Laboratório de Histopatologia Bucal da Universidade de Brasília. A amostra apresentará uma codificação alfanumérica e só poderá ser manuseada pelos indivíduos diretamente relacionados com o projeto.

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. O(a) senhor(a) pode pedir esclarecimentos e conhecer seus direitos como participante quando desejar, por meio do telefone: (61) 3107-1947 ou do e-mail cepfs@unb.br ou cepfsunb@gmail.com, horário de atendimento de 10:00hs às 12:00hs e de 13:30hs às 15:30hs, de segunda a sexta-feira. O papel do CEP é avaliar e acompanhar os aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos, além de identificar os riscos associados à pesquisa; verificar se foram tomadas as medidas necessárias para minimizar tais riscos (físicos, psíquicos, morais, intelectuais, sociais, culturais ou espirituais); identificar os prováveis benefícios que a pesquisa pode gerar e assegurar que os participantes receberão uma adequada descrição e informação dos riscos.

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com você.

(Assinatura do participante)

Profª. Dra. Ana Carolina Acevedo Poppe

Brasília, ___ de _____ de _____



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Ciências da Saúde

Campus Universitário Darcy Ribeiro – Asa Norte – Brasília-DF CEP : 70910-900

TERMO DE CESSÃO DE USO DE IMAGEM E/OU VOZ
PARA FINS CIENTÍFICOS E ACADÊMICOS

Protocolo de Pesquisa, CAAE 43064320.3.0000.0030, CEP/FS-UnB, aprovado em

_____.

Por meio deste termo, _____, participante do estudo “**Aspectos clínicos e genéticos de pacientes com Amelogênese Imperfeita no Hospital Universitário de Brasília**”, de forma livre e esclarecida, cede o direito de uso das fotografias, vídeos e/ou voz adquiridos durante a realização do tratamento clínico a que foi submetido ou durante sua participação em estudo/pesquisa anterior, e autoriza o(s) pesquisador(es), Dra Ana Carolina Acevedo-Poppe, CPF 712.230.701-82, Faculdade de Ciências da Saúde - Universidade de Brasília, responsável(is) pelo trabalho a:

(a) utilizar e veicular as fotografias, vídeos e/ou voz obtidas durante seu tratamento clínico ou durante sua participação em estudo/pesquisa anterior na(o) caracterização das alterações dentárias e bucais dos pacientes diagnosticados com AI sindrômicas e não sindrômicas em atendimento na Clínica de Anomalias Dentárias do Hospital Universitário de Brasília assim como identificar variantes patogênicas pelo método de sequenciamento de nova geração e Sanger , para fim de obtenção de grau acadêmico (e/ou divulgação científica), sem qualquer limitação de número de inserções e reproduções, desde que essenciais para os objetivos do estudo, garantida a ocultação de identidade (mantendo-se a confidencialidade e a privacidade das informações), inclusive, mas não restrito a ocultação da face e/ou dos olhos, quando possível;

(b) veicular as fotografias, vídeos e/ou voz acima referidas na versão final do trabalho acadêmico, que será obrigatoriamente disponibilizado na página web da biblioteca (repositório) da Universidade de Brasília – UnB, ou seja, na internet, assim tornando-as públicas;

(c) utilizar as fotografias, vídeos e/ou voz na produção de quaisquer materiais acadêmicos, inclusive aulas e apresentações em congressos e eventos científicos, por meio oral (conferências) ou impresso (pôsteres ou painéis);

(d) utilizar as fotografias, vídeos e/ou voz para a publicação de artigos científicos em meio impresso e/ou eletrônico para fins de divulgação, sem limitação de número de inserções e reproduções;

 Rubrica Pesquisador

 Rubrica Participante



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Ciências da Saúde

Campus Universitário Darcy Ribeiro – Asa Norte – Brasília-DF CEP : 70910-900

(e) no caso de imagens, executar livremente a montagem das fotografias, realizando cortes e correções de brilho e/ou contraste necessários, sem alterar a sua veracidade, utilizando-as exclusivamente para os fins previstos neste termo e responsabilizando-se pela guarda e pela utilização da obra final produzida;

(f) no caso da voz, executar livremente a edição e montagem do trecho, realizando cortes e correções necessárias, assim como de gravações, sem alterar a sua veracidade, utilizando-as exclusivamente para os fins previstos neste termo e responsabilizando-se pela guarda e pela utilização da obra final produzida.

O participante declara que está ciente que não haverá pagamento financeiro de qualquer natureza neste ou em qualquer momento pela cessão das fotografias, dos vídeos e/ou da voz, e que está ciente que pode retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma, salvo os materiais científicos já publicados.

É vedado ao(s) pesquisador(es) utilizar as fotografias, os vídeos e/ou a voz para fins comerciais ou com objetivos diversos da pesquisa proposta, sob pena de responsabilização nos termos da legislação brasileira. O(s) pesquisador(es) declaram que o presente estudo/pesquisa será norteado pelos normativos éticos vigentes no Brasil.

Concordando com o termo, o participante de pesquisa e o(s) pesquisador(es) assinam o presente termo em 2 (duas) vias iguais, devendo permanecer uma em posse do pesquisador responsável e outra com o participante.

Local e data

PESQUISADOR RESPONSÁVEL
CPF: 712.230.701-82

PESQUISADOR
CPF:

PARTICIPANTE DO ESTUDO
CPF: