

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

ISADORA PORTELINHA MOREIRA CARNEIRO

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E GENÉTICA DA OCORRÊNCIA DE  
AGENESIA DENTÁRIA EM PACIENTES COM OSTEOGÊNESE  
IMPERFEITA**

BRASÍLIA – DF

2019

ISADORA PORTELINHA MOREIRA CARNEIRO

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E GENÉTICA DA OCORRÊNCIA DE  
AGENESIA DENTÁRIA EM PACIENTES COM OSTEOGÊNESE  
IMPERFEITA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

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

BRASÍLIA – DF

2019

## AGRADECIMENTOS

Realizar esse Mestrado foi uma grande oportunidade de me capacitar em vários campos da minha vida, tanto profissional como pessoal, mas principalmente me ajudou a perceber e entender o caminho que devo percorrer para conseguir chegar a ser a profissional e a pessoa que quero me tornar. Sou grata por ter feito essa escolha há 2 anos atrás. Mesmo com dias difíceis, viagens semanais entre Brasília/Goiânia e fases conturbadas nesses anos me tornei mais forte e capaz de realizar meus projetos.

Percorrer esse caminho só foi possível porque contei com a ajuda e o carinho de tantas pessoas queridas que o fizeram ser muito mais doce. Minha eterna gratidão a cada um de vocês que deixaram um pedacinho comigo.

A meu noivo Paulo Henrique que esteve todos os dias ao meu lado dando apoio, estímulos e principalmente me mostrando que confiar em minha capacidade de realizar é o primeiro passo. Sou muito grata por tê-lo ao meu lado e saber que estamos seguindo um caminho baseado em cumplicidade e apoio um ao outro.

A meus pais que com muito amor e esforço me ajudam em todos os meus sonhos e projetos. Sem vocês não seria ninguém. Sou eternamente grata a Deus por ter me dado a oportunidade de ser filha de pessoas tão especiais. Obrigada por tudo e principalmente pelas palavras de incentivo e exemplo de superação que vocês representam para mim. Amo vocês!

A meus irmãos Gustavo e César que mesmo longe estão todos os dias em meus pensamentos. Obrigada por me ajudarem e por estarem presentes sempre quando preciso. Amo vocês!

Obrigada Cibele e Clarivaldo por me acolherem na casa de vocês, mas principalmente por me tornarem parte da família. Sinto muita gratidão por todo o afeto e carinho recebido. Tenho muita sorte de ter duas mães e dois pais isso é um privilégio. Amo vocês!! Joyce mais que minha cunhadinha, uma amiga especial, companheira de estudos e de ricos intercâmbios, obrigada pelo carinho e pequenas atenções. João Paulo, Ariela e Clara obrigada pela alegria, carinho e presença em todos os momentos. Vocês são especiais!!!!

À minha família, tios, tias e primos obrigada por vocês serem parte da minha história. É sempre uma alegria estar com todos, mesmo longe recordo dos momentos que compartilhamos.

A professora Ana Carolina minha eterna gratidão por sua paciência, palavras docentes, incentivo. Foi muito bom passar esses anos com a senhora, aprendi muito. Espero um dia corresponder a esse bem recebido e reencontra-la em projetos futuros. Tenho um grande exemplo a seguir com sua maneira de ensinar. Muito obrigada por tudo!!

Ao doutor Paulo Marcio Yamaguti, obrigada pelo auxílio na pesquisa. Você é exemplo de dedicação e humanidade. A forma especial como cuida de todos os pacientes do projeto de Anomalias Dentárias é de admirar. Parabéns! Espero um dia voltar a estar com você no projeto.

A professora Eliete que sempre muito atenciosa e alegre cuida de todos no laboratório incentivando nas realizações como as pesquisas.

Agradeço a professora Juliana Mazzeu pela ajuda na realização da pesquisa e por transmitir tanta segurança de que no fim as coisas realmente dão certo. Você é um exemplo de professora e de pessoa. Meu muito obrigada!!

A doutora Érica Rosa pelo auxílio nos experimentos, pelas risadas e momentos compartilhados. Foi muito bom ter a oportunidade de conhecer você e conviver esses anos.

Aos amigos do laboratório de Histopatologia Bucal muito obrigada pela amizade, carinho e ajuda durante a pesquisa. Vocês são pessoas queridas que tive o privilégio de conviver durante esses anos. Agradeço especialmente a Lídia que esteve presente em todos os momentos, ajudou muito em tudo. Não tenho palavras para escrever o que você significou nesse trabalho e também como amiga. Obrigada de coração.

Agradeço aos meus amigos, aos que mesmo longe estão sempre comigo, e aos que fiz em Brasília e Goiânia, vocês foram confidentes, ponto de apoio e permitiram que os momentos fossem mais alegres, leves, de felicidade e bem-estar.

Agradeço aos pacientes e seus familiares que voluntariamente concordaram em participar dessa pesquisa.

Agradeço a Universidade de Brasília (UnB), à Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília (FS-UnB), ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da FS-UnB, ao Laboratório de Farmacologia Molecular (FARMOL) da FS-UnB, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a

Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF) por possibilitar realizar esse trabalho.

*O conhecimento amplia a vida. Conhecer é viver uma  
realidade que a ignorância impede de desfrutar.*

*Da Logosofia*

## RESUMO

A osteogênese imperfeita (OI) é um grupo de condições genéticas heterogêneas, caracterizadas principalmente pela fragilidade óssea. A OI é considerada um transtorno relacionado à síntese e estrutura do colágeno e a maioria dos casos (80-90%) está relacionada a mutações dominantes no *COL1A1* e *COL1A2*. Clinicamente, a OI é caracterizada por apresentar alterações esqueléticas e extra-esqueléticas. O objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de agenesia em pacientes com Osteogênese Imperfeita atendidos no projeto de extensão "Atendimento a Pacientes Portadores de Anomalias de Desenvolvimento Dentário" do HUB desde 2002 até julho de 2019, assim como realizar análise de variação de sequência com abordagem de genes candidatos em pacientes com osteogênese imperfeita (OI) e agenesia dentária. Foram analisados 133 prontuários, nos quais em 104 constava o histórico radiográfico que possibilitou avaliar a presença de agenesia dentária e de DGI. Pacientes OI de tipo III foram os mais frequentemente atendidos no serviço, e a DGI se manifestou em pelo menos uma das duas dentições em 49 pacientes. A prevalência da agenesia dentária encontrada nesse estudo foi de 23,07% (n=24), sendo que 12,50% apresentaram agenesia apenas de terceiros molares e 6,73% apresentaram agenesia de outros dentes sem agenesia de terceiros molares. O sequenciamento de nova geração (NGS) para identificar as variantes patogênicas causadoras da OI foi realizado em 15 pacientes e foram encontradas variantes patogênicas em sete pacientes nos genes *COL1A1* e *COL1A2* que codificam o colágeno tipo I, sendo três já relatadas na literatura e 4 ainda não relatadas, mas consideradas patogênicas pelas análises "*in silico*". O sequenciamento Sanger do gene *PAX9* foi realizado nos pacientes com agenesia dentária e revelou uma variação (c.718G>C) no exon 3 em cinco pacientes com agenesia. Outros estudos envolvendo análise de exoma serão necessários para concluir o diagnóstico de OI e de agenesia dentária nos sujeitos desse estudo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Agenesia dentária, *COL1A1*, *COL1A2*, Osteogênese imperfeita, *PAX9*.

## ABSTRACT

Osteogenesis imperfecta (OI) is a group of heterogeneous genetic conditions characterized mainly by bone fragility. OI is considered an related disorder and collagen structure and most cases (80-90%) are related to dominant mutations in *COL1A1* and *COL1A2*. Clinically, OI is characterized by skeletal and extra-skeletal disorder. The aim of this study was to evaluate the occurrence of agenesis in patients with Osteogenesis Imperfecta in the Oral Care Center for Inherited diseases in the University Hospital of Brasilia (HUB) during the period comprised between 2002 to July 2019, as well as to perform a sequencing of patients with OI and dental agenesis. One hundred and thirty-three medical records were analyzed, in which 104 included the radiographic history that made it possible to evaluate the presence of dental agenesis and DGI. OI type III patients were the most frequently attended in the Center. At least DGI in one of the dentitions was observed in 49 patients. The prevalence of dental agenesis found in this study was 23.07%, and 12.50% had only third molar agenesis and 7.69% had agenesis of other teeth without third molar agenesis. New generation sequencing (NGS) to identify pathogenic variants causing OI was performed in 15 patients and pathogenic variants were found in seven patients in the *COL1A1* and *COL1A2* genes encoding type I collagen, three already reported in the literature and 4 still unreported but considered pathogenic by *in silico* analyzes. Sanger sequencing of the *PAX9* gene was performed in patients with dental agenesis and revealed a variation (c.718G> C) in exon 3 in five patients with tooth agenesis of permanent posterior teeth. Further studies involving exome analysis will be required to complete the diagnosis of OI and dental agenesis in the subjects of this study.

**KEYWORDS:** Osteogenesis imperfecta, Tooth agenesis, *PAX9* gene



## SUMÁRIO

RESUMO .....	VIII
ABSTRACT .....	IX
LISTA DE FIGURAS .....	XI
LISTA DE TABELAS .....	XII
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	XIII
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>17</b>
<b>2.1 OSTEOGÊNESE IMPERFEITA .....</b>	<b>17</b>
2.1.1 Manifestações craniofaciais e bucais.....	22
2.1.1.1 Dentinogênese Imperfeita .....	23
2.1.1.2 Agenesia Dentária.....	24
2.1.2 Tratamento da Oi .....	26
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>28</b>
<b>3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS: .....</b>	<b>28</b>
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>29</b>
4.3.1 Painel para sequenciamento NGS.....	30
4.3.2 Sequenciamento Sanger do gene <i>PAX9</i> .....	32
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>33</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>42</b>
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>48</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>49</b>
ANEXO I.....	61
ANEXO II .....	62
ANEXO III .....	63
ANEXO IV.....	65

## **LISTA DE FIGURAS**

- Figura 1 Distribuição geográfica dos pacientes por unidade da Federação
- Figura 2 Avaliação clínica, radiográfica e genética do Paciente 10
- Figura 3 Avaliação clínica, radiográfica e genética do Paciente 12
- Figura 4 Avaliação clínica, radiográfica e genética do Paciente 13
- Figura 5 Avaliação clínica, radiográfica e genética do Paciente 16
- Figura 6 Avaliação clínica, radiográfica e genética do Paciente 23

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Tipos de OI, modo de herança, genes afetados características clínicas e presença de DGI
- Tabela 2 Genes presentes no NGS e sua localização genômica
- Tabela 3 Distribuição dos pacientes com OI atendidos na clínica de anomalias dentárias do Hospital Universitário de Brasília durante o período compreendido 2002 a julho 2019 de acordo com sexo, idade, tipo de OI, presença de DGI e de agenesia dentária
- Tabela 4 Distribuição dos dentes ausentes em pacientes com OI atendidos no HUB.
- Tabela 5 Características clínicas e mutações identificadas nos pacientes com OI e agenesia dentária

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AD	Autossômico dominante
AR	Autossômico recessivo
<i>AXIN2</i>	<i>Axis inhibition protein 2</i>
<i>BMP1</i>	Proteína morfogenética óssea 1
<i>COL1A1</i>	Colágeno tipo 1 cadeia alfa 1
<i>COL1A2</i>	Colágeno tipo 1 cadeia alfa 1
CONEP	Conselho Nacional de Ética em Pesquisa
<i>CREB3L1</i>	Proteína de ligação ao elemento responsivo a AMP 3 como 1
<i>CRTAP</i>	Proteína associada à cartilagem
DGI	Dentinogênese imperfeita
DF	Distrito Federal
FKBP10	Proteína de ligação a FK206
FM	Faculdade de medicina da Universidade de Brasília
FS	Faculdade de Saúde
HUB	Hospital universitário de Brasília
<i>IFITM5</i>	Proteína transmembranar induzida por interferão 5
<i>LEPRE1</i>	Proteoglicano enriquecido com prolina de leucina 1
<i>MBTPS2</i>	Fator de transcrição ligado à membrana peptidase local 2
MH	Modo de herança
<i>MSX1</i>	<i>Muscle segment homeobox1</i>
NGS	Sequenciamento de nova geração
OI	Osteogênese imperfeita
OMIM	<i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>
<i>PAX9</i>	<i>Paired-box transcription factor9</i>
<i>P3H1</i>	Prolil 3-hidroxilase 1
<i>P4HB</i>	Prolil 4-hidroxilase beta
<i>PLOD2</i>	Procollagen-lisina, 2 oxoglutarato 5-dioxigenase 2
<i>PLS3</i>	Plastin 3

<i>PPIB</i>	Peptidilprolil isomerase B
<i>RUNX2</i>	<i>Runt-related transcription factor 2</i>
<i>SCN9A</i>	Subunidade alfa de canal de tensão de sódio 9
<i>SEC24D</i>	SEC24 homólogo D, COPII componente de revestimento complexo
<i>SERPINF1</i>	Serpin família F membro 1
<i>SERPINH1</i>	Serpin família H membro 1
<i>SLC2A2</i>	Família transportadora de soluto 2
<i>SP7</i>	Fator de transcrição 7
<i>SPARC</i>	proteína secretada ácida rica em cisteína
<i>TENT5A</i>	Terminal nucleotídeo transferase 5A
<i>TMEM38B</i>	Proteína transmembrana 38B
<i>MBTPS2</i>	Protease local 2 do fator de transcrição ligado à membrana
UnB	Universidade de Brasília
<i>WNT1</i>	Família de sítios de integração MMTV, membro 1
<i>WNT10A</i>	<i>Wingless-type MMTV integration site family, member 10A</i>

## 1 INTRODUÇÃO

A osteogênese imperfeita (OI) é um grupo de condições genéticas heterogêneas, caracterizada principalmente pela fragilidade óssea, que apresenta grau variável de gravidade e alterações congênitas do tecido conjuntivo (FORLINO; MARINI, 2016). As alterações esqueléticas incluem fragilidade óssea em grau variável, deformidades esqueléticas e ossos wormianos (GLORIEUX, 2008; SEMLER *et al.*, 2010). Além disso, alterações extra-esqueléticas tais como esclera azulada, frouxidão ligamentar, hipotonia muscular, surdez precoce e dentinogênese imperfeita (DI) são observadas em pacientes com OI (O'CONNELL; MARINI, 1999; VAN DIJK *et al.*, 2011). As manifestações clínicas da OI variam de casos leves com poucas fraturas e estatura normal a casos muito graves com letalidade perinatal (STEINER; PEPIN AND BYERS., 2005). Os padrões de herança autossômico dominante (AD) e recessivo (AR) têm sido relatados, sendo o modo de herança autossômico dominante o mais frequente (90% AD, 10% AR) (MARINI; BLISSETT, 2013; VAN DIJK; SILLENCE, 2014).

Inicialmente, a OI foi classificada em 4 tipos, de acordo com as manifestações clínicas, radiográficas e gravidade da doença, e incluía apenas os casos com modo de herança autossômico dominante ligados a mutações nos genes *COL1A1* e *COL1A2* (SILLENCE; RIMOIN, 1978). Posteriormente, novos casos com herança autossômica recessiva foram relatados e atualmente 20 tipos de OI estão na base de dados Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) (<https://www.omim.org>).

Entre as manifestações extra-esqueléticas relatadas em pacientes com OI, a dentinogênese imperfeita (DI) é uma das principais, sendo encontrada em 50% dos pacientes com OI dos tipos I a IV e, mais recentemente, em casos recessivos de OI (CHRISTIANSEN *et al.*, 2010; GLORIEUX *et al.*, 2000; O'CONNELL; MARINI, 1999). As características clínicas e radiográficas da DI associada à OI podem variar de alterações leves a graves (RIOS *et al.*, 2005). Além da DI, outras manifestações bucais são frequentemente relatadas na literatura, entre elas, dentes impactados, erupção ectópica e a agenesia dentária (JABBOUR *et al.*, 2018; O'CONNELL; MARINI, 1999). Até o momento, não há estudos de correlação fenótipo/genótipo que associem as características extra-esqueléticas bucais às mutações relatadas. Em 2012, um estudo de Wang e colaboradores (2012) relatou mutação no gene *PAX9* e

no *COL1A2* em pacientes com OI e agenesia, porém não há outros trabalhos que tenham realizado uma análise molecular de genes ligados a agenesia dentária.

O protocolo atual para o tratamento farmacológico dos casos moderados a graves de OI é a infusão cíclica intravenosa com pamidronato dissódico, uma droga da classe dos bisfosfonatos que inibe a reabsorção óssea (GLORIEUX, 1998). Essa terapia promove maior resistência do tecido ósseo, diminuição do número de fraturas e melhora da mobilidade do paciente, o que permite integrá-lo de forma global em âmbito familiar, escolar, profissional e social (RAUCH *et al.*, 2003; RAUCH; TRAVERS; GLORIEUX, 2006; ZEITLIN; FASSIER; GLORIEUX, 2003).

A portaria 2305/GM de 19 de dezembro de 2001, do Ministério da Saúde do Brasil designou a Fundação Universidade de Brasília – Hospital Universitário de Brasília (FUB/HUB) como um dos Centros Nacionais de Referência para o tratamento da OI com o pamidronato dissódico, no âmbito do Distrito Federal (BRASIL, 2001). A partir de então, a equipe médica do setor de Endocrinologia Pediátrica da Área da Medicina da Criança e do Adolescente da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (FM/UnB/HUB), com suporte das equipes de genética, otorrinolaringologia e odontologia do HUB, e as equipes de genética e ortopedia da Rede Sarah Kubitschek de Hospitais, vêm acompanhando crianças e adolescentes com OI que residem no Distrito Federal e outros Estados da Federação.

Desde 2002, 133 pacientes com OI em protocolo de infusão cíclica intravenosa de pamidronato dissódico na unidade de Endocrinologia Pediátrica do HUB são acompanhados no Projeto de Extensão em Ação Continuada “Atendimento a Pacientes Portadores de Anomalias do Desenvolvimento Dentário”, na Unidade de Saúde Bucal do HUB. Atualmente 65 pacientes estão em tratamento e os outros 68 pacientes já receberam alta, mas ainda são acompanhados rotineiramente pelos ambulatórios de Endocrinologia pediátrica e de Odontologia para controle. O atendimento odontológico envolve a caracterização das manifestações bucais dos pacientes assim como o acompanhamento preventivo contra cárie e doença periodontal, além de tratamento restaurador e reabilitador, quando necessário.

Pelo acima exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de agenesia em pacientes com Osteogênese Imperfeita atendidos no projeto de extensão “Atendimento a Pacientes Portadores de Anomalias de Desenvolvimento Dentário” do HUB desde 2002 até julho de 2019, assim como realizar análise de variação de

sequência com abordagem de genes candidatos em pacientes com OI e agenesia dentária.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 OSTEOGÊNESE IMPERFEITA

A Osteogênese Imperfeita (OI) é um grupo de desordens genéticas raras (1:15.000 a 1:20.000 nascimentos) do tecido conjuntivo, caracterizada por grau variável de fragilidade e deformidade ósseas (RAUCH; GLORIEUX, 2004). Geralmente os pacientes são propensos a fraturas, apresentam baixa estatura e deformidades de ossos longos, podendo apresentar também fraturas vertebrais e anormalidades da junção craniocervical.(BYERS; STEINER, 1992; CHEUNG; GLORIEUX, 2008; JAIN *et al.*, 2019). A maioria dos pacientes apresentam baixa densidade óssea mineral (BAINS *et al.*, 2019). As manifestações clínicas da OI variam de casos leves com poucas fraturas, fenótipo muito próximo da normalidade e estatura normal a casos muito graves com letalidade perinatal (LINDAHL *et al.*, 2016; RAUCH; GLORIEUX, 2004). Manifestações extra-esqueléticas tais como esclera azulada, frouxidão ligamentar e articular, hipotonia muscular, surdez precoce são observadas em pacientes com OI (STEINER; PEPIN AND BYERS., 2005; VAN DIJK *et al.*, 2011; VAN DIJK; SILLENCE, 2014).

Os padrões de herança autossômico dominante (AD) e recessivo (AR) têm sido relatados, sendo o modo de herança autossômico dominante o mais frequente (90% AD, 10% AR) (CAPARROS-MARTIN *et al.*, 2017; FORLINO; MARINI, 2016; VAN DIJK *et al.*, 2012). Mais recentemente, casos de OI com modo de herança ligada ao X foi relatado (LINDERT *et al.*, 2016).

Em 1978, Sillence propôs uma classificação da OI baseada nas características clínicas, radiológicas, hereditárias e na gravidade da doença (SILLENCE; RIMOIN, 1978). A classificação divide a OI em quatro tipos I-IV com modo de herança autossômico dominante. O tipo I (OMIM # 166200), forma mais leve e mais frequente da doença, geralmente não é detectada no nascimento, apresenta deformidades esqueléticas leves com maior propensão a fraturas nos membros inferiores, principalmente durante a infância. Pode apresentar esclera azulada, perda auditiva e, em alguns casos, apresenta dentinogênese imperfeita (DGI). Os pacientes



acometidos pelo tipo II (OMIM # 166210) apresentam osteopenia extrema, hipoplasia pulmonar e crânio submineralizados, geralmente esse tipo de OI é letal no período perinatal ou os pacientes sobrevivem por alguns meses. O tipo III da OI (OMIM # 259420) é a forma mais grave dos pacientes que sobrevivem o período neonatal, sendo progressivamente deformante, os acometidos por esse tipo sofrem múltiplas fraturas nos ossos longos podendo causar curvaturas acentuadas, o que contribui para apresentarem deficiência de crescimento, geralmente a face é triangular com queixo pequeno e ossos malares largos, podem apresentar esclera azulada e DGI. O tipo IV (OMIM # 16620) apresenta deformidades moderadas com fenótipo bem variável, a DGI pode ou não estar associada, e a esclera azulada pode estar presente na infância desaparecendo com o decorrer dos anos (SILLENCE; SENN; DANKS, 1979).

Em 2000, o tipo V (OMIM # 610967) de OI com modo de herança autossômico dominante foi diagnosticado em 7 pacientes que apresentavam OI com características clínicas, radiográficas e moleculares distintas dos tipos I-IV (GLORIEUX *et al.*, 2000). OI tipo V é caracterizada por calcificação da membrana intraóssea do antebraço, luxação da cabeça radial e formação de calo hiperplásico (CHO *et al.*, 2012). Dois anos depois, Glorieux e colaboradores (2002) diagnosticaram o tipo VI (OMIM # 613982) e Ward o tipo VII (OMIM # 610682), ambos com modo de herança autossômico recessivo (GLORIEUX *et al.*, 2002; WARD *et al.*, 2002). A partir desses relatos, outros estudos moleculares foram realizados e novos genes recessivos foram incluídos na classificação da OI. A cada novo gene descoberto foi adicionado um novo tipo na classificação da OI o que tem dificultado manter um padrão para os diagnósticos.

Em 2015, na nosologia de Bonafe e colaboradores, foi proposta a revisão da classificação de OI, e os autores sugeriram manter a classificação baseada nos achados clínicos e radiográficos proposta por Silience em tipo I-IV, e acrescentar o tipo V por ser um tipo radiograficamente distinguível dos tipos de I a IV (BONAFE *et al.*, 2015). A classificação proposta por Silience em 1978 e 1979 com base na gravidade das alterações ósseas ainda é a mais utilizada pelos médicos para o diagnóstico clínico de pacientes com OI.

As evidências atuais têm demonstrado que 90% dos casos de OI estão relacionados a variantes patogênicas nos genes que codificam as cadeias alfa 1 e alfa 2 do colágeno tipo 1 (*COL1A1* e *COL1A2*) resultando em alterações qualitativas e

quantitativas da proteína (BEN AMOR; GLORIEUX; RAUCH, 2011; GERMAIN-LEE, 2011; LINDAHL *et al.*, 2015; MARINI *et al.*, 2007; MARINI; BLISSETT, 2013; MARINI; REICH; SMITH, 2014; RAUCH *et al.*, 2010). Até o momento, mutações em pelo menos outros 18 genes foram identificados em pacientes com OI (<https://www.omim.org>). O gene *IFITM5* (OMIM # 614757) foi o primeiro gene não-colagênico identificado, e apresenta modo de herança autossômico dominante (GLORIEUX *et al.*, 2000). O gene *SERPINF1* (OMIM # 172860) foi a primeira variante com modo de herança autossômico recessivo relatada nos pacientes com OI (GLORIEUX *et al.*, 2002). A partir desses achados, novas variantes recessivas foram encontradas nos genes *CRTAP* (OMIM # 605497), *LEPRE1/P3H1* (OMIM # 610339), *PPIB* (OMIM # 123841), *SERPINH1* (OMIM # 600943), *FKBP10* (OMIM # 607063), *BMP1* (OMIM # 112264) e *TMEM38B* (OMIM # 611236) cujos produtos proteicos interagem e interferem na síntese do colágeno tipo 1 e no desenvolvimento ósseo, predispõem a distintos padrões de fragilidade óssea e evolução clínica (ALANAY *et al.*, 2010; CABRAL *et al.*, 2007; CHRISTIANSEN *et al.*, 2010; LINDERT *et al.*, 2016; MUNNS *et al.*, 2004; SHAHEEN *et al.*, 2012; VAN DIJK *et al.*, 2009; WARD *et al.*, 2002). Foram descritas também alterações em outros genes que não estão diretamente ligados à síntese do colágeno tipo 1, entretanto atuam na mineralização ou no desenvolvimento dos osteoblastos. Neste grupo de genes estão *CREB3L1* (OMIM # 616215), *SERPINF1* (OMIM # 172860), *SP7* (OMIM # 606633), *SPARC* (OMIM # 182120), *TENT5A* (OMIM # 617952) e *WNT1* (OMIM # 164820) (CHRISTIANSEN *et al.*, 2010; DOYARD *et al.*, 2018; KEUPP *et al.*, 2013; LAPUNZINA *et al.*, 2010; MENDOZA-LONDONO *et al.*, 2015; SYMOENS *et al.*, 2013). Em um estudo na população chinesa com 668 pacientes, o gene *WNT1* foi o gene mais frequente nessa população, sugerindo um padrão de manifestação da OI diferente dos outros estudos onde a maioria dos pacientes apresentam variações nos genes *COL1A1* e *COL1A2* (LI *et al.*, 2019). Variantes patogênicas no gene *MBTPS2* (OMIM # 300294) com modo de herança ligada ao X também foram relacionadas à OI (LINDERT *et al.*, 2016). A variação no gene *MESD* é a mais recentemente relatada (MOOSA *et al.*, 2019).

A tabela 1 resume as formas descritas, até o momento, incluindo modo de herança, genes envolvidos e características clínicas de cada tipo de OI.

Tabela 1. Tipos de OI, modo de herança, genes afetados características clínicas e presença de DGI.

Tipo OI	Modo de herança	Gene afetado	DGI	Fenótipo ósseo	Características clínicas	Referência
I	AD	<i>COL1A1/ COL1A2</i>	+	Leve	Poucas deformidades, esclera azul, estatura próxima a normalidade, perda auditiva em 50% dos casos, leve osteopenia.	Sillence; Rimoin, 1978
II	AD	<i>COL1A1/ COL1A2</i>	-	Grave	Letal no período neonatal, insuficiência respiratória, curvatura grave dos ossos longos, costelas finas.	Sillence; Rimoin, 1978
III	AD	<i>COL1A1/ COL1A2</i>	+	Moderado a grave	Deformação óssea progressiva, esclera azul na infância, múltiplas fraturas.	Sillence; Rimoin, 1978
IV	AD	<i>COL1A1/ COL1A2</i>	+	Moderado a grave	Ausência de esclera azul, estatura baixa, encurtamento dos membros inferiores.	Sillence; Rimoin, 1978
V	AD/AR?	<i>IFITM5</i>	-	Moderado	Formação de calo hiperplásico, esclera azul, calcificação da membrana intraóssea do antebraço.	Glourieux, 2000
VI	AR	<i>SERPINF1</i>	-	Moderado a grave	Esclera azul, fratura vertebral, frouxidão ligamentar, estatura, baixa e alteração no osso lamelar.	Glourieux, 2002
VII	AR	<i>CRTAP</i>	-	Grave	Múltiplas fraturas ao nascimento, esclera levemente azul, baixa estatura, frouxidão ligamentar, rizomelia e perda auditiva.	Ward, 2002
VIII	AR	<i>LEPRE1/ P3H1</i>	-	Grave	Grave deficiência de crescimento com ossos longos encurtados, metáfise bulbosas, submineralização esquelética.	Cabral <i>et al</i> , 2007
IX	AR	<i>PPIB</i>	-	Grave	Fraturas intrauterinas, ossos longos com curvatura e curtos, hiperflexibilidade	van Dijk <i>et al.</i> , 2009

Tipo OI	Modo de herança	Gene afetado	DGI	Fenótipo ósseo	Características clínicas	Referência
					articular, esclera acinzentada.	
X	AR	<i>SERPINH1</i>	+	Grave	Múltiplas fraturas e deformidades ósseas Macrocefalia, esclera azulada.	Christiansen <i>et al.</i> , 2010
XI	AR	<i>FKBP10</i>	-	Grave	Esclera azul, ossos wormianos, cifoesciose, “coxa varo”	Alanay <i>et al.</i> , 2010
XII	AR	<i>SP7</i>	-	Leve a moderado	Fraturas recorrentes, atraso na erupção dentária, perda auditiva progressiva.	Lapunzina <i>et al.</i> , 2010
XIII	AR	<i>BMP1</i>	-	Moderado a grave	Deficiência severa de crescimento, fraturas recorrentes nos membros inferiores	Munns <i>et al.</i> , 2004
XIV	AR	<i>TMEM38B</i>	-	Moderado	Múltiplas fraturas, osteopenia, costelas finas, ossos wormianos	Shaheen <i>et al.</i> , 2012
XV	AR	<i>WNT1</i>	-	Moderado a grave	Fraturas recorrentes com início precoce, escoliose, curvatura de ossos longos e baixa estatura.	Keupp <i>et al.</i> , 2013
XVI	AR	<i>CREB3L1</i>	-	Grave	Múltiplas fraturas no período pré-natal nas costelas e ossos longos, esclera azul, diminuição da ossificação do crânio.	Symoens, <i>et al.</i> , 2013
XVII	AR	<i>SPARC</i>	-	Grave	Fraturas nas vértebras torácicas, hipotonia muscular, escoliose, retardo motor.	Mendoza-Londono <i>et al.</i> , 2015
XVIII	AR	<i>TENT5A</i>	-	Moderado a grave	Múltiplas fraturas no 1º ano de vida, colapso vertebral, esclera azul, ossos wormianos.	Doyard <i>et al.</i> , 2018
XIX	LRX	<i>MBTPS2</i>	-	Moderado a grave	Fraturas pré-natais, deformidade na angulação da tíbia, escoliose, osteopenia generalizada.	Lindert <i>et al.</i> , 2016

Tipo OI	Modo de herança	Gene afetado	DGI	Fenótipo ósseo	Características clínicas	Referência
XX	AR	MESD	-	Grave	Fraturas intrauterina, vertebrais e torácicas, desenvolvimento ósseo atrasado, Insuficiência respiratória	Moosa, <i>et al.</i> , 2019

Legenda: Adaptado de Forlino e Marini, 2016. AR: Autossômico recessivo; AD: Autossômico dominante; (+): presente; (-): ausente.

### 2.1.1 Manifestações craniofaciais e bucais

Variações no metabolismo do colágeno podem interferir no desenvolvimento dos ossos faciais alterando o desenvolvimento craniofacial desses pacientes, que podem apresentar face triangular, osso temporal protrusivo, osso frontal proeminente com testa alargada, macrocefalia, bem como alterações no tamanho dos maxilares (JABBOUR *et al.*, 2018; WALTIMO-SIRÉN *et al.*, 2005). Os tipos mais graves de OI apresentam as anormalidades craniofaciais mais graves como hipoplasia do terço médio da face e maxila encurtada (LUND *et al.*, 1997). Esses pacientes apresentam alto risco para o desenvolvimento de má oclusão tipo III, mordida cruzada posterior e anterior, mordida aberta lateral (JABBOUR *et al.*, 2018; O'CONNELL *et al.*, 1999; RIZKALLAH *et al.*, 2013)

As alterações craniofaciais são mais prevalentes nos tipos III e IV de OI, enquanto o tipo I apresenta essas características muito próximas a normalidade (CHANG; LIN; HSU, 2007; CHEUNG *et al.*, 2011). Embora os pacientes com OI do tipo IV apresentem manifestações esqueléticas leves, as características dentoalveolares são graves (JABBOUR *et al.*, 2018).

Chang *et al* (2007) observaram que as alterações bucais se agravam com o aumento da idade e a perda da dimensão vertical ocorre precocemente favorecendo a relação classe III esquelética desses pacientes.

Outras anomalias do desenvolvimento dentário observadas nos pacientes com OI são: erupção ectópica, dentes impactados, agenesia dentária, dentinogênese imperfeita, taurodontia, alteração na cronologia da erupção dentária (ANDERSSON *et al.*, 2017; O'CONNELL; MARINI, 1999; RETROUVEY *et al.*, 2019b).

### 2.1.1.1 Dentinogênese Imperfeita

A dentinogênese imperfeita (DGI) é um grupo de condições hereditárias caracterizadas por uma estrutura anormal da dentina devido a distúrbios na formação, composição ou organização da matriz dentinária. A DGI apresenta modo de herança autossômico dominante e pode estar ou não associada à OI (MALMGREN *et al.*, 2004; MALMGREN; LINDSKOG, 2003). Cerca de 50% dos pacientes com OI podem apresentar DGI. A classificação de Shields estratificava as condições hereditárias da dentina em DGI tipo I, II, e III, e displasia dentinária em tipo I e II (SHIELDS; BIXLER; EL-KAFRAWY, 1973). Atualmente, uma classificação mais utilizada propõe que a DGI seja classificada em forma síndrômica e não-síndrômica (DE LA DURE-MOLLA; PHILIPPE FOURNIER; BERDAL, 2014).

A forma síndrômica de DGI está associada à OI, e pode manifestar-se de forma leve, moderada ou grave. As formas não-síndrômicas também se manifestam de forma leve a grave e correspondem, respectivamente, à displasia dentinária tipo II, DGI tipos II e III de Shields. Apesar dos tipos síndrômicos e não-síndrômicos de DGI serem geneticamente distintos as manifestações clínicas observadas na dentina são similares (DE LA DURE-MOLLA; PHILIPPE FOURNIER; BERDAL, 2014).

Clinicamente, a DGI é caracterizada por apresentar coloração coronária opalescente variando entre cinza, marrom e amarelo, geralmente com atrições e desprendimento de esmalte. Radiograficamente, as coroas podem apresentar constrição cervical, coroas bulbosas, dismorfia da câmara pulpar (calcificação pulpar, obliteração ou câmara pulpar ampla), alterações na morfologia radicular (calcificação dos condutos radiculares, obliteração dos canais ou condutos radiculares amplos), sendo essas características consideradas patognomônicas para o diagnóstico de DGI. Essas características clínicas e radiográficas da DGI podem manifestar-se de forma leve a grave, entretanto na forma grave, são encontradas lesões periapicais. (CHETTY *et al.*, 2016; DE LA DURE-MOLLA; PHILIPPE FOURNIER; BERDAL, 2014).

As dentições decídua e permanente podem ser afetadas, sendo a dentição decídua mais gravemente atingida. Alguns estudos mostram que mesmo que a dentição decídua tenha sido afetada, a permanente pode não apresentar DGI (CHETTY *et al.*, 2016; DE LA DURE-MOLLA; PHILIPPE FOURNIER; BERDAL, 2014).

Na maioria dos casos, a DGI é diagnosticada através de exames clínicos e radiográficos, entretanto, a ausência de manifestações clínicas e radiográficas não exclui a sua presença. Nestes casos, estudos demonstraram que a DGI pode também ser diagnosticada por exames histológicos (WALTIMO; OJANOTKO-HARRI; LUKINMAA, 1996).

### **2.1.1.2 Agenesia Dentária**

Outra anomalia dentária observada nos pacientes com OI é a agenesia dentária (EIMAR *et al.*, 2016; O'CONNELL; MARINI, 1999; RETROUVEY *et al.*, 2019b).

A agenesia dentária é definida como a ausência congênita de dentes decíduos e/ou permanentes em decorrência de distúrbios na odontogênese (formação dos dentes), resultando em número reduzido de dentes (B. POLDER, M. VAN'T HOF, F. VAN DER LINDEN, 2004; GOLDENBERG *et al.*, 2000). Durante o processo de formação dos dentes vários genes são responsáveis por determinar número, posição, forma e tamanho dos dentes. Alterações em qualquer um desses genes pode resultar em anomalias dentárias. Clinicamente é uma condição heterogênea, que pode afetar várias combinações de dentes e estar associada a outras anomalias do desenvolvimento dentário (VASTARDIS, 2000).

A agenesia dentária é uma anomalia de desenvolvimento craniofacial de alta prevalência em humanos (KHALAF *et al.*, 2014). Pode ocorrer como uma condição isolada ou associada a síndromes (COBOURNE, 2007; VIEIRA, 2003). Tanto a forma síndrômica como a não-síndrômica da agenesia dentária podem ocorrer de forma esporádica ou familiar (COBOURNE, 2007; FAUZI *et al.*, 2018; VIEIRA, 2003). A forma familiar pode ser transmitida como uma condição autossômica dominante, autossômica recessiva ou ligada ao cromossomo X, e também pode não mostrar um padrão claro de segregação (KAPADIA; MUES; D'SOUZA, 2007).

A agenesia dentária pode ser classificada em hipodontia, quando há ausência de um a seis dentes, exceto os terceiros molares; em oligodontia, quando há a falta de mais de seis dentes, excluindo-se terceiros molares; ou ainda, pode ser classificada em anodontia quando há ausência de todos os dentes (ARTE *et al.*, 2001; BÄCKMAN; WAHLIN, 2001; DURE-MOLLA *et al.*, 2019; GOLDENBERG *et al.*, 2000)

O diagnóstico da agenesia dentária é realizado a partir do exame clínico e radiográfico. A avaliação radiográfica permite determinar a ausência congênita de

dentos permanentes a partir dos 6 anos de idade onde é possível avaliar a formação dos germes dos dentes permanentes, isso quando se exclui os terceiros molares do diagnóstico. Ao avaliar a agenesia nos terceiros molares estima-se entre 8 a 11 anos de idade quando é possível verificar a mineralização das coroas (ARTE *et al.*, 2001; CELIKOGLU *et al.*, 2010; COBOURNE, 2007; DHANRAJANI, 2002). O diagnóstico é confirmado quando o dente está ausente clinicamente e radiograficamente, sem histórico de exodontia prévia.

A principal causa de agenesia dentária são mutações genéticas, embora polimorfismos e alterações no padrão de metilações de DNA também tenham sido recentemente destacados por seu papel nessa patologia (AL-ANI *et al.*, 2017; ARTE *et al.*, 1996; COBOURNE, 2007; LARMOUR *et al.*, 2005; RAKHSHAN; RAKHSHAN, 2015). Sua etiologia genética tem sido demonstrada pela associação com mutações nos genes *MSX1*, *PAX9*, *AXIN2*, *PITX2*, *NEMO*, *EDA*, *EDAR*, *EDARADD*, *WNT10A*, *GREMLIN2*, *LTBP3*, *LRP6* e *SMOC2* (AL-ANI *et al.*, 2017; CHHABRA; GOSWAMI; CHHABRA, 2014; KANTAPUTRA *et al.*, 2015; LARMOUR *et al.*, 2005; NIEMINEN, 2009; PARVEEN *et al.*, 2019; SHIMIZU; MAEDA, 2009; VAN DEN BOOGAARD *et al.*, 2012; YU *et al.*, 2019).

As mutações que afetam genes que codificam os fatores de transcrição *PAX9* causam agenesia de dentes permanentes em famílias com origens geográficas diferentes (COBOURNE, 2007; HADDAJI MASTOURI *et al.*, 2016; VAN DEN BOOGAARD *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2011). Essas mutações foram identificadas inicialmente em pacientes com síndromes nas quais a agenesia dentária é uma característica comum (STOCKTON *et al.*, 2000; VASTARDIS, 2000).

Alguns autores propõem que a etiologia da agenesia dentária seja multifatorial, ou seja, que a agenesia dentária ocorre como uma consequência tanto de mutações em genes envolvidos na odontogênese quanto por fatores ambientais (BROOK, 1984; DHANRAJANI, 2002; SCHALK-VAN DER WEIDE; STEEN; BOSMAN, 1992).

O padrão da agenesia dentária foi avaliado em um estudo onde se observou o número e o tipo de dentes ausentes para cada gene descrito como causador de ausência congênita de dentes. O estudo caracterizou e correlacionou fenótipos de agenesia dentária com suas variantes genéticas causais (FOURNIER *et al.*, 2018). O gene *PAX9* foi responsável por agenesia dos dentes terceiros molares superiores (93,44%), terceiros molares inferiores (88,84%), segundos molares superiores (75,76%) e segundos molares inferiores (76,89%). Para os primeiros molares e



segundos pré-molares, observou-se uma diferença marcante entre a maxila e a mandíbula. Na maxila os primeiros pré-molares (67,80%) e segundos pré-molares superiores (60,61%) estavam mais ausentes do que na mandíbula (primeiros pré-molares 34,85%, segundos pré-molares 40,53%). Os dentes anteriores foram menos afetados pela agenesia, exceto pelos incisivos centrais inferiores (FOURNIER *et al.*, 2018).

A ocorrência de agenesia dentária e OI foi investigada em um estudo onde se identificou variantes patogênicas no gene *COL1A2* e no gene *PAX9* causando hipodontia de todos os terceiros molares, segundos pré-molares superiores, primeiro pré-molar superior esquerdo, incisivos centrais inferiores e segundo pré-molar inferior direito (WANG *et al.*, 2012). Um caso raro de agenesia de todos os dentes foi relatado em um paciente com OI (LU *et al.*, 2014).

Nos pacientes com OI foi observada uma frequência de agenesia dentária em 17% dos pacientes com variante nos genes do colágeno tipo I, sendo os pré-molares os dentes mais acometidos em 91% dos casos (MALMGREN *et al.*, 2017).

### 2.1.2 Tratamento da OI

As abordagens terapêuticas para a OI devem envolver um tratamento multidisciplinar que possibilite uma melhor inserção do paciente na sociedade. O ideal é combinar tratamentos não cirúrgicos para fortalecer a musculatura; cirúrgicos quando necessários para corrigir posicionamentos ósseos e prevenir fraturas; e a administração farmacológica de bisfosfonatos para aumentar a resistência mecânica dos ossos e diminuir o número de fraturas (HOYER-KUHN; NETZER; SEMLER, 2015).

O tratamento farmacológico da OI está relacionado com a gravidade da doença (BAINS *et al.*, 2019; GLORIEUX, 2007). Pacientes que apresentam a forma leve, na maioria dos casos, não necessitam realizar a infusão cíclica intravenosa de bisfosfonatos (RAUCH *et al.*, 2003). Entretanto, nos casos de moderado a grave o tratamento padrão é a administração intravenosa de pamidronato dissódico, uma droga da classe dos bisfosfonatos introduzido na década de 90 como abordagem terapêutica para a OI (GLORIEUX *et al.*, 1998). Este fármaco promove a inibição da reabsorção óssea, induzindo a apoptose dos osteoclastos (CHEUNG; GLORIEUX; RAUCH, 2009; DWAN *et al.*, 2014). Esta terapia auxilia no aumento da densidade

mineral óssea, reduzindo o número de fraturas e também melhora a força muscular, além de diminuir as dores ósseas e aumentar a resistência desses pacientes (HENNEDIGE *et al.*, 2013; MARINI; REICH; SMITH, 2014; VAN DIJK *et al.*, 2011; ZEITLIN *et al.*, 2003).

Os bisfosfonatos são amplamente utilizados em crianças com OI, para aumentar a força óssea e reduzir as taxas de fraturas (RAUCH *et al.*, 2007; RAUCH; GLORIEUX, 2005; TREJO; RAUCH, 2016). Em um estudo com 79 crianças diagnosticadas com OI que receberam infusão de pamidronato dissódico foi observado o aumento na densidade mineral óssea e diminuição da taxa de fraturas, além de melhorar as fraturas por compressão vertebral, independentemente da idade no início do tratamento e do tipo de OI (LINDAHL *et al.*, 2016).

Entre as possíveis complicações do tratamento a longo prazo com bisfosfonatos está a osteonecrose dos maxilares, caracterizada por uma área de mucosa ulcerada com osso necrótico exposto (BRADASCHIA-CORREA *et al.*, 2012; GOIA *et al.*, 2014; HENNEDIGE *et al.*, 2013). Até o momento, estudos não mostraram efeitos adversos graves do tratamento com bisfosfonatos em crianças com OI (DWAN *et al.*, 2014; HENNEDIGE *et al.*, 2013; MALMGREN; ÅSTRÖM; SÖDERHÄLL, 2008), entretanto o acompanhamento a longo prazo é importante devido a preocupação dos bisfosfonatos induzir osteomalácia, osteopetrose ou osteonecrose da mandíbula (BIGGIN *et al.*, 2015; BIGGIN; MUNNS, 2014; LINDAHL *et al.*, 2016; ROBINSON *et al.*, 2019; ZEITLIN *et al.*, 2003). Hiraga e colaboradores (2010) sugeriram que o tratamento com bisfosfonatos durante o desenvolvimento dentário podem inibir a erupção dentária, prejudicar a formação dos dentes e induzir vários tipos de anomalias dentárias.

Não há consenso com relação ao momento adequado para iniciar o tratamento com bisfosfonatos para indivíduos com OI, considerando idade do paciente e gravidade de OI. Os dados disponíveis sobre o pamidronato na OI grave em comparação com os controles históricos não tratados correspondentes, indicam que os efeitos positivos podem ser mais pronunciados em crianças que iniciam o tratamento em uma idade mais precoce (GLORIEUX *et al.*, 1998; ZEITLIN *et al.*, 2003).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar clínica e geneticamente a ocorrência de agenesia dentária em pacientes com osteogênese imperfeita na Clínica de Anomalias Dentárias do Hospital Universitário de Brasília desde 2002 até julho de 2019.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Realizar um estudo clínico e radiográfico das manifestações bucais em pacientes com Osteogênese Imperfeita acompanhados no Projeto de Extensão de Ação Continuada "Atendimento a Pacientes Portadores de Anomalias de Desenvolvimento Dentário", na Unidade de Saúde Bucal do HUB desde 2002 até julho de 2019.
2. Determinar a frequência da agenesia dentária em pacientes com OI atendidos no Projeto de Extensão de Ação Continuada "Atendimento a Pacientes Portadores de Anomalias de Desenvolvimento Dentário" desde 2002 até julho de 2019.
3. Caracterizar o padrão de agenesia de dentes permanentes nos pacientes com OI atendidos no HUB.
4. Investigar variantes patogênicas em pacientes com OI que apresentaram agenesia dentária por meio de um painel de sequenciamento de nova geração composto por 13 genes associados a OI.
5. Investigar, pelo método de sequenciamento *Sanger*, variantes patogênicas do gene *PAX9* nos pacientes que apresentam agenesia dentária.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

Este estudo foi aprovado pelo comitê de Ética de Pesquisa em seres humanos (CEP/FS 1.324.282) (Anexo I) e Comissão Nacional de ética em Pesquisa (CONEP) parecer 1440/2001, registro 3120 (Anexo II). O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi apresentado a todos os sujeitos de pesquisa que aceitaram participar do estudo (ANEXOS III e IV).

### **4.1 SUJEITOS**

Entre os anos de 2002 até maio de 2019 foram acompanhados 133 pacientes com OI pelo Projeto de Extensão de Ação Continuada “Atendimento a Pacientes Portadores de Anomalias de Desenvolvimento Dentário”, na Unidade de Saúde Bucal do HUB e atualmente 65 estão em tratamento com pamidronato dissódico no Serviço de Endocrinologia Pediátrica do HUB.

### **4.2 AVALIAÇÃO DE PRONTUÁRIOS**

O acompanhamento odontológico é realizado no período da internação desses pacientes no HUB para o tratamento com pamidronato dissódico intravenoso, que ocorre regularmente a cada 2, 3 ou 4 meses, de acordo com a idade do paciente. Informações referentes ao exame físico (extra e intrabucal), exames complementares (fotografias e radiografias panorâmicas e periapicais) foram coletadas de seus prontuários.

Dados referentes ao sexo do paciente, idade, presença de agenesia dentária, tipo de OI, e presença de DGI foram coletados a fim de caracterizar o fenótipo dentário dos pacientes. Além disso, a localização geográfica desses pacientes foi avaliada a fim de determinar a distribuição da população estudada.

Para a avaliação da frequência de agenesia dentária utilizou-se o histórico radiográfico de 104 pacientes. Para esse estudo, foi feito o diagnóstico da agenesia dentária na dentição permanente.

### 4.3 EXTRAÇÃO DE DNA PARA SEQUENCIAMENTO

Durante a internação para infusão do pamidronato dissódico amostras de sangue venoso periférico foram coletadas e armazenadas em tubos contendo EDTA e encaminhadas para o Laboratório de Histopatologia Bucal, onde foi realizada a extração de DNA genômico pelo método *salting out* (Puregene), seguida da sua quantificação no Nanovue Plus (GE®).

Para extração de DNA, as células sanguíneas foram submetidas à centrifugação e incubadas com dois tampões de lise celular. Após a incubação, as proteínas foram removidas por precipitação com 7.5M de acetato de amônia. O DNA foi precipitado com isopropanol, secado ao ar livre e ressuscitado em tampão de TE (10 mM Tris pH 7.8 e 1 mM EDTA). A concentração de DNA de cada amostra foi determinada, individualmente, por espectrofotômetro (Nanovue Plus, GE Healthcare Life Sciences, USA).

#### 4.3.1 Painel para sequenciamento NGS

Para a investigação da variante causadora da OI, foi realizado um painel de genes por meio de sequenciamento de nova geração (NGS) para os 13 genes associados à OI descritos até o momento inicial da pesquisa (Tabela 2). (Ion Personal Machine, Life Technologies). Foram incluídos nesse experimento 15 amostras referentes aos pacientes que tinham o DNA extraído e apresentavam agenesia dentária.

Tabela 2. Genes incluídos no painel de sequenciamento NGS e sua localização genômica.

Gene	Localização genômica
<i>COL1A1</i>	17q21.33
<i>COL1A2</i>	7q21.3
<i>CRTAP</i>	3p22.3
<i>LEPRE1</i>	1p34.2
<i>PPIB</i>	15q22.31
<i>FKBP10</i>	17q21.2
<i>SERPINF1</i>	17p13.3
<i>SERPINH1</i>	11q13.5
<i>SP7</i>	12q13.13
<i>IFITM5</i>	11p12.5
<i>BMP1</i>	8p21.3
<i>TMEM38B</i>	9q31.2
<i>WNT1</i>	12q13.12

Um total de 10 ng de DNA por amostra foi usado para enriquecimento por PCR multiplex. Os amplicons foram ligados aos adaptadores de sequenciamento com “barcodes” que permitem misturar as amostras para as etapas subsequentes. As bibliotecas das amostras com código de barras equalizadas foram reunidas. O *pool* de bibliotecas e o sequenciamento seguiram o protocolo do fabricante. Utilizou-se um Chip Ion 316v2 para sequenciamento das amostras. A realização deste experimento ocorreu na Universidade Católica de Brasília.

Os dados do sequenciamento do painel foram analisados usando o programa Torrent Suite (versão 5.0.4; Life Technologies) para as chamadas, alinhamentos e variantes usando a sequência genômica de referência (hg19) para os genes alvo. As chamadas de variantes foram anotadas usando Ion Reporter (version 4.0), que mostrou alterações de acordo com a localização, tipo de variante, dBSNPs e resultados de programas “*in silico*” (Polyphen and SIFT). As variantes foram filtradas de acordo com os critérios: baixa qualidade da corrida, regiões homopolímeras de inserções/deleções, e desbalanço alélico na proporção maior que 80:20. Mutações patogênicas, do tipo missense foram também avaliadas pelos *softwares in silico* MutationTaster, Polyphen e SIFT.

### 4.3.2 Sequenciamento Sanger do gene *PAX9*

Realizou-se o sequenciamento Sanger nos pacientes com diagnóstico clínico e radiográfico de agenesia dentária e que continham amostra de DNA. O critério de inclusão dos pacientes para esse experimento foi ter idade superior a 10 anos e apresentar agenesia dentária de qualquer dente excluindo os terceiros molares ou possuir agenesia de todos os 4 terceiros molares. Esse critério foi estabelecido considerando a idade de formação dos dentes e também restringido de acordo com os recursos financeiros disponíveis no momento do início da pesquisa.

O DNA genômico foi utilizado como substrato para amplificação do gene *PAX9* utilizando-se pares de oligonucleotídeos iniciadores previamente descrito para o gene *PAX9* (LAMMI *et al.*, 2003) diluídos a 10 $\mu$ M. Na reação de amplificação foram utilizados 2  $\mu$ L de DNA genômico, 0,2  $\mu$ L de cada desoxinucleotídeo (dNTP), 10 ng de cada oligonucleotídeo iniciador, 0,25 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 25  $\mu$ L. A amplificação foi realizada em termociclador PTC-100 (MJ Research, Inc. Waltham, MA). Os produtos da amplificação foram purificados seguindo instruções do fabricante. Para a confirmação da amplificação dos fragmentos de interesse, os produtos de PCR foram corados com brometo de etídeo (0,5  $\mu$ g/mL), submetidos a eletroforese em gel de agarose 1%, visualizados em luz ultravioleta e fotografados.

O sequenciamento foi realizado separadamente para cada primer (*Forward* e *Reverse*) utilizando: 1  $\mu$ l de BigDye Terminator (Thermo Fisher), 1,5 $\mu$ l de Tampão do Kit, primers diluídos a 3,2 pmol/ $\mu$ l (3,5 $\mu$ l), 2  $\mu$ l do produto amplificado e 2  $\mu$ l de água totalizando 10  $\mu$ l. A programação no termociclador foi: 96 °C 1 min 35 x [96 °C 15 s 50 °C 15 s 60 °C 4 min ]4 °C  $\infty$ . Antes da leitura no sequenciador ABI3130, foi realizada a precipitação com etanol de acordo com as orientações do fabricante (Thermo Fisher). Para a leitura, o produto da precipitação foi ressuspenso em Formamida Hidi (10 $\mu$ l) e a placa foi colocada no sequenciador ABI 3130.

A análise dos cromatogramas, alinhamentos e comparações entre as sequências foram realizados com o auxílio do *software* Sequencher® versão 4.8 demo (Gene Codes corporation), BioEdit® e CROMAS®. As sequências foram comparadas utilizando-se como referência as sequências genômicas descritas na base de dados ENSEMBL (Human Gen View disponível em

[www.ensembl.org/homo\\_sapiens/geneview](http://www.ensembl.org/homo_sapiens/geneview)). As variações de sequência com substituição de aminoácidos foram submetidas à análise pelos programas *Polymorphism Phenotyping v2* - PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/index.shtml>) e *Sorting Intolerant From Tolerant* - SIFT (<http://sift.jcvi.org>) para predição do efeito da substituição de aminoácidos sobre a proteína (MU *et al.*, 2013) e pelo *Mutation Taster* (<http://www.mutationtaster.org/>) para predição como variante causadora de doença (KANTAPUTRA *et al.*, 2015).

## 5 RESULTADOS

A análise clínica de prontuários dos 133 pacientes atendidos na clínica de anomalias dentárias desde 2002 a julho de 2019 revelou que 62 pacientes são do sexo masculino e 71 são do sexo feminino, a média de idade dos pacientes avaliados foi de 17,4 anos +/- 13,6. Foi observado pelo diagnóstico clínico que 32 pacientes apresentavam OI tipo I, 49 OI tipo III e 26 OI tipo IV. Em 24 pacientes o diagnóstico do tipo de OI ainda não foi conclusivo e em 2 pacientes não foi possível distinguir entre o tipo I e IV de OI.

A distribuição geográfica dos pacientes avaliados mostrou que a maioria dos pacientes são da região centro-oeste do país, sendo que 51 são do Distrito Federal, 38 de Goiás, 4 do Mato Grosso, 3 do Tocantins e 2 do Mato Grosso do Sul. As demais regiões estão discriminadas na Figura 1. Em 4 pacientes não consta no prontuário a sua localidade.



Figura 1: Distribuição geográfica dos pacientes por unidade da Federação.



A avaliação da frequência da agenesia dentária nos pacientes com OI foi realizada em 104 participantes da pesquisa que apresentavam histórico de radiografias panorâmicas. O restante dos 29 pacientes que o diagnóstico não foi possível de ser realizado, 9 deles possuem idade inferior a 10 anos e 20 não deram continuidade nos ambulatórios para acompanhamento impossibilitando o diagnóstico de agenesia dentária.

A agenesia dentária foi observada em 24 pacientes, dos 104 que tinham histórico radiográfico, com OI e idade superior a 10 anos. A DGI esteve presente em pelo menos uma das dentições em 49 pacientes, sendo que 30 apresentaram DGI em ambas as dentições, 3 somente na dentição decídua e 3 apenas na dentição permanente. Em 2 pacientes a DGI foi diagnosticada na dentição decídua, entretanto, eles ainda não possuem idade suficiente para avaliar a dentição permanente. Em 11 pacientes somente foi possível avaliar a presença da DGI na dentição permanente, pois chegaram ao HUB com todos os dentes decíduos já esfoliados. A distribuição dos dados: sexo, idade, presença de DGI e de agenesia dentária em função do tipo de OI está resumida na Tabela 3.

Tabela 3. Distribuição dos pacientes com OI atendidos na clínica de anomalias dentárias do Hospital Universitário de Brasília durante o período compreendido entre 2002 a julho 2019 de acordo com sexo, idade, tipo de OI, presença de DGI e de agenesia dentária.

	Tipo I	Tipo III	Tipo IV	I / IV	NC	Total
N° de Indivíduos (M/F)	19 / 13	20 / 29	13 / 13	1 / 1	9 / 15	62/71
Idade (anos $\pm$ dp)	17,5 $\pm$ 13,8	14,8 $\pm$ 13,7	12,5 $\pm$ 13,9	18,5 $\pm$ 10,7	30,2 $\pm$ 14,6	17,4 $\pm$ 13,7
Presença de DGI	10	28	7	0	4	49
Presença de agenesia dentária	15%	24%	23%	50%	0%	24
Total	32	49	26	2	24	-

Legenda: M: sexo masculino; F: sexo feminino; NC: diagnóstico clínico do tipo de OI não conclusivo; dp: desvio padrão.

Foi observado que 23,07% (n=24) dos pacientes apresentaram agenesia dentária, sendo que 12,5% (n=13) apresentaram agenesia apenas de terceiros molares e 6,73% (n=7) apresentaram agenesia de outros dentes sem agenesia de terceiros molares. A prevalência de agenesia de terceiros molares ocorrendo simultaneamente a outros dentes foi de 3,83% (n=4). A distribuição de dentes ausentes está resumida na tabela 4.

Tabela 4: Distribuição dos dentes ausentes em pacientes com OI atendidos no HUB.

Paciente	Sexo	Idade atual (anos)	Tipo OI	Dentes ausentes	DGI Decídua	DGI Permanente
1	Mas	14	III	18, 28, 38, 48	Sim	Sim
2	Fem	27	IV	18, 38, 48	Sim	Sim
3	Mas	21	III/IV	48	Não	Não
4	Mas	15	IV	48	Não	Sim
5	Fem	19	III	28	Sim	Não
6	Mas	23	I	18	Não	Não
7	Fem	14	III	35, 45, 24, 25	Sim	Sim
8	Mas	30	I	28, 38, 48	DI	Sim
9	Mas	17	IV	41, 35	Sim	Sim
10	Mas	19	III	45, 18	Não	Não
11	Mas	18	III	34 e 44	DI	Sim
12	Fem	16	III	15, 25, 35, 38,45, 48	DI	Sim
13	Fem	18	IV	35, 45, 38, 48	Não	Não
14	Mas	12	I	38	Não	Não
15	Mas	28	I	48, 25	Não	Não
16	Fem	11	III	32	Não	Não
17	Fem	15	III	18	Não	Não
18	Mas	21	III	38	Não	Não
19	Fem	20	III	35	Sim	Sim
20	Mas	26	III	18, 28, 38, 48	Sim	Sim
21	Mas	21	IV	18, 28	Sim	Sim
22	Mas	23	III	44	DI	Não
23	Mas	12	III	14, 15, 24, 25, 18, 28, 38, 48	Não	Não
24	Mas	22	III	38, 48	Não	Não

Legenda: Mas: gênero masculino; Fem: gênero feminino; DI: dado indisponível; dentes ausentes: 18: terceiro molar superior direito; 28: terceiro molar superior esquerdo; 38: terceiro molar inferior esquerdo; 48: terceiro molar inferior direito; 24: primeiro pré-molar superior esquerdo; 25: segundo pré-molar superior esquerdo; 35: segundo pré-molar inferior esquerdo; 45: segundo pré-molar inferior direito; 41: incisivo central inferior direito; 34: primeiro pré-molar inferior esquerdo; 44: primeiro pré-molar inferior direito; 15: segundo pré-molar superior direito; 14: primeiro pré-molar superior direito; 24: primeiro pré-molar superior esquerdo; 44: primeiro pré-molar inferior direito.

Foram sequenciadas em NGS amostras de 15 pacientes com OI e agenesia dentária, identificou-se sete variantes patogênicas em heterozigose nos genes que codificam as cadeias  $\alpha 1$  e  $\alpha 2$  do colágeno tipo I, sendo que três variantes já foram relatadas na literatura e quatro ainda não descritas mas consideradas patogênicas pelas análises *in silico* (Tabela 5). Não foi possível sequenciar nove pacientes por falta

de amostra de DNA, já que os pacientes tinham recebido alta e não continuaram nos ambulatorios de controle. Em oito pacientes não foram encontradas mutações patogênicas causadoras da OI por limitações do painel de genes. As regiões sequenciadas tiveram uma cobertura de 98%.

Tabela 5: Características clínicas e mutações identificadas nos pacientes com OI e agenesia dentária.

Paciente	Idade atual (anos)	Tipo OI	Dentes ausentes	Gene	Exon	Mutação c.DNA	Efeito Proteína	Referências
1	14	III	18, 28, 28, 48	COL1A1	48	c.3533G>C	p.Gly1178Ala	NR
4	15	IV	48	COL1A1	11	c.757C>T	p.Arg253 Stop	Lindahl <i>et al</i> , 2015;
5	19	III	28	COL1A2	28	c.1657G>T	p.Gly553 Cys	NR
12	16	III	15, 25, 35, 38, 45, 48	COL1A1	43	c.3119G>C	p.Gly1040Ala	NR
18	21	III	38	COL1A2	20	c.1072G>A	p.Gly358 Ser	Rauch <i>et al.</i> , 2014
20	26	III	18, 28, 38, 48	COL1A2	25	c.1433G>A	p.Gly478 Asp	NR
21	21	IV	18, 28	COL1A2	26	c.1549G>A	p.Gly517 Ser	Marini <i>et al</i> , 2007

Legenda: NR: não relatado na literatura; 18: terceiro molar superior direito; 28: terceiro molar superior esquerdo; 38: terceiro molar inferior esquerdo; 48: terceiro molar inferior direito; 15: segundo pré-molar superior direito; 25: segundo pré-molar superior esquerdo; 35: segundo pré-molar inferior esquerdo; 45: segundo pré-molar inferior direito.

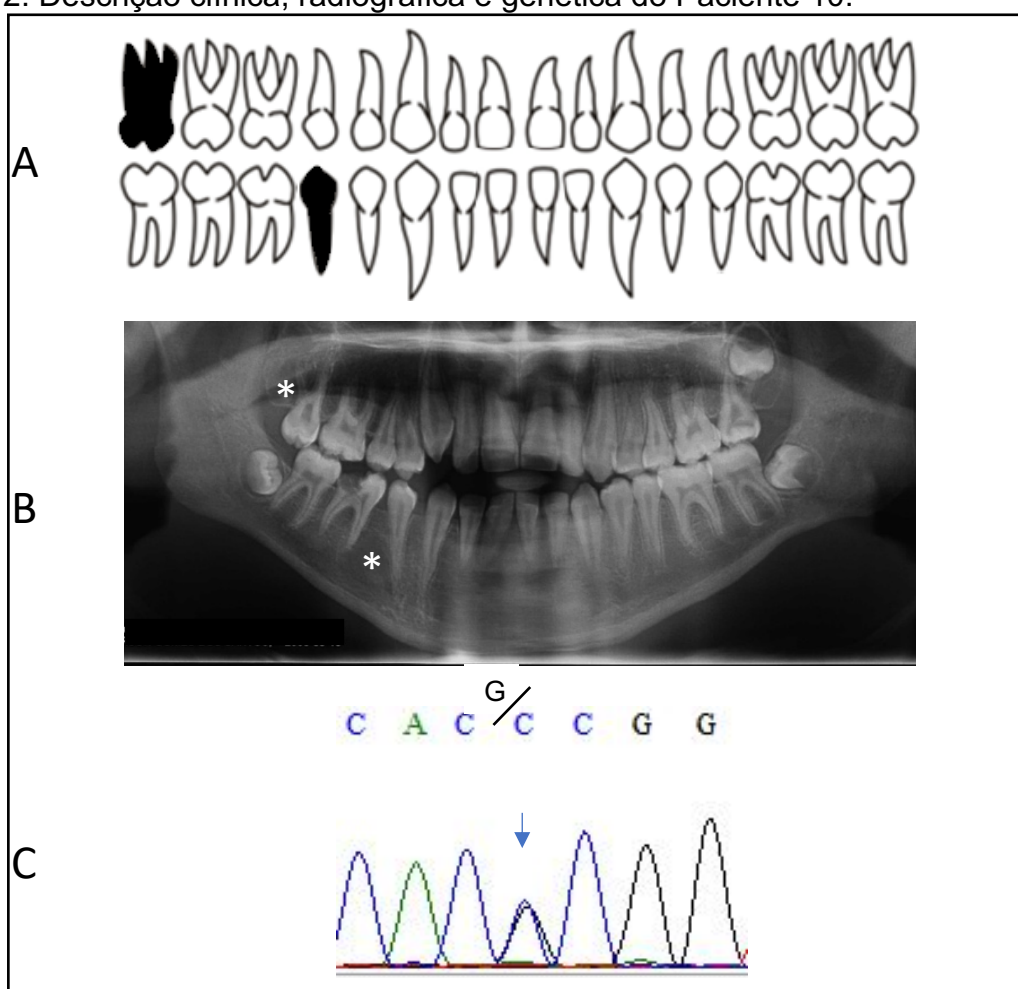
O sequenciamento para avaliação do gene *PAX9* foi realizado em 10 pacientes. Os critérios de inclusão foram pacientes com idade superior a 10 anos e ausência de uma ou mais dentes, exceto os terceiros molares ou ausência dos quatro terceiros molares. Os resultados estão discriminados na Tabela 6.

A variante encontrada em todos os pacientes analisados pelo sequenciamento Sanger do gene *PAX9* foi a transversão c.G718C (p.Ala240Pro; rs4904210). Ela resulta em uma substituição de alanina por prolina na posição 240 da proteína. A análise da substituição p.Ala240Pro pelo programa *Mutation Taster*, foi predita como um polimorfismo, SIFT como uma variação deletéria e PolyPhen2 mostrou ser uma variação benigna.

Nos pacientes que foram encontradas variantes patogênicas no gene *PAX9* foi coletado de seus prontuários os dados presentes sobre as características fenotípicas, radiográficas e apresentado juntamente com o diagnóstico genético. As figuras de 2 a 6 demonstram a avaliação de cada um desses pacientes separadamente.

A figura 2 refere-se ao paciente 10 do sexo masculino, 19 anos de idade (13/04/2000) com OI tipo III, ausência de DGI e agenesia dos dentes terceiro molar superior direito e segundo pré-molar inferior direito. Está em acompanhamento odontológico e realiza infusão de Pamidronato desde 28/10/2013. O paciente apresenta aspecto clínico leve, com esclera azulada e deficiência de crescimento.

Figura 2: Descrição clínica, radiográfica e genética do Paciente 10.

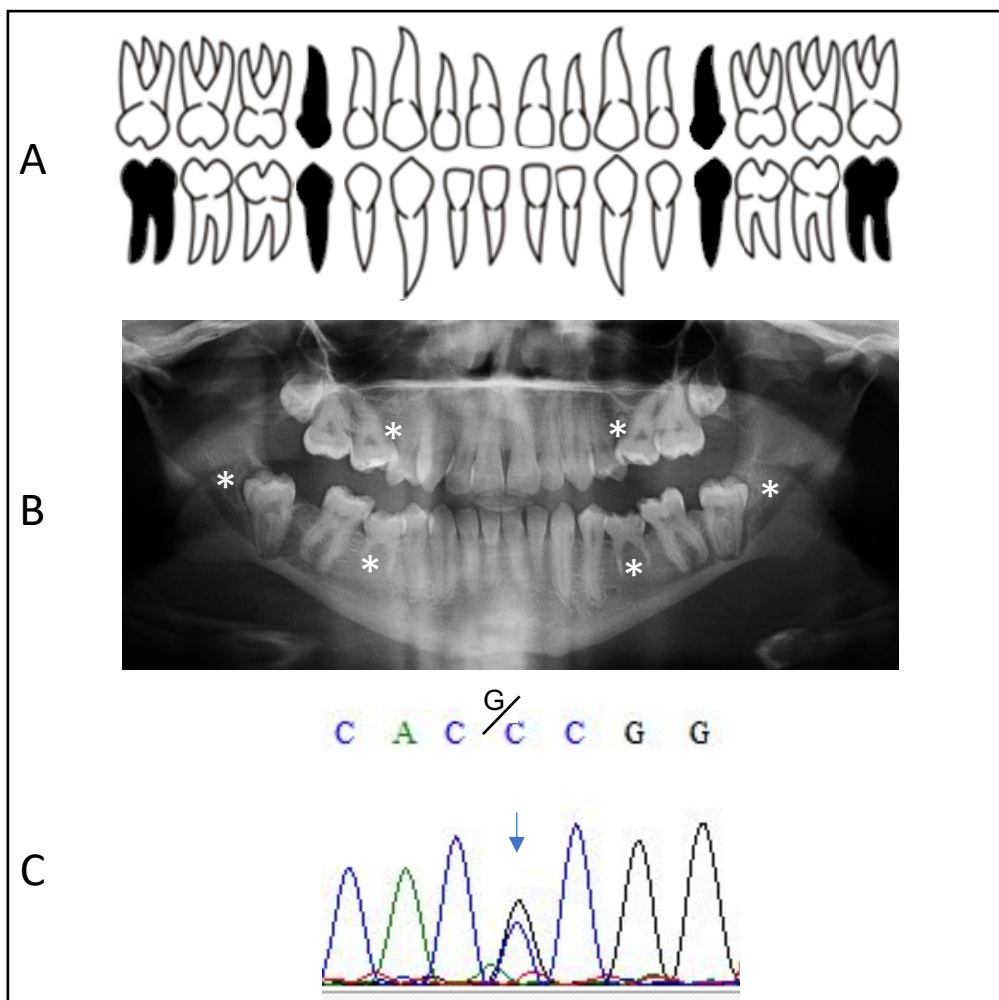


Legenda Figura 2: A) odontograma evidenciando os dentes ausentes em preto. B) Radiografia panorâmica. C) Cromatograma mostrando a variação ocorrida no exon 3 do gene *PAX9* (transversão c.G718C em heterozigose). O \* representa a posição do dente ausente.

A figura 3 demonstra o paciente 12 do sexo feminino, 16 anos de idade (02/02/2003), OI tipo III, com DGI e ausência de todos os dentes segundos pré-

molares superiores, inferiores e terceiros molares inferiores. Está em acompanhamento desde 19/01/2004. Apresenta esclera azulada, deficiência de crescimento e não apresenta lassidão articular.

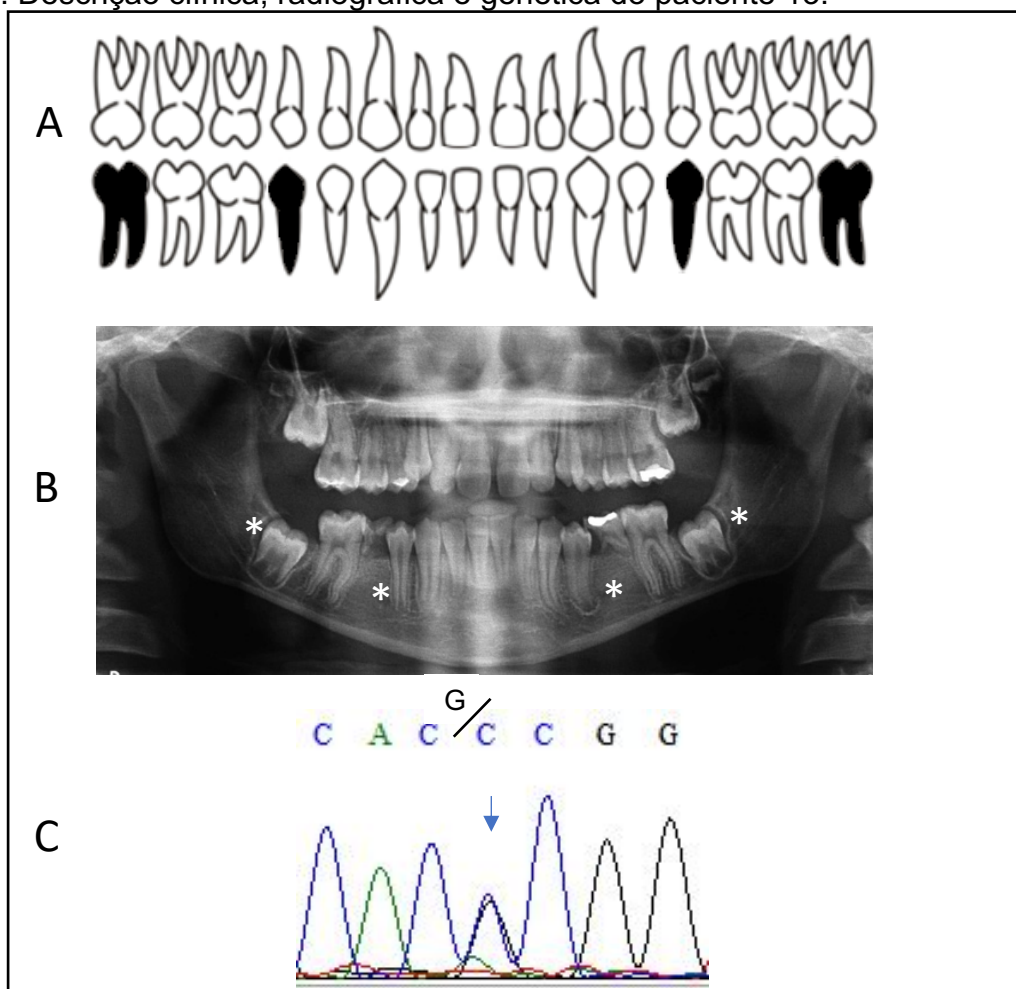
Figura 3: Descrição clínica, radiográfica e genética do paciente 12.



Legenda Figura 3: A) odontograma evidenciando os dentes ausentes em preto. B) Radiografia panorâmica. C) Cromatograma mostrando a variação ocorrida no exon 3 do gene *PAX9* (transversão c.G718C em heterozigose). O \* representa a posição do dente ausente.

A paciente 13 do sexo feminino possui 18 anos de idade (01/12/2001), OI tipo IV, apresenta DGI e agenesia dos dentes segundos pré-molares inferiores e dos terceiros molares inferiores. Possui acompanhamento odontológico e realiza infusão de pamidronato desde 13/06/2005. Não apresenta esclera azulada, entretanto o crescimento mostrou deficiente com lassidão articular. Seus dados estão apresentados na figura 4.

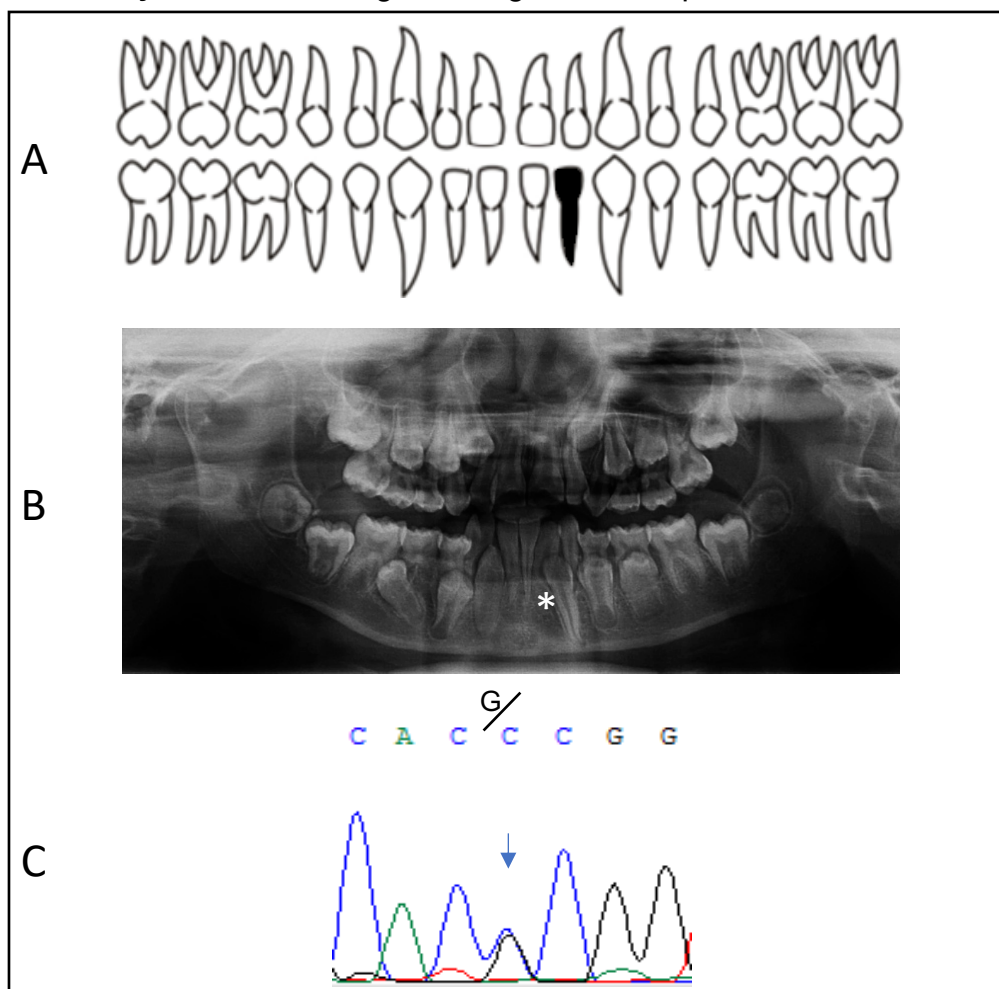
Figura 4: Descrição clínica, radiográfica e genética do paciente 13.



Legenda Figura 4: A) odontograma evidenciando os dentes ausentes em preto. B) Radiografia panorâmica. C) Cromatograma mostrando a variação ocorrida no exon 3 do gene *PAX9* (transversão c.G718C em heterozigose). O \* representa a posição do dente ausente.

A figura 5 descreve a paciente 16 do sexo feminino, 11 anos de idade (01/08/2008), com OI tipo III, sem DGI e agenesia do incisivo lateral esquerdo. Está em acompanhamento desde 01/10/2008 e realiza infusão de pamidronato. Apresenta esclera azulada e deficiência de crescimento.

Figura 5: Descrição clínica, radiográfica e genética do paciente 16.

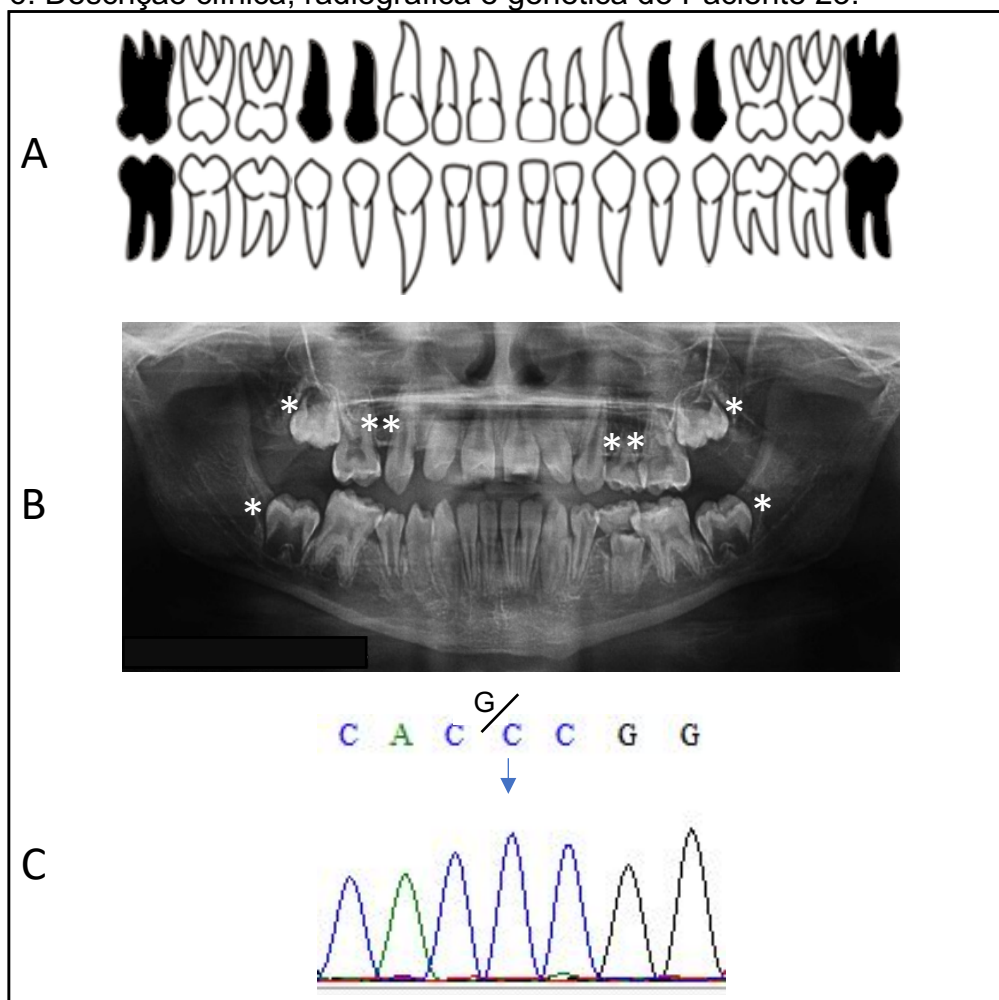


Legenda Figura 5: A) odontograma evidenciando os dentes ausentes em preto. B) Radiografia panorâmica. C) Cromatograma mostrando a variação ocorrida no exon 3 do gene *PAX9* (transversão c.G718C em heterozigose). O \* representa a posição do dente ausente.

A Figura 6 demonstra o paciente 23 do sexo masculino, 12 anos de idade (07/01/2007) com OI tipo III, sem DGI e agenesia dos dentes primeiros e segundos pré-molares superiores e de todos os terceiros molares. Está em acompanhamento odontológico e realiza infusão de Pamidronato desde 31/5/2007. O paciente apresenta esclera azulada e deficiência de crescimento.



Figura 6: Descrição clínica, radiográfica e genética do Paciente 23.



Legenda: A) odontograma evidenciando os dentes ausentes em preto. B) Radiografia panorâmica. C) Cromatograma mostrando a variação ocorrida no exon 3 do gene *PAX9* (transversão c.G718C em homozigose). O \* representa a posição do dente ausente.

## 6 DISCUSSÃO

A avaliação dos prontuários dos 133 pacientes com OI revelou que a amostra desse estudo é principalmente de pacientes com OI do tipo grave ou moderado (tipo III - 35,33% ou IV - 18,8%), esse valor era esperado por serem os tipos que mais necessitam de tratamento com o bisfosfonato.

A distribuição geográfica evidenciou que a maioria dos pacientes se concentram na região centro-oeste e norte do país, isso ocorre pelo fato do HUB ser o centro de referência dessas regiões. No Brasil há outros centros de referência para atendimento da OI que contemplam as demais regiões do país (BRASIL, 2001).

A prevalência relatada de DGI nos pacientes com OI é bastante variável (28% a 73%) (MALMGREN; NORGREN, 2002; O'CONNELL; MARINI, 1999). Foi observado que 36,84% (n=49) dos pacientes apresentaram DGI em pelo menos uma das dentições, decídua ou permanente, entretanto, alguns autores sugerem que a falta de alterações clínicas e radiográficas não determina a sua ausência, pois exames histológicos podem diagnosticar a presença da DGI (LINDAHL *et al.*, 2015; LYGIDAKIS; SMITH; OULIS, 1996; MALMGREN; LINDSKOG, 2003; WALTIMO; OJANOTKO-HARRI; LUKINMAA, 1996). Para esse estudo, a avaliação foi exclusivamente clínica e radiográfica e revelou que os pacientes com DGI possuíam alterações do tipo moderada, com coloração coronária opalescente, coroas bulbosas e curtas, atrição com desprendimento de esmalte, raízes mais curtas e finas com obliteração parcial ou total da polpa. Não foi observada presença de lesões periapicais descritas anteriormente nos casos de DGI isolada do tipo grave. A frequência de DGI nesse estudo foi maior no tipo III de OI (57,1%) concordando com os relatos descritos na literatura que demonstram maior presença de DGI nos tipos III e IV de OI (CHETTY *et al.*, 2019; MALMGREN; LINDSKOG, 2003; MALMGREN; NORGREN, 2002; O'CONNELL; MARINI, 1999).

O estudo da prevalência da agenesia dentária na população geral é bem amplo, variando de acordo com o tipo de dentição observada, com o grupo de dentes considerados e também sofre alterações dependendo dos diferentes perfis geodemográficos (VASTARDIS, 2000). Estima-se uma prevalência da agenesia dentária de 6 a 7% na população geral (RAKHSHAN; RAKHSHAN, 2015). No Brasil foi observado prevalência de 3% excluindo os terceiros molares em Sergipe (SOUZA-SILVA *et al.*, 2018), também foi relatado uma prevalência 24,37% da agenesia dentária em São José dos Campos, sendo de 20,39% para agenesia apenas de terceiros molares, 2,89% para agenesia de outros dentes e terceiros molares e de 1,49% para agenesia de outros dentes sem agenesia de terceiros molares (CASTILHO; NICODEMO; BAZZARELLA; MORAES, 1990). Em um estudo com pacientes ortodônticos no DF a frequência observada de agenesia dentária foi de 6,3% excluindo os terceiros molares (GOMES *et al.*, 2010).

Nos pacientes com OI atendidos no HUB foi identificado que 23,07% apresentavam agenesia dentária, incluindo os terceiros molares. O primeiro estudo a relatar a presença de agenesia dentária nos pacientes com OI incluiu 49 pacientes e encontrou uma prevalência de 18,4%, incluindo os terceiros molares (LUKINMAA *et*

al., 1987). O'Connell e Marini (1999) relataram prevalência de 10%, incluindo os terceiros molares, em seu estudo com 40 pacientes. Um estudo com 128 pacientes não relacionados entre si encontrou uma prevalência de 17% da agenesia dentária nos pacientes com OI, incluindo os terceiros molares (MALMGREN *et al.*, 2017).

Geralmente, os terceiros molares são excluídos dos estudos de agenesia dentária devido à frequência da agenesia de terceiros molares isolada na população geral. No entanto, a inclusão dos terceiros molares no estudo é importante para correlacionar fenótipo dental com o genótipo (FOURNIER *et al.*, 2018).

Nesse estudo, quando avaliamos a agenesia dentária incluindo apenas os terceiros molares foi observado uma prevalência de 12,5%, e quando avaliados os pacientes com agenesia apenas de outros dentes sem incluir os terceiros molares foi observado que 6,73% dos sujeitos apresentaram esse diagnóstico.

Na população geral foi observado que pacientes com agenesia dentária na dentição permanente podem apresentar também, pelo menos mais uma anomalia do desenvolvimento dentário (AL-ABDALLAH *et al.*, 2015; GARIB *et al.*, 2010; GOMES *et al.*, 2010; LAI; SEOW, 1989; PECK; PECK; KATAJA, 2002; SHAPIRA; KUFTINEC, 2001). Estudos envolvendo pacientes com OI descrevem anomalias dentária de forma, tamanho, posição dos dentes e alteração na cronologia de erupção (ANDERSSON *et al.*, 2017; JABBOUR *et al.*, 2018; MALMGREN *et al.*, 2017; MARÇAL *et al.*, 2019; O'CONNELL; MARINI, 1999; RETROUVEY *et al.*, 2019a) entretanto esses dados não foram avaliados nesse trabalho sendo necessário estudos futuros para estabelecer essa relação das alterações do desenvolvimento dentário nos pacientes com OI deste estudo.

Até o momento há relatos de 20 genes descrito como causadores de OI (<https://www.omim.org>). Mutações nos genes *COL1A1* e *COL1A2* estão associadas a 85-90% dos casos de OI. Os demais casos estão associados a grupo de genes que não estão implicados diretamente na biossíntese de colágeno tipo 1, no entanto, são genes importantes na fibrilogênese do colágeno, nas vias de mineralização ou desenvolvimento de osteoblastos (ANDERSSON *et al.*, 2017; EIMAR *et al.*, 2016; MARÇAL *et al.*, 2019; O'CONNELL *et al.*, 1999; RETROUVEY *et al.*, 2019b). Nesse estudo foram identificadas variantes patogênicas em heterozigose em 7 pacientes nos genes *COL1A1* e *COL1A2*. Em um estudo onde a agenesia dentária foi relacionada a mutações nos genes do colágeno tipo 1, o número de pacientes com agenesia e

variantes no *COL1A1* foi maior que no *COL1A2*, entretanto, em nosso estudo os pacientes com variantes no *COL1A2* foi maior (n=4) (MALMGREN *et al.*, 2017).

O colágeno tipo 1 consiste em duas cadeias  $\alpha 1$  e uma cadeia  $\alpha 2$ . Após a tradução, as cadeias pro- $\alpha 1$  e as cadeias pro- $\alpha 2$  são processadas no retículo endoplasmático rugoso. Estas cadeias têm de se alinhar para iniciar o processo de dobramento do pro-colágeno tipo I numa tripla hélice, seguindo do alinhamento das três cadeias para iniciar a conformação em uma estrutura helicoidal tripla. Cada cadeia  $\alpha$  contém pro-peptídeos N- (amino) e C- (carboxi) terminais e um domínio central constituído por 338 repetições. A glicina, como o menor aminoácido, é o único resíduo que pode ocupar a posição axial da tripla hélice, de modo que qualquer alteração num resíduo de glicina resultará na ruptura da estrutura helicoidal do colágeno. Mutações nos genes *COL1A1* e *COL1A2* alteram a estrutura ou a quantidade de colágeno tipo 1, resultando em um fenótipo esquelético que varia de leve a letal. (FORLINO; MARINI, 2016; MARINI; REICH; SMITH, 2014; VALADARES *et al.*, 2014). As mutações em *COL1A1* e *COL1A2* encontradas nesse estudo são quase todas, com exceção de uma (c.757C>T), substituição do aminoácido glicina por outro aminoácido (Tabela 5). Segundo Marini e colaboradores (2007), a substituição do aminoácido glicina por outro aminoácido geralmente causa OI grave ou moderada resultando em efeito qualitativo na proteína. Os resultados desse estudo estão de acordo com o relatado na literatura, os pacientes que apresentaram substituição da glicina por outro aminoácido apresentam os tipos moderado e graves de OI.

Uma vez que a cobertura do painel de genes para sequenciamento de nova geração teve cobertura de 98%, os pacientes que ficaram sem diagnóstico molecular podem ter alguma alteração nesta região que não foi contemplada pela técnica utilizada. Uma estratégia para resolver esta questão seria sequenciar por *Sanger* apenas as regiões não cobertas (2%), e verificar a presença ou não de variantes patogênicas de ponto nesses segmentos. Outra hipótese seria que esses pacientes apresentam mutações em outros genes não investigados nesse estudo e associados na literatura posteriormente ao início dos experimentos. O exoma completo será feito afim de buscar diagnosticar a variante causadora da OI em alguns pacientes com o diagnóstico molecular inconclusivo.

Apesar dos avanços nos estudos moleculares, o diagnóstico de OI ainda é eminentemente clínico nos pacientes do HUB, sendo o sequenciamento realizado apenas no âmbito da pesquisa. Entretanto, os dados moleculares são de suma

importância para permitir a classificação do tipo de OI dos pacientes com maior precisão. O conhecimento do gene envolvido na doença pode influenciar sobremaneira, na indicação do melhor acompanhamento odontológico, assim como na previsibilidade de sua evolução. Além disso, o conhecimento das bases moleculares permite saber o padrão de herança da OI em cada população e permite também, um melhor aconselhamento genético à família.

Os estudos da odontogênese e as descobertas na etiologia genética da agenesia dentária têm ampliado os conhecimentos sobre os genes envolvidos nesse processo. Vários genes (*MSX1*, *PAX9*, *AXIN2*, *EDA*, *EDAR*, *EDARADD*, *WNT10A*, *WNT10B*, *LRP6*, *LTBP3*, *SMOC2*, *GREMLIN2*, *KDF1E* e *TSPEAR*) foram associados à agenesia dentária não-sindrômica por estarem envolvidos nos processos que regulam o desenvolvimento dentário (ARTE *et al.*, 2013; BLOCH-ZUPAN *et al.*, 2011; DU *et al.*, 2018; KANTAPUTRA *et al.*, 2015; LAMMI *et al.*, 2004; VAN DEN BOOGAARD *et al.*, 2012; YU *et al.*, 2019; ZENG *et al.*, 2019)

Até o presente, um único estudo avaliou geneticamente a agenesia nos pacientes com OI e encontrou uma variação anteriormente não descrita no gene *PAX9* (c.43T> A; p.Phe15Ile) causando hipodontia familiar (WANG *et al.*, 2012). O gene *PAX9* é formado por quatro exons e está localizado no cromossomo 14 na posição 14q13.3 (OMIM \*167416). *PAX9* é um fator de transcrição responsável pelo desenvolvimento inicial dos dentes e mutações neste gene tem sido associadas à vários padrões de agenesia dentária (FAUZI *et al.*, 2018; KULA *et al.*, 2008; NIEMINEN, 2009; NIEMINEN *et al.*, 2001).

Os pacientes que apresentaram variantes patogênicas no gene *PAX9* desse estudo (N=5) foi encontrada a transversão c.718G>C, sendo que em um paciente ocorreu em homozigose e nos demais em heterozigose. Essa variante resulta na substituição da alanina pela prolina na posição 240 da proteína e foi relatada como polimorfismo (rs4904210) em vários estudos. (BARKOVA *et al.*, 2015; GOMES, 2015; KULA *et al.*, 2008; MU *et al.*, 2013; NIEMINEN *et al.*, 2001; PAIXÃO-CÔRTEZ *et al.*, 2011; PAN *et al.*, 2008; PAWLOWSKA *et al.*, 2010; PEREIRA *et al.*, 2006; PINHO *et al.*, 2010). De acordo com o bancos de dados, esse polimorfismo apresenta uma frequência de 33% na população geral ([www.varsome.com](http://www.varsome.com)). Pouco se sabe sobre o significado dessa variante para a estrutura e função da proteína *PAX9*, foi sugerido que a presença da prolina na proteína alterada pode afetar sua estrutura secundária, por ser um aminoácido que possui uma estrutura única, além também da alanina estar

em uma região altamente conservada da proteína. (KULA *et al.*, 2008; PAWLOWSKA *et al.*, 2010).

A proteína PAX9 foi encontrada desempenhando um papel importante no desenvolvimento craniofacial e na padronização da dentição em seres humanos (WANG *et al.*, 2011). A agenesia relacionada ao gene *PAX9* envolve principalmente dentes posteriores sendo os terceiros molares superiores responsáveis pela maioria das variações, seguido dos terceiros molares inferiores, segundos molares superiores, segundo molares inferiores respectivamente. Para os primeiros molares e segundos pré-molares observou-se uma prevalência maior de agenesia na arcada superior. Os dentes anteriores foram menos afetados pela agenesia, com exceção dos incisivos centrais inferiores (FOURNIER *et al.*, 2018). No nosso estudo, observamos uma variabilidade no tipo de dentes ausentes. Os terceiros molares inferiores (n=19) foram os mais acometidos, seguido dos terceiros molares superiores (n=11). Os segundos pré-molares inferiores (n=9) e os segundos pré-molares superiores (n=6) possuíram maior número de pacientes com agenesia do que os primeiros pré-molares superiores (n=3) e inferiores (n=3). O incisivo central inferior (n=1) e o incisivo lateral inferior (n=1) foram os dentes menos acometidos. O padrão da agenesia dentária nos pacientes com OI não está estabelecido, entretanto, os dentes mais afetados relatados até o momento tem sido os pré-molares (MALMGREN *et al.*, 2017; O'CONNELL *et al.*, 1999; RETROUVEY *et al.*, 2019b).

Não foram encontradas variantes patogênicas no gene *PAX9* em 5 pacientes analisados. Diante do exposto anteriormente mostrando que há uma grande variedade de genes envolvidos na odontogênese, é plausível sugerir que variantes em outros genes podem ser a causa da agenesia dentária nesses indivíduos. Uma análise utilizando como metodologia o exoma desses pacientes pode contribuir para esclarecer os mecanismos moleculares relacionados à agenesia dentária e OI, bem como a correlação entre ambas.

## 7 CONCLUSÃO

Através da caracterização clínica e radiográfica dos pacientes com OI foi possível observar que a maioria dos pacientes desse estudo são da região centro-oeste e apresentam OI tipo III. A DGI do tipo moderada foi identificada em 49 pacientes em pelo menos uma das duas dentições.

Foi observada uma frequência de 23,07% de agenesia dentária nos pacientes com OI acompanhados no Projeto de Extensão de Ação Continuada "Atendimento a Pacientes Portadores de Anomalias de Desenvolvimento Dentário", na Unidade de Saúde Bucal do HUB, sendo que 12,50% apresentaram agenesia apenas de terceiros molares e 7,69% apresentaram agenesia de outros dentes sem agenesia de terceiros molares. A prevalência da agenesia de terceiros molares ocorrendo simultaneamente a outros dentes foi de 2,88%.

O padrão de agenesia dentária nos pacientes com OI não está completamente estabelecido, no nosso estudo foi observada uma variabilidade no tipo de dentes ausentes. Os terceiros molares inferiores foram os mais acometidos, seguido dos terceiros molares superiores. Os segundos pré-molares inferiores e os segundos pré-molares superiores foram mais acometidos que os primeiros pré-molares superiores e inferiores. Os incisivos inferiores foram os dentes com menor prevalência. Não foi observado agenesia nesse estudo dos demais dentes.

A investigação molecular dos genes causadores da OI identificou 7 variantes patogênicas nos genes do colágeno tipo I (*COL1A1* e *COL1A2*). Não foram encontradas nesse estudo variantes recessivas relacionadas na literatura como causadoras de OI.

A análise molecular do gene *PAX9* identificou em 5 pacientes com OI um polimorfismo já descrito na literatura em pacientes com agenesia em diversas populações.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-ABDALLAH, M. et al. Prevalence and distribution of dental anomalies: A comparison between maxillary and mandibular tooth agenesis. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, 2015.
- AL-ANI, A. H. et al. **Hypodontia: An Update on Its Etiology, Classification, and Clinical Management** *BioMed Research International*, 2017.
- ALANAY, Y. et al. Mutations in the Gene Encoding the RER Protein FKBP65 Cause Autosomal-Recessive Osteogenesis Imperfecta. **American Journal of Human Genetics**, v. 86, n. 4, p. 551–559, 2010.
- ANDERSSON, K. et al. Mutations in COL1A1 and COL1A2 and dental aberrations in children and adolescents with osteogenesis imperfecta - A retrospective cohort study. **PLoS ONE**, v. 12, n. 5, p. 1–16, 2017.
- ARTE, S. et al. Gene defect in hypodontia: Exclusion of EGF, EGFR, and FGF-3 as candidate genes. **Journal of Dental Research**, 1996.
- ARTE, S. et al. Characteristics of incisor-premolar hypodontia in families. **Journal of Dental Research**, 2001.
- ARTE, S. et al. Candidate Gene Analysis of Tooth Agenesis Identifies Novel Mutations in Six Genes and Suggests Significant Role for WNT and EDA Signaling and Allele Combinations. **PLoS ONE**, v. 8, n. 8, p. 1–12, 2013.
- B. POLDER, M. VAN'T HOF, F. VAN DER LINDEN, A. K.-J. A meta analysis of the prevalence of dental.pdf. v. 32, p. 217–26, 2004.
- BÄCKMAN, B.; WAHLIN, Y. B. Variations in number and morphology of permanent teeth in 7-year-old Swedish children. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 11, n. 1, p. 11–17, 2001.
- BAINS, J. S. et al. A Multicenter Observational Cohort Study to Evaluate the Effects of Bisphosphonate Exposure on Bone Mineral Density and Other Health Outcomes in Osteogenesis Imperfecta. **JBMR Plus**, v. 3, n. 5, p. e10118, 2019.
- BARKOVA, E. et al. Fetal skeletal dysplasias in a tertiary care center: Radiology, pathology, and molecular analysis of 112 cases. **Clinical Genetics**, v. 87, n. 4, p. 330–337, 2015.
- BEN AMOR, I. M.; GLORIEUX, F. H.; RAUCH, F. Genotype-phenotype correlations in autosomal dominant osteogenesis imperfecta. **Journal of osteoporosis**, v. 2011, p.



540178, 2011.

BIGGIN, A. et al. The long-term effects of switching from active intravenous bisphosphonate treatment to low-dose maintenance therapy in children with osteogenesis imperfecta. **Hormone Research in Paediatrics**, v. 83, n. 3, p. 183–189, 2015.

BIGGIN, A.; MUNNS, C. F. **Osteogenesis imperfecta: Diagnosis and treatment** **Current Osteoporosis Reports**, 2014.

BLOCH-ZUPAN, A. et al. Homozygosity mapping and candidate prioritization identify mutations, missed by whole-exome sequencing, in SMOC2, causing major dental developmental defects. **American Journal of Human Genetics**, v. 89, n. 6, p. 773–781, 2011.

BONAFE, L. et al. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2015 revision. **American Journal of Medical Genetics, Part A**, v. 167, n. 12, p. 2869–2892, 2015.

BRADASCHIA-CORREA, V. et al. Effect of alendronate on endochondral ossification in mandibular condyles of growing rats. **European Journal of Histochemistry**, v. 56, n. 2, p. 149–153, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde, PORTARIA Nº 2309, DE 19 DE DEZEMBRO DE 2001. p. 2–3, 2001.

BROOK, A. H. A unifying aetiological explanation for anomalies of human tooth number and size. **Archives of Oral Biology**, 1984.

BYERS, P. H.; STEINER, R. D. Osteogenesis imperfecta. p. 269–282, 1992.

CABRAL, W. A et al. Prolyl 3-hydroxylase 1 deficiency causes a recessive metabolic bone disorder resembling lethal/severe osteogenesis imperfecta. **Nature genetics**, v. 39, n. 3, p. 359–365, 2007.

CAPARROS-MARTIN, J. A. et al. Molecular spectrum and differential diagnosis in patients referred with sporadic or autosomal recessive osteogenesis imperfecta. **Molecular Genetics & Genomic Medicine**, v. 5, n. 1, p. 28–39, 2017.

CASTILHO; NICODEMO; BAZZARELLA; MORAES; PREVALÊNCIA DE ANODONTIA ENTRE ESTUDANTES DO 22 GRAU DA CIDADE DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS - CORRELAÇÃO DESSA ANOMALIA ENTRE TERCEIROS MOLARES E OUTROS ÓRGÃO DENfÁRIOS. **Rev. Odont. UNESP, São Paulo**, v. 19, p. 269–276, 1990.

CELIKOGU, M. et al. Frequency and characteristics of tooth agenesis among an

- orthodontic patient population. **Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal**, 2010.
- CHANG, P. C.; LIN, S. Y.; HSU, K. H. The craniofacial characteristics of osteogenesis imperfecta patients. **European Journal of Orthodontics**, v. 29, n. 3, p. 232–237, 2007.
- CHETTY, M. et al. Hereditary dentine dysplasias: terminology in the context of osteogenesis imperfecta. **Bdj**, v. 221, n. 11, p. 727–730, 2016.
- CHETTY, M. et al. Dentinogenesis imperfecta in Osteogenesis imperfecta type XI in South Africa: a genotype–phenotype correlation. **BDJ Open**, v. 5, n. 1, 2019.
- CHEUNG, M. S. et al. Cranial base abnormalities in osteogenesis imperfecta: Phenotypic and genotypic determinants. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 26, n. 2, p. 405–413, 2011.
- CHEUNG, M. S.; GLORIEUX, F. H. Osteogenesis Imperfecta: Update on presentation and management. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, v. 9, n. 2, p. 153–160, 2008.
- CHEUNG, M. S.; GLORIEUX, F. H.; RAUCH, F. Intravenous pamidronate in osteogenesis imperfecta type VII. **Calcified Tissue International**, v. 84, n. 3, p. 203–209, 2009.
- CHHABRA, N.; GOSWAMI, M.; CHHABRA, A. **Genetic basis of dental agenesis - Molecular genetics patterning clinical dentistry** *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 2014.
- CHO, T. J. et al. A single recurrent mutation in the 5'-UTR of IFITM5 causes osteogenesis imperfecta type v. **American Journal of Human Genetics**, v. 91, n. 2, p. 343–348, 2012.
- CHRISTIANSEN, H. E. et al. Homozygosity for a Missense Mutation in SERPINH1, which Encodes the Collagen Chaperone Protein HSP47, Results in Severe Recessive Osteogenesis Imperfecta. **American Journal of Human Genetics**, v. 86, n. 3, p. 389–398, 2010.
- COBOURNE, M. T. Familial human hypodontia - Is it all in the genes? **British Dental Journal**, 2007.
- DE LA DURE-MOLLA, M.; PHILIPPE FOURNIER, B.; BERDAL, A. Isolated dentinogenesis imperfecta and dentin dysplasia: revision of the classification. **European journal of human genetics : EJHG**, v. 23, n. February, p. 15–21, 2014.
- DHANRAJANI, P. J. Hypodontia: etiology, clinical features, and management. **Quintessence international (Berlin, Germany : 1985)**, 2002.

- DOYARD, M. et al. FAM46A mutations are responsible for autosomal recessive osteogenesis imperfecta. **Journal of Medical Genetics**, v. 55, n. 4, p. 278–284, 2018.
- DU, R. et al. Identification of likely pathogenic and known variants in TSPEAR, LAMB3, BCOR, and WNT10A in four Turkish families with tooth agenesis. **Human Genetics**, v. 137, n. 9, p. 689–703, 2018.
- DURE-MOLLA, M. et al. Elements of morphology: Standard terminology for the teeth and classifying genetic dental disorders. **American Journal of Medical Genetics Part A**, v. 179, n. 10, p. 1913–1981, 2019.
- DWAN, K. et al. Bisphosphonate therapy for osteogenesis imperfecta. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 2016, n. 7, p. 1–27, 2014.
- EIMAR, H. et al. Craniofacial and Dental Defects in the Col1a1 Jrt/+ Mouse Model of Osteogenesis Imperfecta. **Journal of Dental Research**, v. 95, n. 7, p. 761–768, 2016.
- FAUZI, N. H. et al. A review on non-syndromic tooth agenesis associated with PAX9 mutations. **Japanese Dental Science Review**, v. 54, n. 1, p. 30–36, 2018.
- FORLINO, A.; MARINI, J. C. Osteogenesis imperfecta. **The Lancet**, v. 387, n. 10028, p. 1657–1671, 2016.
- FOURNIER, B. P. et al. Patterns of Dental Agenesis Highlight the Nature of the Causative Mutated Genes. **Journal of Dental Research**, v. 97, n. 12, p. 1306–1316, 2018.
- GARIB, D. G. et al. Agenesis of maxillary lateral incisors and associated dental anomalies. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, 2010.
- GERMAIN-LEE, E. L. A new culprit in osteogenesis imperfecta. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 26, n. 12, p. 2795–2797, 2011.
- GLORIEUX, F. H. Cyc L I C a D M I N I S t R A t I O N O F P a M I D R O N A t E T H E R a P Y I N C H I L D R E N W I T H S E V E R E O S t E o G E N E S I S I M P E R F E c T a C y c l i c A d m i n i s t r a t i o n o f P a m i d r o n a t e i n C h i l d r e n W i t h S e v e r e. **Genetics**, p. 947–952, 1998.
- GLORIEUX, F. H. et al. Cyclic administration of pamidronate in children with severe osteogenesis imperfecta. **New England Journal of Medicine**, v. 339, n. 14, p. 947–952, 1998.
- GLORIEUX, F. H. et al. Type V osteogenesis imperfecta: A new form of brittle bone disease. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 15, n. 9, p. 1650–1658, 2000.
- GLORIEUX, F. H. et al. Osteogenesis imperfecta type VI: A form of brittle bone disease with a mineralization defect. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 17, n. 1, p.

30–38, 2002.

GLORIEUX, F. H. Experience with bisphosphonates in osteogenesis imperfecta. **Pediatrics**, v. 119 Suppl, n. March 2007, p. S163–S165, 2007.

GOIA, F. et al. Oral health management of patients under i.v. bisphosphonate treatment. **Annali di Stomatologia**, 2014.

GOLDENBERG, M. et al. Clinical, radiographic, and genetic evaluation of a novel form of autosomal-dominant oligodontia. **Journal of Dental Research**, v. 79, n. 7, p. 1469–1475, 2000.

GOMES, R. R. et al. Prevalence of hypodontia in orthodontic patients in Brasilia, Brazil. **European Journal of Orthodontics**, v. 32, n. 3, p. 302–306, 2010.

HADDAJI MASTOURI, M. et al. Characterization of a novel mutation in PAX9 gene in a family with non-syndromic dental agenesis. **Archives of Oral Biology**, v. 71, p. 110–116, 2016.

HENNEDIGE, A. A. et al. Systematic Review on the Incidence of Bisphosphonate Related Osteonecrosis of the Jaw in Children Diagnosed with Osteogenesis Imperfecta. **J Oral Maxillofac Res J Oral Maxillofac Res J Oral Maxillofac Res**, v. 4, n. 42, p. 1–1, 2013.

HOYER-KUHN, H.; NETZER, C.; SEMLER, O. Osteogenesis imperfecta: pathophysiology and treatment. **Wiener Medizinische Wochenschrift**, v. 165, n. 13–14, p. 278–284, 2015.

JABBOUR, Z. et al. Genotype and malocclusion in patients with osteogenesis imperfecta. **Orthodontics and Craniofacial Research**, v. 21, n. 2, p. 71–77, 2018.

JAIN, M. et al. Growth Characteristics in individuals with Osteogenesis Imperfecta in North America - Results from a Multicenter Study Mahim. v. 21, n. 2, p. 275–283, 2019.

KANTAPUTRA, P. N. et al. GREMLIN 2 mutations and dental anomalies. **Journal of Dental Research**, v. 94, n. 12, p. 1646–1652, 2015.

KAPADIA, H.; MUES, G.; D'SOUZA, R. **Genes affecting tooth morphogenesis** **Orthodontics and Craniofacial Research**, 2007.

KEUPP, K. et al. Mutations in WNT1 cause different forms of bone fragility. **American Journal of Human Genetics**, v. 92, n. 4, p. 565–574, 2013.

KHALAF, K. et al. **Prevalence of hypodontia and associated factors: A systematic review and meta-analysis** **Journal of Orthodontics**, 2014.

KULA, K. et al. Tooth agenesis in a family and homozygous PAX9 mutation in exon 3: a case report. **World journal of orthodontics**, 2008.

- LAI, P. Y.; SEOW, W. K. A controlled study of the association of various dental anomalies with hypodontia of permanent teeth. **Pediatric dentistry**, 1989.
- LAMMI, L. et al. A missense mutation in PAX9 in a family with distinct phenotype of oligodontia. **European Journal of Human Genetics**, 2003.
- LAMMI, L. et al. Mutations in AXIN2 Cause Familial Tooth Agenesis and Predispose to Colorectal Cancer. **American Journal of Human Genetics**, v. 74, n. 5, p. 1043–1050, 2004.
- LAPUNZINA, P. et al. Identification of a frameshift mutation in osterix in a patient with recessive osteogenesis imperfecta. **American Journal of Human Genetics**, v. 87, n. 1, p. 110–114, 2010.
- LARMOUR, C. J. et al. Hypodontia--a retrospective review of prevalence and etiology. Part I. **Quintessence international (Berlin, Germany : 1985)**, 2005.
- LI, L. et al. Genotypic and phenotypic characterization of Chinese patients with osteogenesis imperfecta. **Human Mutation**, v. 40, n. 5, p. 588–600, 2019.
- LINDAHL, K. et al. Genetic epidemiology, prevalence, and genotype-phenotype correlations in the Swedish population with osteogenesis imperfecta. **European journal of human genetics : EJHG**, v. 23, n. 8, p. 1042–50, 2015.
- LINDAHL, K. et al. Decreased fracture rate, pharmacogenetics and BMD response in 79 Swedish children with osteogenesis imperfecta types I, III and IV treated with Pamidronate. **Bone**, v. 87, p. 11–18, 2016.
- LINDERT, U. et al. MBTPS2 mutations cause defective regulated intramembrane proteolysis in X-linked osteogenesis imperfecta. **Nature communications**, v. 7, n. May, p. 11920, 2016.
- LU, Y. et al. A rare case of osteogenesis imperfecta combined with complete tooth loss. **Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism**, v. 27, n. 1–2, p. 143–147, 2014.
- LUKINMAA, P. L. et al. Dental findings in osteogenesis imperfecta: I. Occurrence and expression of type I dentinogenesis imperfecta. **Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology**, 1987.
- LUND, A. M. et al. Parental mosaicism and autosomal dominant mutations causing structural abnormalities of collagen I are frequent in families with osteogenesis imperfecta type III/IV. **Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)**, v. 86, n. 7, p. 711–8, 1997.
- LYGIDAKIS, N. A.; SMITH, R.; OULIS, C. J. Scanning electron microscopy of teeth in

osteogenesis imperfecta type I. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 81, n. 5, p. 567–572, 1996.

MALMGREN, B. et al. Clinical, histopathologic, and genetic investigation in two large families with dentinogenesis imperfecta type II. **Human Genetics**, v. 114, n. 5, p. 491–498, 2004.

MALMGREN, B. et al. Tooth agenesis in osteogenesis imperfecta related to mutations in the collagen type I genes. **Oral Diseases**, v. 23, n. 1, p. 42–49, 2017.

MALMGREN, B.; ÅSTRÖM, E.; SÖDERHÄLL, S. No osteonecrosis in jaws of young patients with osteogenesis imperfecta treated with bisphosphonates. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 37, n. 4, p. 196–200, 2008.

MALMGREN, B.; LINDSKOG, S. Assessment of dysplastic dentin in osteogenesis imperfecta and dentinogenesis imperfecta. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 61, n. 2, p. 72–80, 2003.

MALMGREN, B.; NORGREN, S. Dental aberrations in children and adolescents with osteogenesis imperfecta. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 60, n. 2, p. 65–71, 2002.

MARÇAL, F. F. et al. Dental alterations on panoramic radiographs of patients with osteogenesis imperfecta in relation to clinical diagnosis, severity, and bisphosphonate regimen aspects: a STROBE-compliant case-control study. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology**, v. 00, n. 00, p. 110–114, 2019.

MARINI, J. C. et al. Consortium for Osteogenesis Imperfecta Mutations in the Helical Domain of Type I Collagen: Regions Rich in Lethal Mutations Align With Collagen Binding Sites for Integrins and Proteoglycans. **Annals of Neurology**, v. 28, n. 4, p. 365–373, 2007.

MARINI, J. C.; BLISSETT, A. R. New Genes in Bone Development: What's New in Osteogenesis Imperfecta. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 98, n. 8, p. 3095–3103, 2013.

MARINI, J. C.; REICH, A.; SMITH, S. M. Osteogenesis imperfecta due to mutations in non-collagenous genes: lessons in the biology of bone formation. **Current opinion in pediatrics**, v. 26, n. 4, p. 500–7, 2014.

MENDOZA-LONDONO, R. et al. Recessive Osteogenesis Imperfecta Caused by Missense Mutations in SPARC. **American Journal of Human Genetics**, v. 96, n. 6, p. 979–985, 2015.

MOOSA, S. et al. Autosomal-Recessive Mutations in MESD Cause Osteogenesis

- Imperfecta. **The American Journal of Human Genetics**, v. 105, n. 4, p. 836–843, 2019.
- MU, Y. D. et al. Mutational analysis of AXIN2, MSX1, and PAX9 in two Mexican oligodontia families. **Genetics and Molecular Research**, 2013.
- MUNNS, C. F. J. et al. Three children with lower limb fractures and a mineralization defect: A novel bone fragility disorder? **Bone**, v. 35, n. 5, p. 1023–1028, 2004.
- NIEMINEN, P. et al. Identification of a nonsense mutation in the PAX9 gene in molar oligodontia. **European Journal of Human Genetics**, 2001.
- NIEMINEN, P. Genetic basis of Tooth agenesis. **Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution**, v. 312, n. 4, p. 320–342, 2009.
- O'CONNELL, A C. et al. Evaluation of oral problems in an osteogenesis imperfecta population. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics**, v. 87, n. 2, p. 189–196, 1999.
- O'CONNELL, A C.; MARINI, J. C. Evaluation of oral problems in an osteogenesis imperfecta population. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics**, v. 87, n. 2, p. 189–196, 1999.
- PAIXÃO-CÔRTEZ, V. R. et al. PAX9 and MSX1 transcription factor genes in non-syndromic dental agenesis. **Archives of Oral Biology**, 2011.
- PAN, Y. et al. PAX9 polymorphisms and susceptibility to sporadic tooth agenesis: A case-control study in southeast China. **European Journal of Oral Sciences**, 2008.
- PARVEEN, A. et al. Deleterious Variants in WNT10A, EDAR, and EDA Causing Isolated and Syndromic Tooth Agenesis: A Structural Perspective from Molecular Dynamics Simulations. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 21, 2019.
- PAWLOWSKA, E. et al. Mutations in the PAX9 gene in sporadic oligodontia. **Orthodontics and Craniofacial Research**, v. 13, n. 3, p. 142–152, 2010.
- PECK, S.; PECK, L.; KATAJA, M. Concomitant occurrence of canine malposition and tooth agenesis: Evidence of orofacial genetic fields. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, 2002.
- PEREIRA, T. V. et al. Natural selection and molecular evolution in primate PAX9 gene, a major determinant of tooth development. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 2006.
- PINHO, T. et al. Mutational analysis of MSX1 and PAX9 genes in Portuguese families with maxillary lateral incisor agenesis. **European Journal of Orthodontics**, 2010.

- RAKSHAN, V.; RAKSHAN, H. Meta-analysis of congenitally missing teeth in the permanent dentition: Prevalence, variations across ethnicities, regions and time. **International orthodontics**, v. 13, n. 3, p. 261–273, 2015.
- RAUCH, F. et al. Osteogenesis imperfecta types I, III, and IV: Effect of pamidronate therapy on bone and mineral metabolism. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 88, n. 3, p. 986–992, 2003.
- RAUCH, F. et al. Long-bone changes after pamidronate discontinuation in children and adolescents with osteogenesis imperfecta. **Bone**, v. 40, n. 4, p. 821–827, 2007.
- RAUCH, F. et al. Genotype-phenotype correlations in nonlethal osteogenesis imperfecta caused by mutations in the helical domain of collagen type I. **European journal of human genetics : EJHG**, v. 18, n. 6, p. 642–647, 2010.
- RAUCH, F.; GLORIEUX, F. H. Osteogenesis imperfecta. **Lancet (London, England)**, v. 363, n. 9418, p. 1377–85, 2004.
- RAUCH, F.; GLORIEUX, F. H. **Osteogenesis imperfecta, current and future medical treatment** **American Journal of Medical Genetics - Seminars in Medical Genetics**, 2005.
- RAUCH, F.; TRAVERS, R.; GLORIEUX, F. H. Pamidronate in children with osteogenesis imperfecta: Histomorphometric effects of long-term therapy. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 91, n. 2, p. 511–516, 2006.
- RETROUVEY, J. et al. Características oro-dentárias e cranio-faciais da osteogênese imperfeita tipo V Palavras-chave. p. 1–17, 2019a.
- RETROUVEY, J. M. et al. Oro-dental and cranio-facial characteristics of osteogenesis imperfecta type V. **European Journal of Medical Genetics**, n. December, p. 1–7, 2019b.
- RIOS, D. et al. Osteogenesis imperfecta and dentinogenesis imperfecta: associated disorders. **Quintessence international (Berlin, Germany : 1985)**, v. 36, n. 9, p. 695–701, 2005.
- RIZKALLAH, J. et al. Evaluation of the severity of malocclusions in children affected by osteogenesis imperfecta with the peer assessment rating and discrepancy indexes. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 143, n. 3, p. 336–341, 2013.
- ROBINSON, M.-E. et al. Osteogenesis imperfecta: skeletal outcomes after bisphosphonates discontinuation at final height. **Bone Abstracts**, 2019.
- SCHALK-VAN DER WEIDE, Y.; STEEN, W. H.; BOSMAN, F. Distribution of missing



teeth and tooth morphology in patients with oligodontia. **ASDC journal of dentistry for children**, 1992.

SEMLER, O. et al. Wormian bones in osteogenesis imperfecta: Correlation to clinical findings and genotype. **American Journal of Medical Genetics, Part A**, v. 152, n. 7, p. 1681–1687, 2010.

SHAHEEN, R. et al. Study of autosomal recessive osteogenesis imperfecta in Arabia reveals a novel locus defined by TMEM38B mutation. **Journal of Medical Genetics**, v. 49, n. 10, p. 630–635, 2012.

SHAPIRA, Y.; KUFTINEC, M. M. Maxillary tooth transpositions: Characteristic features and accompanying dental anomalies. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, 2001.

SHIELDS, E. D.; BIXLER, D.; EL-KAFRAWY, A. M. A proposed classification for heritable human dentine defects with a description of a new entity. **Archives of Oral Biology**, v. 18, n. 4, p. 543–553, 1973.

SHIMIZU, T.; MAEDA, T. **Prevalence and genetic basis of tooth agenesis Japanese Dental Science Review**, 2009.

SILLENCE, D. O.; SENN, A.; DANKS, D. M. Genetic heterogeneity in osteogenesis imperfecta. **Journal of medical genetics**, v. 16, n. 2, p. 101–16, 1979.

SILLENCE, D.; RIMOIN, D. **CLASSIFICATION OF OSTEOGENESIS IMPERFECTA**The Lancet, 1978.

SOUZA-SILVA, B. N. et al. Non-syndromic tooth agenesis patterns and their association with other dental anomalies: A retrospective study. **Archives of Oral Biology**, 2018.

STEINER; PEPIN AND BYERS. Osteogenesis Imperfecta - GeneReviews™ - NCBI Bookshelf Osteogenesis Imperfecta Osteogenesis Imperfecta - GeneReviews™ - NCBI Bookshelf. p. 1–17, 2005.

STOCKTON, D. W. et al. Mutation of PAX9 is associated with oligodontia. **Nature Genetics**, 2000.

SYMOENS, S. et al. Deficiency for the ER-stress transducer OASIS causes severe recessive osteogenesis imperfecta in humans. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, v. 8, n. 1, p. 1–6, 2013.

TREJO, P.; RAUCH, F. **Osteogenesis imperfecta in children and adolescents???new developments in diagnosis and treatmentOsteoporosis International**, 2016.

- VALADARES, E. R. et al. What is new in genetics and osteogenesis imperfecta classification? **Jornal de Pediatria**, v. 90, n. 6, p. 536–541, 2014.
- VAN DEN BOOGAARD, M. J. et al. Mutations in wnt10a are present in more than half of isolated hypodontia cases. **Journal of Medical Genetics**, v. 49, n. 5, p. 327–331, 2012.
- VAN DIJK, F. S. et al. PPIB Mutations Cause Severe Osteogenesis Imperfecta. **American Journal of Human Genetics**, v. 85, n. 4, p. 521–527, 2009.
- VAN DIJK, F. S. et al. Osteogenesis imperfecta: A review with clinical examples. **Molecular Syndromology**, v. 2, n. 1, p. 1–20, 2011.
- VAN DIJK, F. S. et al. EMQN best practice guidelines for the laboratory diagnosis of osteogenesis imperfecta. **European Journal of Human Genetics**, v. 20, n. 1, p. 11–19, 2012.
- VAN DIJK, F. S.; SILLENCE, D. O. Osteogenesis imperfecta: Clinical diagnosis, nomenclature and severity assessment. **American Journal of Medical Genetics, Part A**, v. 164, n. 6, p. 1470–1481, 2014.
- VASTARDIS, H. The genetics of human tooth agenesis: new discoveries for understanding dental anomalies. **American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics : official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics**, 2000.
- VIEIRA, A. R. Oral clefts and syndromic forms of tooth agenesis as models for genetics of isolated tooth agenesis. **Journal of Dental Research**, v. 82, n. 3, p. 162–165, 2003.
- WALTIMO-SIRÉN, J. et al. Craniofacial features in osteogenesis imperfecta: A cephalometric study. **American Journal of Medical Genetics**, v. 133 A, n. 2, p. 142–150, 2005.
- WALTIMO, J.; OJANOTKO-HARRI, A.; LUKINMAA, P. L. Mild forms of dentinogenesis imperfecta in association with osteogenesis imperfecta as characterized by light and transmission electron microscopy. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 25, p. 256–264, 1996.
- WANG, J. et al. Sequence analysis of PAX9, MSX1 and AXIN2 genes in a Chinese oligodontia family. **Archives of Oral Biology**, 2011.
- WANG, S. K. et al. Novel PAX9 and COL1A2 Missense Mutations Causing Tooth Agenesis and OI/DGI without Skeletal Abnormalities. **PLoS ONE**, v. 7, n. 12, p. 1–6, 2012.
- WARD, L. M. et al. Osteogenesis imperfecta type VII: An autosomal recessive form of brittle bone disease. **Bone**, v. 31, n. 1, p. 12–18, 2002.

YU, M. et al. Genetic analysis: Wnt and other pathways in nonsyndromic tooth agenesis. **Oral Diseases**, v. 25, n. 3, p. 646–651, 2019.

ZEITLIN, L. et al. Height and weight development during four years of therapy with cyclical intravenous pamidronate in children and adolescents with osteogenesis imperfecta types I, III, and IV. **Pediatrics**, v. 111, n. 5 I, p. 1030–1036, 2003.

ZEITLIN, L.; FASSIER, F.; GLORIEUX, F. H. Modern approach to children with osteogenesis imperfecta. **Journal of Pediatric Orthopaedics Part B**, v. 12, n. 2, p. 77–87, 2003.

ZENG, B. et al. KDF1 is a novel candidate gene of non-syndromic tooth agenesis. **Archives of Oral Biology**, v. 97, n. October 2018, p. 131–136, 2019.

## ANEXO I

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Desenvolvimento e avaliação de painel de genes para uso de sequenciamento de próxima geração (NGS) no diagnóstico molecular de Osteogênese Imperfeita e Dentinogênese Imperfeita

**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:** 4

**CAAE:** 39898114.4.0000.0030

**Instituição Proponente:** FACULDADE DE SAÚDE - FS

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio  
FUNDAÇÃO DE APOIO A PESQUISA DO DISTRITO FEDERAL FAPDF

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.324.282

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

BRASÍLIA, 16 de Novembro de 2015

---

**Assinado por:**  
**Marie Togashi**  
**(Coordenador)**

## ANEXO II



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

## PARECER Nº 1440/2001

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

Protocolo CEP = 040/2001

Processo nº 25000.125975/2001-60

Projeto de Pesquisa: *Estudo sobre Genes Responsáveis de Ameiogênese Imperfeita e Anomalias Dentárias de Número*

Pesquisador Responsável: Dra. Ana Carolina Acevedo Poppe

Instituição: FCS / Universidade de Brasília / UNB

Área Temática Especial : Genética Humana

Pesquisa com cooperação estrangeira

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

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

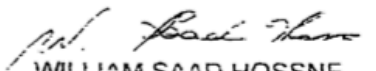
b) o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP da instituição supracitada.

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

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

Situação : Projeto aprovado com recomendação

Brasília 22 de novembro de 2001

  
WILLIAM SAAD HOSSNE  
Coordenador da CONEP-MS

## ANEXO III

Pág. 1 de 2

### **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 **“Desenvolvimento e avaliação de painel de genes para uso de sequenciamento de próxima geração (NGS) no diagnóstico molecular de Osteogênese Imperfeita e Dentinogênese Imperfeita”**. Abaixo estão algumas informações sobre a pesquisa, que se referem ao participante do estudo, isto é, ao seu filho ou menor de idade sob sua responsabilidade. Queremos identificar as causas de algumas alterações encontradas nos ossos e dentes, e a participação dele é muito importante.

- Será feita uma entrevista sobre o estado de saúde geral do participante e serão realizados exames clínicos, geral e da boca, em consultas no Hospital Universitário de Brasília. Também iremos coletar 4 a 8 mL de sangue, o equivalente a uma ou duas colheres de sopa, usando seringa e agulha descartáveis. A coleta está prevista para uma única vez, mas poderão ser necessárias outras coletas a critério médico ou do dentista.
- Não haverá pagamento pela colaboração e também não haverá nenhum custo com a participação. Caso o participante e o(a) senhor(a) tenham gastos diretamente relacionados à pesquisa, como alimentação, transporte e exames, estas despesas serão pagas pelo pesquisador responsável.
- O participante 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 ;
- O sangue coletado será utilizado para examinar muitos genes e serve para detectar alterações nos genes que causam defeitos no colágeno, que são responsáveis pela ocorrência da doença de seu filho/menor sob sua responsabilidade. As informações serão usadas para melhorar o diagnóstico e aconselhamento de pessoas com essa doença genética.
- A coleta de sangue pode trazer algum desconforto ao participante, um pouco de dor ou deixar a região do braço levemente arroxeadada por algum tempo, mas esse procedimento será feito por profissionais treinados, e a equipe médica do hospital sempre dará assistência, para que esses riscos sejam evitados ou diminuídos;
- Caso seu filho/menor sob sua responsabilidade sofra dano decorrente da participação na pesquisa, receberá assistência imediata e integral pelo tempo necessário, e será indenizado.
- Será oferecida a(o) senhor(a) 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 que isto lhe cause custos.

- Os resultados serão divulgados na Universidade de Brasília, podendo ser publicados e/ou apresentados em eventos e/ou revistas científicas, mas não divulgaremos nome ou qualquer outra informação que permita identificá-lo. Garantimos sigilo, privacidade e anonimato.
- Após conclusão da pesquisa, os dados do participante serão armazenados e, caso sejam utilizados em uma pesquisa futura, o senhor(a) e o participante menor de idade serão contatados para nova autorização. O material somente será utilizado se um novo projeto for aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa.
- Somente os pesquisadores responsáveis terão acesso aos dados e materiais utilizados na pesquisa, como resultado de exames e prontuário. Não será permitido o acesso a outras pessoas que não fazem parte do projeto (seguradoras, empregadores etc). A proteção dos dados evita que o participante sofra qualquer tipo de discriminação e/ou estigmatização social.
- Em qualquer momento, o senhor (a) e o participante poderão ter acesso aos resultados. O senhor(a) e o participante também poderão decidir se querem ou não ter conhecimento do 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) 9854-9011.
- 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](mailto:cepfs@unb.br) ou [cepfsunb@gmail.com](mailto: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 o(a) senhor(a).

\_\_\_\_\_ (Assinatura do pai ou responsável)

\_\_\_\_\_ (Assinatura do pesquisador responsável)

Brasília, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

## ANEXO IV

### Termo de consentimento livre e esclarecido, pós-informação

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

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

Brasília, \_\_/\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Responsável pelo paciente

\_\_\_\_\_  
Responsável pela pesquisa