

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO
JEQUITINHONHA E MUCURI

MAURICIO DA ROCHA DOURADO

CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DA SÍNDROME DA
AMELOGÊNESE IMPERFEITA E NEFROCALCINOSE

DIAMANTINA - MG

2014

MAURÍCIO DA ROCHA DOURADO

CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DA SÍNDROME DA
AMELOGÊNESE IMPERFEITA E NEFROCALCINOSE

Dissertação apresentada à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte dos requisitos do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, área de concentração em Clínica Odontológica, para obtenção do título de *Mestre*

Orientadora: Profa. Dra. Ana Terezinha Marques Mesquita - UFVJM

Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Della Coletta - UNICAMP

DIAMANTINA – MG

2014

Ficha Catalográfica – Serviço de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecário Anderson César de Oliveira Silva, CRB6 – 2618.

D739c	<p>Dourado, Maurício da Rocha Caracterização fenotípica da síndrome da amelogênese imperfeita e nefrocalcinose / Maurício da Rocha Dourado. – Diamantina: UFVJM, 2014. 45 p. : il.</p> <p>Orientadora: Ana Terezinha Marques Mesquita Orientador: Ricardo Della Coletta</p> <p>Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Odontologia) - Faculdade de Ciências Biológicas e da saúde, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.</p> <p>1. Síndrome. 2. Amelogênese imperfeita. 3. Nefrocalcinose. I. Título II. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.</p> <p style="text-align: right;">CDD 617.6</p>
-------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

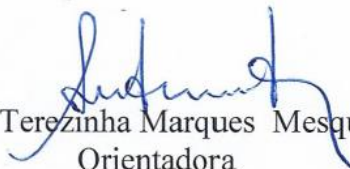
Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

MAURÍCIO DA ROCHA DOURADO

**“CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DA SÍNDROME DA
AMELOGÊNESE IMPERFEITA E NEFROCALCINOSE”**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal dos Vales do
Jequitinhonha e Mucuri, como parte
das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Odontologia, para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

APROVADA EM 21/02/2014


Prof. Dra. Ana Terezinha Marques Mesquita - UFVJM
Orientadora


Prof. Dr. Hercílio Martelli Júnior - UNIMONTES


Prof. Dr. Cássio Roberto Rocha dos Santos - UFVJM

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, meus exemplos, e à minha família, meu alicerce.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e irmãos, pelo suporte e amor de sempre, pelo carinho, pela força e incentivo em todos os momentos,

Aos meus amigos, de perto ou de longe, que se fizeram presentes em mais esta jornada, tornado o fardo mais leve e prazeroso,

Aos colegas do mestrado que se tornaram amigos, que dividiram a convivência, o estresse e o almoço de domingo,

À Profa. Ana Terezinha Marques Mesquita, pela paciência e prazer de ensinar, por ser exemplo de amor e doação à docência,

Ao Prof. Ricardo Della Colleta, por todo auxílio dispensado na execução deste trabalho,

À Profa. Maria Letícia Ramos Jorge, que tem o dom da competência e alegria simultâneas,

Ao Prof. Cássio Rocha pela generosidade e humildade,

A todos os Professores e funcionários pelos ensinamentos e pela prontidão de sempre,

Ao PPGOdonto e à UFVJM pelas oportunidades, por terem sido minha casa, por serem pequenos prodígios em ascensão,

E, finalmente, aos pacientes, obrigado pela colaboração e confiança.

“De tudo, ficaram três coisas: a certeza de que ele estava sempre começando, a certeza de que era preciso continuar e a certeza de que seria interrompido antes de terminar. Fazer da interrupção um caminho novo. Fazer da queda um passo de dança, do medo uma escada, do sono uma ponte, da procura um encontro.”

Fernando Sabino

RESUMO

DOURADO, Maurício da Rocha. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, fevereiro de 2014.47p. **Caracterização fenotípica da síndrome da amelogenese imperfeita e nefrocalcinose.** Orientadora: Ana Terezinha Marques Mesquita. Co-orientador: Ricardo Della Coletta. Dissertação (Mestrado em Odontologia).

Amelogenese imperfeita (AI) representa um complexo grupo de condições herdadas que provocam malformações do esmalte dentário em quantidade ou qualidade. Nefrocalcinose (NC) é a deposição de sais de cálcio no parênquima renal que pode, em longo prazo e na ausência de tratamento adequado, levar à insuficiência renal crônica e outros distúrbios renais. Estas duas condições, simultaneamente, representam a síndrome da amelogenese imperfeita e nefrocalcinose (SAINC), ou síndrome esmalte renal, uma desordem autossômica recessiva causada por mutações no gene *FAM20A*, com poucos casos relatados na literatura. A proposta do presente estudo foi investigar as características da síndrome em indivíduos de quatro famílias brasileiras. Os pacientes foram submetidos ao exame clínico, radiográfico, investigação renal e exames hematológicos e de marcadores bioquímicos, sendo identificados nove pacientes portadores da síndrome. O exame clínico revelou dentes pequenos e de coloração amarelada, desgaste oclusal/incisal, retenção da dentição decídua e hiperplasia gengival. As radiografias mostraram lesões pericoronárias radiolúcidas envolvendo dentes permanentes impactados, ausência de contraste entre esmalte e dentina e calcificações intrapulpares. Os exames bioquímicos evidenciaram, em quatro pacientes, baixos níveis de vitamina D 25-OH e altos níveis de fosfatase alcalina e paratormônio. A ultrassonografia revelou nefrocalcinose bilateral, mas, os pacientes ainda, não demonstraram nenhuma manifestação de doença renal. Outras características menos comuns como deficiência mental e cistos renais foram encontradas, o que confirma o grande espectro de alterações fenotípicas desta síndrome, já descrita anteriormente. Estes resultados confirmam as variações fenotípicas da SAINC e reforçam a necessidade de investigação renal em pacientes com diagnóstico de AI, principalmente do tipo hipoplásica.

Palavras-chave: síndrome, amelogenese imperfeita, nefrocalcinose, *FAM20A*

ABSTRACT

DOURADO, Maurício da Rocha. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, february 2014. 47p. **Phenotypic characterization of the amelogenesis imperfecta and nephrocalcinosis syndrome.** Advisor: Ana Terezinha Marques Mesquita. Committee member: Ricardo Della Coletta. Dissertation (Master's degree in Dentistry).

Amelogenesis imperfecta (AI) is a complex group of conditions that cause inherited defects of dental enamel in quantity or quality. Nephrocalcinosis (NC) is the deposition of calcium salts at the renal parenchyma, which may in the long term and in the absence of proper treatment, lead to chronic renal failure and other kidney disorders. These two conditions simultaneously represent the amelogenesis imperfecta and nephrocalcinosis syndrome (AINCS), or enamel renal syndrome, an autosomal recessive disorder caused by mutations in *FAM20A* gene, with few cases reported in the literature. The purpose of this study was to investigate the characteristics of the syndrome in patients from four Brazilian families. Patients underwent clinical examination, radiographic, renal and haematological investigation and biochemical markers examinations, being identified nine patients with this syndrome. Clinical examination revealed small and yellowish teeth, occlusal/incisal wear, retention of deciduous dentition and gingival hyperplasia. The radiographs showed pericoronal radiolucencies involving impacted permanent teeth, absence of contrast between enamel and dentin and intrapulpal calcifications. Biochemical tests showed low levels of 25-OH vitamin D and high levels of alkaline phosphatase and parathyroid hormone in four patients. Ultrasonography revealed bilateral nephrocalcinosis, but patients still showed no manifestation of renal disease. Other characteristics as mental retardation and renal cysts were found, confirming the wide spectrum of phenotypic alterations of this syndrome previously described. These results confirm the phenotypic variations AINCS and reinforce the need for kidney research in patients with AI, especially the hypoplastic type.

Keywords: syndrome, amelogenesis imperfecta, nephrocalcinosis, *FAM20A*.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- ACII** – gene que codifica a proteína anidrase carbônica II
- ACII** – proteína anidrase carbônica II
- AE2** – proteína *anion exchange 2* – trocador de cloro/bicarbonato
- AI** – amelogênese imperfeita
- AMBN** – gene que codifica a proteína ameloblastina da matriz do esmalte
- AMELX** – gene que codifica a proteína amelogenina
- CaOx** – oxalato de cálcio
- CASR** – gene que codifica a proteína receptora de cálcio
- CFTR** – gene receptor protéico transmembrana da fibrose cística
- CFTR** – receptor protéico transmembrana da fibrose cística
- CLCN5** – gene que codifica a proteína trocadora de cloro 5
- CLDN16** – proteína de junção oclusiva claudina 16
- CR** – cisto renal
- DNA** – ácido desoxirribonucleico
- DLX3** – gene que codifica a proteína *less homeobox 3*
- ENAM** – gene que codifica a proteína enamulina
- ERS** – *Enamel renal syndrome/* síndrome esmalte renal
- FAM20A** – gene que codifica a proteína *Family with sequence similarity 20, member A*
- FAM20B** – gene que codifica a proteína *Family with sequence similarity 20, member B*
- FAM20C** – gene que codifica a proteína *Family with sequence similarity 20, member C*
- FAM83H** – gene que codifica a proteína *Family with sequence similarity 83, member H*
- G-CK** – *golgi caseina quinase*
- HPT** – hiperparatireoidismo
- IRC** – insuficiência renal crônica
- KLK4** – gene que codifica a proteína kaliceína-4
- MEV** – microscópio/microscopia eletrônica de varredura
- MMP20** – gene que codifica a proteína enamelinina
- NBCe1** – proteína trocadora de sódio/bicarbonato
- NC** - nefrocalcinose
- NHE1** – gene que codifica a proteína trocadora de sódio/prótons de hidrogênio
- NHE1** – proteína trocadora de sódio/prótons de hidrogênio
- OMIM** – *online mendelian inheritance in man* (compêndio de genes humanos e fenótipos)

DM – deficiência mental

SAINC – síndrome da amelogenese imperfeita e nefrocalcinose

SAIFG – síndrome da amelogenese imperfeita e fibromatose gengival

SLC4A2 – gene que codifica a proteína AE2

SLC4A4 – gene que codifica a proteína AE4

USS – ultrassonografia

VDR – gene que codifica o hormônio nuclear receptor de vitamina D3

WDR72 – gene que codifica a proteína *WD repeat domain 72*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	10
1.1 Amelogênese imperfeita: estágio atual do conhecimento e síndromes associadas.....	11
1.2 Síndrome da amelogênese imperfeita e nefrocalcinose (<i>síndrome esmalte renal</i>).....	14
2. ARTIGO	20
2.1 Síndrome da amelogênese imperfeita e nefrocalcinose: série de casos e novos <i>insights</i>	20
Introdução.....	20
Materiais e Métodos	22
Resultados	23
Discussão.....	25
Referências	30
3. CONCLUSÕES	37
REFERÊNCIAS	38
ANEXOS	43

1. INTRODUÇÃO GERAL

Anomalias dentárias têm sido relatadas como componentes significantes de várias síndromes, representando uma pista de diagnóstico na identificação de padrões específicos dos distúrbios de desenvolvimento (BAILLEUL-FORESTIER *et al.*, 2008a). Nos seres humanos, variações herdadas no número, tamanho e forma dos dentes são relativamente comuns, e defeitos de formação de tecido duro, incluindo amelogenese imperfeita (AI) e defeitos na erupção dentária, também são encontrados (SHARPE, 2001; COBOURNE E SHARPE, 2013). Doenças genéticas afetando estruturas dentárias têm sido classificadas pelo tecido afetado (esmalte *versus* dentina), pela sua especificidade (sindrômica *versus* não-sindrômica) e pelo padrão de herança: autossômico dominante, autossômico recessivo ou recessivo ligado ao cromossomo X (BAILLEUL-FORESTIER *et al.*, 2008b).

A AI representa um grupo heterogêneo de desordens herdadas, caracterizando defeitos de esmalte (ALDRED *et al.*, 2002). Embora usualmente isolada, a AI compõe diversas anomalias congênitas múltiplas (BAILLEUL-FORESTIER *et al.*, 2008a). Uma destas condições é a síndrome da amelogenese imperfeita e nefrocalcinose (SAINC), também já denominada síndrome esmalte renal (OMIM 204690) (FU *et al.*, 2006; KALA-VANI *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2013a) ou síndrome de MacGibbon (RAJATHI *et al.*, 2013), em referência ao primeiro autor que a relatou em 1972 (MACGIBBON, 1972). Dentre as características frequentemente descritas da SAINC, pode-se destacar: AI hipoplásica, ausência de contato dentário interproximal, alargamento gengival, perda da diferença de densidade radiográfica entre esmalte e dentina, retenção de dentes decíduos, calcificações intrapulpares, nefrocalcinose (NC) e normalmente exames bioquímicos sem alterações (HALL *et al.*, 1995; DELLOW *et al.*, 1998; PAULA *et al.*, 2005; MARTELLI-JUNIOR *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2013b; KANTAPUTRA *et al.*, 2013). A NC representa uma importante complicação renal, podendo acompanhar deterioração progressiva da função glomerular ou nefrolitíase (EVAN *et al.*, 2011).

A etiologia do desenvolvimento da SAINC foi relacionada à mutação bialélica no gene *FAM20A* envolvendo inserções, deleções, *essential splice sites*, mutações *missense* e *nonsense* (JAUREGUIBERRY *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2013a). *FAM20A* compõe uma família de três genes (*FAM20A*, *FAM20B*, *FAM20C*) que codificam kinases (enzima de fosforilação) e modificam proteínas no interior da via secretora (WANG *et al.*, 2013a). A função do *FAM20A*

não está totalmente compreendida, mas defeitos neste gene foram relacionados à outra condição denominada síndrome da amelogênese imperfeita e fibromatose gengival - SAIFG; OMIM 61425 (O'SULLIVAN *et al.*, 2011). Em recente publicação foi sugerido que ambas as síndromes representariam uma mesma condição, com a mesma etiologia, sendo classificadas separadamente, considerando variações fenotípicas (KANTAPUTRA *et al.*, 2013). Essas divergências demonstram que o conhecimento acerca desta síndrome ainda está em construção, e justifica o presente estudo de caracterização de série de casos, tendo grandes implicações para o diagnóstico e tratamento, além da divulgação entre pesquisadores e profissionais da área.

1.1 Amelogênese imperfeita: estágio atual do conhecimento e síndromes associadas

No embrião humano, dentes decíduos e permanentes se desenvolvem a partir do ectoderma oral e das células mesenquimais neurais subjacentes, que migraram da crista neural craniana ao processo facial (THESLEFF, 2003). A secreção inicial da matriz de dentina pelos odontoblastos é seguida pela secreção da matriz do esmalte pelos ameloblastos. Durante o processo de formação do esmalte, denominado amelogênese, os ameloblastos secretam as quatro principais proteínas e proteases da matriz do esmalte: amelogenina (80-90%), ameloblastina (5-10%), enamelinina (3-5%) e enamelinina (1%) (GOLDBERG, 1985). A matriz do esmalte secretada é, então, calcificada e, posteriormente, maturada por remoção das proteínas remanescentes e pela deposição dos cristais de hidroxiapatita (CHO *et al.*, 2011).

O esmalte dentário é o tecido de maior mineralização do corpo humano (CHO *et al.*, 2011). Após o período de maturação é caracterizado por alto conteúdo mineral (95%), enquanto seu teor de matéria orgânica não ultrapassa 1% (BAILLEUL-FORESTIER *et al.*, 2008b; CHO *et al.*, 2011). As propriedades físicas e função fisiológica do esmalte estão diretamente relacionadas com a composição, orientação, disposição e morfologia dos componentes minerais dentro do tecido (MAHONEY *et al.*, 2003). O esmalte é composto por cristais de hidroxiapatita estritamente organizados, que geralmente se estendem desde a dentina subjacente até a superfície do dente, orientados em prismas. Devido às suas propriedades particulares, o esmalte reflete e registra, durante o seu desenvolvimento, as variações de estado metabólico do indivíduo. Por isso, anomalias do esmalte podem representar distúrbios ambientais e/ou sistêmicos (BAILLEUL-FORESTIER *et al.*, 2008b). A composição final do esmalte é um

reflexo das atividades celulares e moleculares únicas que ocorrem durante a sua formação. Desvio a partir deste padrão pode resultar em AI (CHAUDHARY *et al* 2009).

AI representa um complexo grupo de condições herdadas que provocam malformações do esmalte dentário em quantidade ou qualidade, na ausência de qualquer condição sistêmica associada (WIKTOP, 1988; ALDRED *et al.*, 2002; MEHTA *et al.*, 2013; PATIL E PATIL, 2013). A prevalência da AI é influenciada pela população estudada e pelos métodos de diagnóstico empregados, variando de 1:700 a 1:4.000 na população sueca (SUNDELL E KOCH, 1985; BACKMAN E HOLM 1986), e representou 0,27% dos casos de anomalias dentárias em um estudo que avaliou 1123 indianos (GUPTA *et al.*, 2011). Não há dados de prevalência na população brasileira. Embora a AI seja uma alteração primária do esmalte dentário, outras alterações dentais e orais têm sido descritas em combinação com os defeitos de esmalte, incluindo retardo na irrupção dentária, calcificações pulpares, reabsorções radiculares e coronárias, hipercementose e taurodontismo (LYKOGORGOS *et al*, 2003; CRAWFORD *et al*, 2007; HUNTER *et al.*, 2007). Esta má formação do esmalte é caracterizada por grande heterogeneidade clínica e genética (O’SULLIVAN *et al*, 2011; METHA *et al.*, 2013). AI tem sido classificada com base na aparência clínica, radiográfica e histológica do defeito do esmalte e modo de herança. Algumas classificações têm sido baseadas exclusivamente no fenótipo, outras usam o fenótipo como discriminante primário e o modo de herança como fator secundário para o diagnóstico. Aldred *et al.*, (2002) sugerem que o padrão de herança deve ser o modo primário de classificação, tendo o fenótipo como discriminante secundário. De forma generalizada AI pode ser classificada como: hipoplásica (padrão autossômico dominante, autossômico recessivo ou dominante ligado ao cromossomo X), representada por defeito na matriz orgânica primária do esmalte, que pode se apresentar fino e liso ou rugoso e com crateras. Na AI do tipo hipocalcificado (padrão autossômico dominante ou autossômico recessivo) haverá um pobre recobrimento mineral, resultando em macroporosidade e superfície prismática desordenada. Finalmente, na AI hipomaturada (padrão autossômico recessivo, recessivo ligado ao X ou autossômico dominante) há alteração na fase de maturação do esmalte, após deposição mineral, podendo ser provocada por aprisionamento das proteínas do esmalte ou ainda deficiência na deposição de cristais de hidroxiapatita (HALL *et al.*, 1995; METHA *et al.*, 2013). O tipo hipoplásico representa 60 a 73% dos casos, o hipomaturado de 20 a 40% e o hipocalcificado representa cerca de 7% de todos os casos de AI (CHADHARY *et al.*, 2009).

Alterações em vários genes têm sido relacionadas com o desenvolvimento de AI, como *AMELX*, *AMBN*, *ENAM*, *MMP20*, *KLK4*, *DLX3*, *WDR72*, *FAM83H* e *FAM20A*. No entanto, nem todos os genes causadores de doenças relacionadas com AI foram identificados (MUTO

et al., 2012). A Tabela 1 apresenta os genes comprovadamente relacionados a AI de acordo com o padrão de herança e localização.

Tabela 1. Genes causadores da amelogênese imperfeita

Padrão de herança	Gene	Cromossoma humano	Referência em humanos
Ligado ao X	<i>Amelx</i>	X	[9,21]
Autossômico dominante	<i>Ambn</i>	4	<i>n.d</i> *
	<i>Enam</i>	4	[14, 22-27]
	<i>Dlx3</i>	17	[28]
	<i>Fam83h</i>	8	[29,34]
Autossômico recessivo	<i>Enam</i>	4	[35,36]
	<i>Mmp20</i>	11	[26, 37-39]
	<i>Klk4</i>	19	[40]
	<i>Wdr72</i>	15	[41]
	<i>Fam20a</i>	17	[3,4]

**n.d.*: não determinado. (Adaptado de Muto *et al.*, 2012)

Em razão dos avanços no conhecimento acerca dos mecanismos e proteínas envolvidas no controle do pH durante a amelogênese, alguns autores têm sugerido que também, seja realizada a abordagem dos genes *SLC4A2*, *SLC4A4*, *NHE1*, *ACII* e *CFTR* que codificam, respectivamente, as proteínas *AE2*, *NBCe1*, *NHE1*, *ACII* e *CFTR* para o diagnóstico de casos de AI com etiologia não definida (LACRUZ *et al.*, 2011; URZUA *et al.*, 2011). Defeitos em genes que codificam proteínas do esmalte geralmente causam malformações do esmalte sem afetar outras partes do corpo, embora várias síndromes genéticas estejam associadas a defeitos de esmalte (BAILLEUL-FORESTIER *et al.*, 2008b). Anomalias de constituição do esmalte devem ser consideradas cautelosamente, já que elas podem ser subdiagnosticadas, quando são secundárias a fatores metabólicos ou ambientais. AI pode ser característica da síndrome amelônico-hipoidrótica (OMIM 104570), síndrome de Morchio (OMIM 253000), síndrome de Kohlschütter-Tönz (OMIM 226750), síndrome trico-dento-óssea (OMIM 190320), síndrome amelogênese imperfeita-taurodontia tipo IV (OMIM 104510), epidermólise bolhosa juncional (OMIM 226650), distrofia *cone-rod* e amelogênese imperfeita (OMIM 217080) e síndrome de Jalili (OMIM 217080), além do objeto de estudo deste trabalho, a SAINC (HALLI *et al.*, 1995; MICHAELIDIS *et al.*, 2004; BAILLEUL-FORESTIER *et al.*, 2008).

1.2 Síndrome da amelogenese imperfeita e nefrocalcinose (*síndrome esmalte renal*)

Em 1972, foi publicado o primeiro caso da condição que, posteriormente, seria denominada SAINC. Tratava-se de uma paciente de 25 anos com considerável atraso na erupção da dentição permanente. Ambas as dentições apresentavam anormalidade e a radiografia panorâmica revelava vários dentes permanentes impactados. A paciente foi radiograficamente diagnosticada com NC e, aos 15 anos de idade, desenvolveu pielonefrite crônica, com severos ataques de uremia, que requeriam internações hospitalares sucessivas. Não havia alterações em exames sanguíneos. As radiografias intrabucais evidenciaram ausência de esmalte, presença de calcificações intrapulpares e reabsorção coronária nos dentes impactados. Exames histológicos em dentes impactados extraídos apresentaram ausência microscópica de esmalte, reabsorção irregular da dentina coronária com subsequente formação óssea e hiper cementose apical e lateral. Um dos irmãos da paciente havia sido diagnosticado com NC, aos 21 anos e, aos 26 anos, faleceu por oclusão coronária, hipertensão, falência cardíaca congestiva e uremia. Segundo a mãe dos pacientes, ele também apresentava alterações dentárias em ambas as dentições. Não foram diagnosticadas alterações semelhantes nos pais ou em outros membros da família (MACGIBBON, 1972). Segundo o autor, não havia evidências suficientes de relação entre a hipoplasia do esmalte e disfunção renal no caso supracitado.

Dellow *et al.* (1998) relataram o primeiro caso associado à consanguinidade no qual dois irmãos, filhos de primos, apresentaram AI e nefrocalcinose com um discreto comprometimento da função renal. Em 2005, ao avaliar o fenótipo de uma família consanguínea que apresentava AI, atraso na erupção de dentes permanentes e NC, Paula *et al.* (2005) sugeriram que a ultrassonografia (USS) renal, deveria ser realizada em todos os pacientes com AI, em especial na forma hipoplásica autossômica recessiva. Devido à importância do envolvimento renal, é necessário descartar NC e determinar se a alteração é exclusiva desta rara síndrome ou pode ser encontrada em outras formas de AI (PAULA *et al.*, 2005).

A SAINC segue um padrão de herança autossômico recessivo (NORMAND DE LA TRANCHADE *et al.*, 2003; WANG *et al.*, 2013a). Entre os relatos, há casos de consanguinidade na família do paciente afetado (PAULA *et al.*, 2005; MARTELLI-JUNIOR *et al.*, 2011; KALA-VANI *et al.*, 2012; POORNIMA *et al.*, 2013), e outros que não apresentam consanguinidade (HALL *et al.*, 1995; ELIZABETH *et al.*, 2007), o que descaracteriza este fator como necessário para ocorrência da síndrome. A Tabela 2 resume o histórico dos casos

publicados da SAINC nos últimos anos, relacionando idade, sexo, presença de consanguinidade e complicações relacionadas à síndrome.

Tabela 2. Relatos publicados da síndrome da amelogenese imperfeita e nefrocalcinose

Referência	País de origem	Idade (anos)	Sexo ¹	Cons. ²	Alterações associadas
MacGibbon, 1972	Austrália	25 e 21	F, M	-	IRC ³ , hipertensão, uremia
Lubinsky <i>et al.</i> , 1985	Estados Unidos	9 e 11	M, F	-	Infecção urinária, enurese
Hall <i>et al.</i> , 1995	Austrália	10 e 14	F, M	-	Pielonefrite aguda
Dellow <i>et al.</i> , 1998	Reino Unido	32 e 40	M, F	Sim	Poliúria, hipocalciúria, polidipsia, pielonefrite, infecção urinária, hipertensão, HPT ³
Normand de la Tranchade <i>et al.</i> , 2003	França	15	M	Não	Hipocalciúria
Paula <i>et al.</i> , 2005	Brasil	13	M	Sim	Não
Elizabeth <i>et al.</i> , 2007	Índia	20 e 23	F, F	Não	IRC, acidose tubular renal, HPT
Hunter <i>et al.</i> , 2007	Reino Unido	13	M	Não	Não
Kirzigolu <i>et al.</i> , 2009	Turquia	7, 10, 14, 14 e 15	-	-	-
Martelli-Junior <i>et al.</i> , 2011	Brasil	9	F	Sim	Não
Kala Vani <i>et al.</i> , 2012	Índia	11	M	Sim	Não
Jaureguiberry <i>et al.</i> , 2013 ⁴	Diversos	25	12 M, 13 F	-	-
Kantaputra <i>et al.</i> , 2013	Tailândia	14, 10	M, F	-	HPT
Poornima <i>et al.</i> , 2013	Índia	12	M	Sim	Não
Rajathi <i>et al.</i> , 2013	Índia	13	M	Sim	Não
Wang <i>et al.</i> , 2013a	Jordânia/ Irã	-	M,M	Sim	-

¹ M: masculino; F: feminino (em ordem respectiva à idade).

² Presença de consanguinidade

³ IRC:Insuficiência renal crônica; HPT: Hiperparatireoidismo.

⁴Alguns dos casos já haviam sido relatados em publicações anteriores (Hall *et al.*, 1995; Dellow *et al.*, 1998; Paula *et al.*, 2005; Martelli-Junior *et al.*, 2011)

Algumas características são comumente observadas nos pacientes portadores da SAINC. Podem ser citadas como principais alterações: severa hipoplasia ou aplasia do esmalte em ambas as dentições decídua e permanente, cálculos intrapulpares, falha ou atraso na erupção de grande parte da dentição permanente, particularmente da região posterior, perda do ponto de contato entre os dentes e densidade radiográfica semelhante entre esmalte e dentina. Alguns pacientes apresentam alargamento gengival e, por vezes, a dentina coronária é reabsorvida e substituída por osso lamelar, havendo frequentemente hipercementose nas superfícies radiculares. A presença de dentes impactados é acompanhada por visualização de folículo coronário hiperplásico (PAULA *et al.*, 2005; HUNTER *et al.*, 2007; MARTELLI-JUNIOR *et al.*, 2011; NORMAND DE LA TRANCHADE *et al.*, 2003; WANG *et al.*, 2013a). A presença

deste folículo hiperplasiado pode justificar o atraso na erupção dentária, uma vez que o mesmo pode ser incapaz de sintetizar fatores que iniciariam o processo de erupção. O folículo poderia, ainda, ser um obstáculo físico, provocando retenção mecânica, ou pela presença de corpos calcificados em seu interior (MARKS, 1995; NORMAND DE LA TRANCHADE *et al.*, 2003; WISE *et al.*, 2002). Yonemochi *et al.*, (1998) estudaram hamartomas pericoronários em pacientes não-AI e sugeriram que a presença dessas lesões podem induzir remodelação tecidual, resultando em fibrose adjacente.

O alargamento gengival geralmente não está relacionado a alguma causa bacteriana local, doença sistêmica ou tratamento anterior (NORMAND DE LA TRANCHADE *et al.*, 2003). Estudos microscópicos utilizando dentes extraídos de pacientes portadores da síndrome evidenciaram que o esmalte afetado era hipoplásico, possivelmente birrefringente, geralmente aprismático, poroso, aleatoriamente orientado, fino, com superfície rugosa e extensamente fendido e coberto de protrusões ovoides e globulares (HALL *et al.*, 1995; PARKEY *et al.*, 1995). Outro estudo verificou hipoplasia, hipocalcificação e hipomaturação no mesmo dente, indicando que ambas as fases, secretória e de maturação, haviam sido afetadas (NORMAND DE LA TRANCHADE *et al.*, 2003).

Calcificação heterotrópica nos pulmões, nefrolitíase, periodontite agressiva localizada, osso alveolar fino, dentes supranumerários, deficiência de vitamina D associada ao hiperparatireoidismo e amenorreia são novos achados que expandem o fenótipo da síndrome (KANTAPUTRA *et al.*, 2013). Em geral, as investigações bioquímicas nos pacientes portadores da SAINC revelaram níveis plasmáticos normais de cálcio, vitamina D forma 25OH, fosfatase alcalina e função inalterada das glândulas paratireóides (HUNTER *et al.*, 2007; RAJATHI *et al.*, 2013), apesar de haver relatos de alterações plasmáticas de cálcio e hiperparatireoidismo secundário (DELLOW *et al.*, 1998; ELIZABETH *et al.*, 2007). A disfunção renal é variável e comumente se revela na idade adulta, a despeito da presença de típica hipercogenidade renal à USS, durante a infância (PAULA *et al.*, 2005). Sinais precoces de disfunção renal podem ser infecções urinárias recorrentes, pielonefrite, cólica renal e expulsão de pedras renais (MARTELLI-JUNIOR *et al.*, 2011).

A NC caracteriza-se pela precipitação de sais de cálcio no parênquima renal, mais comumente encontrada em condições associadas à hipercalcemia ou hipercalcúria como na síndrome de Bartter, acidose tubular renal ou hiperoxalúria (RAJATHI *et al.*, 2013). Tem sido relatada com maior frequência como resultado da hipercalcúria induzida por medicamentos através de diuréticos, terapia com esteróides ou vitamina D. Quando a doença renal não é diagnosticada precocemente, os pacientes podem evoluir com perda progressiva da função

renal, chegando ao quadro de doença renal crônica e podendo manifestar várias de suas complicações, como hipertensão, hiperparatireoidismo secundário e proteinúria (HALL *et al.*, 1995). A nefrocalcinose pode permanecer não diagnosticada até que o paciente apresente recorrentes infecções urinárias, pielonefrite ou cálculo renal (DELLOW *et al.*, 1998). A tomografia computadorizada é o padrão ouro para diagnóstico por imagem desta condição, mas outros exames podem ser utilizados, como radiografia e USS (MARTELLI-JUNIOR *et al.*, 2011). A nefrocalcinose é uma característica comum em outras condições herdadas como hipomagnesemia primária e hipofosfatemias recessivas ligadas ao cromossomo X, entretanto, nesses casos não foi relatada nenhuma alteração dentária (PAULA *et al.*, 2005).

Nenhuma das proteínas envolvidas na ocorrência de AI apresenta expressão renal, sugerindo que algumas proteínas dentárias que pensavam-se ser específicas da odontogênese, podem ser expressas em outros órgãos, ou que existem proteínas ainda não reconhecidas associadas com desenvolvimento dental e renal (FU *et al.*, 2006). A primeira hipótese sugere que há uma anormalidade na matriz intersticial, que leva à calcificação distrófica nos rins e anormal produção de esmalte dentário (LUBINSKY *et al.*, 1985). Outra hipótese sugere que, muitas das proteínas dentárias que se acreditava serem expressas apenas em tecidos dentários, também estejam envolvidas com outros tecidos e no metabolismo do cálcio e do fosfato (ELIZABETH *et al.*, 2007; KIRZIGOLU *et al.*, 2009). A etiopatogênese da síndrome ainda foi relacionada ao pleiotropismo (mutação em um gene causando reflexo na expressão de vários fenótipos) ou ao papel simbiótico das proteínas albumina e osteopontina, envolvidas na mineralização dentária e também presentes nos rins (HALL *et al.*, 1995; DELLOW *et al.*, 1998).

Ainda, que represente uma condição rara, o crescente número de casos relatados (quase metade das publicações ocorreram nos últimos três anos – RAJATHI *et al.*, 2013; POORNIMA *et al.*, 2013; KANATPUTRA *et al.*, 2013; KALA-VANI *et al.*, 2012; MARTELLI-JUNIOR *et al.*, 2011) fez com que a comunidade científica buscasse a etiologia da SAINC, especialmente em trabalhos multicêntricos. Recentes investigações comprovaram que defeitos no gene *FAM20A*, localizado no cromossomo 17q24.2, estão associados à ocorrência desta síndrome (JAREGUIBERRY *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2013a; WANG *et al.*, 2013b). Jareguiberry *et al.* (2013) encontraram um total de 20 diferentes mutações (deleções, inserções, mutações em *splice site*, *missense* e *nonsense*), identificadas no estado homocigótico ou heterocigótico composto, confirmada por sequenciamento de Sanger, demonstrando que segregavam com a doença nas 16 famílias avaliadas. O *FAM20A* (*cDNA 1,626 bp, protein 541 amino acids, 11 coding exons*) é membro de uma família de genes codificadores de quinases (enzimas de

fosforilação), que inclui o *FAM20B* e o *FAM20C* (WANG *et al.*, 2013a). Mutações em *FAM20C* causam displasia óssea osteoesclerótica autossômica-recessiva (síndrome de Raine; OMIM #259775 - SIMPSON *et al.*, 2007, 2009). O *FAM20C* é uma golgi caseína quinase (G-CK), enzima que fosforila a chave de moléculas da matriz extracelular envolvida na biomineralização, bem como em outros processos (TAGLIABRACCI *et al.*, 2012). Seu homólogo, *FAM20B*, é uma golgi quinase que auxilia na regulação da síntese de glicosaminoglicanas (KOIKE *et al.*, 2009). Defeitos em *FAM20B* não foram associados com qualquer doença genética em humanos (WANG *et al.*, 2013a). Em contraste, defeitos no gene *FAM20A* podem causar síndrome da AI e fibromatose gengival (SAIFG; OMIM #614253 - O'SULLIVAN *et al.*, 2011; CHO *et al.*, 2012), além da SAINC.

Na ausência do *FAM20A*, o folículo dentário não suporta a erupção do dente, expande-se lentamente e gera calcificações psamomatosas. O tecido conjuntivo da gengiva também se expande lentamente e calcificações são depositadas dentro da gengiva hiperplásica (MARTELLI-JUNIOR *et al.*, 2008). Calcificações semelhantes ocorrem na polpa dentária e possivelmente nos rins, causando NC. Este padrão de mineralização ectópica pode ser explicado pela falha em catalizar apropriadamente modificações pós-translacionais em moléculas da matriz extracelular que, inibem a mineralização, na ausência do *FAM20A* (WANG *et al.*, 2013a).

Por analogia aos seus homólogos mais próximos, *FAM20A* é uma quinase na via secretora. Com base no fenótipo de portadores da SAINC e SAIFG, suspeita-se que *FAM20A* fosforila proteínas envolvidas na formação do esmalte e raízes dentárias, na erupção do dente, na formação da polpa dentária e, possivelmente, na homeostase de cálcio e fosfato nos rins (WANG *et al.*, 2013a). O cálcio desempenha muitas funções importantes na fisiologia humana, servindo como mensageiro intracelular, íon neuromuscular excitatório extracelular e componente estrutural de ossos e dentes. Assim, a concentração têmporo-espacial de cálcio deve ser primorosamente regulada em diferentes compartimentos. Dentro do sistema vascular, a disponibilidade de cálcio é intimamente modulada pela interação entre ossos e hormônios reguladores que envolvem mecanismos de *feedback* positivo e negativo (Vitamina D, paratormônio, calcitonina). As consequências de uma homeostase desregulada do cálcio incluem nefrolitíase e NC, isto é, precipitação de cálcio no sistema coletor urinário e interstício renal, respectivamente (JAREGUIBERRY *et al.*, 2013).

Estudos em camundongos demonstraram que a expressão do *FAM20A* está aparentemente restrita a ameloblastos secretores e à glândula paratireóide, sendo a última importante para homeostase do cálcio. Mutações neste gene, em camundongos, levam ao

desenvolvimento de AI e calcificações ectópicas (XIAO *et al.*, 2013). Da mesma forma, Wang *et al.*, (2013b), em análise imunoistoquímica em primeiros molares da maxila de ratos, localizaram atividade do gene *FAM20A* em ameloblastos em estágio secretório, e, ainda, em odontoblastos e na via de erupção. Ao analisar os rins encontraram expressão nos túbulos renais, concluindo que este gene é, provavelmente, uma quinase da via secretora e, as mutações em perda de função, podem causar patologias em que a fosforilação seria necessária para o desenvolvimento normal ou homeostase.

O prognóstico da SAINC ainda não está bem estabelecido, considerando a raridade da condição. Contudo, a NC, que é frequentemente assintomática, pode estar associada ou levar ao comprometimento da função renal. É necessário alertar os cirurgiões-dentistas que, ao diagnosticarem AI, principalmente do tipo hipoplásica, obtenham detalhada história familiar e médica do paciente, devendo referenciá-lo para exames médicos, incluindo testes da função renal e USS para detectar a presença de nefrocalcinose (KALA-VANI *et al.*, 2012). Pacientes portadores de AI, muitas vezes, procuram tratamento motivados pela aparência desagradável, mastigação deficiente e constrangimento social. A falta de uniformidade do plano oclusal, dentes ausentes, sensibilidade dentária, pobre estética dental e diminuição da dimensão vertical podem criar verdadeiros desafios protéticos (PAULA *et al.*, 2005).

2. ARTIGO

2.1 Síndrome da amelogênese imperfeita e nefrocalcinose: série de casos e novos insights*

Autores: Dourado M.R.¹, Kleta, R.², Coletta, R.D.³, Mesquita A.T.¹

¹ Oral Pathology, Department of Dentistry, Federal University of Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Diamantina, BR.

²Centre for Nephrology, University College London, London , UK;

³Department of Oral Diagnosis, School of Dentistry, State University of Campinas, Piracicaba, BR.

Resumo

Amelogênese imperfeita (AI) representa um complexo grupo de condições herdadas que provocam malformações do esmalte dentário em quantidade ou qualidade. Nefrocalcinose (NC) é a deposição de sais de cálcio no parênquima renal que pode, em longo prazo e, na ausência de tratamento adequado, levar à insuficiência renal crônica e outros distúrbios renais. Estas duas condições, simultaneamente, representam a síndrome da amelogênese imperfeita e nefrocalcinose (SAINC), ou síndrome esmalte renal, uma desordem autossômica recessiva causada por mutações no gene *FAM20A*, com poucos casos relatados na literatura. A proposta do presente estudo foi investigar as características da síndrome em indivíduos de quatro famílias brasileiras. Os pacientes foram submetidos ao exame clínico, radiográfico, investigação renal e exames hematológicos e de marcadores bioquímicos, sendo identificados nove pacientes portadores da síndrome. O exame clínico revelou dentes pequenos e de coloração amarelada, desgaste oclusal/incisal, retenção da dentição decídua e hiperplasia gengival. As radiografias mostraram lesões pericoronárias radiolúcidas envolvendo dentes permanentes impactados, ausência de contraste entre esmalte e dentina e calcificações intrapulpare. Os exames bioquímicos evidenciaram baixos níveis de vitamina D 25-OH, altos níveis de fosfatase alcalina e paratormônio em quatro pacientes. A ultrassonografia revelou nefrocalcinose bilateral, mas os pacientes ainda não demonstraram qualquer manifestação de doença renal. Outras características menos comuns, como deficiência mental e cistos renais foram encontradas, o que confirma o grande espectro de alterações fenotípicas desta síndrome, já descrita anteriormente. Estes resultados confirmam as variações fenotípicas da SAINC e reforçam a necessidade de investigação renal em pacientes com diagnóstico de AI, principalmente do tipo hipoplásica.

***Artigo a ser submetido ao *Journal of Dental Research*.**

Agradecimentos: Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (Fapemig)

Introdução

Amelogenese imperfeita (AI) é o termo que descreve um diverso grupo de desordens hereditárias, afetando a qualidade e quantidade do esmalte dentário (Elizabeth *et al.*, 2007). O esmalte pode se apresentar hipoplásico, hipomineralizado ou hipomaturado, dependendo da apresentação clínica do defeito e do estágio de formação do esmalte primariamente afetado (Kala Vani *et al.*, 2012). A AI tem sido frequentemente relatada como um achado isolado apresentando padrões de herança autossômico dominante, autossômico recessivo ou ligado ao cromossomo X (Ng & Messer, 2009). Ocasionalmente, esta desordem ocorre em associação a outras características, como parte de uma síndrome, como na síndrome da AI e nefrocalcinose (SAINC) (ou síndrome esmalte-renal – ERS OMIM 204690) (Martelli-Junior *et al.*, 2011).

A nefrocalcinose (NC) caracteriza-se pela precipitação de sais de cálcio no parênquima renal (Rajathi *et al.*, 2013) e, em alguns casos, fornece pista para uma desordem genética subjacente como hiperoxalúria, síndrome de Bartter ou acidose tubular renal distal (Kleta *et al.*, 2006; Vivante *et al.*, 2011). Em outros casos, NC se apresenta como efeito colateral de tratamento crônico com várias drogas, incluindo diuréticos e vitamina D. Em geral, a patogênese da NC não está ainda adequadamente elucidada, embora hipercalciúria pareça ser um achado comum (Jaureguiberry *et al.*, 2013). Porém, deve-se ressaltar que a hipercalciúria não é a única razão para presença de NC na SAINC, uma vez que foram relatados casos de irmãos apresentando hipocalciúria (Lubinsky *et al.*, 1985; Hall *et al.*, 1995; Normand De La Tranchade *et al.*, 2003).

A SAINC pode ser caracterizada pela presença de AI do tipo hipoplásica, calcificações intrapulpare, dentes permanentes impactados apresentando folículos pericoronários hiperplasiados, atraso na cronologia da erupção dentária, alargamento gengival e nefrocalcinose bilateral, embora as análises bioquímicas estejam tipicamente normais (MacGibbon 1972; Lubinsky *et al.*, 1985; Hall *et al.*, 1995; Wang *et al.*, 2013a). Análises recentes relacionaram o gene *FAM20A*, localizado no cromossomo 17q24.2, com a ocorrência de uma desordem recessiva, manifestando as mesmas características descritas acima, com exceção da NC, designada síndrome da AI e fibromatose gengival (SAIFG - OMIM 614253) (Martelli-Junior *et al.*, 2008; O'Sullivan *et al.*, 2011). Posteriormente, foi confirmado que diversos tipos de mutações neste mesmo gene estariam envolvidos na ocorrência da SAINC (Jaureguiberry *et al.*, 2013; Kantaputra *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2013a; Wang *et al.*, 2013b). Jaureguiberry *et al.* (2013) especulam que, todos os indivíduos com mutação bialélica em *FAM20A* irão, eventualmente, apresentar NC e, Kantaputra *et al.* (2013) sugerem que ambas as síndromes,

SAINC e SAIFG sejam, atualmente, a mesma entidade, com diferentes manifestações associadas com mutações em *FAM20A*.

A proposta do presente estudo é apresentar quatro famílias em que nove membros apresentaram as características típicas da SAINC, destacando o papel importante dos cirurgiões-dentistas em reconhecer, precocemente, esta importante condição que tem grande potencial de morbidade. Tratando-se de uma condição ainda pouco relatada, o melhor entendimento do fenótipo relacionado à SAINC pode trazer elucidacões, no que diz respeito à sua etiopatogênese, tratamento e prognóstico.

Materiais e Métodos

O estudo foi desenvolvido na Clínica de Estomatologia e Laboratório de Patologia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM. Um total de nove pacientes pertencentes a quatro diferentes famílias foram diagnosticados com a SAINC. A partir do paciente identificado, foram clinicamente avaliados os familiares próximos e então construídos os heredogramas para verificar o padrão de herança da referida síndrome.

Após minucioso exame clínico, os pacientes identificados com características orais da SAINC foram submetidos à avaliação radiográfica (radiografias panorâmicas e periapicais) e investigação renal, através de ultrassonografia (USS); exames hematológicos também foram solicitados, tais como: dosagens de cálcio, cálcio ionizado, fosfato, paratormônio, vitamina D formas 25OH e 1,25(OH)₂, fosfatase alcalina e creatinina; além dos exames de urina em 24 horas (cálcio, fosfato, creatinina, osmolaridade, gravidade específica e ritmo de filtração glomerular). Os diagnósticos da condição renal foram feitos por um nefrologista.

Os pacientes foram submetidos à reabilitação oral e, quando indicado, foram removidos dentes comprometidos ou inclusos, folículos pericoronários hiperplásicos, gengiva marginal e osso adjacente. Para análise microscópica, alguns dentes foram submetidos à desmineralização, e outros preparados para visualização em microscópio eletrônico de varredura. Os outros tecidos foram corados pela técnica de hematoxilina-eosina, para visualização em microscópio de luz.

Os resultados do perfil sócio-demográfico e clínico, assim como dos achados histopatológicos da SAINC, foram apresentados de forma descritiva. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFVJM, registro número 074/12. Todos os pacientes ou responsáveis assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Resultados

A SAINC foi diagnosticada em nove pacientes, sete do sexo masculino, entre 12 e 25 anos de idade (média de 16,4 anos). Os heredogramas das quatro famílias sugerem um padrão de transmissão autossômico recessivo, uma vez que as duas gerações anteriores não apresentavam o fenótipo característico da SAINC. Em sete pacientes, (três famílias) foi verificada a presença de consanguinidade entre os pais e avós dos indivíduos afetados (Figura 1). A história médica pregressa dos pacientes não revelou qualquer informação significativa, principalmente no que se refere aos distúrbios renais ou do sistema urinário. Dois dos pacientes avaliados (1.III-5 e 1.III-11) apresentaram deficiência mental e nível de cognição incompatível com suas idades.

Características clínicas

A Tabela 1 apresenta, de forma resumida, todas as características encontradas nos pacientes diagnosticados com a SAINC. Em geral, as características clínicas comuns a todos os pacientes foram: microdontia, dentes de coloração amarela/marrom, desgaste das superfícies oclusal ou incisal, retenção da dentição decídua, ausência de contato interproximal e hiperplasia gengival. Sete pacientes apresentaram maloclusões diversas, como perda da dimensão vertical, mordida aberta ou mordida cruzada (Figura 2A e B). As características apresentadas, segundo relato dos pacientes ou informação do seu dentista, se instalaram desde a dentição decídua, sendo estabelecido o diagnóstico presuntivo de amelogenese imperfeita.

Exames imaginológicos

Radiografias intraorais (panorâmica, oclusal e periapicais) e de crânio, além de USS renal, foram realizadas em cada caso. As alterações comuns a todos os pacientes foram: folículos pericoronários hiperplasiados, ausência de contraste (densidade) entre esmalte e dentina, camada fina de esmalte e ausência de anatomia regular nos dentes erupcionados, calcificações intrapulpares nos dentes erupcionados e impactados e contorno irregular do rebordo alveolar. Os pacientes apresentaram reabsorção externa em alguns dos dentes impactados e, em dois deles, houve reabsorção óssea periapical, sugerindo doença periodontal localizada, além de dentes impactados em localizações aberrantes, como ramo da mandíbula e

nas adjacências do seio maxilar (Figura 2C). As radiografias de crânio não apresentaram alterações significativas.

As USS renais foram realizadas em modo bidimensional, com equipamento dinâmico de varredura convexa, na frequência de 3,5Mhz. O parênquima renal se mostrou hiperecogênico em cinco casos (66%) e comumente foi encontrada indiferenciação corticomedular. Oito pacientes (89%) apresentaram NC bilateral com pontos de litíase de diversos comprimentos (Figura 2D e E). Um paciente (1.III-5) apresentou NC apenas no rim direito, dois pacientes apresentaram área cística situada contígua ao pólo inferior do rim esquerdo (2.III-1) e na porção cortical (1.III-11).

Exames Bioquímicos

Em relação aos exames de sangue e urina, não foram encontradas alterações significativas em cinco casos. Entretanto, conforme Tabela 1, em quatro casos foram constatadas as seguintes alterações:

<i>Paciente 1.III-11</i> (masculino, 14 anos)	Vitamina D 25OH = 27, 9 ng/mL (referência >30 ng/mL) Fosfato urina = 395mg/24hrs (referência 400-1300mg/24hrs)
<i>Paciente 2.III-3</i> (feminino, 13 anos)	Vitamina D 25OH = 23,3 ng/mL (referência >30 ng/mL) Cálcio ionizado = 1,15mmol/L (referência (1,20-1,35mmol/L)
<i>Paciente 3.III-4</i> (masculino, 12 anos)	Paratormônio = 62pg/mL (referência 4-58pg/mL)
<i>Paciente 4.III-1</i> (masculino, 13 anos)	Paratormônio = 70pg/mL (referência 4-58pg/mL) Fosfatase alcalina = 493 U/L (referência 75-390 U/L) Vitamina D 1,25(OH) ₂ = 80,0 pg/mL (referência 25,1-66,1 pg/mL)

Características microscópicas

A análise do tecido gengival revelou hiperplasia na região de epitélio pavimentoso estratificado paraqueratinizado, além de tecido conjuntivo fibroso. Grandes áreas de calcificação distrófica dispostas em lóbulos e circundadas por septos de tecido conjuntivo fibroso e, por vezes, infiltrado inflamatório crônico também foram visualizados (Figura 3A e B). Como esperado e demonstrado anteriormente nas radiografias, foram encontradas

calcificações intrapulpares na região coronária e radicular, por vezes obliterando o canal radicular (Figura 3C).

Nos folículos pericoronários foram visualizadas calcificações distróficas lobulares que pareciam se originar de pequenas ilhas de epitélio odontogênico espalhadas em estroma colagenoso. As ilhas de epitélio odontogênico apresentavam células vacuolizadas, provavelmente representando processo degenerativo (Figura 3D).

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos dentes extraídos revelou trincas em esmalte, áreas de deposição mineral irregular, ásperas, porosas e espaços vazios. Também foram verificadas calcificações intrapulpares (Figura 3E e F).

Ao diagnóstico, alguns pacientes já estavam em processo de reabilitação oral (devolução de função e estética) e os demais foram encaminhados para tratamento na própria UFVJM. Todos os pacientes foram encaminhados para acompanhamento nefrológico devido às alterações renais encontradas.

Discussão

O termo AI, geralmente se refere a malformações do esmalte que foram herdadas e que podem incluir outros efeitos locais, como atraso na erupção dentária e deformação radicular (Wiktop, 1988). Também, é utilizado para descrever este fenótipo em síndromes, como na SAINC (Wang *et al.*, 2013a), que é uma rara desordem autossômica recessiva, relatada pela primeira vez, em 1972 (MacGibbon, 1972). O caso apresentava dois irmãos com hipoplasia do esmalte, sendo que um deles faleceu aos 26 anos, por insuficiência renal como complicação da NC. Desde então, foram publicados outros 42 casos da síndrome, apresentando ou não consanguinidade (Lubinsky *et al.*, 1985; Hall *et al.*, 1995; Dellow *et al.*, 1998; Normand de La Tranchade *et al.*, 2003; Paula *et al.*, 2005; Hunter *et al.*, 2007; Elizabeth *et al.*, 2007; Kirzigolu *et al.*, 2009; Martelli-Junior *et al.*, 2011; Kala Vani *et al.*, 2012; Jaureguiberry *et al.*, 2013; Kantaputra *et al.*, 2013; Poornima *et al.*, 2013, Rajathi *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2013a). No presente estudo, a maioria dos casos (78%) foi associada com consanguinidade, enquanto dos 44 casos já publicados, apenas oito mostraram esta associação. (Dellow *et al.*, 1998; Paula *et al.*, 2005; Martelli-Junior *et al.*, 2011; Kala Vani *et al.*, 2012; Poornima *et al.*, 2013; Rajathi *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2013a). É importante salientar que os estudos com maior número de casos não abordaram a presença de consanguinidade nas famílias dos pacientes (Kirzigolu *et al.*, 2009; Jaureguiberry *et al.*, 2013).

A média de idade encontrada nesta série (16,4 anos) esteve em concordância com os relatos anteriores. Parece haver procura por um serviço especializado a partir dos 10 anos de idade, talvez porque a dentição decídua seja negligenciada e, na fase que seria de transição para a dentição permanente, esta não ocorre ou está atrasada, causando desconforto estético. Este é o principal motivo pelo qual os odontopediatras e pediatras devem ter conhecimento sobre a síndrome. Estes profissionais podem ser os primeiros a receber estes pacientes e devem saber reconhecer a condição ou referenciá-los. Neste estudo, a SAINC mostrou predileção pelo sexo masculino (sete dos nove casos). Dos pacientes analisados, a maioria correspondeu ao sexo masculino, dado discordante com o encontrado na literatura que mostrou proporção quase que de 1:1 (MacGibbon, 1972; Lubinsky *et al.*, 1985; Hall *et al.*, 1995; Dellow *et al.*, 1998; Normand de La Tranchade *et al.*, 2003; Paula *et al.*, 2005; Elizabeth *et al.*, 2007; Hunter *et al.*, 2007; Kirzigolu *et al.*, 2009; Martelli-Junior *et al.*, 2011; Kala Vani *et al.*, 2012; Jaureguiberry *et al.*, 2013; Kantaputra *et al.*, 2013; Poornima *et al.*, 2013, Rajathi *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2013a).

Relatos anteriores da SAINC compartilham características em comum, incluindo: falha ou atraso na erupção da dentição permanente, dentes decíduos retidos, agenesia de esmalte e calcificações pulpares. Hiperplasia gengival foi, por vezes, notada (Lubinsky *et al.*, 1985; Hall *et al.*, 1995; Normand de La Tranchade *et al.*, 2003; Paula *et al.*, 2005; Martelli-Junior *et al.*, 2011). Pacientes com AI apresentam tendência de atraso na erupção dentária, seis vezes maior, quando comparados a indivíduos não afetados, sendo que os casos mais severos ocorrem na AI do tipo hipoplásico (Seow, 1995). Yonemochi *et al.* (1998) estudaram hamartomas pericoronários em pacientes não-AI e sugeriram que a presença destas lesões pode induzir remodelação tecidual e resultar em fibrose adjacente, impedindo a erupção dentária.

A presença de anormalidades na forma dos dentes e de calcificações intrapulpares generalizadas sugere que a morfogênese e dentinogênese são também afetadas pela SAINC (Paula *et al.*, 2005). Relatos anteriores identificaram dentina reparativa e amorfa em calcificações intrapulpares de dentes irrompidos ou não (Martelli-Junior *et al.*, 2008). Alterações semelhantes também foram encontradas no presente estudo, sendo visualizada dentina irregular, com túbulos dilatados e cálculos intrapulpares apresentando tecido osteodentinóide. Estes achados sugerem que algumas das características associadas à AI resultam da formação anormal do esmalte, enquanto que a erupção anormal e as calcificações pulpares podem ocorrer como resultado de expressão da mutação genética em outras células, e não em ameloblastos. Recentes estudos têm demonstrado que a albumina e osteopontina,

proteínas envolvidas na mineralização dentária, também são expressas em tecido renal (Deutsch *et al.*, 2002; Butler *et al.*, 2003; Qin *et al.*, 2003; Paula *et al.*, 2005).

A análise histopatológica da gengiva e folículo dentário mostrou calcificações aparentemente distróficas, próximas às ilhas de restos epiteliais odontogênicos, achados esses que são semelhantes aos descritos por Paula *et al.* (2005) e Kantaputra *et al.* (2013). A hipótese é de que as células do epitélio odontogênico podem ter funções na formação desses corpos calcificados, mas posteriormente se degeneram e permanecem como restos epiteliais (Kantaputra *et al.*, 2013). Futuros estudos devem ser realizados para definir a natureza dessas calcificações.

A NC acompanha os achados orais da SAINC (Lubinsky *et al.*, 1985; Hall *et al.*, 1995; Normand de La Tranchade *et al.*, 2003). Embora os pacientes deste estudo não apresentassem distúrbios renais, outros casos progrediram para insuficiência renal (MacGibbon *et al.*, 1972; Lubinsky *et al.*, 1985; Dellow *et al.*, 1998) ou caracterizaram distúrbios renais tubulares (Fu *et al.*, 2006; Elizabeth *et al.*, 2007; Hunter *et al.*, 2007). Outras complicações relatadas foram infecções recorrentes (MacGibbon *et al.*, 1972; Lubinsky *et al.*, 1985; Dellow *et al.*, 1998), pielonefrite (Hall *et al.*, 1985), rim policístico e acidose tubular renal distal (Elizabeth *et al.*, 2007; Suda *et al.*, 2005), ocorrendo entre a segunda e terceira décadas de vida dos pacientes avaliados. Pacientes portadores da SAINC podem não ter complicações renais, até o final da infância ou início da idade adulta (Dellow *et al.*, 1998; Martelli-Junior *et al.*, 2011).

A despeito da típica ausência de alterações hematológicas ou em marcadores bioquímicos, casos anteriores apresentaram hipocalciúria e hipofosfatúria (Kala Vani *et al.*, 2012; Poornima *et al.*, 2013), fosfatase alcalina elevada (Paula *et al.*, 2005; Poornima *et al.*, 2013), baixos níveis de vitamina D 25-OH (Poornima *et al.*, 2013), e paratormônio elevado (Dellow *et al.*, 2005; Hunter *et al.*, 2007; Kantaputra *et al.*, 2013). Alterações nos níveis de fosfatase alcalina, vitamina D, paratormônio e fosfato na urina também foram encontrados neste estudo.

Causas anteriores de NC envolveram distúrbios epiteliais e paracelulares no transporte de cálcio, predominantemente causados por mutações em proteínas dos canais de cálcio (Shan *et al.*, 2009; Dimke *et al.*, 2011). Estes sistemas, ou reabsorvem cálcio filtrado a partir da urina através da célula renal tubular, ou liberam cálcio a partir da célula tubular nos compartimentos intersticiais. Quando há disfunção, o aumento do cálcio urinário precipita no interstício, resultando em NC, o que é invariavelmente acompanhado por hipercalcúria (Jaureguiberry *et al.*, 2013). Entretanto, este não parece ser o mecanismo pelo qual os pacientes desenvolvem NC nesta síndrome, uma vez que, pelo contrário, cinco relatos evidenciaram hipocalciúria em

seus pacientes (Dellow *et al.*, 1998; Normand de La Tranchade *et al.*, 2003; Kirzigolu *et al.*, 2009; Kala Vani *et al.*, 2012; Poornima *et al.*, 2013). Outra hipótese é de que a NC esteja associada ao aumento de urato ou oxalato, ou ainda à diminuição de inibidores da cristalização, como o citrato (Sayer *et al.*, 2004).

Kantaputra *et al.* (2013) verificaram maior ação promotora no crescimento de cristais de oxalato de cálcio (CaOx) em amostra de urina de pacientes com SAINC, quando comparados aos controles saudáveis. Os autores concluíram que a causa da NC está ligada à anormal produção e/ou excreção urinária de promotores de cálculo. Nos pacientes sindrômicos foi encontrada mutação genética em *FAM20A*, um gene codificador de quinases, o que não ocorreu entre os controles. Recentemente foram encontrados 20 diferentes tipos de mutações genéticas em *FAM20A* entre 25 portadores da SAINC (Jaureguiberry *et al.*, 2013). Os autores especulam que todos os indivíduos que apresentem mutação bialélica neste gene, irão eventualmente apresentar NC. A ausência de *FAM20A* nos túbulos renais pode evitar a fosforilação de proteínas que normalmente previnem a NC (Wang *et al.*, 2013b). Porém, ainda é cedo para implicar mutações em *FAM20A* na formação de cálculos renais, uma vez que sua formação e retenção envolvem fatores anatômicos e hidrodinâmicos (Tiselius *et al.*, 2011). Sabe-se que, sozinhos, os principais genes da NC (*VDR*, *CLCN5*, *CASR* e *CLDN16*) não levam à formação de sais de cálcio nos rins (Khan & Canales, 2009). A formação de cálculos renais provavelmente é resultado de efeito sinérgico da função alterada de vários genes (inclui-se o *FAM20A*) que predisõem ao aumento da suscetibilidade individual, acima do limiar da formação de cálculos (Kantaputra *et al.*, 2013). Neste estudo, a NC não esteve associada a alterações nos níveis de cálcio, reforçando a etiologia genética. A segunda parte desta investigação prevê análise genética dos pacientes afetados e familiares, especialmente no que se refere ao gene *FAM20A*.

Wang *et al.*, (2013b) avaliaram a expressão do *FAM20A* durante o desenvolvimento de dentes e rins de ratos, através de imunistoquímica, sendo demonstrada expressão em odontoblastos e ameloblastos durante a fase secretora, em tecido conjuntivo, dentro dos folículos dentários (acima das cúspides dos molares) e nos rins (com maior imunorreatividade para o córtex do que para a porção medular). Estes resultados indicam que mutações neste gene estão intimamente ligadas com as características encontradas na SAINC e na SAIFG. Atualmente, a única característica que diferencia as duas síndromes é a presença *sine qua non* de NC na SAINC. Há a hipótese de que as duas condições sejam a mesma entidade, com diferentes manifestações, associadas a mutações em *FAM20A* (Kantaputra *et al.*, 2013). Não se sabe sobre a idade em que a NC se desenvolve em pacientes com SAINC (Wang *et al.*,

2013b). Dentre os casos relatados de SAIFG, há apenas um, em que o paciente teve as funções renais investigadas, aos 27 anos, e foi negativo para NC (Wang *et al.*, 2013b). Logo, é provável que ambas representem um mesmo transtorno de desenvolvimento relacionado aos processos de biomineralização, intermediado por mutações no gene *FAM20A*. Futuros estudos devem esclarecer sobre a participação de outros genes neste padrão de malformações e se defeitos em *FAM20A* não foram previamente associados a NC devido à perda de penetrância, apresentação subclínica ou início tardio ((Wang *et al.*, 2013a).

Na presente série, a SAINC foi associada à deficiência mental em dois pacientes da Família 1. Em nenhum dos casos encontrados na literatura foi descrita esta associação. A característica pode englobar o fenótipo da síndrome, ou apenas representar coexistência de condições, já que deficiência mental é uma característica comum em casamentos consanguíneos (Abdulrazzq *et al.*, 1997), como no caso do paciente 1.III-5 deste estudo. Martelli-Junior *et al.* (2008) relataram uma associação entre deficiência mental e fibromatose gengival, dentes permanentes não erupcionados com lesões pericoronárias, calcificações intrapulpares, microdontia e retenção de dentes decíduos. A paciente era filha de casamento consanguíneo e outros três irmãos apresentavam deficiência mental isolada, porém a USS renal não foi realizada.

Dada a natureza precoce e grave dos defeitos dentários em pacientes com mutação bialélica em *FAM20A*, o diagnóstico inicial é susceptível de ser feito antes de a NC ser detectada (Wang *et al.*, 2013a). Devido à importância do envolvimento renal e da morbidade/mortalidade relacionada à doença, USS renal deve ser realizada em todos os pacientes diagnosticados com AI, especialmente aqueles que apresentem o tipo hipoplásico, atraso na erupção da dentição permanente, calcificações intrapulpares e hiperplasia gengival.

Os achados deste estudo confirmam o amplo espectro do fenótipo relacionado à SAINC. Cinco dos casos aqui apresentados pertenciam a uma família com casamentos consanguíneos em duas gerações. Certamente este tipo de casamento favorece o surgimento da síndrome em gerações posteriores e justifica a ocorrência de vários casos em uma mesma região geográfica, como neste estudo.

Referências

- Abdulrazzaq M, Bener A, al-Gazali LI, al-Khayat AI, Mixaleff R, Gaber T (1997). A study of possible deleterious effects of consanguinity. *Clin Genet*, 51: 17-173, 1997.
- Butler WT, Brunn JC, Oin C. (2003). Dentin extracellular matrix (ECM) proteins: comparison to bone ECM and contribution to dynamics of dentinogenesis. *Connect Tissue Res* 44:171-8.
- Dellow EL, Harley KE, Unwin RJ, Wrong O, Winter GB, Parkins BK (1998). Amelogenesis imperfecta, nephrocalcinosis, and hypocalciuria syndrome in two siblings from a large family with consanguineous parents. *Nephrol Dial Transplant* 13:3193–3196.
- Deutsch D, Leiser Y, Shay B, Fermon E, Taylor A, Rosenfeld E, *et al* (2002). The human tuftelin gene and the expression of tuftelin in mineralizing and nonmineralizing tissues. *Connect Tissue Res* 43: 425-34.
- Dimke H, Hoenderop JG, Bindels RJ (2011). Molecular basis of epithelial Ca²⁺ and Mg²⁺ transport: insights from the TRP channel family. *J Physiol*, 589:1535–1542.
- Elizabeth J, Priya EL, Umadevi KMR, Ranganathan K (2007). Amelogenesis imperfecta with renal disease – a report of two cases. *J Oral Pathol Med* 36:625–628.
- Fu XJ, Nozu K, Goji K, Ikeda K, Kamioka I, Fujita T, *et al* (2006). Enamel-renal syndrome associated with hypokalaemic metabolic alkalosis and impaired renal concentration: a novel syndrome? *Nephrol Dial Transplant* 21:2959-962.
- Hall RK, Phakey P, Palamara J, McCredie DA (1995). Amelogenesis imperfect and nephrocalcinosis syndrome. Case studies of clinical features and ultrastructure of tooth enamel in two siblings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 79:583–592.
- Hunter L, Addy LD, Knox J, Drage N (2007). Is amelogenesis imperfecta an indication for renal examination? *Int J Paediatr Dent* 17:62–65.
- Jaureguiberry G, Dure-Molla M, Parry D, Quentric M, Himmerkus N, Koike T, *et al* (2013). Nephrocalcinosis (Enamel Renal Syndrome) Caused by Autosomal Recessive FAM20A Mutations. *Nephron Physiol* 122:1-6.
- Kala Vani SV, Varsha M, Uday Sankar Y (2012). Enamel renal syndrome: a rare case report. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry* 30(1).
- Kantaputra PN, Kaewgahya M, Khemaleelakul U, Dejkharnon P, Sutthimethakorn S, Thongboonkerd V, *et al* (2013). Enamel-renal-gingival syndrome and FAM20A mutations. *Am J Med Genet Part A*:1-9.
- Kirzigolu KZ, Ulu KG, Sezer MT, Yüksel S (2009). The relationship of amelogenesis imperfecta and nephrocalcinosis syndrome. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 14(11):579-82.

- Khan SR, Canales BK (2009). Genetic basis of renal cellular dysfunction and the formation of kidney stones. *Urol Res*, 37:169–180.
- Kleta R, Bockenhauer D (2006). Bartter syndromes and other salt-losing tubulopathies. *Nephron Physiol*, 104:73-80.
- Lubinsky M, Angle C, Marsh PW, Witkop CJ Jr (1985). Syndrome of amelogenesis imperfecta, nephrocalcinosis, impaired renal concentration, and possible abnormality of calcium metabolism. *Am J Med Genet* 20:233-243.
- MacGibbon D (1972). Generalized enamel hypoplasia and renal dysfunction. *Aust Dent J* 17: 61-63.
- Martelli-Junior H, dos Santos-Neto PE, de Aquino SN, de Oliveira-Santos CC, Borges SP, Oliveira EA, *et al* (2011). Amelogenesis imperfecta and nephrocalcinosis syndrome: A case report and review of the literature. *Nephron Physiol* 118:62–65, 2011.
- Martelli-Junior H, Bonan PRF, dos Santos LAN, Santos SMC, Cavalcanti MG, Coletta RD. *et al* (2008). Case reports of a new syndrome associating gingival fibromatosis and dental abnormalities in a consanguineous family. *J Periodontol* 79:1287–1296.
- Ng FK, Messer LB (2009). Dental management of amelogenesis imperfecta patients: a primer on genotype-phenotype correlations. *Pediatr Den* 31:20-30.
- Normand de La Tranchade, I, Bonarek H, Marteau JM, Boileau MJ, Nancy J (2003). Amelogenesis imperfecta and nephrocalcinosis: a new case of this rare syndrome. *J Clin Pediatr Dent* 27:171–175.
- O’Sullivan J, Bitu CC, Daly SB, Urquhart JE, Barron MJ, Bhaskar SS, *et al* (2011). Whole-exome sequencing identifies FAM20A mutations as a cause of Amelogenesis Imperfecta and Gingival Hyperplasia Syndrome. *Am J Hum Genet* 88:616-620.
- Paula LM, Melo NS, Silva Guerra EN, Mestrinho DH, Acevedo AC (2005). Case report of a rare syndrome associating amelogenesis imperfecta and nephrocalcinosis in a consanguineous family. *Arch Oral Biol* 50:237–242.
- Poornima P, Katkade S, Mohamed RN, Mallikarjuna R. (2013). Amelogenesis imperfecta with bilateral nephrocalcinosis. *BMJ Case Rep*.
- Qin C, Brunn JC, Cadena E, Ridall A, Butler WT (2003). Dentin sialoprotein in bone and dentin sialophosphoprotein gene expressed by osteoblasts. *Connect Tissue Res* 44: 179-83.
- Rajathi JM, Austin RD, Mathew P (2013). McGibbon Syndrome: A report of three siblings. *Indian Journal of Dental Research* 24(4):511-514.
- Sayer JA, Carr G, Simmons NL (2004). Nephrocalcinosis: molecular insights into calcium precipitation within the kidney. *Clin Sci* 106(6): 549-61.

- Seow WK (1995). Dental development in amelogenesis imperfect: a controlled study. *Pediatr Dent* 17:2-30.
- Shan Q, Himmerkus N, Hou J, Goodenough DA, Bleich M (2009). Insights into driving forces and paracellular permeability from claudin-16 knockdown mouse. *Ann NY Acad Sci* 1165:148–151.
- Suda N, Kitahara Y, Ohyama K (2006). A case of amelogenesis imperfecta, cleft lip and palate and polycystic kidney disease. *Orthod Craniofacial Res* 9:52–56.
- Tiselius HG (2011). A hypothesis of calcium stone formation: An interpretation of stone research during the past decades. *Urol Res* 39:231–243.
- Vivante A, Lotan D, Pode-Shakked N, Landau D, Svec P, Nampoothiri S, *et al* (2011). Familial autosomal recessive renal tubular acidosis: importance of early diagnosis. *Nephron Physiol* 119: 31-39.
- Wang SK, Aref P, Hu Y, Milkovich RN, Simmer JP, Simmer JP, *et al* (2013a). FAM20A Mutations Can Cause Enamel-Renal Syndrome (ERS). *PLoS Genet* 9(2)
- Wang SK, Reid BM, Dugan SL, Roggenbuck JA, Read L, Aref P, *et al* (2013b). FAM20A Mutations Associated with Enamel Renal Syndrome. *Journal of Dental Research*, acessado em Nov/2013. Disponível em <http://jdr.sagepub.com/content/early/2013/11/06/0022034513512653>.
- Wiktop Jr CJ (1988). Amelogenesis imperfecta, dentinogenesis imperfecta and dentin dysplasia revisited: problems in classification. *J Oral Pathol* 17:547–553.
- Yonemochi H, Noda T, Saku T (1998) Pericoronal hamartomatous lesions in the opercula of teeth delayed in eruption: an immunohistochemical study of the extracellular matrix. *J Oral Pathol Med* 27:441-52.

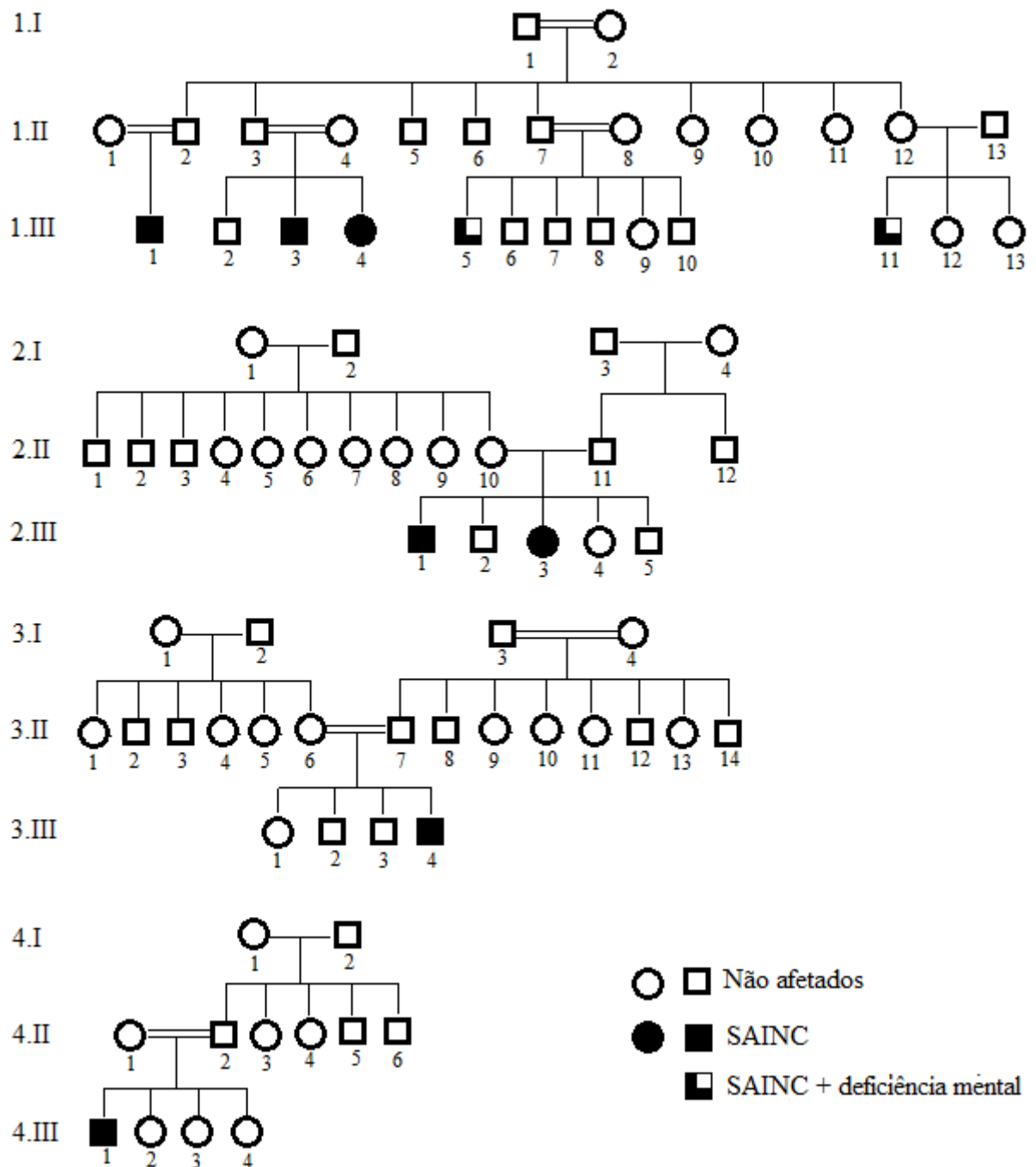


Figura 1. Linhagem das famílias avaliadas. Pacientes afetados são representados pelos símbolos preenchidos (círculos denotam sexo feminino e quadrados sexo masculino), conforme legenda.

Tabela 1. Características clínicas, imaginológicas e bioquímicas de pacientes portadores da síndrome da amelogenese imperfeita e nefrocalcinose.

Pacientes ^a	1.III-1 (M-18)	1.III-3 (M-20)	1.III-4 (F-18)	1.III-5 (M-25)	1.III-11 (M-14)	2.III-1 (M-15)	2.III-3 (F-13)	3.III-4 (M-12)	4.III-1 (M-13)	Total
Microdontia	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9
Dentes amarelados	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9
Esmalte translúcido	-	-	-	-	+	+	-	-	+	3
Giroversão	-	-	-	-	-	+	-	-	-	1
Superfície rugosa	+	+	+	+	-	+	-	+	-	6
Desgaste oclusal/incisal	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9
Retenção de decíduos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9
Maloclusão	+	+	+	+	+	+	-	+	-	7
Ausência de contato interproximal	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9
Hiperplasia gengival	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9
Permanentes impactados	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9
Dentes com localização ectópica	+	+	+	+	+	-	+	+	-	7
Lesão pericoronária radiolúcida	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9
Ausência de contraste entre esmalte/dentina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9
Calcificações intrapulpares	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9
Reabsorção dentária externa	+	+	+	-	+	-	-	-	-	4
Reabsorção óssea localizada	+	-	-	+	-	-	-	-	-	2
Exames bioquímicos	-	-	-	-	+	-	+	+	+	4
Nefrocalcinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9
Outras alterações	-	-	-	DM/CR*	DM	CR	-	-	-	3

^aPacientes denominados conforme código do heredograma. Entre parênteses estão indicados o sexo (M: masculino; F: feminino) e a idade em anos.

* DM: Deficiência mental/ CR: Cisto renal.

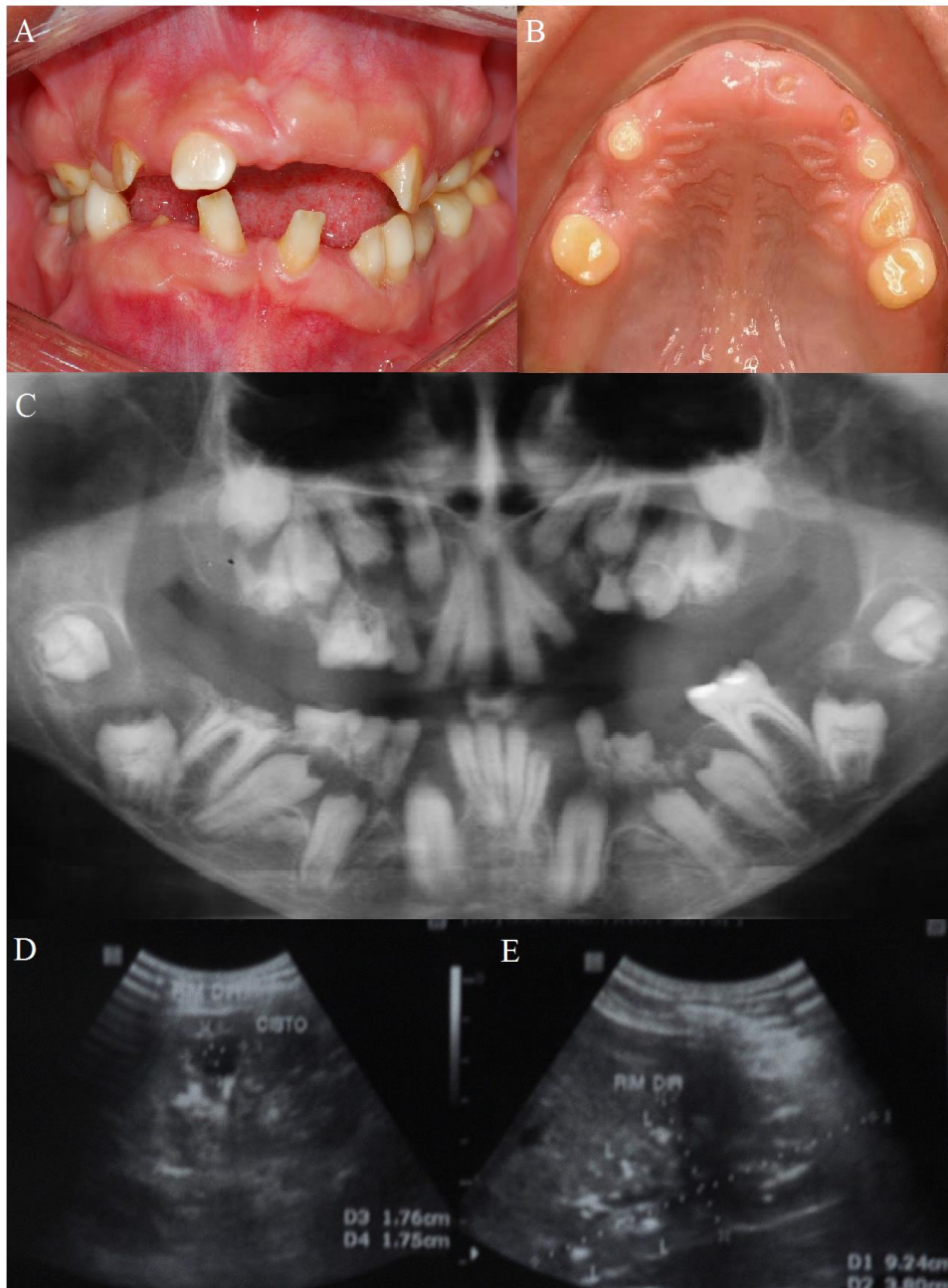


Figura 2. (A) Vista frontal do paciente 2.III-11 em oclusão evidenciando ausências dentárias, rebordo alveolar irregular e prejuízo estético. (B) A vista oclusal superior do paciente 1.III-11 revela hiperplasia gengival, microdontia, esmalte translúcido e desgaste oclusal. (C) Radiografia panorâmica do paciente 1.III-3 mostrando impactação de dentes permanentes em posições aberrantes e folículos pericoronários hiperplasiados, retenção de dentes decíduos e calcificações pulpares. (D) Ultrassonografia renal paciente 1.III-11 demonstrando área cística em um dos rins (E) e pontos de calcificação compatíveis com nefrocalcinose.

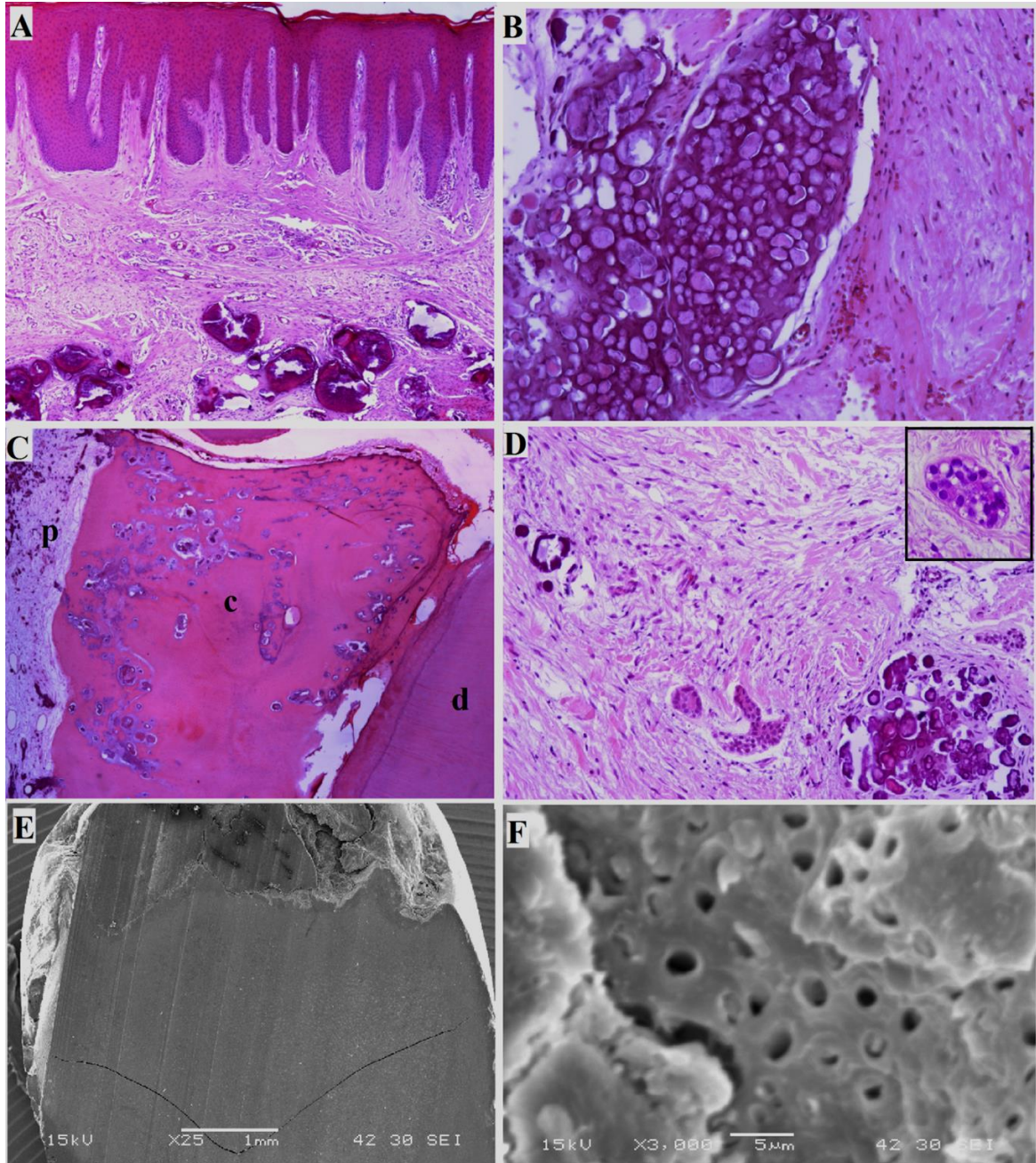


Figura 3. (A; HE, Aumento Original 5x) Tecido gengival apresentando hiperplasia epitelial e áreas com lóbulos de calcificação, possivelmente distrófica. (B; Aumento Original 20x) Em outra região do tecido gengival podem ser observadas calcificações lobuladas em profundidade no tecido conjuntivo, com aspecto osteodentinóide. (C; Aumento Original 10x) Imagem microscópica de molar decíduo apresentando calcificação intrapulpar (d: dentina; c: cálculo; p: remanescente pulpar). (D; HE, Aumento Original 20x) Folículo pericoronário apresentando lóbulos de calcificação distrófica em meio a um estroma fibroso e, em destaque, ilha de epitélio odontogênico mostrando células vacuolizadas, sugerindo degeneração (Aumento Original 40x). (E; Aumento Original 25x) A microscopia eletrônica de varredura revelou depósito irregular de esmalte, com presença de linhas de fratura na região coronária, (F; Aumento 25x) além de túbulos dentinários dilatados.

3. CONCLUSÕES

1. As características evidenciadas nesta série confirmam o amplo espectro do fenótipo relacionado à SAINC. Porém, algumas delas se repetiram em todos os pacientes: AI hipoplásica, atraso na erupção de dentes permanentes, hiperplasia gengival, calcificações pulpares, dentes permanentes impactados com folículos pericoronários hiperplasiados e NC. A delimitação de sinais característicos da síndrome é importante para o diagnóstico diferencial de outras síndromes.

2. Nesta série, a NC foi descoberta através de exames de imagem, e não devido a histórico de distúrbios renais próprios ou na família. As anormalidades dentárias encontradas na SAINC aparecem antes de qualquer evidência de doença renal e, raramente USS renal é realizada em pacientes com AI. Logo, há grande evidência de que esta síndrome tenha sido e, ou esteja sendo subdiagnosticada como AI hipoplásica.

3. As análises microscópicas do tecido gengival revelaram calcificações diversas de natureza incerta. Novos estudos são necessários no sentido de investigar a origem destes corpos calcificados, auxiliando no entendimento da patogênese relacionada à SAINC.

4. O estudo apresentou quatro famílias com membros afetados que residiam em uma mesma região geográfica. Provavelmente, há ancestralidade em comum entre os pacientes afetados, com herança reforçada pela presença de casamentos consanguíneos. Características incomuns como deficiência mental e cistos renais foram aqui descritas e, relatos de novos casos se fazem necessários, para confirmar a inclusão destes no fenótipo da SAINC ou se representam achados isolados.

REFERÊNCIAS

- ABDU LRAZZAQ, M. *et al.* A study of possible deleterious effects of consanguinity. **Clin Genet**, v.51, p.17-173, 1997.
- ALDRED, M.J. *et al.* Molecular analysis for genetic counselling in amelogenesis imperfect. **Oral Diseases**, v.8, p.249–253, 2002.
- BACKMAN, B.; HOLM, A.K. Amelogenesis imperfecta: prevalence and incidence in a northern Swedish county. **Community Dent, Oral Epidemiol.**,v.14, p.43-47, 1986.
- BAILLEUL-FORESTIER, I. *et al.* The genetic basis of inherited anomalies of the teeth. Part 2: Syndromes with significant dental involvement. **European Journal of Medical Genetics**, v. 51, p.383-408, 2008a.
- BAILLEUL-FORESTIER, I. *et al.* The genetic basis of inherited anomalies of the teeth: Part 1: Clinical and molecular aspects of non-syndromic dental disorders. **European Journal of Medical Genetics**, v. 51, p.273-291, 2008b.
- BUTLER, W.T.; BRUNN, J.C.; QIN, C. Dentin extracellular matrix (ECM) proteins: comparison to bone ECM and contribution to dynamics of dentinogenesis. **Connect Tissue Res**, v.44, p.171-8, 2003.
- CHAUDHARY, M. *et al.* Amelogenesis imperfecta: Report of a case and review of literature. **J Oral Maxillofac Pathol**, v.13, p.70-7, 2009.
- CHO, S.H. *et al.* Novel FAM20A Mutations in Hypoplastic Amelogenesis Imperfecta. **Human Mutation**, v. 33, n.1, p.91–94, 2012.
- COBOURNE, M.T.; SHARPE, P. T. Diseases of the tooth: the genetic and molecular basis of inherited anomalies affecting the dentition. **Wiley Interdiscip Rev Dev Biol**, v.2, n.2, p.183-212, 2013.
- CRAWFORD, P.J.; ALDRED, M.; BLOCH-ZUPAN, A. Amelogenesis imperfecta. **Orphanet J Rare Dis**, v.2, p.17-28, 2007.
- DELLOW, E.L. *et al.* Amelogenesis imperfecta, nephrocalcinosis, and hypocalciuria syndrome in two siblings from a large family with consanguineous parents. **Nephrol Dial Transplant**, v. 13, p.3193–3196, 1998.
- DEUTSCH, D. *et al.* The human tuftelin gene and the expression of tuftelin in mineralizing and nonmineralizing tissues. **Connect Tissue Res**, v.43, p.425-34, 2002.
- DIMKE, H.; HOENDEROP, J.G.; BINDELS, R.J. Molecular basis of epithelial Ca²⁺ and Mg²⁺ transport: insights from the TRP channel family. **J Physiol**, v.589, p.1535–1542, 2011.
- ELIZABETH, J. *et al.* Amelogenesis imperfecta with renal disease – a report of two cases. **J Oral Pathol Med**, v.36, p.625–628, 2007.

EVAN, A.P.; UNWIN, R.J.; WILLIAMS, J.C.JR. Renal stone disease: a commentary on the nature and significance of randall's plaque. **Nephron Physiol**, v.119, p. 49-53, 2011.

FU, X.J. *et al.* Enamel-renal syndrome associated with hypokalaemic metabolic alkalosis and impaired renal concentration: a novel syndrome? **Nephrol Dial Transplant**, v.21, p.2959-962, 2006.

GOLDBERG, M. *et al.* Dental mineralization, **Int. J. Dev. Biol.**, v.39, p.93-110, 1995.

GUPTA, S.K. *et al.* Prevalence and distribution of selected developmental dental anomalies in an Indian population. **J Oral Sci.**, v.53, n.2, p.231-8, 2011.

HALL, R. K. *et al.* Amelogenesis imperfect and nephrocalcinosis syndrome. Case studies of clinical features and ultrastructure of tooth enamel in two siblings. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.79, p.583–592, 1995.

HUNTER, L. *et al.* Is amelogenesis imperfecta an indication for renal examination? **Int J Paediatr Dent**, v.17, p.62–65, 2007.

JAUREGUIBERRY, G. *et al.* Nephrocalcinosis (Enamel Renal Syndrome) Caused by Autosomal Recessive FAM20A Mutations. **Nephron Physiol**, v.122, p.1-6, 2013.

KALA-VANI, S.V.; VARSHA, M.; UDAY-SANKAR, Y. Enamel renal syndrome: a rare case report. **Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry**, v.30, n.2, 2012.

KANTAPUTRA, P.N. *et al.* Enamel-renal-gingival syndrome and FAM20A mutations. **Am J Med Genet Part A**, p.1-9, 2013.

KHAN, S.R.; CANALES, B.K. Genetic basis of renal cellular dysfunction and the formation of kidney stones. **Urol Res**, v.37, p.169–180, 2009.

KIRZIGOLU, K.Z. *et al.* The relationship of amelogenesis imperfecta and nephrocalcinosis syndrome. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal.**, v.14, n.11, p.579-82, 2009.

KLETA, R.; BOCKENHAUER, D. Bartter syndromes and other salt-losing tubulopathies. **Nephron Physiol**, v.104, p73-80, 2006.

KOIKE, T. *et al.* FAM20B is a kinase that phosphorylates xylose in the glycosaminoglycan-protein linkage region. **Biochem J**, v.421, p.157-162, 2009.

LACRUZ, R.S. *et al.* Identification of novel candidate genes involved in mineralization of dental enamel by genome-wide transcript profiling. **J Cell Physiol.**, 2011.

LUBINSKY, M. *et al.* Syndrome of amelogenesis imperfecta, nephrocalcinosis, impaired renal concentration, and possible abnormality of calcium metabolism. **Am J Med Genet**, v.20, p.233-243, 1985.

LYKOGEOGOS, T. *et al.* Unusual manifestations in Xlinked amelogenesis imperfecta. **Int J Paediatr Dent**. v.13, n.5, p.356-61, 2003.

- MACGIBBON, D. Generalized enamel hypoplasia and renal dysfunction. **Aust Dent J**, v.17, p.61-63, 1972.
- MAHONEY, E.K. *et al.* Mechanical properties and microstructure of hypomineralized enamel of permanent teeth. **Biomaterials**, v.25, p. 5091-100, 2003.
- MARKS, C.S.JR. The basic and applied biology of tooth eruption. **Connect Tissue Res**, v.32, p.149-57, 1995.
- MARTELLI-JUNIOR, H. *et al.* Amelogenesis imperfecta and nephrocalcinosis syndrome: A case report and review of the literature. **Nephron Physiol**, v.118, p.62–65, 2011.
- MARTELLI-JUNIOR, H.*et al.* Case reports of a new syndrome associating gingival fibromatosis and dental abnormalities in a consanguineous family. **J Periodontol**, v.79, p.1287–1296, 2008.
- MEHTA, D.N.; SHAH, J.; THAKKAR, B. Amelogenesis imperfecta: Four case reports. **J Nat Sci Biol Med**, v.4, n.2, p.462–465, 2013.
- MICHAELIDES, M. *et al.* An autosomal recessive cone-rod dystrophy associated with amelogenesis imperfecta. **J Med Genet**, v.41, p.468-73, 2004.
- MUTO, T. *et al.* Novel genetic linkage of rat Sp6 mutation to amelogenesis imperfect. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, v.7, n.34, 2012.
- NG, F.K.; MESSER, LB. Dental management of amelogenesis imperfecta patients: a primer on genotype-phenotype correlations. **Pediatr Dent**, v..31, p.20-30, 2009.
- NORMAND DE LA TRANCHADE, I. *et al.* Amelogenesis imperfecta and nephrocalcinosis: a new case of this rare syndrome. **J Clin Pediatr Dent**, v.27, p.171–175, 2003.
- O’SULLIVAN, J. *et al.* Whole-exome sequencing identifies FAM20A mutations as a cause of Amelogenesis Imperfecta and Gingival Hyperplasia Syndrome. **Am J Hum Genet**, v.88, p.616-620, 2011.
- PATIL, P.G.; PATIL, S.P. Amelogenesis imperfecta with multiple impacted teeth and skeletal class III malocclusion: Complete mouth rehabilitation of a young adult. **J Prosthet Dent**, 2013. In press
- PAULA, L.M. *et al.* Case report of a rare syndrome associating amelogenesis imperfecta and nephrocalcinosis in a consanguineous family. **Arch Oral Biol**, v.50, p.237–242, 2005.
- PHAKEY, P. *et al.* Ultrastructural study of tooth enamel with amelogenesis imperfect in AI-nephrocalcinosis syndrome. **Connect Tissue Res**, v.32, p.253-259, 1995.
- POORNIMA, P. *et al.* Amelogenesis imperfecta with bilateral nephrocalcinosis. **BMJ Case Rep**, 2013.
- QIN, C.*et al.* Dentin sialoprotein in bone and dentin sialophosphoprotein gene expressed by osteoblasts. **Connect Tissue Res**, v.44, p.179-83, 2003.

- RAJATHI, J.M.; AUSTIN, R.D.; MATHEW, P. McGibbon Syndrome: A report of three siblings. **Indian Journal of Dental Research**, v.24, n.4, p.511-514, 2013.
- SAYER, J.A.; CARR, G.; SIMMONS, N.L. Nephrocalcinosis: molecular insights into calcium precipitation within the kidney. **Clin Sci**, v.106, n.6, p.549-61, 2004.
- SEOW, W.K. Dental development in amelogenesis imperfect: a controlled study. **Pediatr Dent**, v.17, p.2-30, 1995.
- SHAN, Q. *et al.* Insights into driving forces and paracellular permeability from claudin-16 knockdown mouse. **Ann NY Acad Sci**, v.1165, p.148–151, 2009.
- SHARPE, P.T. Neural crest and tooth morphogenesis. **Adv. Dent. Res**, v. 15, p.4-7, 2001.
- SIMPSON, M.A. *et al.* Mutations in FAM20C are associated with lethal osteosclerotic bone dysplasia (Raine syndrome), highlighting a crucial molecule in bone development. **Am J Hum Genet**, v.81, p.906-912, 2007.
- SIMPSON, M.A. *et al.* Scheuerle Mutations in FAM20C also identified in non-lethal osteosclerotic bone dysplasia. **Clin Genet**, v.75, p.271-276, 2009.
- SUDA, N.; KITAHARA, Y.; OHYAMA, K. A case of amelogenesis imperfecta, cleft lip and palate and polycystic kidney disease. **Orthod Craniofacial Res**, v. 9, p.52–56, 2006.
- SUNDELL, S.; KOCH, G. Hereditary amelogenesis imperfecta. I. Epidemiology and clinical classification in a Swedish child population. **Swed. Dent. J.**, v.9, p.157-169, 1985.
- TAGLIABRACCI, V.S. *et al.* Secreted kinase phosphorylates extracellular proteins that regulate biomineralization. **Science**, v.336, p.1150-1153, 2012.
- THESLEFF, I. Epithelial-mesenchymal signalling regulating tooth morphogenesis. **Journal of Cell Science**, v.116, p.1647-1648, 2003.
- TISELIUS, H.G. A hypothesis of calcium stone formation: An interpretation of stone research during the past decades. **Urol Res**, v.39, p.231–243, 2011.
- URZUA B. *et al.* Defining a new candidate gene for amelogenesis imperfecta: from molecular genetics to biochemistry. **Biochem Genet**, v.49, p. 104–121, 2011.
- VIVANTE, A. *et al.* Familial autosomal recessive renal tubular acidosis: importance of early diagnosis. **Nephron Physiol**, v.119, p31-39, 2011.
- VOGEL, P. *et al.* Amelogenesis imperfect and other biomineralization defects in Fam20a and Fam20c null mice. **Vet Pathol**, v.49, p.998–1017, 2012.
- WANG, S. *et al.* FAM20A Mutations Can Cause Enamel-Renal Syndrome (ERS). **PLoS Genet**, v.9, n.2, 2013a.

WANG, S.K. *et al.* FAM20A Mutations Associated with Enamel Renal Syndrome. **Journal of Dental Research**, acessado em Nov/2013b. Disponível em <http://jdr.sagepub.com/content/early/2013/11/06/0022034513512653>.

WIKTOP JR, C.J. Amelogenesis imperfecta, dentinogenesis imperfecta and dentin dysplasia revisited: problems in classification. **J Oral Pathol**, v.17, p.547–553, 1988.



WISE, G.E.; FRAZIER-BOWERS, S.; D’SOUZA, R.N. Cellular, molecular, and genetic determinants of tooth eruption. **Crit Rev Oral Biol Med.**, v.13, n.4, p.323-34, 2002.

XIAO, J. Crystal structure of the Golgi casein kinase. **PNAS**, v.110, n.26, p.10574-79, 2013.

YONEMOCHI, H.; NODA, T.; SAKU, T. Pericoronal hamartomatous lesions in the opercula of teeth delayed in eruption: an immunohistochemical study of the extracellular matrix. **J Oral Pathol Med**, v.27, p.441-52, 1998.

ANEXOS

1. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa - UFVJM

	Comitê de Ética em Pesquisa	
PARECER CONSUBSTANCIADO		Nº de protocolo no Comitê: 074/12
X PROJETO DE PESQUISA		
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO		

I - Identificação:

- Título do projeto:** Estudo clínico e genético de indivíduos afetados pela síndrome da amelogenese imperfeita e nefrocalcinose
- Pesquisador responsável:** Ana Terezinha Marques Mesquita (Doutora)
- Instituição responsável pela realização:** UFVJM
- Instituição/Local onde se realizará:** Clínica de Estomatologia da Faculdade de Odontologia da UFVJM.
- Área de Concentração:** Saúde - 4.02
- Data de entrada no CEP:** 03/10/2012, 1ª resubmissão em 20/12/2012

II - Objetivos:

Objetivo Geral: Delinear as características clínicas, radiográficas, histopatológicas e alterações genéticas em pacientes portadores da síndrome da nefrocalcinose e amelogenese imperfeita.

Objetivos específicos:

- Identificar mutações em pacientes portadores da síndrome da AI e nefrocalcinose através da análise das regiões codificantes dos genes Homeobox *DLX3* e *MSX2*;
- Correlacionar as mutações identificadas com os fenótipos das famílias afetadas pela síndrome e
- Analisar componente ultraestrutural dos dentes através de microscopia eletrônica de varredura.

III- Sumário do projeto:

Descrição e caracterização da amostra: Os indivíduos serão divididos em três grupos. **No Grupo I** serão incluídos dez pacientes até o momento diagnosticados com a síndrome da amelogenese imperfeita e nefrocalcinose da Clínica de Estomatologia da UFVJM, com idades variando entre 13 e 23 anos. Uma vez que estes pacientes já estão sendo acompanhados na Clínica de Estomatologia, os mesmos serão contactados pelo registro de prontuários e então convidados a participar desta pesquisa durante a consulta de retorno. O **Grupo II** será constituído de dez indivíduos portadores de amelogenese imperfeita isolada, ou seja, sem alterações renais ou outras alterações sistêmicas. Na tentativa de pareamento por idade e sexo com o primeiro grupo, para o grupo II serão selecionados indivíduos das Clínicas de Odontologia da UFVJM, contactados através do registro de prontuários, e então convidados a participar desta pesquisa durante a consulta de retorno. Para o **Grupo III** serão selecionados dez indivíduos saudáveis e sem parentesco com indivíduos afetados, a fim de compor grupo controle. Para este grupo alunos do curso de Odontologia da UFVJM serão convidados a participar por livre e espontânea vontade, durante as Clínicas ou aulas da disciplina de Estomatologia. Para conseguir o pareamento por idade e sexo, também os pacientes das Clínicas de Odontologia que já estiverem em tratamento serão abordados com autorização dos responsáveis pelo atendimento. Neste momento serão explicados os propósitos da pesquisa, esclarecidas as dúvidas e, se assim concordar, o paciente assinará o TCLE, podendo retirar seu consentimento a qualquer momento anterior à publicação dos resultados. Para os pacientes menores de idade, um Termo específico deverá ser assinado pelo seu responsável legal.

 Critérios de inclusão e exclusão:

Grupo I: Os critérios de **inclusão** para este grupo serão definidos pelo consentimento em participar da pesquisa e diagnóstico definitivo da síndrome da amelogenese imperfeita e nefrocalcinose através de exame clínico (diagnóstico de amelogenese imperfeita, padrão de irrupção dentária desregulado, hiperplasia gengival), exames radiográficos (verificação de calcificações intrapulpare e lesões pericoronárias radiolúcidas) e ultrassonografia renal (nefrocalcinose renal bilateral). Os critérios de **exclusão** consistirão no não consentimento para participação da pesquisa e na ausência de diagnóstico definitivo.

Grupo II: Os critérios de **inclusão** para este grupo serão definidos pelo consentimento em participar da pesquisa e pelo diagnóstico definitivo de amelogenese imperfeita dado por anotação na ficha do paciente e verificação dos exames radiográficos anexados à mesma. Os critérios de **exclusão** consistirão no não consentimento para participação da pesquisa e na presença de outras alterações associadas à amelogenese imperfeita, como por exemplo, outras síndromes que não a síndrome da amelogenese imperfeita e nefrocalcinose, alterações renais, ou outras alterações sistêmicas que possam ser fator de confusão para o diagnóstico.

Grupo III: Os critérios de **inclusão** para este grupo serão definidos pela assinatura do consentimento pelo indivíduo ou responsável, ausência de amelogenese imperfeita, síndromes ou quaisquer alterações sistêmicas de saúde. Os critérios de **exclusão** consistirão no não consentimento para participação da pesquisa e na presença de amelogenese imperfeita, síndromes ou quaisquer alterações sistêmicas de saúde.

Adequação da metodologia: Os dados clínicos gerais, obtidos pela análise do prontuário e exame clínico completo serão preenchidos em uma ficha apropriada. O preenchimento desses dados e o exame clínico serão feitos por um único profissional. Os participantes receberão tratamento odontológico e cuidados necessários à sua condição pela equipe de pesquisadores. Considerando o grupo I e tratando-se de uma síndrome que provoca exfoliação tardia, retenção de dentes decíduos, impactação de dentes permanentes e hiperplasia gengival, naqueles casos em que a extração desses dentes for indicada por presença de doença periodontal, necessidade de reabilitação protética ou crescimento anormal de folículo pericoronário, bem como existir a necessidade de plastia gengival por questão estética, periodontal ou na necessidade de instalação de próteses, os dentes, o tecido dos folículos e tecido gengival serão recolhidos para análise histopatológica, não se tratando de procedimento padrão

Comitê de Ética em Pesquisa da UFVJM - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Rodovia MGT 367, Km 583, nº. 5000, Alto da Jacuba, CEP 39100000 - Diamantina MG - Brasil (38) 3532.1200 - R 1366 - <http://www.ufvjm.edu.br/pesquisa/cep.html>

Recebi em 15/09/2013
Suas

para todos os grupos, já que o intuito não é de comparação, mas sim de caracterização destes pacientes. Esses procedimentos serão realizados na Clínica de Estomatologia da UFVJM. Os exames radiográficos serão realizados na Clínica de Imaginologia da UFVJM e os pacientes serão protegidos da radiação, através de coleto de chumbo e protetor de tireoide, será utilizada a menor radiação e menor tempo possível para realização das tomadas radiográficas e este procedimento só será realizado quando imprescindível no auxílio de diagnóstico ou realização dos procedimentos de intervenção, como a extração dentária. Esse procedimento se aplica aos grupos I e II que possuem alterações radiográficas. A ultrassonografia renal se aplicará apenas ao grupo I e será realizada em clínica externa à Universidade, sob os cuidados de um profissional da medicina especialista no procedimento, reconhecido pelo Conselho Federal de Medicina. Todos os pacientes que consentirem em participar da pesquisa e assinarem o TCLE serão convidados a comparecer à Clínica de Estomatologia em data e horário próprio a ser definido, para que ocorram a anamnese detalhada e coleta de material biológico através de bochecho.

Adequação das condições: As análises das amostras serão realizadas nos laboratórios de Bioengenharia e Genética do Departamento de Engenharia Florestal e Biomateriais da UFVJM. As cartas de concordância dos responsáveis pelos dois laboratórios foram apresentadas junto com o projeto. Naqueles casos em que a extração desses dentes for indicada por presença de doença periodontal, necessidade de reabilitação protética ou crescimento anormal de folículo pericoronário, bem como existir a necessidade de plastia gengival por questão estética, periodontal ou na necessidade de instalação de próteses, os dentes, o tecido dos folículos e tecido gengival serão recolhidos para análise histopatológica não se tratando de procedimento padrão para todos os grupos, já que o intuito não é de comparação, mas sim de caracterização destes pacientes. Estes procedimentos serão realizados na Clínica de Estomatologia da UFVJM. Os exames radiográficos serão realizados na Clínica de Imaginologia da UFVJM.

Justificativa do uso do placebo (caso haja): não se aplica

Justificativa da suspensão terapêutica (wash out): não se aplica

Estrutura do protocolo: O protocolo foi apresentado de forma completa, contendo a carta de encaminhamento, folha de rosto preenchida corretamente, projeto em CD e digitado, link do lattes do pesquisador e TCLE.

Análise de riscos e benefícios: Os **riscos** aos participantes incluem o constrangimento ao ler sua situação exposta e a presença de dor ou desconforto pós-operatório nos casos de intervenção. Para minimizar estes riscos, apenas um profissional será responsável pela coleta de material biológico e armazenamento dos dados dos pacientes, apenas o próprio conhecendo a identidade do sujeito dos quais foram coletados os dados. Para os outros integrantes da pesquisa, os sujeitos pesquisados serão apresentados através de siglas, não tendo seus nomes completos revelados. Quanto ao uso de imagens clínicas dos mesmos, serão colocadas tarjas sobre os olhos, impossibilitando a identificação dos participantes e, na divulgação dos exames radiográficos, a identificação destes não será fornecida. O risco de dor ou desconforto pós-operatória será minimizado com a prescrição de medicamentos apropriados e com instruções de cuidados na área manipulada. Os **benefícios** em participar do presente estudo residem no auxílio de elucidação de uma importante condição presente na região do Vale do Jequitinhonha – Minas Gerais, local onde residem os participantes, de divulgação científica necessária, seus meios de diagnóstico e etiopatogenia, considerando que a síndrome pode estar sendo subdiagnosticada.

Adequação do consentimento e forma de obtê-lo: Adequado. Os sujeitos serão contactados pelo registro de prontuários e então convidados a participar desta pesquisa durante a consulta de retorno. Neste momento serão explicados os propósitos da pesquisa, esclarecidas as dúvidas e, se assim concordar, o paciente assinará o TCLE, podendo retirar seu consentimento a qualquer momento anterior à publicação dos resultados. Para os pacientes menores de idade, um Termo específico deverá ser assinado pelo seu responsável legal. A linguagem do TCLE está acessível ao sujeito da pesquisa, e o texto contém as informações necessárias para o sujeito.

Informação adequada quanto ao financiamento: Orçamento da pesquisa apresentado de forma completa. Os pesquisadores envolvidos serão responsáveis pela solicitação de financiamento a agências de fomento e, na ausência do mesmo, responsabilizam-se pelo custeio da pesquisa.

Lista de centros (para estudos multicêntricos): não se aplica

Outros:

V - Pendências:

VI- Observações:

1. Segundo a Carta Circular nº. 003/2011/CONEP/CNS, de 21/03/11, há obrigatoriedade de rubrica em todas as páginas do TCLE, pelo sujeito de pesquisa ou seu responsável, e pelo pesquisador que deverá também apor sua assinatura na última página do referido termo.

VII – Motivos da não aprovação

VIII- Parecer Consubstanciado do CEP:

- APROVADO.** Receberá parecer e certificado do Comitê.
- PENDENTE.** Certificado do Comitê sujeito à resolução das pendências em tempo previsto.
- NÃO APROVADO.** Receberá apenas o parecer do CEP. Submeterá novo projeto ao Comitê.

Observações ao pesquisador:

Para projetos aprovados

- 1) Somente estará autorizado o início da pesquisa, após aprovação do protocolo pelo CEP.
- 2) O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 - Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).
- 3) O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.
- 4) O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA - junto com seu posicionamento.
- 5) Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item III.2.e).
- 6) Relatórios parcial e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente, em 01/07/2013 e ao término do estudo, em 01/12/2013. Considera-se como antiética a pesquisa descontinuada sem justificativa aceita pelo CEP que a aprovou.

IX- Data da reunião do CEP: 05 de fevereiro de 2013.

Thais P. Gaiad Machado
 Prof^a. Thais Peixoto Gaiad Machado, Ph.D.
 Coordenadora do CEP UFVJM

Prof^a Dr^a Thais Peixoto Gaiad Machado
 Coordenadora CEP/UFVJM