

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Centro de Ciências da Saúde
Faculdade de Odontologia

***GENES CANDIDATOS ÀS ANOMALIAS DENTÁRIAS EM
PACIENTES PORTADORES DE MALOCLUSÃO
ESQUELÉTICA***

CLARISSA CHRISTINA AVELAR FERNANDEZ

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Centro de Ciências da Saúde
Faculdade de Odontologia

***GENES CANDIDATOS ÀS ANOMALIAS DENTÁRIAS EM
PACIENTES PORTADORES DE MALOCCLUSÃO ESQUELÉTICA***

CLARISSA CHRISTINA AVELAR FERNANDEZ

Tese de doutorado submetida ao Programa de Pós-graduação em Odontologia (Área de Concentração: Odontopediatria) da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Odontologia (Área de Concentração: Odontopediatria).

Orientadores:

Prof. Dr. Marcelo de Castro Costa

Prof. Dr. Alexandre Rezende Vieira

Profª Dra. Christiane Vasconcellos Cruz Alves Pereira

FICHA CATALOGRÁFICA

Fernandez, Clarissa Christina Avelar.

Genes candidatos às anomalias dentárias em pacientes portadores de maloclusão esquelética. – Rio de Janeiro: UFRJ / Centro de Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, 2019.

97 f.: il.; 30 cm.

Orientadores: Marcelo de Castro Costa; Alexandre Rezende Vieira; Christiane Vasconcellos Cruz Alves Pereira.

Tese (doutorado) -- UFRJ, / CCS, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, 2019.

Referências: f. 74-82.

1. Anormalidades Dentárias. 2. Má Oclusão. 3. DNA. 4. Genética. 5. Saliva. - tese. I. Costa, Marcelo de Castro; II. Vieira, Alexandre Rezende; Pereira; III. Christiane Vasconcellos Cruz Alves. IV. UFRJ, CCS, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Odontologia. V. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DISCIPLINA DE ODONTOPEDIATRIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

FERNANDEZ, CLARISSA CHRISTINA AVELAR

“GENES CANDIDATOS ÀS ANOMALIAS DENTÁRIAS EM PACIENTES
PORTADORES DE MALOCLUSÃO ESQUELÉTICA”

Dissertação de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia,
Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ, com parte dos
requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Odontologia (Odontopediatria).

Rio de Janeiro, 4 de junho de 2019.

Prof. Dr. Marcelo de Castro Costa

DO- Profa. Associado do Dep^{to} de Odontopediatria e Ortodontia da FO-UFRJ

Profa. Dra. Glória Fernanda B. de Araújo Castro

DO-Profa. Associado do Dep^{to} de Odontopediatria e Ortodontia da FO-UFRJ

Profa. Dra. Andrea Fonseca Gonçalves

DO-Profa. Adjunta do Dep^{to} de Odontopediatria e Ortodontia da FO-UFRJ

Profa. Dra. Flávia Raposo Gebara Artese

DO-Profa. Associado da FO-UFRJ

Profa. Dra. Luise Gomes da Motta
DO-Profa. Associado da UFF

“Há tanta gente maravilhosa. Eu ando a ver se percebo os meus avós e as minhas primas estrangeiras que falam engraçado. Tenho tudo para ouvir e ver. Ainda não sei nada. Leio livros para aprender. Estou sempre apressada. Sou muito mexida. Um dia quero uma coisa, no outro quero tudo. Sofro de um problema de sossego. Não sei o que é estar sossegada. Mais tarde corrijo.”

Walter Hugo Mãe

“E que seja perdido o único dia em que não se dançou”

Friedrich Nietzsche

DEDICATÓRIA

*Aos meus amados avós maternos, **Aida Maria e Licínio Avelar**, meus grandes amores!*

Trocaria qualquer coisa na vida para abraçar vocês neste momento. Vocês foram os melhores. Meus melhores companheiros em todos os momentos. E que sorte a minha!

Uma parte de mim é vocês.

Levarei para sempre a saudade e o amor que sinto por vocês.

Muito obrigada. De verdade.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À minha linda mãe, **Célia Regina Avelar Fernandez**, meu exemplo de mulher. Obrigada por nunca medir esforços para me ver feliz. Obrigada por me fazer ser uma pessoa melhor. Por me ensinar que a vida é feita de escolhas e que, crescer e olhar para frente, é sempre um ótimo caminho. Admiro sua coragem, sua força e determinação. Eu poderia escrever páginas e mais páginas de agradecimentos, e, mesmo assim, não conseguiria te dizer tudo o que sinto por você.

Obrigada por sempre acreditar em mim!

Amo muito você!!!

Muito. Muito. Muito.

Ao meu querido orientador, **Prof. Dr. Alexandre Rezende Vieira**, grande mestre. Sem você, nada disso seria possível. Sinto um enorme prazer em tê-lo neste trabalho. Cada professor é responsável por construir um pouco de seu aluno. E eu tive muito de mim construído por você. Obrigada por me fazer pensar e enxergar além. Obrigada pelo apoio e pela jornada até aqui!

Você é um exemplo! De professor e pesquisador! E não é por acaso!

Muito obrigada!

Mesmo.

À **dança**, minha fonte de vida e inspiração.

AGRADECIMENTOS

Ao meu amado irmão, **Guilherme Vinícius Avelar Fernandez**, e à minha amada cunhada, **Caroline Couto Fernandez**, meus amigos mais fiéis. Vocês me deram o melhor presente da vida: meu sobrinho. Estarei sempre aqui para o que precisarem!

À minha querida tia, **Heloisa Helena Gomes Avelar**, minha eterna professora. Obrigada por acompanhar e incentivar os meus estudos desde pequena. Te admiro muito!

Ao meu lindo namorado, **Mário Lúcio Pontes Bastos**, meu companheiro de todas as horas. Paciência e carinho são seus nomes! Obrigada por respeitar minhas escolhas e meus momentos, sejam eles bons ou ruins. Espero conseguir corresponder todo o seu amor por mim.

Eu te amo!

Às minhas grandes amigas, **Mariana Mondaini** e **Aline Gaignoux**, minhas confidentes. Escrever algumas palavras para vocês é muito pouco perto do que já vivemos.

Eu só tenho a agradecer por tudo!

Amo vocês.

Aos meus amados amigos da dança, **Cátia Cabral** e **Danilo Saccomori**. Preciso agradecer pela amizade nesses 17 anos. São muitas histórias! E muito amor!

Muito obrigada.

Ao meu amigo de vida e profissão, **Thiago Spinelli**, meu cirurgião dentista preferido. Muito feliz em ter você por perto sempre disposto e pronto para me ajudar. Me faltam palavras para agradecer por tanto.

Conta comigo. Sempre!

Ao meu querido orientador, **Prof. Dr. Marcelo de Castro Costa**. Obrigada pela confiança, por me defender e por sempre abrir as portas e janelas para mim. O lugar que mais me conforta no Departamento inteiro, é a sua sala.

Obrigada! Por tudo!

À minha querida orientadora, **Prof^a. Christiane Vasconcellos Cruz Alves Pereira**, parte fundamental deste trabalho. Obrigada por caminhar comigo desde o início e me ensinar tanto. Admiro muito você e torço para que você tenha sucesso em tudo o que fizer.

Muito obrigada!

À minha querida **banca avaliadora**. Vocês foram escolhidos com muito carinho!

Prof^a. Dr^a. Andréa Fonseca Gonçalves. Minha admiração por você vem lá do início de tudo, nas clínicas de especialização. Sua dedicação e amor pelo seu trabalho são verdadeiras fontes de inspiração para mim. Você é responsável por parte essencial da minha formação dentro deste Departamento. Que honra tê-la como professora!

O-BRI-GA-DA!!!

Prof^a.Dr^a. Gloria Fernanda Barbosa de Araújo Castro. Admiro muito você, sua forma de trabalhar e seu modo de ver a vida. Você é mais que um exemplo de alegria e profissionalismo. Obrigada pelas conversas nos corredores, as palavras de apoio e por me acolher tão bem. Tenho muita sorte de ter alguém como você no meu caminho.

Muito obrigada!

Às minhas lindas amigas, **Natália Maria e Nathalia Telles**. Vocês são as irmãs que a vida me deu. Formamos um trio e tanto!

Obrigada por me fazerem ter muita história para contar!

Às minhas amigas de colégio, **Karoline Lemos e Glaucia Barbosa**, minhas eternas companheiras. Obrigada por crescerem comigo! Independente do passar dos anos, nossa amizade permanece. E vai ser sempre assim.

Vocês moram no meu coração!

Aos meus amigos da faculdade:

Indy Ana Fontes, obrigada por me ensinar que o importante a gente traz no coração. E a distância é muito pequena perto do que sentimos.

João Faustino, minha dupla e meu amigo. A minha graduação não seria a mesma sem você. Sinto sua falta! E como!

Às minhas amigas de profissão:

Aline Letieri, minha amizade por você não tem tamanho. Obrigada pelas conversas e pelo carinho comigo!

Michelle Ammari, você transforma qualquer problema em alegria. Obrigada pelo apoio, amizade e por compartilhar tantos momentos!

Eu amo vocês!

Às minhas amigas e companheiras de Pittsburgh, **Indiara Welter Henn, Mariana Benzamat e Juliana Arid**, meu quarteto amado. Obrigada por compartilharem comigo a melhor experiência da minha vida!

Muita saudade de vocês.

Aos **professores do Programa de Pós-Graduação em Odontopediatria (FO/UFRJ)**, pelos ensinamento, seminários, clínicas, trabalhos e palavras de apoio.

Muito obrigada!

Aos **professores do Programa de Pós-Graduação em Ortodontia (FO/UFRJ)**, pela ajuda e por abrirem as portas do Departamento para mim.

Obrigada pela confiança!

Aos **alunos da especialização, mestrado e doutorado!** Nossa boa convivência foi essencial para que esta jornada fosse concluída com sucesso.

Torço muito pelo sucesso de todos vocês!

A todos os **funcionários da Disciplina de Odontopediatria (FO/UFRJ)**, pelo
APOIO e ajuda.

Nada funcionaria sem todos vocês!

RESUMO

FERNANDEZ, Clarissa Christina Avelar. **GENES CANDIDATOS ÀS ANOMALIAS DENTÁRIAS EM PACIENTES PORTADORES DE MALOCCLUSÃO ESQUELÉTICA.** Rio de Janeiro, 2019 Tese (Doutorado em Odontologia – Área de Concentração: Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

O objetivo do presente estudo foi verificar a presença de associação fenótipo-genotípico entre *TGFA* (Fator de Crescimento Transformante α) (C/T rs1523305), *IRF6* (Fator Regulatório Interferon 6) (A/C rs2013162) e *MSX1* (Segmento Muscular Homeobox 1) (A/G rs12532) e anomalias dentárias em pacientes com maloclusão esquelética. Para tanto, dois estudos prévios foram realizados com os objetivos de (I) determinar se indivíduos com discrepâncias esqueléticas de Classe II ou III apresentam uma maior frequência de anomalias dentárias em comparação com indivíduos com maloclusão de Classe I e (II) comparar quatro diferentes métodos de coleta salivar e de células bucais [Expectoração da Saliva (1), Expectoração da Saliva com Estímulo Lingual (2), Raspagem com Escova Citológica (3) e Raspagem com Escova Citológica mais Expectoração da Saliva (4)] para extração de DNA genômico, avaliando sua concentração e pureza. Na revisão sistemática, foi realizada uma busca nas principais bases de dados da literatura científica médica eletrônica. Estudos observacionais foram selecionados se fossem mencionadas anomalias dentárias nos diferentes padrões de maloclusão esquelética. Foi adotado um conjunto de critérios para elegibilidade do estudo, com base na estratégia PECOS (População: maxila e mandíbula; Exposição: discrepâncias esqueléticas; Comparação: padrão de normalidade; e Resultado: anomalias dentárias). Cinco estudos retrospectivos contendo 7679 participantes foram classificados e considerados elegíveis para a revisão sistemática. A amostra do estudo II foi composta por 20 participantes. As coletas foram realizadas com intervalo de no mínimo um dia entre elas e foram armazenadas a -20°C até a extração do DNA ser realizada (Qiagen®). O estudo III foi composto por uma amostra de 505 registros ortodônticos. Dezenove pontos cefalométricos, serviram para a obtenção dos ângulos e medidas utilizados para a caracterização esquelética, utilizando-se o Software Dolphin. Amostras de saliva foram coletadas de todos os participantes e o DNA foi extraído, diluído e quantificado. Os genes *TGFA*, *IRF6* e *MSX1* foram usados para reações de PCR em tempo real. Os testes Razão de chance, Qui-quadrado, Exato de Fisher, T independente e coeficiente de correlação (nível de significância = 95%) foram realizados. A partir da revisão sistemática, concluiu-se que indivíduos com padrões de maloclusão esquelética têm mais anomalias dentárias. Após a análise estatística, não foi observado dimorfismo sexual em relação à concentração de DNA ($p = 0,76$), idade ($p = 0,91$) e etnias ($p = 0,72$). Não houve diferença significativa entre os métodos de coleta em relação à quantidade e pureza do DNA extraído ($p \geq 0,05$). O gene *IRF6* foi associado com a ME Classe III ($p = 0,04$, OR = 0,69, IC 0,49-0,98) e o gene *MSX1* foi associado ao padrão de crescimento hipodivergente ($p=0,003$, OR=0,5, IC 0,36-0,74) e ME Classe II ($p=0,0001$, OR=0,6, IC 0,46-0,78). Em relação a AD, o gene *MSX1* também foi associado à impactação ($p=0,03$, OR=0,67, IC 0,47-0,96) e dilaceração ($p=0,04$, OR=0,27, IC 0,07-0,977). *MSX1* associou-se ao padrão de crescimento hipodivergente e Classe II, e impactação e dilaceração, mostrando que existe uma associação genética entre anomalias dentárias e maloclusões esqueléticas.

Palavras Chave: Anomalia Dentária, Maloclusão Esquelética, DNA, Genética, Saliva.

ABSTRACT

FERNANDEZ, Clarissa Christina Avelar. **GENES CANDIDATOS ÀS ANOMALIAS DENTÁRIAS EM PACIENTES PORTADORES DE MALOCLUSÃO ESQUELÉTICA.** Rio de Janeiro, 2019 Tese (Doutorado em Odontologia – Área de Concentração: Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

The objective of the present study was to verify the phenotype-genotype association between *TGFA* (Transforming Growth Factor α) (C/T rs1523305), *IRF6* (Interferon Regulatory Factor 6) (A/C rs2013162) and *MSX1* (Muscle Segment Homeobox 1) (A/G rs12532) and dental anomalies in patients with skeletal malocclusion. Two previous studies were carried out with the objective of (I) to determine if individuals with Class II or III skeletal discrepancies present a higher frequency of dental anomalies compared to individuals with Class I malocclusion and (II) to compare four different types of saliva and oral buccal cell collecting methods for genomic DNA extraction: (1)Expectoration of saliva, (2)Expectoration of saliva with lingual stimulation, (3)Scraping with cytological brush, and (4)Scraping with cytological brush and expectoration of saliva, evaluating its concentration and purity. In the systematic review, a search of the main electronic medical scientific literature databases was conducted. Observational studies were selected if mentioning dental anomalies in the different skeletal malocclusion patterns. A set of criteria for the eligibility of the study was adopted, based on the PECOS strategy (Population: maxilla and mandible, Exposure: skeletal discrepancies, Comparison: normality pattern, and Outcome: dental anomalies). Five retrospective studies containing 7679 participants were classified and considered eligible for the systematic review. The sample of study II was composed by 20 participants. The biological samples were collected at intervals of at least one day between them and were stored at -20°C until DNA extraction was performed (Qiagen®). Study III was composed of a sample of 505 orthodontic records. Nineteen cephalometric points were used to obtain the angles and measurements used for the skeletal characterization, using Dolphin Software. Saliva samples were collected from all participants and the DNA was extracted, diluted and quantified. The *TGFA*, *IRF6* and *MSX1* genes were used for real-time PCR reactions. The odds ratio, chi-square, Fisher's exact, independent T and correlation coefficient (significance level = 95%) tests were performed. From the systematic review, it was concluded that individuals with skeletal malocclusion patterns have more dental anomalies. After the statistical analysis, no sexual dimorphism ($p = 0.76$), age ($p = 0.91$) and ethnicity ($p = 0.72$) was observed in relation to DNA concentration. There was no significant difference between the collection methods in relation to the amount and purity of the extracted DNA ($p \geq 0.05$). *IRF6* was associated with Class III skeletal malocclusion ($p=0.04$, OR=0.69, C.I. 0.49-0.98), and *MSX1* was associated with hypodivergent growth pattern ($p=0.003$, OR=0.5, 95% C.I. 0.36-0.74), and Class II skeletal malocclusion ($p=0.0001$, OR=0.6, C.I. 0.46-0.78). In regards to dental anomalies, *MSX1* was also associated with tooth impaction ($p=0.03$, OR=0.67, 95% C.I. 0.47-0.96) and root dilaceration ($p=0.04$, OR=0.27, 95% C.I. 0.07-0.97). *MSX1* was associated with both hypodivergent growth pattern and Class II skeletal malocclusion ($p=0.0001$), and tooth impaction ($p=0.03$) and root dilaceration ($p=0.04$), whereas *IRF6* was associated with Class III skeletal malocclusion.

Key Words: Dental Anomaly, Malocclusion, DNA, Genetics, Saliva.

RESUMEN

FERNANDEZ, Clarissa Christina Avelar. **GENES CANDIDATOS ÀS ANOMALIAS DENTÁRIAS EM PACIENTES PORTADORES DE MALOCCLUSÃO ESQUELÉTICA.** Rio de Janeiro, 2019 Tese (Doutorado em Odontologia – Área de Concentração: Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

El objetivo del presente estudio fue verificar la presencia de asociación fenotipo-genotípica entre TGFA (Factor de crecimiento transformante α) (C / T rs1523305), IRF6 (Factor regulador de interferón 6) (A / C rs2013162) y MSX1 (Segmento muscular 1 de Homeobox 1.) (A / G rs12532) y anomalías dentales en pacientes con maloclusión esquelética. Con este fin, se realizaron dos estudios previos para (I) determinar si las personas con discrepancias esqueléticas de Clase II o III tienen una mayor frecuencia de anomalías dentales en comparación con las personas con maloclusión de Clase I y (II) para comparar cuatro métodos diferentes. y colección de células salivales [Espudo de saliva (1), Estímulo lingual Saliva Espudo (2), Raspado con cepillo citológico (3) y Raspado con cepillo citológico más Espudo de saliva (4)] para extracción de ADN genómico, evaluando su concentración y pureza. En la revisión sistemática, buscamos en las principales bases de datos de la literatura científica médica electrónica. Se seleccionaron estudios de observación si se mencionaban anomalías dentales en los diferentes patrones de maloclusión esquelética. Se adoptó un conjunto de criterios para la elegibilidad del estudio, basado en la estrategia PECOS (Población: maxilar y mandíbula; Exposición: discrepancias esqueléticas; Comparación: patrón de normalidad; y Resultado: anomalías dentales). Cinco estudios retrospectivos con 7679 participantes fueron clasificados y considerados elegibles para una revisión sistemática. La muestra del estudio II consistió en 20 participantes. Se tomaron muestras con al menos un día de diferencia y se almacenaron a -20°C hasta que se realizó la extracción de ADN (Qiagen®). El estudio III consistió en una muestra de 505 registros de ortodoncia. Diecinueve puntos cefalométricos se utilizaron para obtener los ángulos y las medidas utilizadas para la caracterización esquelética utilizando Dolphin Software. Se recogieron muestras de saliva de todos los participantes y se extrajo, diluyó y cuantificó el ADN. Los genes TGFA, IRF6 y MSX1 se usaron para reacciones de PCR en tiempo real. Se realizaron las pruebas de odds ratio, Chi-cuadrado, exacta de Fisher, T independiente y coeficiente de correlación (nivel de significancia = 95%). De la revisión sistemática, se concluyó que las personas con patrones de maloclusión esquelética tienen más anomalías dentales. Después del análisis estadístico, no se observó dimorfismo sexual en relación con la concentración de ADN ($p = 0,76$), la edad ($p = 0,91$) y el origen étnico ($p = 0,72$). No hubo diferencias significativas entre los métodos de recolección con respecto a la cantidad y pureza del ADN extraído ($p \geq 0.05$). El gen IRF6 se asoció con ME Clase III ($p = 0.04$, OR = 0.69, CI 0.49-0.98) y el gen MSX1 se asoció con el patrón de crecimiento hipodivergente ($p = 0.003$, OR = 0.5, CI 0.36-0.74) y EM Clase II ($p = 0.0001$, OR = 0.6, CI 0.46-0.78). Con respecto a AD, el gen MSX1 también se asoció con impactación ($p = 0.03$, OR = 0.67, CI 0.47-0.96) y laceración ($p = 0.04$, OR = 0.27, IC 0,07-0,977). MSX1 se asoció con un patrón de crecimiento hipodivergente y de Clase II, impactación y laceración, lo que demuestra que existe una asociación genética entre las anomalías dentales y las maloclusiones esqueléticas.

Palabras clave: Anomalía dental, maloclusión esquelética, ADN, genética, saliva.

LISTA DE ABREVIATURAS

AD	Anomalias Dentárias
ANB	Ponto A-Násio-Ponto B
DA	Dental Anomalies
FO/UFRJ	Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro
GP	Growth Patterns
HUCFF-UFRJ	Hospital Universitário Clementino Fraga Filho – Universidade Federal do Rio de Janeiro
<i>IRF6</i>	Interferon Regulatory Factor 6
LILACS	Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde
ME	Maloclusão(ões) Esquelética(s)
Medline	<i>Medical Literature Analysis and Retrieval System Online</i>
MeSH	<i>Medical Subject Headings</i>
<i>MSX1</i>	Muscle Segment Homeobox 1
OR	<i>Odds ratio</i>
PCF	Padrão(ões) de Crescimento Facial
PECOS	<i>Population, exposition, control, outcome and study</i>
PRISMA	<i>Prefered Reporting Items for Systematic Review and Meta Analysis</i>
SM	Seletal Malocclusions
SNA	Sela-Násio-Ponto A
SNB	Sela-Násio-Ponto B
SND	Sela-Násio-Ponto D
SN-GoGn	Sela-Násio Gônio-Gnátio
SNPs	<i>Single Nucleotide Polymorphisms</i>
<i>TGFA</i>	Transforming Growth & Factors α

LISTA DE SÍMBOLOS

<	menor que
>	maior que
=	igual
±	mais ou menos
%	porcentagem
α	alfa

Sumário

1. INTRODUÇÃO	17
2. PROPOSIÇÃO	24
2.1 Objetivo geral	24
2.2 Objetivos específicos	24
3. DELINEAMENTO DA PESQUISA	26
3.1 ESTUDO I	26
3.2 ESTUDO II:	27
4. DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA	35
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	72
6. CONCLUSÕES	74
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
8. ANEXO	84
9. APENDICES	86

1. INTRODUÇÃO

As anomalias dentárias (AD) são definidas como irregularidades odontogênicas ou alterações dentárias, encontradas com certa frequência por cirurgiões dentistas no transcorrer da dentição mista. Essas anomalias podem se expressar de maneiras e gravidades diferentes, indo desde o atraso cronológico na odontogênese até a ausência completa do germe dentário, também conhecido como agenesia dentária (GARIB e ALENCAR, 2013). Os defeitos e anomalias dentárias ocorrem durante os vários estágios de desenvolvimento do ciclo de vida dental. A natureza do defeito depende do estágio de desenvolvimento do dente no momento em que ela ocorre (SCHNEIDER, 1990).

A sua prevalência pode variar de 5,46% a 74,7% (USLU, AKCAM *et al.*, 2009; DÍAZ-PEREZ e ECHAVERRY-NAVARRETE, 2009), devido as diferentes etnias e critérios de diagnóstico (USLU, AKCAM *et al.*, 2009; ALTUG-ATAC e ERDEM, 2007; KIM, 2011). A etiologia específica das AD permanece obscura (KÜCHLER, RISSO *et al.*, 2008), porém, sabe-se que fatores genéticos e ambientais contribuem para o seu desenvolvimento (BASDRA, KIOKPASOGLU *et al.*, 2000; KÜCHLER, RISSO *et al.*, 2008; KATHARIYA, NIKAM *et al.*, 2013).

Segundo Neville *et al.*, (2004), as AD são divididas em dois grandes grupos: as alterações dentárias por fatores ambientais e as alterações no desenvolvimento do elemento dentário. O primeiro grupo é composto por alterações influenciadas por fatores ambientais sistêmicos ou locais. Os fatores sistêmicos podem ser de natureza química, como quimioterapia antineoplásica, flúor, chumbo, tetraciclina e vitamina D, alterações metabólicas (cardíacas, gastrointestinais, diabetes, entre outras) e neurológicas (paralisia cerebral, retardo mental e defeitos de audição sensorineurais), má nutrição, trauma relacionado ao nascimento (hipóxia, parto prematuro e etc), entre outros. Já os fatores locais mais associados são trauma mecânico (quedas, acidentes e etc), queimadura elétrica, irradiação e infecção local (NEVILLE, DAMM *et al.*, 2004).

Essas alterações por fatores ambientais são subdivididas de acordo com o tipo/estrutura do dano em: alterações de desenvolvimento das estruturas dentais (hipoplasia de Turner, hipoplasia causada por terapia antineoplásica e fluorose dental), descoloração dentária (manchas extrínsecas e intrínsecas), perda de estrutura dentária pós desenvolvimento (desgaste dos dentes, atrição, abrasão, erosão, abfração e reabsorções interna e externa) e distúrbios localizados da erupção (impactação primária e anquilose) (NEVILLE, DAMM *et al.*, 2004).

Já as alterações no desenvolvimento do elemento dentário são de natureza complexa. Estas alterações podem ser primárias ou surgirem após influências ambientais, ou seja, secundariamente. A subdivisão dessas alterações é feita em relação ao tipo e a localização do dano, resultando na seguinte divisão: em relação à dimensão (macrodonτία e microdonτία), forma (geminacão, fusão, concrescência, cúspides acessórias – Carabelli, em garra e dente evaginado, dente invaginado, esmalte ectópico, esmalte ectópico – pérolas de esmalte e extensões cervicais de esmalte, taurodonτία, hipercementose, dilaceraçãe e raízes supranumerárias), estrutura (amelogênese imperfeita – hipoplásica, hipomaturada e hipocalcificada, dentinogênese imperfeita, displasia dentinária – tipo I e II, odontodisplasia regional), posição (impactação, giroversão, transposição e inversão) e número dos dentes (hipodontia – anodontia parcial, total e oligodontia, e hiperdonτία - méso dente) (NEVILLE, DAMM *et al.*, 2004).

A maloclusão pode ser definida como uma alteração de crescimento no complexo craniofacial ou desvio da oclusão considerada normal ou ideal (ANDREWS, 1972). Os dentes em má posição não são mais que sintomas de um crescimento anormal do esqueleto facial. Quatro sistemas simultaneamente podem ser afetados: dentes, ossos, músculos e ligamentos (ARASHIRO, 2009). A oclusão pode variar entre indivíduos de acordo com o tamanho e forma dos dentes, posição dentária, época e sequência de erupção, forma e tamanho do arco dentário e padrão de crescimento craniofacial, além de influências do meio ambiente, modificações funcionais e patológicas (PIRES, 2001).

A prevalência da maloclusão esquelética (ME) é grande e varia bastante de acordo com a população estudada (MOSSEY, 1999). Um dos maiores desafios no tratamento de pacientes com distúrbios de crescimento craniofacial é a sua previsão (WESTWOOD *et al.*, 2003). Na tentativa de estabelecer o diagnóstico correto, é necessário determinar se há

um excesso ou falta de crescimento esquelético entre as bases ósseas. Especialmente para aqueles que apresentam características marcantes de crescimento maxilar e/ou mandibular, fator que favorece o comprometimento da função normal e estética (ALEXANDER, 2009).

É difícil classificar exatamente a etiologia da maloclusão, pois suas causas são frequentemente multifatoriais e impedem a diferenciação exata entre as mudanças endógenas e exógenas induzidas (RAKOSI, 1999). Em estudos anteriores, a etiologia da maloclusão tem sido atribuída a fatores ambientais e a padrões de herança genética (STILES, 1953; MOSSEY, 1999).

Em decorrência de problemas odontológicos, as pessoas podem apresentar suas atividades diárias prejudicadas, tais como: diminuição das horas de sono, não realização de algumas atividades de lazer, restrições alimentares e desordens psicológicas relacionadas à queda da auto estima. Essas implicações podem estar diretamente relacionadas à maloclusão (FRAZÃO *et al.*, 2002; JENNY, 1996).

As AD e as ME podem causar comprometimento estético, perturbações comportamentais e distúrbios psicossociais nos indivíduos afetados, resultando em um impacto negativo na qualidade de vida desses indivíduos. O tratamento das ME é um desafio, em função da dificuldade de previsão do crescimento facial, pelo longo tempo de tratamento envolvido e pelo custo que representa. Tal desafio se torna ainda maior em presença de AD associada, principalmente as agenesias, que comprometem a função normal e a estética. Vale ressaltar que as AD apresentam uma frequência aumentada em pacientes portadores de ME (USLU, AKCAM *et al.*, 2009; KÜCHLER, RISSO *et al.*, 2008) podendo ser, portanto, relacionadas a ela. Neste contexto, a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na etiologia das AD e ME desempenha um papel fundamental na ciência odontológica.

O DNA para fins de diagnóstico ou pesquisa pode ser obtido a partir de vários materiais biológicos. Nas últimas décadas, o DNA utilizado em estudos moleculares foi obtido, preferencialmente, a partir de amostras de sangue, pois fornecem um grande número de células e, conseqüentemente, um bom rendimento (WALTRICK-ZAMBUZZI *et al.*, 2012; DURDIAKOVÁ *et al.*, 2012). No entanto, a coleta de amostras de sangue tem algumas desvantagens, como a potencial não viabilidade em grandes estudos de base

populacional. Por se tratar de um método invasivo, alguns pacientes podem ser resistentes à coleta, necessitam de um profissional especializado para realizar o procedimento e é mais difícil realizá-lo em idosos e crianças (WALTRICK-ZAMBUZZI *et al.*, 2012; VAN WIEREN-DE WIJER *et al.*, 2009; COZIER *et al.*, 2004). Outro fator a ser ressaltado é que os íons ferrosos (Fe^{2+}) presentes no sangue competem com os íons Mg^{2+} , que são inibidores da PCR (proteína C-reativa) (WALTRICK-ZAMBUZZI *et al.*, 2012; DURDIAKOVÁ *et al.*, 2012).

A saliva tem sido cada vez mais utilizada como fonte de DNA genômico adequado para grandes estudos, pois é não invasiva e tem potencial diagnóstico. Além disso, quando comparado ao método tradicional de coleta de DNA a partir do sangue, apresenta custo reduzido e é um método não invasivo que pode ser realizado mais facilmente em crianças, idosos e pacientes com necessidades especiais (KONI *et al.*, 2011). A coleta de saliva também não traz risco de infecções e tem o potencial de se tornar uma primeira linha de diagnóstico clínico (PFAFFE *et al.*, 2011).

Estudos genéticos de associação fornecem estratégias usadas comumente para correlacionar o genótipo com a doença, investigando a diferença de distribuição do alelo ou haplótipo de polimorfismos entre casos e controles. Este método é baseado na variante comum/hipótese da doença, que descreve a doença como consequência da variação genética. A busca para essas associações tem contribuído para o avanço do diagnóstico e modalidades de tratamento de doenças complexas (CHAKRAVARTI, 1999).

Nestes estudos, o grupo caso consiste de indivíduos com uma doença sob investigação ou uma característica particular. O grupo controle é composto por sujeitos livres da doença ou traço, e o DNA é extraído de amostras de sangue e saliva. Os genótipos de interesse são sequenciados em todas as amostras. As ferramentas de estatística são usadas para comparar a diferença de distribuição desses marcadores entre os grupos, avaliando, assim, a associação com a doença ou traço.

Os polimorfismos de nucleotídeos únicos, também conhecidos como *single nucleotide polymorphisms (SNPs)*, são formas variantes da sequência de DNA que podem estar presentes nos indivíduos de uma mesma população, dentro de um espectro biologicamente normal. Referem-se à existência de dois ou mais alelos em um dado *locus*, com uma frequência alélica maior do que 01% na população (QI LI, 2010).

Genes que potencialmente representam um papel na etiologia de uma determinada alteração de desenvolvimento, alteração no quadro fisiológico ou patológico são determinados como candidatos. A hipótese de que a forma variante pode estar associada à função alterada de um gene e possa estar envolvido com a ocorrência da maloclusão, pode ser analisada através das frequências desses polimorfismos (CRUZ *et al.*, 2008).

Apesar do sequenciamento do genoma humano ter sido concluído em 2003, (LANDER *et al.*, 2001; CRUZ, 2008) o seu processo de entendimento de doenças está apenas iniciando. Neste momento, é de grande importância a identificação dos genes envolvidos em condições específicas, sua variação na população e como interagem entre si e com outros fatores. A identificação e o conhecimento do funcionamento dos genes responsáveis pelas características comuns e doenças hereditárias continuam a ser um dos maiores objetivos da genética (BOTSTEIN e RISCH, 2003).

A quantidade de genes que possuímos não é o mais importante, mas sim, a capacidade do organismo humano de combiná-los e transformar-se numa usina bioquímica produtora de proteínas. A missão de identificá-los, determinar sua localização, função e como interagem é o principal alvo dos geneticistas. Os pesquisadores têm se preocupado em identificar quais são os genes defeituosos causadores de anomalias. Identificar mutações genéticas em famílias com agenesia dentária permitirá, a longo prazo, propor formas de corrigir problemas durante esse desenvolvimento através de terapias que tivessem como alvo os genes defeituosos, impedindo o fenótipo de agenesia dentária. Além disso, permitirá um melhor entendimento do modo de herança, o que possibilitaria um esclarecimento mais preciso para as famílias de afetados por essa anomalia, sobre a causa da falta de dentes específicos. A compreensão da genética dento-orofacial humana e seu impacto no diagnóstico, prevenção e, eventualmente, terapêutica, é parte integral do cuidado em saúde (VASTARDIS, 2000).

O evento mais importante durante a regulação do desenvolvimento dentário é interação entre o tecido epitelial e o tecido mesenquimal, e requer o envolvimento de vários genes e suas proteínas. Moléculas sinalizadoras de diferentes famílias são usadas em sequência durante o desenvolvimento dentário e, reciprocamente, do epitélio para o mesênquima. Além disso, vários fatores de transcrição têm sido identificados como os alvos da sinalização. Essas interações de sinais, que determinam localização, tamanho e forma dos dentes, começam nos primeiros estágios do desenvolvimento dentário. Os sinais

mais estudados pertencem às famílias dos *FGFs* (Fibroblast Growth Factors) e *TGFB* (Transforming Growth & Factors) que inclui *BMPs* (Bone Morphogenetic Protein). Cada família consiste de vários sinais codificados por diferentes genes que são usados reiteradamente (JERNVALL, J. THESLEFF, I. 1981).

Os primeiros sinais são secretados pelo ectoderma oral iniciando assim a odontogênese. Os sinais do mesênquima controlam o crescimento e a dobra do epitélio, e também induzem a formação de centros de sinalização no epitélio, nos quais são ativados muitos genes que codificam sinais das moléculas. Um exemplo é o estágio de casquete nos dentes, que expressam mais de dez sinais diferentes. Como resultado dessa sinalização, numerosos fatores de transcrição têm sido identificados como os alvos dos tecidos. Um exemplo é o *DNP* no início da morfogênese dentária fazendo com que o fator de transcrição *MSX1* (Muscle Segment Homeobox 1) se expressasse no mesênquima. *FGF* (Fibroblast Growth Factors) também induz *MSX1*. Os numerosos fatores de transcrição têm sido descobertos, os quais são ativados no mesênquima como resultado do *BMP* e do *FGF*, assim como de outros sinais do epitélio (JERNVALL, J. THESLEFF, I. 1981). A primeira mutação genética do *MSX1* associada à agenesia dentária humana foi descrita por Vastardis *et al.*, em 1996. Neste estudo, os autores analisaram uma grande família e revelaram a presença de uma mutação localizada no cromossoma 4p no locus *MSX1*.

Algumas centenas de genes foram associados ao desenvolvimento dentário e mostraram associação entre anomalia dentária, como agenesia, e variação genética em *MSX1*, *PAX9*, *TGFA*, *IRF6*, *FGFR1*, *AXIN2*, *MMP1* e *MMP20* (VIEIRA *et al.*, 2004; PARDO *et al.*, 2006, VIEIRA *et al.*, 2007; VIEIRA *et al.*, 2008; CALLAHAN *et al.*, 2009a e b; KÜCHLER *et al.*, 2011). Muitas vezes, distúrbios nas relações craniofaciais e oclusais aparecem juntamente com anomalias dentárias (SACERDOTI E BACETTI, 2004; MERCURE *et al.*, 2013; RAMIRO *et al.*, 2015; AMINI *et al.*, 2017), apoiando a hipótese de que os mesmos genes e/ou vias podem contribuir para certos tipos de anomalias dentárias e más oclusões esqueléticas (FERNANDEZ *et al.*, 2018).

O maior desafio será estudar a função das proteínas produzidas pelos genes. Aposta-se muito em uma nova forma de prática terapêutica, a da medicina personalizada. O tratamento e a prevenção serão definidos sob medida para cada paciente, baseados em sua análise genômica (COSTA, 2001). No futuro, a terapia gênica promete corrigir as

mutações causadoras das doenças, com remédios que seriam uma versão correta do gene. Isso mudará a conduta clínica e o diagnóstico, contribuindo para uma medicina personalizada. Não é necessário novos tratamentos, mas sim, usar o melhor possível. Não existirão terapias gênicas milagrosas, mas, com o diagnóstico mais preciso, será possível a utilização melhor das drogas. Será possível, também, o desenvolvimento de mais remédios por conceitos tradicionais, porém criados para as reais necessidades do paciente (JANSEN, 2003).

A ideia central é fazer com que esses conhecimentos laboratoriais cheguem aos pacientes, gerando benefícios diretos, como um diagnóstico mais preciso e a possibilidade de uma intervenção mais precoce. Essa intervenção poderia ser realizada enquanto o complexo craniofacial, ainda em desenvolvimento, está mais sensível a tratamentos profiláticos e, até mesmo, à prevenção dessas alterações. Desta forma, a eliminação de perturbações funcionais e estéticas no indivíduo ficaria ao alcance de Cirurgiões Dentistas, contribuindo para uma melhor qualidade de vida desses pacientes.

2. PROPOSIÇÃO

2.1 Objetivo geral

Verificar a presença de associação fenótipo-genotípico entre *TGFA* (Fator de Crescimento Transformante α) (C/T rs1523305), *IRF6* (Fator Regulatório Interferon 6) (A/C rs2013162) e *MSX1* (Segmento Muscular Homeobox 1) (A/G rs12532) e anomalias dentárias em pacientes com malclusão esquelética.

2.2 Objetivos específicos

A fim de cumprir com os objetivos específicos da presente tese, estes foram subdivididos em fases de acordo com o concebido em cada estudo:

Estudo I:

- Determinar se indivíduos com discrepâncias esqueléticas de Classe II ou III apresentam uma maior frequência de anomalias dentárias em comparação com indivíduos com maloclusão de Classe I.

Estudo II:

- Comparar quatro diferentes métodos de coleta salivar e de células bucais [Expectoração da Saliva (1), Expectoração da Saliva com Estímulo Lingual (2), Raspagem com Escova Citológica (3) e Raspagem com Escova Citológica mais Expectoração da Saliva (4)] para extração de DNA genômico, avaliando sua concentração e pureza.

Estudo III:

- Avaliar a existência de dimorfismo sexual e etnia nas maloclusões esqueléticas;
- Verificar a associação entre polimorfismos no gene *TGFA* em portadores de anomalia dentária e nas maloclusões esqueléticas;

- Verificar a associação entre polimorfismos no gene *MSX1* em portadores de anomalia dentária e nas maloclusões esqueléticas;
- Verificar a associação entre polimorfismos no gene *IRF6* em portadores de anomalia dentária e nas maloclusões esqueléticas.

3. DELINEAMENTO DA PESQUISA

3.1 ESTUDO I

A presente revisão sistemática foi registrada no Registro Prospectivo de Revisões Sistemáticas (PROSPERO; Centro de Análises e Divulgação, Universidade de York; e no Instituto Nacional de Pesquisa em Saúde) sob o número de registro CRD42016038916. e seguiu os Itens de Relatórios Preferenciais para Revisão Sistemática e Meta-Análises. (PRISMA) checklist (MOHER *et al*, 2009).

Estratégia de Busca

Para a realização da busca na literatura, a seguinte pergunta foi formulada: “Existe diferença na frequência de anomalias dentárias em pacientes ortodônticos com Classe II ou III versus Classe I?”. Para desenvolver a questão, foi adotado um conjunto de critérios para elegibilidade do estudo, com base na estratégia PECOS (População: maxila e mandíbula; Exposição: discrepâncias esqueléticas; Comparação: padrão de normalidade; e Resultado: anomalias dentárias), usando MeSH, termos associados e palavras-chave.

A busca principal foi realizada em novembro de 2016 e atualizada até janeiro de 2019. As publicações de potencial relevância para este estudo foram identificadas após a busca nas principais bases de dados eletrônica da literatura científica, incluindo PubMed, Scopus, LILACS, Web of Science, Cochrane Library e Literatura Cinza. Artigos adicionais foram identificados por pesquisas manuais. Livros didáticos, dissertações, relatos de casos, séries de casos, artigos de revisão e resumos foram excluídos. Estudos em populações que apresentavam doenças sistêmicas específicas, condições ou distúrbios metabólicos e ausência das três maloclusões esqueléticas foram excluídos.

Dois investigadores (C.C.A.F. e M.G.M.) examinaram de forma independente cada artigo através do título, resumo e palavras-chave. Se faltassem dados relevantes, os autores

dos artigos em questão eram contatados para obter informações adicionais. Nenhuma restrição foi aplicada em relação ao idioma ou data de publicação.

Os estudos selecionados foram descritos em relação ao tipo de estudo, amostra total, distribuição por gênero, como o diagnóstico de maloclusão esquelética e anomalias dentárias foram realizados, e a frequência de anomalias dentárias em cada maloclusão. As anomalias dentárias também foram agrupadas em anomalias de número, forma e posição.

3.2 ESTUDO II:

Seleção da Amostra

Para este estudo, foram selecionados 20 indivíduos (10 homens e 10 mulheres) alunos e funcionários da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro. O recrutamento se deu na própria Universidade em dias alternados, através de conversa informal, simples e objetiva, em uma sala reservada, com a pesquisadora responsável. Este processo foi realizado de maneira que o participante se sentisse o mais confortável e à vontade possível.

A inclusão destes pacientes ocorreu após lerem e assinarem o Termo de Consentimento Livre (Apêndice 1). Este projeto se caracteriza como um estudo piloto e encontra-se aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF/UFRJ) sob o número 619.096 (Anexo 1).

Coleta de Dados

Foram coletados dados como idade, gênero e etnia (caucasiano e outros) e a coleta do material biológico foi realizada através de 04 protocolos diferentes para a coleta de saliva e células bucais.

Coleta de Material Biológico

Nesta etapa, foram realizados 04 protocolos de coleta de saliva e células bucais, por uma única pesquisadora, com um intervalo de pelo menos 01 (um) dia. Os protocolos de coleta salivar foram realizados aleatoriamente e os participantes foram orientados a não fumar ou comer por pelo menos 30 minutos antes de cada coleta.

1. Expectoração de saliva,
2. Expectoração de saliva com estímulo lingual;
3. Raspagem com escova citológica;
4. Raspagem com escova citológica + Expectoração da saliva.

1. Expectoração da Saliva

A coleta salivar por expectoração foi realizado com um tubo Falcon. A pesquisadora orientou cada indivíduo a cuspir até a marcação de 2 ml. Em seguida foram anotadas no tubo as informações de identificação da amostra. Após a coleta, cada tubo foi protegido por um saco plástico e armazenado a uma temperatura de -20°C. Esta etapa de identificação e armazenamento foi realizada ao final de cada protocolo de coleta.

2. Expectoração de Saliva com Estímulo Lingual

Nesta coleta salivar, o indivíduo foi orientado a realizar uma estimulação com a língua prévia à expectoração de saliva. Esta modificação (estimulação lingual) consistiu em esfregar a língua na mucosa jugal e fundos de véstibulos por 10 vezes em cada lado e nos dentes, com o objetivo de desprender as células bucais da mucosa oral. Em seguida, a coleta salivar por expectoração foi realizado com um tubo Falcon.

3. Raspagem com Escova Citológica

A coleta por raspagem das células bucais da mucosa oral foi realizado com uma escova citológica, que em seguida foi armazenada em um tubo Falcon. O procedimento foi realizado por uma única pesquisadora que posicionou a escova confortavelmente na boca do indivíduo e esfregou a gengiva inferior 10 vezes com movimentos rotatórios e para trás e para frente.

4. Raspagem com Escova Citológica + Expectoração da Saliva

Este método consistiu na junção dos métodos Raspagem com Escova Citológica (item 4) e Expectoração da Saliva (item 1).

Extração de DNA

Para extração do DNA proveniente das amostras de expectoração da saliva, expectoração da saliva com estímulo lingual, raspagem das células bucais da mucosa oral e raspagem das células bucais da mucosa oral mais expectoração da saliva, foram seguidos os passos do Kit Qiagen® propostos pelo fabricante:

https://www.qiagen.com/br/qdm/alp/allprep-selection-guide?intcmp=ECOM_WEB_SelectionGuides_2610_teaser_Tools_AllPrepGuide_

Quantificação do DNA

A concentração e a pureza do DNA foram determinados por densidade óptica em espectrofotômetro (NanoDrop®2000c) utilizando-se 2 µL do material extraído. A concentração de DNA foi avaliada em um comprimento de onda de 260nm. A razão entre os valores obtidos nos comprimentos de onda 260nm e 280nm foi usada para estimar a pureza do DNA genômico. Somente as amostras de DNA com razão 260/280 acima de 1,7 foram consideradas satisfatórias quanto a pureza do DNA.

Análises Estatísticas

Estatística descritiva foi aplicada, avaliando a frequência dos gêneros, etnia e a média de idade dos indivíduos estudados. Os Testes T e One-way ANOVA foram utilizados para comparar a diferença entre os grupos.. Além disso, para verificar a possibilidade de associação entre as variáveis dicotômicas, foi aplicado o teste do Qui-quadrado e/ou exato de Fisher ($p \geq 0,05$). O Teste de Correlação de Spearman foi realizado para avaliar a possibilidade de correlação entre as variáveis numéricas. Os dados foram tabulados e analisados no programa estatístico SPSS versão 20.0 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc, Chicago, III) e os testes foram empregados com nível de significância de 95%.

3.3 ESTUDO III:

Amostra e Método

Este estudo foi composto por uma amostra censitária de 505 pacientes, com idade igual ou superior à 08 anos, que estavam em tratamento (ativo ou de contenção) em instituição pública de ensino (Departamento de Ortodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ). Esta instituição é considerada um centro de referência em ortodontia na cidade do Rio de Janeiro, devido às pesquisas, atividades e tratamentos desenvolvidos pelos seus membros. Este trabalho possui aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF) – UFRJ, sob o número do parecer 619.096 (Anexo 1).

Critérios de Inclusão

Os indivíduos participantes foram somente incluídos neste estudo:

Com idade igual ou superior à 08 anos;

Em presença de tratamento ativo ou em período de contenção no Departamento de Ortodontia da Faculdade de Odontologia – UFRJ;

Com ausência de síndromes e/ou desequilíbrios endócrinos e/ou transtornos metabólicos;

. Após lerem e assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (e Termo de Assentimento, em casos de crianças) (Apêndices 2 e 3, respectivamente).

Calibração

A calibração para a realização do diagnóstico de anomalia dentária e medidas cefalométricas foi elaborada em um estudo prévio (FERNANDEZ *et al.*, 2018) e apresentou Kappa = 0,91 e ICC = 0,87. Apenas os pacientes matriculados a partir de 2014 necessitaram de coleta de dados referente ao diagnóstico de anomalia dentária, medidas cefalométricas, entre outros, conforme a Ficha em anexo (Apêndice 4) (pois não foram incluídos no estudo prévio).

Coleta de Dados

O critério para seleção da amostra relacionada à anomalia dentária baseou-se na condição de que as fichas contivessem uma radiografia panorâmica com boa qualidade técnica, possibilitando a visualização de todos os elementos dentários e estruturas circunvizinhas. Um examinador procedeu a avaliação das radiografias, com o auxílio de negatoscópio medindo 13 cm x 37 cm coberto com moldura de cartolina preta em condições de iluminação ideal, isto é, em uma sala cuja única luz era a do negatoscópio e lupa. Dessas, foram excluídos os pacientes que apresentaram qualquer tipo de síndrome e também aqueles nos quais não foi possível um diagnóstico confiável de anomalia dentária, devido à má qualidade da radiografia, idade dentária atrasada ou falta de informação segura dos pais e/ou probando em relação à extração ou não do dente em questão (FERNANDEZ *et al.*, 2018).

Para todos os indivíduos selecionados foram realizadas entrevistas com os próprios responsáveis, através da aplicação de questionários para avaliação dos seguintes parâmetros: informações sócio-demográficas e culturais, presença de alterações sistêmicas, uso de medicamentos e histórico familiar de alterações oclusais. A avaliação clínica foi em uma cadeira odontológica com os equipamentos necessários e aparatos específicos e foram observadas as características dento faciais, tais como: relação molar, presença de anomalias dentárias e hábitos parafuncionais (Apêndice 5).

Caracterização Fenotípica - Medidas Cefalométricas

Para a caracterização do padrão esquelético dos pacientes foram digitalizados 19 pontos cefalométricos (Po, S, Or, Ls, Go, Pog, Pog, Me, D, A, B, Go, N, Gn, Ba, R1, R2, R3 and R4) que serviram como marco anatômicos para a obtenção dos ângulos e medidas SNA, SNB, SND, ANB, Sn-GoGn, profundidade facial, profundidade mandibular e convexidade facial na radiografia cefalométrica de perfil.

Para caracterizar os padrões de crescimento, os valores do ângulo SN-GoGn medidos na radiografia cefalométrica foram utilizados de acordo com Steiner (1953) e um estudo anterior (FERNANDEZ *et al.*, 2018):

- ângulo SN-GoGn $< 32^\circ$ = hipodivergente,
- ângulo SN-GoGn $= 32^\circ$ = normal, e
- ângulo SN-GoGn $> 32^\circ$ = hiperdivergente.

A classificação da maloclusão esquelética foi definida utilizando-se os valores do ângulo ANB (SNA-SNB), de acordo com o padrão cefalométrico recomendado por Steiner (1953) e proposto por alguns autores (FERNANDEZ *et al.*, 2018):

- ângulo ANB com valores entre 0° e 4° = Classe I,
- ângulo ANB com valores $> 4^\circ$ = Classe II, e
- ângulo ANB com valores $< 0^\circ$ = Classe III.

Todos os traçados foram realizados através do Software Dolphin (Dolphin Imaging) por um único pesquisador calibrado.

Coleta de Material Biológico

As amostras de saliva e células descamadas da mucosa oral foram coletadas de todos os participantes através do método de expectoração e armazenadas em tubos falcon esterilizados. Os tubos contendo o material biológico foram mantidos resfriados (em caixas de isopor com gelo) no local da coleta (clínica de Ortodontia FO/UFRJ) até a chegada ao Departamento de Odontopediatria, onde foi armazenado à temperatura de -20° C. Os indivíduos participantes deste estudo foram devidamente informados sobre a impossibilidade de ingestão de alimentos, água e escovação dentária por até 30 minutos antes da referida coleta salivar.

Extração de DNA

As etapas laboratoriais foram desenvolvidas no laboratório do Centro de Genética Craniofacial e Odontológica, no Departamento de Biologia Oral, na Universidade de Pittsburgh, através do Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior, oferecido pela CAPES (número do processo: 88881.132022/2016-01). A extração de DNA foi realizada conforme estudo publicado previamente (TREVILLATO e LINE, 2000).

Avaliação da Quantidade e Pureza do DNA

A concentração e a pureza do DNA foram determinados por densidade óptica em espectrofotômetro (NanoDrop®2000c) utilizando-se 2 µL do material extraído. A concentração de DNA foi avaliada em um comprimento de onda de 260nm. A razão entre os valores obtidos nos comprimentos de onda 260nm e 280nm foram usadas para estimar a pureza do DNA genômico. Somente as amostras de DNA com razão 260/280 acima de 1,7 foram incluídas neste estudo (caso a amostra não atinja o grau de pureza necessário, esta será reprocessada seguindo os mesmos parâmetros previamente descritos).

Genotipagem

Foram selecionados três polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs): TGFA C/T rs1523305, IRF6 A/C rs2013162 e MSX1 A/G rs12532. Esses marcadores foram escolhidos com base em informações sobre a estrutura gênica e as relações de desequilíbrio de ligação que estão disponíveis no site do International HapMap Project (<http://www.hapmap.org/>). O PCR e a análise de ponto final foram realizadas em um termociclador em tempo real (ABI PRISM® 7900HT, Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) (Stratagene Mx3005P). Após a genotipagem, as amostras foram descartadas.

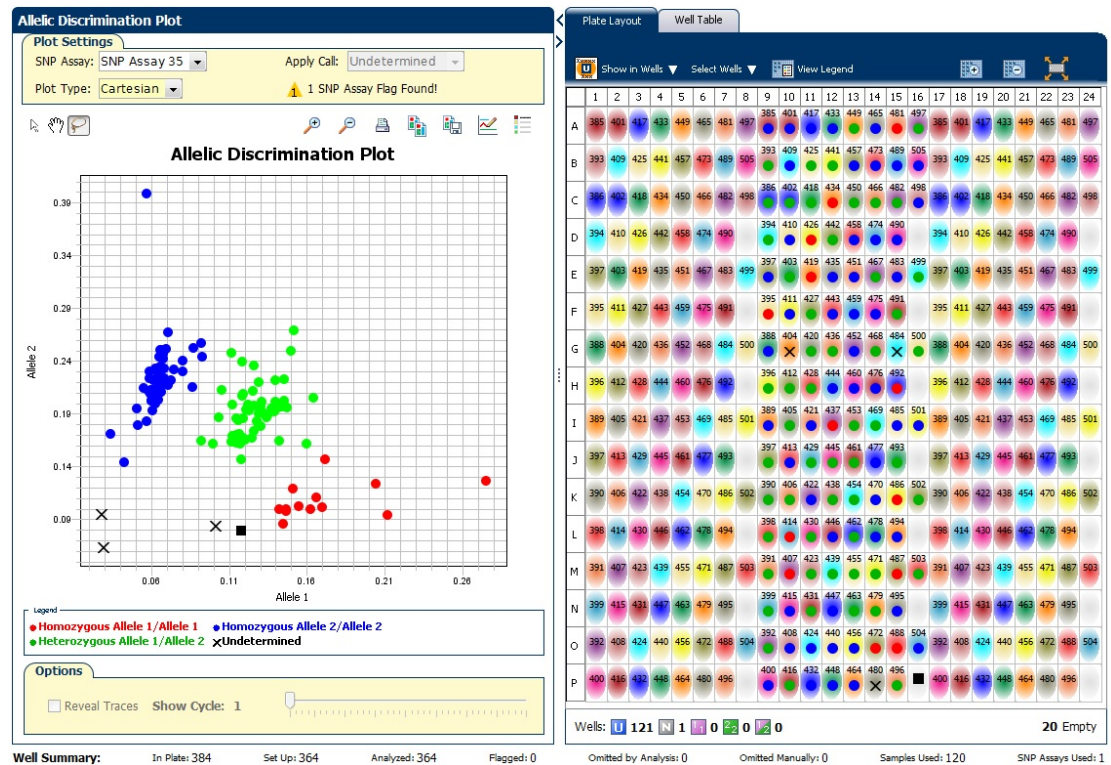


Imagem gerada pela reação de PCR.

Análise Estatística

Os dados coletados foram submetidos aos testes Razão de Chance, Testes do Qui-quadrado, Teste t independente e Exato de Fisher (nível de significância = 95%) para verificar a presença de diferença na frequência dos genótipos nas anomalias dentárias e nas maloclusões esqueléticas. As variações das medidas cefalométricas e angulares dos sujeitos do grupo Classe II e III, hipodivergentes e hiperdivergente (padrão de crescimento), e do grupo comparação (Classe I e padrão de crescimento normal) foram testadas separadamente de acordo com sexo, etnia (teste t independente) e idade (coeficiente de correlação de Spearman). O teste Razão de chance foi utilizado para ajudar a inferir o tamanho do efeito dos genótipos. O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi calculado usando o Teste do Qui-quadrado. O software utilizado para análise estatística foi o programa SPSS para Windows versão 20.0.

4. DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA

4.1 Estudo I -

Artigo submetido para a revista Journal of Craniofacial Surgery.

Dental anomalies in orthodontic patients with and without skeletal discrepancies

Clarissa Christina Avelar Fernandez¹, Mônica Gentil Mattos¹, Christiane Vasconcellos Cruz Alves Pereira¹, Alexandre Rezende Vieira², Marcelo de Castro Costa¹

¹ Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

² Department of Oral Biology, School of Dental Medicine, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA

Corresponding author:

Marcelo de Castro Costa – pttpo2009@yahoo.com.br

325, Prof. Rodolpho Paulo Rocco Street - Cidade Universitária, Rio de Janeiro – RJ, Brazil. Zip Code: 21941-617. Phone: +55 21 3938-2101.

ABSTRACT

Objective: To determine whether individuals with skeletal discrepancies of Class II or III display a higher frequency of dental anomalies in comparison with individuals with Class I malocclusion.

Design: A search of the main electronic medical scientific literature databases was conducted. Observational studies were selected if mentioning dental anomalies in the different skeletal malocclusion patterns.

Results: A total of 4,768 studies were found and the duplicated studies (1,279) were removed, resulting in 3,489 papers to be analyzed. After screening by title, 138 were fit for screening by abstract. After that, a total of 13 papers were carefully read in full. Five studies included dental anomaly frequencies in orthodontic patients and included 7,679 participants. The frequency of dental anomalies ranged from 11.2% to 40.3%. It was observed that individuals with skeletal discrepancies of Class II and III had more dental anomalies when compared to individuals with Class I.

Conclusion: Individuals with skeletal malocclusion patterns have more dental anomalies and there is an association between dental anomalies and skeletal Class II or Class III malocclusion patterns.

INTRODUCTION

Dental anomalies are clinical alterations resulting from disturbances during the tooth formation process.¹ They represent disturbances of number, size, shape, position and structure of the teeth.^{1,2} The prevalence of dental anomalies can range from 5.46 to 74.7%,^{1,3} due to different ethnicities and diagnostic criteria.^{1,4,5} The etiology of dental anomalies includes genetic and environmental factors.^{2,5,6}

Skeletal malocclusions are usually categorized and described by disturbances in the craniofacial and occlusal relationships⁷ and often appear together with the dental anomalies, asserting their relation and complicating therapy.⁸ It appears that dental anomalies may be more likely to occur if individuals have Class II or Class III relationships in comparison to Class I. This literature review aimed to confirm that evidence exists that individuals with Class I skeletal malocclusion are less likely to have dental anomalies.

MATERIAL AND METHODS

The present systematic review was registered at Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO; Centre for Reviews and Dissemination, University of York; and the National Institute for Health Research) under the registry number CRD42016038916 and followed the Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta Analyses (PRISMA) checklist.⁹

Search Strategy

The following focused question was formulated: “Is there a difference in the frequency of dental anomalies in orthodontic patients with Class II or III versus Class I malocclusion?” To develop the focused question, a set of criteria for study eligibility was adopted, based on PECOS strategy (Population: maxilla and mandible; Exposition: skeletal discrepancies; Comparison: standard of normality; and Outcome: dental anomalies), using MeSH, entry terms and key words (Table 1).

The main search was conducted in November 2016 and was updated on January 2019. Publications of potential relevance to this study were identified after searching the main electronic medical scientific literature databases, including PubMed, Scopus,

LILACS, Web of Science, the Cochrane Library, and Grey Literature. Additional articles of potential relevance were identified by manual searches. Textbooks, dissertations, case reports, case series, review articles, and abstracts were excluded. Studies in populations presenting specific systemic diseases, conditions, or metabolic disorders, and absence of the three skeletal malocclusions were excluded.

Two examiners (C.C.A.F. and M.G.M.) independently screened each paper by examining the title, abstract, and keywords. No restriction was applied regarding language or date of publication.

The selected studies were described in relation to the type of study, total sample, sex distribution, how the diagnosis of skeletal malocclusion and dental anomalies were performed, and the frequency of dental anomalies in each malocclusion. Dental anomalies were also grouped in anomalies of number, shape and position (Table 2).

RESULTS and DISCUSSION

The present systematic review was registered at Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO; Centre for Reviews and Dissemination, University of York; and the National Institute for Health Research) under the registry number CRD42016038916 and followed the Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta Analyses (PRISMA) checklist.⁹

Search Strategy

The following focused question was formulated: “Is there a difference in the frequency of dental anomalies in orthodontic patients with Class II or III versus Class I malocclusion?” To develop the focused question, a set of criteria for study eligibility was adopted, based on PECOS strategy (Population: orthodontic patients; Exposition: skeletal discrepancies; Comparison: standard of normality; and Outcome: dental anomalies), using MeSH, entry terms and key words (Table 1).

The main search was conducted in November 2016 and was updated on January 2019. Publications of potential relevance to this study were identified after searching the main electronic medical scientific literature databases, including PubMed, Scopus, LILACS, Web of Science, the Cochrane Library, and Google Scholar. Additional articles

of potential relevance were identified by manual searches. Textbooks, dissertations, case reports, case series, review articles, and abstracts were excluded. Studies in populations presenting specific systemic diseases, conditions, or metabolic disorders, and no descriptions of the three skeletal malocclusions were excluded.

Two examiners (C.C.A.F. and M.G.M.) independently screened each paper by examining the title, abstract, and keywords. No restriction was applied regarding language or date of publication.

The selected studies were described in relation to the type of study, total sample, sex distribution, how the diagnosis of skeletal malocclusion and dental anomalies were performed, and the frequency of dental anomalies in each malocclusion. Dental anomalies were also grouped in anomalies of number, shape and position (Table 2).

CONCLUSION

In summary, individuals with skeletal Class II or Class III malocclusion patterns have more dental anomalies than individuals who are Class I. In addition, there is an association between dental anomalies and skeletal Class II or Class III malocclusion patterns.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was developed as part of a course on systematic reviews and meta-analysis taken by C.C.A.F. and M.G.M. We thank Lucianne Cople Maia, Marcela Baraúna Magno, and Danielle Masterson for this learning experience.

REFERENCES

1. Uslu O, Akcam MO, Evirgen S, Cebeci I. Prevalence of dental anomalies in various malocclusions. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2009;135:328-35.
2. Basdra EK, Kiokpasoglou M, Stelizig A. The Class II division 2 craniofacial type is associated with numerous congenital tooth anomalies. *Eur J Orthod* 2000;22:529-35.
3. Díaz-Pérez R, Echaverry-Navarrete RA. Agenesia en dentición permanente. *Rev. salud pública* 2009;11(6):961-969.
4. Altug-Atac AT, Erdem D. Prevalence and distribution of dental anomalies in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007;131:510-4.
5. Kim YH. Investigation of Hypodontia as Clinically Relates Dental Anomaly: Prevalence and Characteristics. *ISRN Dentistry* 2011;Article ID 246135, 6 pages.
6. Kùchler EC, Risso PA, Costa MC, Modesto A, Vieira AR. Studies of dental anomalies in a large group of school children. *Archives of Oral Biology* 2008;53:941-946.
7. Basdra EK, Kiopasoglou MN, Komposch, G. Congenital tooth anomalies and malocclusions: a genetic link?. *Eur J Orthod* 2001;23:145-151.
8. Kathariya MD, Nikam AP, Chopra K, Patil NN, Raheja H, Kathariya R. Prevalence of Dental Anomalies among School Going Children in India. *J Int Oral Health* 2013;5(5):10-4.
9. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Brit Med J* 2009; 339:b2535.
10. Fernandez CCA, Pereira CVCA, Luiz RR, Vieira AR, Costa MC. Dental anomalies in different growth and skeletal malocclusion patterns. *Angle Orthod* 2018 Mar;88(2):195-201.
11. Chung CJ, Han J-H, Kim K-H. The pattern and prevalence of hypodontia in Koreans. *Oral Diseases* 2008;14:620-625.
12. Celikoglu M, Kamak H. Patterns of third-molar agenesis in an orthodontic patient population with different skeletal malocclusions. *Angle Orthod* 2012;82:165-169.
13. Young HK. Investigation of hypodontia as clinically related dental anomaly: prevalence and characteristics. *ISRN Dent* 2011;246134:6pages.

. Table 1 - PECOS strategy (Population; Exposition; Comparison; and Outcome), using MeSH, entry terms and key words

	MeSH	Entry Terms	Key Words
P:	Maxilla (25648) + (15289)	Bone Maxillary (21502) Maxillae (1317)	
Mandible e Maxilla			
	Jaw (92640) + (23972)	Jaws (10315)	
	Mandible* (48910) + (33401)		Craniofacial Region (584) Bone (560528) Oral region (504) Jawbone (465) Anatomic regions (798) Facial skeleton (1404)
E:	Malocclusion, Angle Class II (5272) + (03)	Angle Class II (408)	Class II (49045) Skeletal Class II Malocclusion (140)
Skeletal Discrepancies	Malocclusion, Angle Class III (2961) + (134)	Prognathism, Mandibular (1604) Angle Class III (142) Underbite (14)	Class III (17141) Skeletal Class III Malocclusion (377)
	Prognathism (3102) + (1845)		Craniofacial Abnormalities (786)
C: Standard Pattern	Malocclusion, Angle Class I (1267) + (207)	Angle Class I (260)	Class I (51655)
O: Dental Anomalies			
Search String:			
(Maxilla[MeSH Terms]) OR Maxilla[Title/Abstract]) OR Bone Maxillary[Title/Abstract]) OR Maxillae[Title/Abstract]) OR Craniofacial Region[Title/Abstract]) OR Bone[Title/Abstract]) OR Oral Region[Title/Abstract]) OR Jawbone[Title/Abstract]) OR Anatomic regions[Title/Abstract]) OR Facial skeleton[Title/Abstract]) OR Jaw[MeSH Terms]) OR Jaw[Title/Abstract]) OR Jaws[Title/Abstract]) OR Mandible[MeSH Terms]) OR Mandible*[Title/Abstract]) AND (((((((((((((Malocclusion, Angle Class II[MeSH Terms]) OR Malocclusion Angle Class II[Title/Abstract]) OR Angle Class II[Title/Abstract]) OR Class II[Title/Abstract]) OR Skeletal Class II Malocclusion[Title/Abstract]) OR Malocclusion, Angle Class III[MeSH Terms]) OR Malocclusion Angle Class III[Title/Abstract]) OR Prognathism Mandibular[Title/Abstract]) OR Angle Class III[Title/Abstract]) OR Underbite[Title/Abstract]) OR Class III[Title/Abstract]) OR Skeletal Class III Malocclusion[Title/Abstract]) OR Prognathism[MeSH Terms]) OR Prognathism[Title/Abstract]) OR Craniofacial Abnormalities[Title/Abstract])) AND (((Malocclusion, Angle Class I[MeSH Terms]) OR Malocclusion Angle Class I[Title/Abstract]) OR Angle Class I[Title/Abstract]) OR Class I[Title/Abstract])			

Table 2. Data extraction from the five selected studies

Studies	Type of study	Sample	Males N (%)	Females N (%)	Skeletal malocclusion diagnosis	Dental anomalies diagnosis	Prevalence of dental anomalies N (%)
Uslu et al., 2009	Observational	900	352 (39.1)	548 (60.9)	cephalometric tracing	Panoramic/periapical radiographs, photos, records and dental models	363 (40.3)
Celicoglu and Kamak, 2012	Observational	146	449 (42.9)	597 (57.1)	cephalometric tracing	Panoramic radiographs and records	237 (22.7)
Young, 2010	Observational	3055	1205 (39.5)	1850 (60.5)	not reported	Panoramic and periapical radiographs, and dental models	344 (11.3)
Chung et al., 2008	Observational	1793	611 (37.7)	1011 (62.3)	cephalometric tracing	Panoramic radiographs, and dental models	182 (11.2)
Fernandez et al., 2018	Observational	1047	453 (43.3)	594 (56.7)	cephalometric tracing	Panoramic and periapical radiographs, photos, records and dental models	127 (15.7)
Studies	Class I – no dental anomalies	Class II – no dental anomalies	Class III – no dental anomalies	Class I – dental anomalies	Class II – dental anomalies	Class III – dental anomalies	
Uslu et al.,	202	221	99	156	155	67	

2009						
Celicoglu and Kamak, 2012	290	290	229	74	72	91
Young, 2010	862	985	864	123	117	104
Chung et al., 2008	979	256	376	103	19	60
Fernandez et al., 2018	158	136	28	152	113	43
Studies	Class I –dental anomalies of number	Class II – dental anomalies of number	Class III – dental anomalies or number	Class I – dental anomalies of shape	Class II – dental anomalies of shape	Class III – dental anomalies of shape
Uslu et al., 2009	83	73	41	163	73	31
Celicoglu and Kamak, 2012	72	74	91	-----	-----	-----
Young, 2010	123	117	104	-----	-----	-----
Chung et al., 2008	103	19	60	-----	-----	-----
Fernandez et al., 2018	58	38	13	21	15	12

Studies	Class I – dental anomalies of position	Class II – dental anomalies of position	Class III – dental anomalies of position	Study conclusion
Uslu et al., 2009	17	6	8	A remarkably high rate of dental anomalies was recorded in orthodontic patients.
Celicoglu and Kamak, 2012	-----	-----	-----	Third molar agenesis depends on sagittal skeletal malocclusions.
Young, 2010	-----	-----	-----	The prevalence of hypodontia in Koreans is relatively high.
Chung et al., 2008	-----	-----	-----	Hypodontia was associated with third molar agenesis and skeletal Class III malocclusion.
Fernandez et al., 2018	73	60	18	Microdontia was associated with the skeletal Class III malocclusion pattern, and tooth agenesis was associated with the hypodivergent growth pattern.

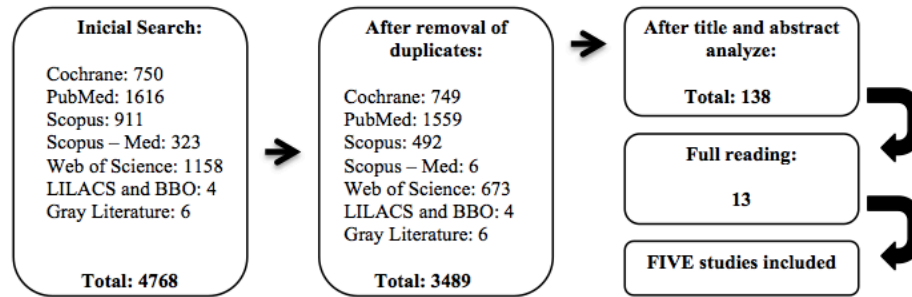


Figure 1. Flow diagram of the literature search and selection process implemented.

4.2 Estudo II:

Artigo publicado na Revista Dentistry 3000.



Dentistry 3000

Vol 7, No 1 (2019)
ISSN 2167-8677 (online)
DOI 10.5195/d3000.2019.91

Evaluation of Salivary and Oral Cell Collection Methods for Genomic DNA Extraction

Clarissa Christina Avelar Fernandez¹, Fernando Farage da Costa Felipe Ferreira¹, Christiane Vasconcellos Cruz¹, Marcelo de Castro Costa¹

¹Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, Federal University of Rio de Janeiro, Brazil

Abstract

The use of saliva and oral cells as sources of biological material has gained attention, due to advantages such as facility, non-invasiveness, and great patient acceptance. The objective of the study was to compare four different types of saliva and oral buccal cell collecting methods for genomic DNA extraction: (1)Expectoration of saliva, (2)Expectoration of saliva with lingual stimulation, (3)Scraping with cytological brush, and (4)Scraping with cytological brush and expectoration of saliva. The sample was composed of students and employees from the Dental School of the Federal University of Rio de Janeiro (n = 20, 10 men and 10 women with mean age of 47.60 ± 15.70 and 20.50 ± 2.1, respectively). The collections were performed with an interval of at least one day between them and the participants were instructed to stay for less than 30 minutes without eating food and brushing teeth. Samples were stored at -20°C until DNA extraction was performed using a commercially available kit (Qiagen®). Differences in DNA yield between methods were test for statistical significance with an alpha of 0.05. No sexual dimorphism was observed in relation to the concentration of DNA (p=0.76), age (p=0.91), and ethnicities (p=0.72). There was no significant difference between the collection methods in relation to the quantity and purity of the extracted DNA (p<0.05). All methods gave lower DNA yields than the ones obtained from blood or saliva collected through commercial kits and may be carefully use for clinical diagnostic purposes or for research experiments requiring higher DNA concentrations.

Citation: Fernandez CCA, et al. (2019) Evaluation of salivary and oral cell collection methods for genomic DNA extraction. Dentistry 3000. 1:a001. doi:10.5195/d3000.2019.91
Received: May 17, 2019
Accepted: May 23, 2019
Published: July 25, 2019
Copyright: © 2019 Fernandez CCA, et al. This is an open access article licensed under a Creative Commons Attribution Work 4.0 United States License.
Email: pttpo2009@yahoo.com.br

Corresponding author: Marcelo de Castro Costa – pttpo2009@yahoo.com.br

325, Prof. Rodolpho Paulo Rocco Street - Cidade Universitária, Rio de Janeiro – RJ, Brazil. Zip Code: 21941-617. Phone: +55 21 3938-2101.

ABSTRACT

The use of saliva and oral cells as sources of biological material has gained attention, due to advantages such as facility, non-invasiveness, and great patient acceptance. The objective of the study was to compare four different types of saliva and oral buccal cell collecting methods for genomic DNA extraction: (1)Expectoration of saliva, (2)Expectoration of saliva with lingual stimulation, (3)Scraping with cytological brush, and (4)Scraping with cytological brush and expectoration of saliva. The sample was composed of students and employees from the Dental School of the Federal University of Rio de Janeiro (n = 20, 10 men and 10 women with mean age of 47.60 ± 15.70 and 20.50 ± 2.1 , respectively). The collections were performed with an interval of at least one day between them and the participants were instructed to stay for less than 30 minutes without eating food and brushing teeth. Samples were stored at -20°C until DNA extraction was performed using a commercially available kit (Qiagen®). Differences in DNA yield between methods were test for statistical significance with an alpha of 0.05. No sexual dimorphism was observed in relation to the concentration of DNA ($p=0.76$), age ($p=0.91$), and ethnicities ($p=0.72$). There was no significant difference between the collection methods in relation to the quantity and purity of the extracted DNA ($p \geq 0.05$). All methods gave lower DNA yields than the ones obtained from blood or saliva collected through comercial kits and may be carefully use for clinical diagnostic purposes or for research experiements requiring higher DNA concentrations.

INTRODUCTION

DNA for diagnostic or research purposes can be obtained from various biological materials. In the last decades, the DNA used in molecular studies was preferentially obtained from blood samples since they provide a large number of cells and, consequently, a good yield [1,2]. However, collection of blood samples has some drawbacks such as the potential non-viability in large population-based studies. Because it is an invasive method, some patients may be resistant to collection, need a specialized professional to perform the procedure, and it is more difficult to perform in the elderly and children [1,3,4]. Another factor to be emphasized is that the ferrous ions (Fe^{2+}) present in the blood compete with Mg^{2+} ions, which are inhibitors of PCR (C-reactive protein) [1,2].

Saliva has been increasingly used as a source of genomic DNA suitable for large studies because it is non-invasive and has diagnostic potential. In addition, when compared to the traditional method of collecting DNA from blood, it presents a reduced cost and is a non-invasive method that can be performed more easily in children, the elderly, and patients with special needs [5]. Collecting saliva also brings no risk of infections and has the potential to become a first line of clinical diagnosis [6].

A number of methods for collecting saliva and buccal cells have been reported: swabs, brushes, mouthwashes [4], drainage method, spit method, suction method, and stimulation by paraffin mastication and/or by applying citric acid to the tongue [6]. DNA quality is essential for the success rates in analyzes and the amount of DNA collected is extremely important and we must be attentive to these factors during the choice of DNA collection method [7].

Despite the obvious practicality and advantages of saliva and oral cells in obtaining DNA, there is a difference in the amount of DNA obtained depending on the method of extraction of genomic DNA from saliva used. The objective of the present study was to compare four different methods of collecting saliva and buccal cells for DNA extraction evaluation of its concentration and purity.

MATERIALS AND METHODS

1. SAMPLE SELECTION

Twenty participants [10 males and 10 females, mean age of 36.55 (\pm 15.74) years, 13 White and 7 Black] who were students and employees at the School of Dentistry of the Federal University of Rio de Janeiro were selected (convenience sample). The inclusion of these individuals occurred after they read and signed a Term of Free Consent. This project was approved by the Research Ethics Committee of the University Hospital Clementino Fraga Filho (HUCFF/UFRJ) - number 619.096.

2. DATA COLLECTION

During the interview, data such as age, sex, and ethnicity were recorded. Then, four different protocols randomized for the order that they were performed were used for the collection of saliva and buccal cells by a single researcher (C.C.A.F.), with an interval of at least one day between each other. Participants were instructed to not smoke, eat and brush their teeth for at least 30 minutes before each saliva collection.

1. Expectoration of saliva;
2. Expectoration of saliva with lingual stimulus;
3. Scraping with a cytological brush; and,
4. Scraping with cytological brush + expectoration of saliva.

2.1 Expectoration of saliva

Saliva collected was stored in a falcon tube. The researcher instructed each individual to spit until the marking of 2 ml. After the protocol collection was performed, information such as the date of the collection, the method and the study identifier the

participant were recorded on the tube and it was protected by a plastic bag and stored at -20°C. This step was performed routinely in all the different protocols carried out in this research.

2.2 Expectoration of saliva with lingual stimulus

In this salivary collection method, the individuals were instructed to perform stimulation through the friction of their tongue against intraoral structures and after, they were asked to spit. Step by step, this method consisted of rubbing the tongue in the teeth, jugal mucosa, and roof of the mouth 10 times in each hemiarch in order to detach buccal cells from the oral mucosa.

2.3 Scraping with a cytological brush

Scraping of buccal cells from the oral mucosa was performed with a cytological brush that was then stored in a Falcon tube. The procedure was performed by a single researcher (C.C.A.F.) who positioned the brush comfortably in the individual's mouth and rubbed the lower gum 10 times with rotational movements and back and forth.

2.4 Scraping with a cytological brush + expectoration of saliva

This method consisted of the combination of the methods Scraping with a cytological brush and Expectoration of saliva.

3. DNA EXTRACTION

To extract the DNA from the samples, the steps of the Qiagen® Kit proposed by the manufacturer were followed:

https://www.qiagen.com/br/qdm/alp/allprep-selection-guide?intcmp=ECOM_WEB_SelectionGuides_2610_teaser_Tools_AllPrepGuide

4. DNA QUANTIFICATION

The concentration and purity of the DNA were determined by optical density spectrophotometer (NanoDrop® 2000c) using 2µL of the extracted material. The DNA concentration was evaluated at a wavelength of 260nm. The ratio between the values obtained at wavelengths 260nm and 280nm was used to estimate the purity of the genomic DNA. Only DNA samples with a 260/280 ratio above 1.7 were considered satisfactory for DNA purity.

5. STATISTICAL ANALYSIS

Descriptive statistics were applied evaluating the frequency of sex, ethnicity and the mean age of all the studied individuals. One-way ANOVA and T-tests were used to determine differences between groups. In addition, chi-square and/or Fisher's Exact test ($p \geq 0.05$) were used to verify statistical differences in frequencies between the dichotomous variables. The data were tabulated and analyzed in the statistical software SPSS version 20.0 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc, Chicago, III) and all tests were carried out with a 95% significance level.

RESULTS

The mean concentration of genomic DNA was not different between males [6.74 (± 1.88) ng/µl] and females [6.88 (± 2.31) ng/µl] ($p = 0.76$). This shows that there is no sexual dimorphism regarding the amount of genomic DNA recovered from saliva samples of females and males (Table 1). The average amount of genomic DNA obtained from each method can be observed in Table 1. There were no statistical differences between the methods.

DISCUSSION

The four methods of saliva and buccal cell collection did not show DNA yield differences but the values obtained are remarkably lower than the ones obtained from kit-based saliva collection methods [8].

Most of the studies reported in the literature collected buccal cells and saliva in three ways: rubbing or scraping the oral mucosa with cytological brushes, mouthwash with oral solution and saliva expectoration [1,3,9,10]. The collections are performed through commercial kits and the details of each methodology depend on to the manufacturers' instructions. The most commonly used commercial kit is Oragene® (DNA Genotek) where assessed individuals need only expectorate in a small bottle. When the bottle is closed, a solution containing bactericidal substances mix with the saliva and preserve the DNA, allowing the sample to be held for several months at room temperature. This kit has presented favorable amounts of genomic DNA and is easy to apply, allowing even self-collection [5,7,11,12]. On the other hand, Oragene® kit is expensive, which represents a disadvantage in studies with a large sample. In our study, we did not use a method that included a commercial saliva collection kit, however DNA concentrations obtained were much lower in comparison to these commercial saliva collection kits⁸ and this suggests these protocols potentially will not allow for analyses that require higher DNA concentrations.

All methods gave lower DNA yields than the ones obtained from blood or saliva collected through comercial kits and may be carefully use for clinical diagnostic purposes or for research experiements requiring higher DNA concentrations.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are indebted to the participants of the study.

REFERENCES

1) Avaliação do rendimento, pureza e integridade do DNA genômico em diferentes protocolos de coleta de células bucais. Waltrick-Zambuzzi MR, Vieira, TCS, Romanos HF, Macedo EE, Granjeiro JM, Kuchler EC. *Int J Dent, Recife*. 2012 jan/mar; 11(1):12-18.

2) Comparison of different collection procedures and two methods for DNA isolation from saliva. Durdiaková J, Kamodyivá N, Ostatníková D, Vlková B, Celec P. *Clin Chem Lab Med*. 2012; 50(4):643–647.

3) Determinants of DNA yield and purity collected with buccal cell samples. Van Wieren-de Wijer DBMA, Maitland-van der Zee AH, de Boer A, Belitser SV, Kroon AA, de Leeuw PW, Schiffers P, Janssen RGJH, van Duijn CM, Stricker BHCH, Klungel OH. *Eur J Epidemiol*. 2009; 24: 677-682.

4) Comparison of methods for collection of DNA samples by mail in the black women's health study. Cozier YC, Palmer JR, Rosenberg L. *Ann Epidemiol*. 2004; V. 14, P.117-122.

5) DNA yield and quality of saliva samples and suitability for large-scale epidemiological studies in children. Koni AC, Scott RA, Wang G, Bailey MES, Peplies J, Bammann K, Pirsiladis YP. *Internt Journ of Obes*. 2011; V. 35. P 113-118.

6) Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. Pfaffe T, Cooper-White J, Beyerlein P, Kosner K, Punyadeera C. *Clin Chem*. 2011; V. 57. P 675-687.

7) Quality and quantity of saliva DNA obtained from the self-administrated orogene method - a pilot study on the cohort of swedish men. Rylander-Rudqvist T, Hankansson N, Tybring G, Wolk, Alicja. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006;15(9).

8) Comparative study of five commercially available saliva collection kits for DNA extraction. Deeley K, Noel J, Vieira AR. *Clin Lab*. 2016; 1;62(9):1809-1813.

09) Collection of buccal cell DNA in seventh-grade children using water and a toothbrush. London SJ, Xia J, Lehman TA, Yang J, Granada E, Chunhong L, Dubeau L, Li T, David-Beabes GL, Li Y. Canc Epid Biom Prev, 2001; v.10, p.1227-1230.

10) Quality of DNA extracted from saliva samples collected with the Oragene DNA self- collection kit. Nuner AP, Oliveira IO, Santos BR, Millech C, Silva LP, González DA, Hallal PC, Menezes AMBB, Araújo CL, Barros F. Med Reserch Method. 2012.

11) Collection of blood, saliva and buccal cell samples in a pilot study on the danish nurse cohort: comparison of the response rate and quality of genomic DNA. Hansen TO, Simonsen MK, Nielsen FC, Hundrup YA. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2007; V. 16. P.2072-2076.

12) Buccal DNA collection: comparison of buccal swabs with FTA cards. Milne E, Bockxmeer FMV, Robertson L, Brisbane JM, Ashton LJ, Scott RJ, Armstrong BK. Canc Epid Biom Prev. 2006; V.15. P. 816-819.

Table 1. Characterization of the sample in relation to age, ethnicity and its relationship with DNA concentration according to sex.

	Male	Female	Total	p value
Age (\pmSD)	47.60 \pm 15.70	25.50 \pm 2.18	36.55 \pm 15.74	* ^A
Ethnicity: N(%)				
White	4(40)	9(90)	13(65)	
Black	6(60)	1(10)	7(35)	* ^B
DNA concentration \pmSD	6.74 \pm 1.89	6.89 \pm 2.31	6.81 \pm 2.10	0.57 ^A
Protocol of Saliva Collection				
Expectoration of saliva	5.73 \pm 1.36	5.06 \pm 1.28	5.39 \pm 1.33	
Expectoration of saliva with lingual stimulus	5.66 \pm 1.66	7.40 \pm 3.70	6.53 \pm 2.93	
Scraping with a cytological brush	8.10 \pm 1.56	7.89 \pm 1.02	8 \pm 1.29	
Scraping with cytological brush + expectoration of saliva	7.47 \pm 1.80	7.19 \pm 1.26	7.33 \pm 1.52	0.68 ^C

Notes: * p value <0,001.

P-value obtained according to T- test^A, Chi-square test^B and ANOVA one-way test^C

4.3 Estudo III:

Este artigo submetido para a Revista Am J Orthod Dentofacial Orthop.

IRF6, MSX1, dental anomalies, and skeletal malocclusion

Clarissa Christina Avelar Fernandez¹, Christiane Vasconcellos Cruz Alves Pereira¹,
Fernanda Farage da Costa Felipe Ferreira¹, José Vinicius Bolognesi Maciel¹, Adriana
Modesto², Marcelo de Castro Costa¹, Alexandre Rezende Vieira²

¹ Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

² Departments of Oral Biology and Pediatric Dentistry, School of Dental Medicine, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA

Corresponding author:

Alexandre R. Vieira – arv11@pitt.edu

412 Salk Pavilion, Dept. Oral Biology. School of Dental Medicine, University of Pittsburgh, 335 Sutherland Drive, Pittsburgh, PA, 15261, USA. Phone # 412-383-8972

ABSTRACT

Introduction: Our goal was to verify the association and phenotype-genotype correlation between *TGFA* (Transforming Growth Factor α) (C/T rs1523305), *IRF6* (Interferon Regulatory Factor 6) (A/C rs2013162) and *MSXI* (Muscle Segment Homeobox 1) (A/G rs12532) and dental anomalies in patients with skeletal malocclusion.

Methods: A total of 505 orthodontic records were evaluated. Nineteen cephalometric points, which served as the anatomical framework for obtaining cephalometric measurements were used for skeletal characterization. Samples of saliva and buccal cells from oral mucosa were collected from all participants and the DNA was extracted, diluted and quantified. Markers in *TGFA*, *IRF6* and *MSXI* were used and genotypes were obtained using TaqMan chemistry. Odds ratio, chi-square, Fisher's Exact, independent *t* and correlation coefficient tests (significance level = 95%) were performed.

Results: 285 (56.4%) individuals were females and 304 (60.2%) were White. The mean age of the sample was 20.28 (\pm 10.35) years. There was no association between polymorphisms in the *TGFA* with dental anomaly in patients with skeletal malocclusions. *IRF6* was associated with Class III skeletal malocclusion ($p=0.04$, OR=0.69, C.I. 0.49-0.98), and *MSXI* was associated with hypodivergent growth pattern ($p=0.003$, OR=0.5, 95% C.I. 0.36-0.74), and Class II skeletal malocclusion ($p=0.0001$, OR=0.6, C.I. 0.46-0.78). In regards to dental anomalies, *MSXI* was also associated with tooth impaction ($p=0.03$, OR=0.67, 95% C.I. 0.47-0.96) and root dilaceration ($p=0.04$, OR=0.27, 95% C.I. 0.07-0.97).

Conclusions: *MSXI* was associated with both hypodivergent growth pattern and Class II skeletal malocclusion, and tooth impaction and root dilaceration, whereas *IRF6* was associated with Class III skeletal malocclusion.

INTRODUCTION

Dental defects and abnormalities occur during the various stages of development of the dental life cycle. The nature of the defect depends on the stage of development of the tooth at the time it occurs.¹ A few hundred genes have been associated with dental development and have shown association between a dental anomaly, like agenesis, and genetic variation in *MSX1*, *PAX9*, *TGFA*, *IRF6*, *FGFR1*, *AXIN2*, *MMP1*, and *MMP20*.²⁻⁸

Oftentimes, disturbances in craniofacial and occlusal relationships appear together with dental anomalies,⁹⁻¹² supporting the hypothesis that the same genes and/or pathways may contribute to certain types of dental anomalies and skeletal malocclusions.¹³ Dental anomalies also present an increased frequency in patients with skeletal malocclusion patterns.^{1,14} *IRF6* (Interferon Regulatory Factor 6), *MSX1* (Muscle Segment Homeobox 1), and *TGFA* (Transforming Growth Factor α), are genes that have been associated independently with tooth agenesis and cleft lip and palate^{15,16} and we hypothesize that these genes may contribute to skeletal malocclusion as well.

MATERIALS AND METHODS

Sample

This study was composed of 505 patients, older than 8 years, who are undergoing treatment (active or restraining) at the Department of Orthodontics, Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ). This study was approved by the Research Ethics Committee of the University Hospital Clementino Fraga Filho (HUCFF) - UFRJ, under the number 619.096 and all participants had to read and sign an Informed Consent document. Patients with syndromes and/or endocrine imbalances and metabolic disorders were excluded.

Calibration

The calibration for the diagnosis of dental anomalies and cephalometric measures was performed as described previously (Kappa = 0.91 and ICC = 0.87).¹³

Data collection

The criterion for selection of the sample related to dental anomalies was based on the condition that the records contained a panoramic radiograph of good quality, allowing the visualization of all the dental elements and surrounding structures. One single examiner (CCAF) evaluated the radiographs with the help of a x-ray view measuring 13 cm x 37 cm covered with a black cardboard frame in ideal lighting conditions, that is in a room whose only light was that of the negatoscope and magnifying glass. Patients who did not have a reliable diagnosis of a dental anomaly due to the poor quality of the radiograph, delayed dental age or lack of reliable information about the parents were excluded.

For all the individuals selected, interviews were conducted with the patients themselves and their parents, using questionnaires to evaluate the following parameters: socio-demographic and cultural information, presence of systemic alterations, medication use, and family history of occlusal changes. The clinical evaluation was done in a dental chair located in a fully equipped room and facial features were observed, such as molar relationship, presence of dental anomalies, and parafunctional habits.

Phenotype Characterization

For the characterization of the skeletal pattern, 19 cephalometric points were determined (Po, S, Or, Ls, Go, Pog, Pog', Me, D, A, B, Go, N, Gn, Ba, R1, R2, R3 and R4), which served as the anatomical framework for obtaining the angles and measurements, as follows, SNA, SNB, SND, ANB, Sn-GoGn, facial depth, mandibular depth, and facial convexity in the cephalometric profile radiograph. All dental records had to contain a lateral cephalometric radiograph with a good quality.

To characterize the growth patterns, the values of the mandibular plane angle measured in the cephalometric radiograph (SN-GoGn) were used according to

Steiner (1953)¹⁷ and a previous study¹³:

- SN-GoGn angle < 32° = hypodivergent,

- SN-GoGn angle = 32° = normal, and
- SN-GoGn angle $> 32^\circ$ = hyperdivergent.

The skeletal classification was defined by using the values of the sagittal intermaxillary angle (SNA–SNB=ANB), according to the cephalometric standard for skeletal type as recommended by Steiner (1953)¹⁷ and proposed by some authors¹³:

- ANB angle with values between 0° and 4° = Class I,
- ANB angle with values $> 4^\circ$ = Class II, and
- ANB angle with values $< 0^\circ$ = Class III.

All cephalometric tracing was performed using the Dolphin Software (Dolphin Imaging) by a single calibrated individual (CCAF).

Biological Sample Collection

Samples of saliva and buccal cells from oral mucosa were collected from all participants using the method of expectoration and were stored in sterile falcon tubes. The tubes containing the biological material were stored at -20°C . Participating individuals were instructed not to ingest food, water, or brush their teeth for up to 30 minutes prior the collection.

DNA extraction

DNA extraction was performed according to a previously published study.¹⁸

DNA Amount and Purity Evaluation

The concentration and purity of the DNA were determined by optical density spectrophotometer (NanoDrop® 2000c) using 2 μl of the extracted material. The DNA

concentration was evaluated at a wavelength of 260nm. The ratio between the values obtained at wavelengths 260nm and 280nm were used to estimate the purity of the genomic DNA. Only DNA samples with a 260/280 ratio above 1.7 were included in this study (if the sample did not reach the required degree of purity, it was reprocessed following the same parameters previously described).

Genotyping

Three single-nucleotide polymorphisms (SNPs) were selected: *TGFA* C/T rs1523305, *IRF6* A/C rs2013162, and *MSXI* A/G rs12532. These markers were chosen based on information on the gene structure and linkage disequilibrium relationships that use to be available at the International HapMap Project Web site (<http://www.hapmap.org/>). PCR and end point analysis were performed on a real-time thermocycler (ABI PRISM® 7900HT, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) (Stratagene Mx3005P).

Statistical analysis

Odds ratio calculations, chi-square, Fisher's Exact, and independent *t* tests (significance level = 95%) were used to verify the presence of genotype frequency differences in the distribution of dental anomalies and skeletal malocclusion. The variations of cephalometric measurements and angles of the skeletal Class II and III subjects, and hypodivergent and hyperdivergent (growth pattern) and the comparison group (Class I and normal growth pattern) were tested separately according to sex, ethnicity (independent *t* test), and age (correlation coefficient). Odds ratios were used to help infer the effect size of genotypes. Hardy-Weinberg equilibrium was calculated using chi-square. The SPSS program for Windows version 20.0 was used for all analyses.

RESULTS

The sample consisted of 285 (56.4%) females, 220 (43.6%) males, 304 (60.2%) Whites, with a mean age of 20.28 (± 10.35) years. Sex and ethnicity were not statistically significantly different between Class I, Class II, and Class III individuals. The majority of subjects presented skeletal Class I malocclusion (n=251) and normal growth pattern (n=239).

The frequency of dental anomalies in the total sample was 22% (n=111). Tooth impaction (16%), dental agenesis (4.8%), and giroversion (4.2%) were the most prevalent dental anomalies in the studied group (Table I). Table II summarizes the cephalometric measurements depending on the presence of dental anomalies and dental agenesis. The angles SNB (p=0.04), SND (p=0.04) and facial convexity (p<0.001) were statistically significant and related to tooth agenesis.

There was no association between polymorphisms in the *TGFA* with dental anomaly in patients with skeletal malocclusions. *IRF6* was associated with Class III skeletal malocclusion (p=0.04, OR=0.69, 95% C.I. 0.49-0.98), and *MSXI* was associated with hypodivergent growth pattern (p=0.003, OR=0.5, 95% C.I. 0.36-0.74) and Class II skeletal malocclusion (p=0.0001, 95% OR=0.6, C.I. 0.46-0.78). In relation to dental anomalies, *MSXI* was also associated with tooth impaction (p=0.03, OR=0.67, 95% C.I. 0.47-0.96) and root dilaceration (p=0.04, OR=0.27, 95% C.I. 0.07-0.97) (Table III).

DISCUSSION

Many studies reported the association between dental anomalies and skeletal malocclusions^{1,14, 19-23}, and a genetic contribution is widely accepted.²² Little is known regarding the genes that may contribute to the presence of dental anomalies in patients with skeletal malocclusion. We typed three polymorphisms from three loci in order to determine phenotype-genotype association and in an attempt to unveil a common genetic variant related to dental anomalies and skeletal malocclusion. We found evidence that the genetic variation in *IRF6* A/C rs2013162 contributes to skeletal Class III malocclusion with mandibular prognathism and *MSXI* A/G rs12532 contributes to both horizontal (Class II skeletal malocclusion) and vertical (hypodivergent growth pattern) maxillomandibular

discrepancies. We also found an association between *MSXI* A/G rs12532 and dental anomalies of shape and position (root dilaceration and tooth impaction). Hence, it is possible that certain dental anomalies and specific skeletal malocclusion patterns share the same genetic contributions.¹⁹

In addition, mutations in *MSXI* have been linked to more severe forms of human tooth agenesis (oligodontia)²⁴ with preferential agenesis of second premolars and third molars and we have found association between common variation in *MSXI* and hypodontia.²⁵ *IRF6* gene deletions and point mutations are responsible for Van der Woude and popliteal pterygium syndromes.²⁶ Van der Woude syndrome is a disorder in which lower-lip pits and less frequently tooth agenesis are the only features distinguishing the syndrome from isolated cleft lip with or without cleft palate (CL/P).²⁷ *IRF6* common variants have been associated with hypodontia.^{4,5} According to our results, tooth agenesis was associated with facial convexity angle regarding to a convex profile and mandibular retrognathisms, both conditions may be related to a skeletal Class II malocclusion phenotype.

Despite previous reports on dental anomalies in individuals with skeletal malocclusion,^{1,13,28} this is the first study that investigated genetic variants, dental anomalies and skeletal malocclusion in the same cohort. We showed that *MSXI* A/G rs12532 is associated with both skeletal Class II malocclusion and horizontal growth pattern as well as dental anomalies, providing evidence they share the same genetic contributions. Other hypothesis is that this association is related to the decrease of the arch perimeter, caused by craniofacial disturbances (growth pattern and skeletal malocclusion), favoring the development of dental abnormalities, such as position and shape anomalies (impaction and giroversion).

CONCLUSION

IRF6 is associated with skeletal Class III malocclusion and *MSXI* is associated with hypodivergent growth pattern and skeletal Class II malocclusion. *MSXI* is also associated with tooth impaction and root dilaceration, showing that the same gene is

associated with horizontal and vertical skeletal maxillomandibular discrepancies and dental anomalies.

REFERENCES

1. Uslu O, Akcam MO, Evirgen S, Cebeci I. Prevalence of dental anomalies in various malocclusions. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2009;135:328–335.
2. Vieira AR, Meira R, Modesto A, Murray JC. MSX1, PAX9, and TGFA contribute to tooth agenesis in humans. *Journal of Dental Research.* 2004; 83:723–727. [PubMed: 15329380]
3. Pardo RA, Castillo S, Vieira AR. Genetic studies of a Chilean family with three different dental anomalies. *Rev Méd Chile* 2006; 134: 1541-1548.
4. Vieira AR, Modesto A, Meira R, Barbosa AR, Lidral AC, Murray JC. Interferon regulatory factor 6 (IRF6) and fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) contribute to human tooth agenesis. *American Journal of Medical Genetics Part A.* 2007; 143:538–545. [PubMed: 17318851]
5. Vieira AR, Seymen F, Patir A, Menezes R. Evidence of linkage disequilibrium between polymorphisms at the IRF6 locus and isolate tooth agenesis, in a Turkish population. *Archives of Oral Biology.* 2008; 53:780–784. [PubMed: 18452891]
6. Callahan N, Modesto A, Deeley K, Meira R, Vieira AR. Transforming growth factor-alfa gene (TGFA), human tooth agenesis, and evidence of segmental uniparental isodisomy. *European Journal of Oral Sciences.* 2009a; 117:20–26. [PubMed: 19196314].
7. Callahan N, Modesto A, Meira R, Seymen F, Patir A, Vieira AR. Axis inhibition protein 2 (AXIN2) polymorphisms and tooth agenesis. *Archives of Oral Biology.* 2009b; 54:45–49. [PubMed: 18790474]
8. KÜchler EC, Menezes R, Callahan N, Costa MC, Modesto A, Meira R, Patir A, Seymen F, Paiva KB, Nunes FD, Granjeiro JM, Vieira AR. MMP1 and MMP20 contribute to tooth agenesis in humans. *Archives of Oral Biology.* 2001; 56:506–511. [PubMed: 21144496]

9. Sacerdoti R, Baccetti T. Dentoskeletal features associated with unilateral or bilateral palatal displacement of maxillary canines. *Angle Orthod.* 2004;74:725–732.
10. Mercuri E, Cassetta M, Cavallini C, Vicari D, Leonardi R, Barbato E. Dental anomalies and clinical features in patients with maxillary canine impaction. *Angle Orthod.* 2013;83:22–28.
11. Ramiro-Verdugo J, De Vicente-Corominas E, Montiel-Company JM, Gandía-Franco JL, Bellot-Arcís C. Association between third molar agenesis and craniofacial structure development. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2015;148:799–804.
12. Amini F, Hamed S, Haji Ghadimi M, Rakhshan V. Associations between occlusion, jaw relationships, craniofacial dimensions and the occurrence of palatally displaced canines. *Int Orthod.* 2017;15:69–81.
13. Fernandez CCA, Pereira CVCA, Luiz RR, Vieira AR, Costa MC. Dental anomalies in different growth and skeletal malocclusion patterns. *Angle Orthod.* 2018; Mar;88(2):195-201. doi:10.2319/071917-482.1Epub2017Dec7.
14. Küchler EC, Risso PA, Costa MC, Modesto A, Vieira AR. Studies of dental anomalies in a large group of school children. *Arch Oral Biol.* 2008;53:941–946.
15. D’Souza RN, Kapadia H, Vieira AR. Teeth. In: Stevenson RE, Hall JG (eds.). *Human malformations and related anomalies.* Oxford University Press: New York, 2006, p. 425-465.
16. Vieira AR. Unraveling human cleft lip and palate research. *J Dent Res* 2008; 87:119-125.
17. Steiner CC. Cephalometrics for you and me. *Am J Orthod.* 1953;39:729–755.
18. Trevilatto PC, Line SR. Use of buccal epithelial cells for PCR amplification of large DNA fragments. *J Forensic Odontostomatol* 2000; 18:6-9.
19. Basdra EK, Kiokpasoglou M, Stelzig A. The Class II division 2 craniofacial type is associated with numerous congenital tooth anomalies. *Eur J Orthod.* 2000;22:529–535.
20. Basdra EK, Kiopasoglou MN, Komposch, G. Congenital tooth anomalies and malocclusions: a genetic link? *Eur J Orthod.* 2001;23:145–151.

21. Altug-Atac AT, Erdem D. Prevalence and distribution of dental anomalies in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2007;131:510–514.
22. Díaz-Pérez R, Echaverry-Navarrete RA. Agenesia en dentición permanente. *Rev Salud Pública.* 2009;11:961–969.
23. Kim YH. Investigation of hypodontia as clinically relates dental anomaly: prevalence and characteristics. *ISRN Dentistry.* 2011;Article ID 246135.
24. Vastardis H, Karimbux N, Guthua SW, Seidman JG, Seidman CE. A human MSX1 homeodomain missense mutation causes selective tooth agenesis. *Nat Genet.* 1996 Aug;13(4):417-21.
25. Vieira AR. Oral clefts and syndromic forms of tooth agenesis may be the best models for genetics of isolated tooth agenesis. *J Dent Res* , 2003; 82:162-165.
26. Kondo S, Schutte BC, Richardson RJ, Bjork BC, Knight AS, Waranabe Y, Howard E, Lima RL, Daack-Hirsch S, Sander A, McDonald-McGinn DM, Zackai EH, Lammer EJ, Aylsworth AS, Ardinger HH, Lidral AC, Pober BR, Moreno L, Arcos-Burgos M, Valencia C, Houdayer C, Bahuaui M, Moretti-Ferreira D, Richieri-Costa A, Dixon MJ, Murray JC. Mutations in interferon regulatory factor 6 cause Van der Woude and popliteal pterygium syndromes. *Nat Genet* 2002;32:285–289. [PubMed: 12219090]
27. Mossey, PA.; Little, J. Epidemiology of oral clefts: An international perspective. In: Wyszynski, DF., editor. *Cleft lip and palate From origin to treatment.* New York: Oxford; 2002. p. 127-158.
28. Chung CJ, Han J-H, Kim K-H. The pattern and prevalence of hypodontia in Koreans. *Oral Dis.* 2008;14:620–625.

Table 1. Aspects of the studied population.

Sample Characteristics	N (%)	Dental Anomalies		P-value
		Yes	No	
Sex distribution				
Males	220 (43.6)	53(48.2)	166(42.1)	0.258 ^a
Females	285 (56.4)	57(51.8)	228(57.9)	
Ethnicity				
White	304 (60.2)	66(60)	237(60.2)	0.977 ^a
Others	201 (39.8)	44(40)	157(39.8)	
Dentition				
Mixed	90 (17.8)	31(28.2)	58(14.7)	* ^a
Permanent	415 (82.2)	79(110)	335(85)	
Dental anomalies				
Total		110 (21.8)	394 (78)	
Agenesis		24 (4.8)	481 (95.2)	
Third molar agenesis		9 (1.8)	496 (98.2)	
Giroversion		21 (4.2)	484 (96.8)	
Supernumerary		11 (2.2)	494 (97.8)	
Impaction		81 (16)	424 (84)	
Microdontia		4 (0.6)	502 (99.4)	
Macrodontia		2 (0.4)	503 (99.6)	
Dilaceration		5 (1)	500 (99)	
Dens invaginatus		1 (0.2)	504 (99.8)	
Fusion		2 (0.4)	503 (99.6)	
Transposition		8 (1.6)	497 (98.4)	
Taurodontism		2 (0.4)	503 (99.6)	* ^b
Skeletal patterns				
Class I		49(44.5)	180(45.7)	0.159
Class II		43(39.1)	114(28.9)	
Class III		17(15.5)	80(20.3)	
Growth patterns				
Normal		42(38.2)	1(0.3)	0.393
Hypodivergent		35(31.8)	85(21.6)	
Hyperdivergent		29(26.4)	116(29.4)	

Note: ^aChi-square test; ^b Independent *t* test; * p-value<0.001

* Statistically significant.

Table 2. Average of cephalometric measurements in patients with and without dental anomalies and dental agenesis

Cephalometric measurements	Dental Anomalies		P value	Agenesis		P value
	Yes	No		Yes	No	
<i>SNA</i>	82.93 ±5.02	82.73 ±4.59	0.86	81.33 ±6.49	82.85 ±4.58	0.36
<i>SNB</i>	79.56 ±4.85	80.22 ±4.78	0.97	78.10 ±6.43	80.16 ±4.68	0.04
<i>Maxillary Depth</i>	96.88 ±5.21	97.25 ±4.55	0.36	93.25 ±3.01	97.25 ±4.73	0.08
<i>Facial Angle</i>	94.02 ±3.87	93.98 4.52	0.13	92.25 ±3.91	94.07 ±4.34	0.73
<i>ANB</i>	3.32 ±3.54	2.52 ±4.09	0.08	3.19 ±3.19	2.69 ±2.69	0.47
<i>Facial Convexity</i>	6.56 ±10	7.01 ±10.9	0.96	13.88 ±13.3	6.32 ±9.61	*
<i>SND</i>	76.80 ±4.69	77.54 ±4.63	0.64	75.53 ±6.42	77.46 ±4.52	0.04
<i>SN GoGn</i>	33.65 ±6.14	33.38 ±7.35	0.67	36.42 ±5.77	34.32 ±7.2	0.95

Note: * P-value<0.001. Bold values indicate statistically significance.

Table 3. Genotype frequencies among dental anomalies and skeletal malocclusions.

Dental anomalies	<i>TGFA</i> n(%)	<i>IRF6</i> n(%)	<i>MSX1</i> n(%)
	rs1523305 C/T	rs2013162 A/C	rs12532 A/G
<i>Agenesis</i>			
	CC 7 (29.2)	AA 1 (4.2)	AA 9 (37.5)
	CT 11 (45.8)	AC 16 (66.7)	AG 11 (45.8)
	TT 5 (20.8)	CC 5 (20.8)	GG 3 (12.5)
	T allele 21 (45.6)	A allele 18 (40.9)	G allele 17 (36.9)
<i>No agenesis</i>			
	CC 102 (21.2)	AA 68 (14.1)	AA 176 (36.6)
	CT 229 (47.6)	AC 207 (43)	AG 227 (47.2)
	TT 143 (29.7)	CC 186 (38.7)	GG 76 (15.8)
	T allele 515 (54.3)	A allele 243 (29.6)	G allele 379 (39.6)
OR (95% CI)	0.746>1.359>2.475	0.888>1.65>3.064	0.605>1.117>2.06
P-value	0.31	0.11	0.72
<i>Third molar agenesis</i>			
	CC 1 (11.1)	AA 0	AA 4 (44.4)
	CT 5 (55.6)	AC 5 (55.6)	AG 4 (44.4)
	TT 2 (22.2)	CC 4 (44.4)	GG 0
	T allele 9 (56.2)	A allele 5 (29.41)	G allele 4 (25)
<i>No third molar agenesis</i>			
	CC 108 (21.8)	AA 69 (13.9)	AA 181 (36.5)

	CT 235 (47.4)	AC 218 (44)	AG 234 (47.2)
	TT 146 (29.4)	CC 187 (37.7)	GG 79 (15.9)
	T allele 527 (53.9)	A allele 356 (37.5)	G allele 392 (39.7)
OR (95% CI)	0.336>0.909>2.46	0.242>0.693>1.983	0.632>1.973>6.162
P-value	0.85	0.49	0.23
<i>Giroversion</i>			
	CC 3 (14.3)	AA 1 (4.8)	AA 8 (38.1)
	CT 12 (57.1)	AC 8 (38.1)	AG 9 (42.9)
	TT 5 (23.8)	CC 12 (57.1)	GG 4 (19)
	T allele 22 (55)	A allele 10 (23.8)	G allele 17 (40.5)
<i>No giroversion</i>			
	CC 106 (21.9)	AA 68 (14)	AA 177 (36.6)
	CT 228 (47.1)	AC 215 (44.4)	AG 229 (47.3)
	TT 143 (29.5)	CC 179 (37)	GG 75 (15.5)
	T allele 456 (50.9)	A allele 351 (34.7)	G allele 379 (39)
OR (95% CI)	0.449>0.848>1.603	0.248>0.51>1.051	0.509>0.956>1.794
P-value	0.61	0.06	1
<i>Supernumerary</i>			
	CC 2 (18.2)	AA 1 (9.1)	AA 2 (18.2)
	CT 7 (63.6)	AC 4 (36.4)	AG 7 (63.6)
	TT 1 (9.1)	CC 6 (54.5)	GG 2 (18.2)
	T allele 9 (45)	A allele 6 (27.3)	G allele 11 (50)
<i>No supernumerary</i>			
	CC 107 (21.7)	AA 68 (13.8)	AA 183 (37)
	CT 233 (47.2)	AC 219 (44.3)	AG 231 (46.8)
	TT 147 (29.8)	CC 185 (37.4)	GG 77 (15.6)
	T allele 527 (54.1)	A allele 355 (44.8)	G allele 385 (39.2)
OR (95% CI)	0.592>1.441>3.509	0.179>0.463>1.195	0.277>0.654>1.502
P-value	0.41	0.1	0.3
<i>Impaction</i>			
	CC 16 (19.8)	AA 6 (7.4)	AA 29 (35.8)
	CT 38 (46.9)	AC 36 (44.4)	AG 36 (44.4)
	TT 26 (32.1)	CC 34 (42)	GG 16 (19.8)
	T allele 76 (52)	A allele 48 (31.6)	G allele 68 (48.6)
<i>No impaction</i>			
	CC 93 (21.9)	AA 63 (14.9)	AA 156 (36.8)
	CT 202 (47.6)	AC 187 (44.1)	AG 202 (47.6)
	TT 122 (28.8)	CC 157 (37)	GG 63 (14.9)
	T allele 446 (53.5)	A allele 313 (38.4)	G allele 328 (38.9)
OR (95% CI)	0.745>1.059>1.505	0.51>0.739>1.07	0.472>0.676>0.968
P-value	0.75	0.1	0.03*

Microdontia

CC 0	AA 0	AA 2 (66.7)
CT 3 (100)	AC 2 (66.7)	AG 1 (33.3)
TT 0	CC 1 (33.3)	GG 0
T allele 3 (50)	A allele 2 (33.3)	G allele 1 (16.7)

No microdontia

	CC 109 (21.7)	AA 69 (13.7)	AA 183 (36.5)
	CT 237 (47.2)	AC 221 (44)	AG 237 (47.2)
	TT 148 (29.5)	CC 190 (37.8)	GG 79 (15.7)
	T allele 533 (53.9)	A allele 359 (37.4)	G allele 395 (39.6)
OR (95% CI)	0.235>1.171>5.832	0.153>0.837>4.593	0.381>3.275>28.14
P-value	0.84	0.83	0.25

Dilaceration

CC 1 (20)	AA 1 (20)	AA 0
CT 4 (80)	AC 0	AG 3 (60)
TT 0	CC 2 (40)	GG 2 (40)
T allele 4 (40)	A allele 2 (33.3)	G allele 7 (70)

No dilaceration

	CC 108 (21.6)	AA 68 (13.6)	AA 185 (37)
	CT 236 (47.2)	AC 223 (44.6)	AG 235 (47)
	TT 148 (29.6)	CC 189 (37.8)	GG 77 (15.4)
	T allele 532 (54)	A allele 359 (37.4)	G allele 389 (39.1)
OR (95% CI)	0.495>1.765>6.295	0.153>0.837>4.593	0.071>0.276>0.972
P-value	0.37	0.83	0.04*

Dens invaginatus

CC 0	AA 0	AA 0
CT 1 (100)	AC 1 (100)	AG 1 (100)
TT 0	CC 0	GG 0
T allele 1 (50)	A allele 1 (50)	G allele 1 (50)

No dens invaginatus

	CC 109 (21.6)	AA 69 (13.7)	AA 185 (36.7)
	CT 239 (47.4)	AC 222 (44)	AG 237 (47)
	TT 148 (29.4)	CC 191 (37.9)	GG 79 (15.7)
	T allele 319 (41.1)	A allele 360 (37.3)	G allele 395 (39.6)
OR (95% CI)	0.044>0.698>11.201	0.105>1.678>26.906	0.041>0.659>10.565
P-value	0.79	0.71	0.76

Fusion

CC 1 (50)	AA 1 (50)	AA 0
CT 1 (50)	AC 1 (50)	AG 1 (50)
TT 0	CC 0	GG 1 (50)

	T allele 1 (25)	A allele 3 (75)	G allele 3 (75)
<i>No fusion</i>			
	CC 108 (21.5)	AA 68 (13.5)	AA 185 (36.8)
	CT 239 (47.5)	AC 222 (44.1)	AG 237 (47.1)
	TT 148 (29.4)	CC 191 (38)	GG 78 (15.5)
	T allele 535 (54)	A allele 358 (37.2)	G allele 393 (39.3)
OR (95% CI)	0.366>3.527>34.029	0.525>5.061>48.843	0.022>0.216>2.082
P-value	0.24	0.11	0.14
<i>Transposition</i>			
	CC 2 (25)	AA 0	AA 2 (25)
	CT 1 (12.5)	AC 3 (37.5)	AG 4 (50)
	TT 5 (62.5)	CC 5 (62.5)	GG 2 (25)
	T allele 11 (68.7)	A allele 3 (18.7)	G allele 8 (50)
<i>No transposition</i>			
	CC 107 (21.6)	AA 69 (13.9)	AA 181 (36.6)
	CT 238 (48.1)	AC 220 (44.4)	AG 234 (47.3)
	TT 142 (28.7)	CC 185 (37.4)	GG 77 (15.6)
	T allele 522 (53.6)	A allele 358 (37.8)	G allele 388 (39.4)
OR (95% CI)	0.181>0.525>1.522	0.108>0.38>1.344	0.242>0.651>1.749
P-value	0.22	0.11	0.39
<i>Taurodontism</i>			
	CC 0	AA 0	AA 1 (50)
	CT 2 (100)	AC 2 (100)	AG 1 (50)
	TT 0	CC 0	GG 0
	T allele 2 (50)	A allele 2 (50)	G allele 1 (25)
<i>No taurodontism</i>			
	CC 109 (21.7)	AA 69 (13.7)	AA 184 (36.6)
	CT 238 (47.3)	AC 221 (43.9)	AG 237 (47.1)
	TT 148 (29.4)	CC 191 (38)	GG 79 (15.7)
	T allele 534 (54)	A allele 359 (37.3)	G allele 395 (39.5)
OR (95% CI)	0.164>1.171>8.347	0.236>1.68>11.976	0.275>2.648>25.532
P-value	0.87	0.6	0.38
<i>Skeletal Class I malocclusion</i>			
	CC 52 (20.7)	AA 32 (12.7)	AA 91 (36.3)
	CT 118 (47)	AC 101 (40.2)	AG 114 (45.4)
	TT 77 (30.7)	CC 107 (42.6)	GG 45 (17.9)
	T allele 272 (55)	A allele 165 (34.4)	G allele 204 (40.8)
<i>Skeletal Class II malocclusion</i>			
	CC 38 (24.2)	AA 23 (14.6)	AA 60 (38.2)

	CT 73 (46.5)	AC 71 (45.2)	AG 72 (45.9)
	TT 45 (28.7)	CC 57 (36.3)	GG 24 (15.3)
	T allele 163 (52.2)	A allele 117 (38.7)	G allele 220 (53.4)
OR (95% CI)	0.843>1.12>1.488	0.896>1.207>1.627	0.462>0.601>0.783
P-value	0.43	0.21	0.0001*
<i>Skeletal Class III malocclusion</i>			
	CC 19 (19.6)	AA 14 (14.4)	AA 34 (35.1)
	CT 49 (50.5)	AC 51 (52.6)	AG 52 (53.6)
	TT 26 (26.8)	CC 27 (27.8)	GG 10 (10.3)
	T allele 101 (53.7)	A allele 79 (42.9)	G allele 72 (37.7)
OR (95% CI)	0.753>1.055>1.478	0.492>0.696>0.985	0.623>0.878>1.237
P-value	0.75	0.04*	0.45
<i>Normal</i>			
	CC 49 (20.4)	AA 35 (14.6)	AA 85 (35.4)
	CT 120 (50)	AC 103 (42.9)	AG 110 (45.8)
	TT 66 (27.5)	CC 94 (39.2)	GG 42 (17.5)
	T allele 252 (53.6)	A allele 2 (37.3)	G allele 194 (40.9)
<i>Hypodivergent</i>			
	CC 21 (17.4)	AA 18 (14.9)	AA 50 (41.3)
	CT 63 (52.1)	AC 53 (43.8)	AG 57 (47.1)
	TT 37 (30.6)	CC 46 (38)	GG 14 (11.6)
	T allele 137 (56.6)	A allele 89 (62.7)	G allele 57 (26.6)
OR (95% CI)	0.826>1.129>1.542	0.24>1.35>1.522	0.36>0.524>0.747
P-value	0.44	1	0.003*
<i>Hyperdivergent</i>			
	CC 39 (27.1)	AA 16 (11.1)	AA 50 (34.7)
	CT 57 (39.6)	AC 67 (46.5)	AG 71 (49.3)
	TT 45 (31.3)	CC 51 (35.4)	GG 23 (16)
	T allele 147 (56.3)	A allele 99 (36.9)	G allele 117 (40.6)
OR (95% CI)	0.823>1.115>1.512	0.743>1.015>1.386	0.733>0.988>1.33
P-value	0.48	1	1

* Statistically significant.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As AD são alterações clínicas frequentemente encontradas na rotina da clínica odontológica (GARIB, FILHO *et al.*, 2013), que causam problemas funcionais, oclusais e estéticos (KATHARIYA, NIKAM *et al.*, 2013; OSUJI E HARDIE, 2002), resultando em prejuízos na saúde oral destes pacientes (KIM, 2011). A ME caracteriza-se por uma complexa alteração de crescimento no complexo craniofacial (ANDREWS, 1972) e tem sido associada com as AD (CELIKOGU E KAMAK, 2012), dificultando ainda mais o seu tratamento quando em presença de AD associada.

Os estudos genéticos destes pacientes podem ajudar na elucidação de sua etiologia (USLU, ACKAM *et al.*, 2009; BASDRA, KIAKPASOGLOU *et al.*, 2000; BASDRA, KIAKPASOGLOU *et al.*, 2009). Assim, esses recursos podem servir como uma resposta à sua origem e desenvolvimento (BASDRA, KIAKPASOGLOU *et al.*, 2001). Estudos relataram a associação entre AD e ME (KÜCHLER, RISSO *et al.*, 2008; BASDRA, KIAKPASOGLOU *et al.*, 2001) e seu fundo genético é amplamente conhecido (DÍAZ-PÉREZ e ECHAVERRY-NAVARRETE, 2009). A correlação genótipo-fenótipo é extremamente importante pois pode aumentar o conhecimento sobre sua etiologia, contribuindo com um diagnóstico mais preciso e um plano de tratamento mais eficiente, levando-se em consideração um menor de tempo de tratamento.

Muitos estudos relataram a associação entre anomalias dentárias e maloclusões esqueléticas (BASDRA *et al.*, 2001, KIM, 2011, USLU *et al.*, 2009, BASDRA *et al.*, 2000, DÍAZ-PÉREZ *et al.*, 2009, ALTUG-ATAC *et al.*, e seu conhecimento genético é amplamente conhecido (DÍAZ-PÉREZ *et al.*, 2009) Há uma lacuna no conhecimento sobre quais genes candidatos estão relacionados ao AD em pacientes com maloclusão esquelética devido a diferentes origens genéticas entre as populações. O presente estudo investigou 3 polimorfismos de 3 loci candidatos a fim de caracterizar a correlação fenótipo-genótipo e em uma tentativa de desvendar a variação genética comum relacionada a AD e ME. Este estudo forneceu mais evidências de que a variação genética no gene *IRF6* (A/C rs2013162) foi associada com o prognatismo mandibular (ME Classe III) e o *MSX1* (A/G rs12532) teve associação com as

discrepâncias maxilo mandibulares verticais (hipodivergentes) e horizontais (Classe II), e também com anomalias dentárias de forma e posição (dilaceração e impactação). Assim, é possível que certas anomalias dentárias e padrões específicos de maloclusão esquelética compartilhem as mesmas contribuições genéticas (BASDRA *et al.*, 2000).

Este é um estudo censitário que envolve todos os pacientes com documentação ortodôntica completa, atendidos no Departamento de Ortodontia, de uma instituição de referência no Rio de Janeiro, Brasil. Essa instituição é considerada um centro de referência em Ortodontia na cidade, devido a atividades de pesquisa e a tratamentos desenvolvidos por seus membros. Espera-se que os resultados apresentados neste estudo forneçam informações relevantes para a caracterização desta população e para o desenvolvimento de um plano de tratamento adequado para esses pacientes, visando um bom prognóstico.

6. CONCLUSÕES

- Na revisão sistemática, indivíduos com maloclusão esquelética de Classe II ou Classe III têm mais anomalias dentárias do que indivíduos da Classe I.
- Não houve diferença significativa entre os métodos de coleta em relação à quantidade e pureza do DNA extraído ($p \geq 0,05$);
- Não houve dimorfismo sexual e étnico nas maloclusões esqueléticas;
- Não houve associação entre polimorfismos no gene *TGFA* em portadores de anomalia dentária e nas maloclusões esqueléticas;
- O gene *MSX1* foi associado ao padrão de crescimento hipodivergente ($p=0,003$, $OR=0,5$, $IC\ 0,36-0,74$) e ME Classe II ($p=0,0001$, $OR=0,6$, $IC\ 0,46-9,78$). Em relação a AD, o gene *MSX1* também foi associado à impactação ($p=0,03$, $OR=0,67$, $IC\ 0,47-0,96$) e dilaceração ($p=0,04$, $OR=0,27$, $IC\ 0,07-0,97$);
- O gene *IRF6* foi associado com a ME Classe III ($p = 0,04$, $OR = 0,69$, $IC\ 0,49-0,98$).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBORZI, A.; MAC K.; GLACKIN, C. A.; MURRAY, S. S.; ZERNIK, J. H. Endochondral and intramembranous fetal bone development: Osteoblastic cell proliferation, and expression of alkaline phosphatase, m-twist, and histone H4. **Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology**, 16(2):94-106, 1996.

ALEXANDER AE, MCNAMARA JA, JR, FRANCHI L, BACCETTI T. Semilongitudinal cephalometric study of craniofacial growth in untreated Class III malocclusion. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, 135:700.e1–14, 2009.

ALTUG-ATAC AT, ERDEM D. Prevalence and distribution of dental anomalies in orthodontic patients. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, 131:510–514, 2007.

AMINI F, HAMED S, HAJI GHADIMI M, RAKHSHAN V. Associations between occlusion, jaw relationships, craniofacial dimensions and the occurrence of palatally displaced canines. **Int Orthod**, 15:69–81, 2017.

ANDREWS, L.F. The six keys to normal occlusion. **Am J Orthod**, 62(3):296-309, 1972.

ANGLE, E. H. Classification of malocclusion. **Dent Cosmos**, 41:248-64, 1899.

ARASHIRO, C.; VENTURA, M. L. S.; MADA, E.Y.; BARBOSA, J. A.; BONECKER, M. J. S. Prevalência de malocclusão em escolares do município de Campinas, São Paulo. **RGO**, Porto Alegre, v. 57, n.4, p. 407-411, out./dez. 2009.

ARYA, B.S.; SAVARA, B.S. Familial partial anodontia: report of a case. **ASDC J Dent Child**, Chicago, v.41, n.1, p.4754, Jan./Feb., 1974.

BALIC, A.; ADAMS, D.; MINA, M. Prx1 and Prx2 Cooperatively Regulate the Morphogenesis of the Medial Region of the Mandibular Process. **Developmental Dynamics**, 238(10):2599-2613, 2009.

BASDRA EK, KIOKPASOGLU M, STELIZIG A. The Class II division 2 craniofacial type is associated with numerous congenital tooth anomalies. **Eur J Orthod**, 22:529–535, 2000.

BASDRA EK, KIOPASOGLU MN, KOMPOSCH, G. Congenital tooth anomalies and malocclusions: a genetic link? **Eur J Orthod**, 23:145–151, 2001.

BERESFORD, J. S. Tooth size and class distinction dental practitioner. 20, 113-120, 1969.

BISCARO, S. L.; PEREIRA, A. C.; MAGNANI, M. B. Avaliação da prevalência de má-oclusão em escolares de Piracicaba-SP na faixa etária de 7 a 12 anos. **Rev Odontopediatr**, 3(3):146-53, 1994.

BOTSTEIN, D.; RISCH, N. Discovering genotypes underlying human phenotypes : past successes for mendelian disease, future approaches for complex desiases. **Nature genetics**, v. 33. p. 228-37. 2003.

CALLAHAN N, MODESTO A, DEELEY K, MEIRA R, VIEIRA AR. Transforming growth factor-alfa gene (TGFA), human tooth agenesis, and evidence of segmental uniparental isodisomy. **European Journal of Oral Sciences**, 117:20–26, 2009a. [PubMed: 19196314]

CALLAHAN N, MODESTO A, MEIRA R, SEYMEN F, PATIR A, VIEIRA AR. Axis inhibition protein 2 (AXIN2) polymorphisms and tooth agenesis. **Archives of Oral Biology**, 54:45–49, 2009b. [PubMed: 18790474]

CERAJEWSKA, T. L.; SINGH, G. D. Morphometric analyses of the mandible in prepubertal craniofacial microsomia patients treated with an inverted-L osteotomy. **Clinical Anatomy**, 15(2):100-107, 2002.

CHAKRAVARTI, A. Population genetics - making sense out of sequence. **Nature Genetics**, 21(56-60), 1990.

CHANG, H. P.; TSENG, Y.C.; CHANG, H. F. Treatment of mandibular prognathism. **J Formos Med Assoc**, 105:781–790, 2006.

CHOSACK, A.; EIDELMAN, E.; COHEN, T. Hypodontia: a polygenic trait – a family study among Israeli Jews. **J Dent Res**, Washington, v.54, n.1, p.1619, Jan./Feb., 1975.

CHUNG CJ, HAN J-H, KIM K-H. The pattern and prevalence of hypodontia in Koreans. **Oral Dis**,14:620–625, 2008.

CLAYTON, J.M. Congenital dental anomalies occurring in 3.557 children. **J Dent Child**, v.23, n.4, p.206208, Oct./Dec., 1956.

COSTA, M. C.; SILVA, A. M. G.; VIEIRA, A. R. Estudo da relação de genes e agenesia dentária em uma população brasileira. Rio de Janeiro, **UFRJ / Faculdade de Odontologia**, xv, 112 f, Dez., 2005.

COZIER YC, PALMER JR, ROSENBERG L. Comparison of methods for collection of DNA samples by mail in the black women´s helth study. **Ann Epidemiol**, V. 14, P.117-122, 2004.

CRUZ R.M.; KRIEGER H.; FERREIRA R.; MAH J.; HARTSFIELD. Major gene and multifactorial inheritance of mandibular prognathism. **Am J Med Genet A**, 146:71–77, 2008.

D’SOUZA RN, KAPADIA H, VIEIRA AR. TEETH. IN. STEVENSON RE, HALL JG (eds.). Human malformations and related anomalies. **Oxford University Press: New York**, p. 425-465, 2006.

DÍAZ-PÉREZ R, ECHAVERRY-NAVARRETE RA. Agenesia en dentición permanente. **Rev Salud Pública**, 11:961– 969, 2009.

DIXON MJ, GARNER J, FERGUSON MWJ. Immunolocalization of epidermal growth factor (EGF), EGF receptor and transforming growth factor alpha (TGFA) during murine palatogenesis in vivo and in vitro. **Anat Embryol**, 184: 83–91, 1991.

- DIXON, J.; ELLIS, I.; BOTTANI, A.; TEMPLE, K.; DIXON, M. J. Identification of mutations in TCOF1: use of molecular analysis in the pre- and postnatal diagnosis of Treacher Collins syndrome. **American Journal of Medical Genetics Part A**, 127A(3):244-8, 2004.
- DUNN, Naomi A. Adverse factors in the developing occlusion. **J Dent Child**, v.25, n.4, p.27587, Oct., 1958.
- DURDIAKOVÁ J, KAMODYIVÁ N, OSTATNÍKOVÁ D, VLKOVÁ B, CELEC P. Comparison of different collection procedures and two methods for DNA isolation from saliva. **Clin Chem Lab Med**, 50(4):643–647, 2012.
- EIDELMAN, E.; CHOSACK, A.; ROSENZWEIG, K.A. Hypodontia: prevalence among Jewish populations of different origin. **Am J Phys Anthropol**, Washington, v.39, n.1, p.129133, July 1973.
- FERGUSON, C. A.; TUCKER, A. S.; SHARPE, P. T. Temporospacial cell interactions regulating mandibular and maxillary arch patterning. **Development**, 127(2):403-412, 2000.
- FERNANDEZ CCA, PEREIRA CVCA, LUIZ RR, VIEIRA AR, COSTA MC. Dental anomalies in different growth and skeletal malocclusion patterns. **Angle Orthod**, Mar;88(2):195-201. doi:10.2319/071917-482.1Epub2017Dec7, 2018.
- FINN, S.B. **Clinical Pedodontics**. 4ª ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1973.
- FUJIWARA, M.; UCHIDA, T.; OSUMIYAMASHITA, N.; ETO, K.. Uchida Ray (Rsey) - a New Mutant Rat with Craniofacial Abnormalities Resembling Those of the Mouse Sey Mutant. **Differentiation**, 57(1):31-38, 1994.
- GARDNER, E.J. **Mutagênese**. In: GARDNER, E.J. Genética. 5ª ed. Interamericana, Cap.8, p.230236, 1977.
- GARIB, D. G.; FILHO, O. G. S.; LARA, T. S. Ortodontia interceptativa: protocolo de tratamento em duas fases. São Paulo, **Artes Médicas**, 574 p., 2013.
- GARN, S.M.; LEWIS, A.B. The relationship between third molar agenesis and reduction in tooth number. **Angle Orthod**, 32:1418, January 1962.
- GIBSON-BROWN, J. J.; S, I. A.; SILVER, L. M.; PAPAIOANNOU, V. E. Expression of T-box genes Tbx2-Tbx5 during chick organogenesis. **Mech Dev**, 74(1-2):165-9, 1998.
- GLAVAM, P.R.C.; SILVA, R.H.H. Prevalência e localização de hipodontias em crianças. **Rev Gaúcha Odontol**. Porto Alegre, v.43, n.4, p.232234, Jul./Ago., 1995.
- GLENN, F.B. A consecutive six year study of the prevalence of congenitally missing teeth in private practice of two geographically separated areas. **ASDC J Dent Child**, Chicago, v.31, n.4, p.269270, Jul./Sept., 1964.

GOMES, A. M. Oclusão normal e má oclusão nas dentições decídua, mista e permanente: um estudo epidemiológico em escolares da rede pública do município de São Luís - MA [monografia especialização]. Maranhão: **ABO São Luis**, 2003.

GRABER, L. W.; LUCKER, G. W. Dental esthetic self-evaluation and satisfaction. **Am. J. Orthod**, St. Louis, v. 77, no. 2, p. 163-173, Feb. 1980.

GRABER, L.W. Congenital absence of teeth: a review with emphasis on inheritance patterns. **J Am Dent Assoc**. Chicago, v.96, n.2, p.266275, Feb., 1978.

GRAHNEN, H. Hypodontia in the permanent dentition. A clinical and genetical investigation. **Odontol Revy**, Lund, v.7, suppl.3, p.1100, 1956.

GRAHNEN, H.; GRANATH, L.E. Numerical variations in primary dentition and their correlation with the permanent dentition. **Odont Rev**, 12:348357, 1961.

GRAVELY, J.F.; JOHNSON, D.B. Variation in the expression of hipodontia in monozygotic twins. **Dent Pract Dent Rec**. Bristol, v.21, n.6, p.212220, Feb., 1971.

GULLIKSON, J.S. Tooth morphology in rubella syndrome children. **ASDC J Dent Child**. Chicago, v.42, n.6, p.479482, Nov./Dec., 1975.

HARRIS, J. E. Genetic factors in the growth of the head. Inheritance of the craniofacial complex and malocclusion. **Dent Clin North Am**, 19(1):151-60, 1975.

JARVINEN, S.; LEHTINEN, L. Supernumerary and congenitally missing primary teeth in finish children: an epidemiologic study. **Acta Odontol Scand**, Oslo, v.39, n.2, p.8386, 1981.

JORGENSON, R. J. Mandibular prognathism. In: Buyse ML, ed. Birth defects encyclopedia. Cambridge: **Blackwell Scientific Publications**, 1098, 1990.

KANG, H. K.; RYU, Y. K. A study on the prevalence of malocclusion of Yonsei University students in 1991. **Korea J. Orthod**, Seoul, v. 22, p. 3691-3701, 1992.

KATHARIYA MD, NIKAM AP, CHOPRA K, PATIL NN, RAHEJA H, KATHARIYA R. Prevalence of dental anomalies among school going children in India. **J Int Oral Health**, 5(5):10-14, 2013.

KEENE, H.J. The relationship between maternal age and parity, birth weight and hypodontia in naval recruits. **ASDC J Dent Child**, Chicago, v.33, n.2, p.135147, Mar., 1966.

KIM YH. Investigation of hypodontia as clinically relates dental anomaly: prevalence and characteristics. **ISRN Dentistry**, Article ID 246135, 2011.

KONDO S, SCHUTTE BC, RICHARDSON RJ, BJORK BC, KNIGHT AS, WARANABE Y, HOWARD E, LIMA RL, DAACK- HIRSCH S, SANDER A, MCDONALD-MCGINN DM, ZACKAI EH, LAMMER EJ, AYLSWORTH AS, ARDINGER HH, LIDRAL AC, POBER BR, MORENO L, ARCOS-BURGOS M, VALENCIA C, HOUDAYER C, BAHUAU M, MORETTI- FERREIRA D, RICHIERI-

COSTA A, DIXON MJ, MURRAY JC. Mutations in interferon regulatory factor 6 cause Van der Woude and popliteal pterygium syndromes. **Nat Genet**, 32:285–289, 2002. [PubMed: 12219090]

KONI AC, SCOTT RA, WANG G, BAILEY MES, PEPLIES J, BAMMANN K, PIRSILADIS YP. DNA yield and quality of saliva samples and suitability for large-scale epidemiological studies in children. **Internt Journ of Obes**, V. 35. P 113-118, 2011.

KRONMILLER, J. E.; NGUYEN, T.; BERNDT, W.; WICKSON, A. Spatial and temporal distribution of sonic hedgehog mRNA in the embryonic mouse mandible by reverse transcription/polymerase chain reaction and in situ hybridization analysis. **Archives of Oral Biology**, 40(9):831-8, 1995.

KÜCHLER EC, MENEZES R, CALLAHAN N, COSTA MC, MODESTO A, MEIRA R, PATIR A, SEYMEN F, PAIVA KB, NUNES FD, GRANJEIRO JM, VIEIRA AR. MMP1 and MMP20 contribute to tooth agenesis in humans. **Archives of Oral Biology**, 56:506–511, 2001. [PubMed: 21144496]

KÜCHLER EC, RISSO PA, COSTA MC, MODESTO A, VIEIRA AR. Studies of dental anomalies in a large group of school children. **Arch Oral Biol**, 53:941–946, 2008.

LANDER, E.S.; LINTON, L. M.; BIRREN, B.; NUSBAUM, C.; ZODY, M.C.; BALDWIN, J. Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature**, 409(6822):860-921, 2001.

LETRA A, BJORK B, COOPER ME, SZABO-ROGERS H, DELEYIANNIS FWB, FIELD LL, CZEIZEL AE, MA L, GARLET GP, POLETTA FA, MEREB JC, LOPEZ-CAMELO JS, CASTILLAE, ORIOLI IM, WENDELL S, BLANTON SH, LIU K, HECH JT, MARAZITA ML, VIEIRA AR, SILVA RM. Association of AXIN2 with Nonsyndromic Oral Clefts in Multiple Populations. **J Dent Res**, 91(5):473-478, 2012.

LEW, K.. K.; FOONG, W. C.; LOH, E. Malocclusion prevalence in an ethnic Chinese population. **Aust Dent J**, 38(6):442-9, 1993.

LI, Q.; LI, X.; ZHANG, F.; CHEN, F. The identification of a novel locus for mandibular prognathism in the han Chinese population. **J Dent Res**, 90(1):53-57, 2011.

LI, Q.; ZHANG, F.; LI, X.; CHEN, F. Genome Scan for Locus Involved in Mandibular Prognathism in Pedigrees from China. **PLoS ONE** 5 (9): e12678. doi:10.1371/journal.pone.0012678, F 2010.

LIU, W. et al. The novel gene locus for agenesis of permanent teeth (HeZhao deficiency), maps to chromosome 10q11.2. **J Dent Res**, n.80, p.17161720, 2001.

LYNGSTADAAS, S.P. et al. On the genetics of hypodontia and microdontia: synergism or allelism of major genes in a family with six affected members. **J Med Genet**. Londres, v.33, n.2, p.137142, Feb., 1996.

MACKENZIE A, LEEMING GL, JOWETT AK, FERGUSON MWJ, SHARPE PT. The homeobox gene Hox 7.1 has specific regional and temporal expression patterns during

early murine craniofacial embryogenesis, especially tooth development in vivo and in vitro. **Development**, 11:269-285, 1991.

MARAZITA ML, LIDRAL AC, MURRAY JC, FIELD LL, MAHER BS, MCHENRY TG, COOPER ME, GOVIL M, DAACK-HIRSCH S, RILEY B, JUGESSUR A, FELIX T, MORENE L, MANSILLA MA, VIEIRA AR, DOHENY K, PUGH E, VALENCIA-RAMIREZ C, ARCOS-BURGOS M. Genome Scan, Fine-Mapping, and Candidate Gene Analysis of Non-Syndromic Cleft Lip with or without Cleft Palate Reveals Phenotype-Specific Differences in Linkage and Association Results. **Human Heredity**, 68:151-170, 2009.

Mc DONALD, R.E.; AVERY, D.R.; BIXTER, D. Aspectos genéticos das anomalias dentárias. In: Mc DONALD, R.E.; AVERY, D.R. **Odontopediatria**. 4ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, Cap. 22, p.498519, 1986.

Mc DONALD, R.E.; AVERY, D.R.; HARTSFIELD JR. J.K. Alterações congênicas e adquiridas dos dentes e estruturas bucais associadas. In: Mc DONALD, R.E.; AVERY, D.R. **Odontopediatria**. 7ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, Cap. 7, p.9697, 2001.

MELAMED, Y.; KATZNELSON, M.B.M.; FRYDAM, M. Oligodontia, short nature and small head circumference with normal intelligence. **Clin Genet**, Copenhagen, v.46, n.4, p.316318, Oct., 1994.

MENCZER, L.F. Anomalies of the primary dentition. **J Dent Child**, v.22, n.1, p.5762, Jan., 1955.

MERCURI E, CASSETTA M, CAVALLINI C, VICARI D, LEONARDI R, BARBATO E. Dental anomalies and clinical features in patients with maxillary canine impaction. **Angle Orthod**, 83:22– 28, 2013.

MINA, M. Regulation of mandibular growth and morphogenesis. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine** 12(4):276-300, 2001.

MINA, M.; GLUHAK, J.; UPHOLT, W.B.; KOLLAR, E.J.; ROGERS, B. Experimental-Analysis of Msx-1 and Msx-2 Gene-Expression during Chick Mandibular Morphogenesis. **Developmental Dynamics**, 202(2):195-214, 1995.

MOHER D, LIBERATI A, TETZLAFF J, ALTMAN DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. **Brit Med J**, 339:b2535, 2009.

MOSSEY, P. A. The heritability of malocclusion: part 2. The influence of genetics in malocclusion. **Br J Orthod**, 26:195–203, 1999.

MOSSEY, PA.; LITTLE, J. Epidemiology of oral clefts: An international perspective. In: Wyszynski, DF., editor. Cleft lip and palate From origin to treatment. **New York: Oxford**, p. 127-158, 2002.

MULLER, T.P. et al. A survey of congenitally missing permanent teeth. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v.81, n.1, p.101107, July 1970.

MYLLARNIEMI, S. Malocclusion in Finnish rural children: an ar thm'IC epidemiological study of different stages of dental developts ment. **Doctoral thesis**, University of Helsinki, 1970.

NEUBÜSER, A. et al. Antagonistic interactions between FGF and BMP signaling pathways: a mechanism for positioning the sites of tooth formation. **Cell**, Cambridge, v.90, n.2, p.247255, July 1997.

NEVILLE, B. W. Patologia Oral e Maxilofacial. Rio de Janeiro, **Guanabara Koogan**, p. 49-87, 2004.

NORMANDO, A. D. C.; BRANDÃO, A. M.; MATOS, J. N.; CUNHA, A. V.; MOHRY, O.; JORGE, S.T. Má oclusão e oclusão normal na dentição permanente- um estudo epidemiológico em escolares do município de Belém- PA. **Rev Paraense Odontol**, 4(1):21-6,1999.

PARDO RA, CASTILLO S, VIEIRA AR. Genetic studies of a Chilean family with three different dental anomalies. **Rev Méd Chile**, 134: 1541-1548, 2006.

PENALVA, L.Q.F.; ZORIO, D.A.R. A leitura do DNA. **Rev Ciência Hoje**, p.3439, Maio, 2001.

PEREIRA, L.V. Seqüenciaram o genoma... e daí? O que isso significa? **Reader's Digest Seleções**, v.58, p.3336, Dezembro, 2000.

PFAFFE T, COOPER-WHITE J, BEYERLEIN P, KOSNER K, PUNYADEERA C. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. **Clin Chem**, V. 57. P 675-687, 2011.

PIRES DM, ROCHA MC, CANGUSSU MC. Prevalência de oclusopatias na dentadura mista em escolares -Salvador/ BA. **Rev Bras Odontol**, 58(6):414-7, 2001.

RAKOSI, T.; SCHILLI, W. Class III anomalies: a coordinated approach to skeletal, dental, and soft tissue problems. **J. Oral Surg**, Orlando, v. 39, no. 11, p. 860-870, Nov. 1981.

RAMIRO-VERDUGO J, DE VICENTE-COROMINAS E, MONTIEL-COMPANY JM, GAND'IA-FRANCO JL, BELLOT-ARC'IS C. Association between third molar agenesis and craniofacial structure development. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, 148:799-804, 2015.

RAVN, J.J. Aplasia, supernumerary teeth and fused teeth in the primary dentition. An epidemiological study. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v.79, n.1, p.16, 1971.

ROCHA, N.M.O. et al. Estudo de prevalência de agenesias dentárias. Estudo em um grupo de crianças de Santa Maria RS. **RGO**. Porto Alegre, v.31, n.1, p.8486, Jan./Mar., 1983.

ROSE, J.S. A survey of congenitally missing teeth excluding third molars in 6000 orthodontic patients. **Dent Pract Dent Rec. Bristol**, v.17, n.3, p.107114, Nov., 1966.

SACERDOTI R, BACCETTI T. Dentoskeletal features associated with unilateral or bilateral palatal displacement of maxillary canines. **Angle Orthod**, 74:725-732, 2004.

SCHNEIDER, P.E. Complete anodontia of the permanent dentition: Case report. **Pediatric Dentistry**, Chicago, v.12, n.2, p.112-114, Apr./May, 1990.

SILVA, R. G.; KANG, D. S. Prevalence of malocclusion among latino adolescents. **Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop**, St. Louis, v. 119, no. 3, p. 313-315, 2001.

SPYROPOULOS, N.D.; PATSAKAS, A.J.; ANGELOPOULOS, A.P. Simultaneous presence of partial anodontia and supernumerary teeth. **Oral Surg**, v.48, n.1, p.535-6, Jul., 1979.

ST AMAND, T.R.; ZHANG, Y.D.; SEMINA, E.V.; ZHAO, X.; HU, Y.P.; NGUYEN, L. et al. Antagonistic signals between BMP4 and FGF8 define the expression of Pitx1 and Pitx2 in mouse tooth-forming anlage. **Developmental Biology**, 217(2):323-332, 2000.

STEIGMAN, S.; KAAWAR, M.; ZILBERMAN, Y. Prevalence and severity of malocclusion in Israeli Arab urban children 13 to 15 years of age. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, 84(4):337-47, 1983.

STEINER CC. Cephalometrics for you and me. **Am J Orthod**, 39:729-755, 1953.

SYMONS, A.L.; STRITZEL, F.; STAMATION, J. Anomalies associated with hypodontia of the permanent lateral incisor and second premolar. **J Clin Pediatr Dent**. Birmingham, v.17, n.2, p.109-111, Winter 1993.

TOMSA, J. M.; LANGELAND, J.A. Otx expression during lamprey embryogenesis provides insights into the evolution of the vertebrate head and jaw. **Developmental Biology**, 207(1):26-37, 1999.

TREVILATTO PC, LINE SR. Use of buccal epithelial cells for PCR amplification of large DNA fragments. **J Forensic Odontostomatol**, 18:6-9, 2000.

USLU O, AKCAM MO, EVIRGEN S, CEBECI I. Prevalence of dental anomalies in various malocclusions. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, 135:328-335, 2009.

VAN WIEREN-DE WIJER DBMA, MAITLAND-VAN DER ZEE AH, DE BOER A, BELITSER SV, KROON AA, DE LEEUW PW, SCHIFFERS P, JANSSEN RGJH, VAN DUIJN CM, STRICKER BHCH, KLUNGEL OH. Determinants of DNA yield and purity collected with buccal cell samples. **Eur J Epidemiol**, 24: 677-682, 2009.

VASTARDIS H, KARIMBUX N, GUTHUA SW, SEIDMAN JG, SEIDMAN CE. A human MSX1 homeodomain missense mutation causes selective tooth agenesis. **Nat Genet**, Aug;13(4):417-21, 1996.

VASTARDIS, H. The genetics of human tooth agenesis new discoveries of understanding dental anomalies. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**. Saint Louis, v.117, n.6, p.650-656, June 2000.

VIEIRA AR, MEIRA R, MODESTO A, MURRAY JC. MSX1, PAX9, and TGFA contribute to tooth agenesis in humans. **Journal of Dental Research**, 83:723-727, 2004. [PubMed: 15329380]

VIEIRA AR, MODESTO A, MEIRA R, BARBOSA AR, LIDRAL AC, MURRAY JC. Interferon regulatory factor 6 (IRF6) and fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) contribute to human tooth agenesis. **American Journal of Medical Genetics Part A**, 143:538–545, 2007. [PubMed: 17318851]

VIEIRA AR, SEYMEN F, PATIR A, MENEZES R. Evidence of linkage disequilibrium between polymorphisms at the IRF6 locus and isolate tooth agenesis, in a Turkish population. **Archives of Oral Biology**, 53:780–784, 2008. [PubMed: 18452891]

VIEIRA AR. Unraveling human cleft lip and palate research. **J Dent Res**, 87:119-125, 2008.

VIEIRA, A.R. Oral clefts and syndromic forms of tooth agenesis as models for genetics of isolated tooth agenesis. **J Dent Res**. Washington D.C., v.82, n.3, p.162165, Mar., 2003.

VISNAPUU, V.; PELTOMAKI, T.; RONNING, O.; VAHLBERG, T.; HELENIUS, H. Distribution of fibroblast growth factors (FGFR-1 and -3) and platelet-derived growth factor receptors (PDGFR) in the rat mandibular condyle during growth. **Orthod Craniofac Res**, 5(3):147-53, 2002.

WALTRICK-ZAMBUZZI MR, VIEIRA, TCS, ROMANOS HF, MACEDO EE, GRANJEIRO JM, KUCHLER EC. Avaliação do rendimento, pureza e integridade do DNA genômico em diferentes protocolos de coleta de células bucais. **Int J Dent**, Recife, jan/mar; 11(1):12-18, 2012.

YAMADA, G.; MANSOURI, A.; TORRES, M.; STUART, E. T.; BLUM, M.; SCHULTZ, M. et al. Targeted Mutation of the Murine Gooseoid Gene Results in Craniofacial Defects and Neonatal Death. **Development**, 121(9):2917-2922, 1995.

YAMAGUCHI, T.; PARK, S.B.; NARITA, K.; MAKI, K.; INOUE, I. Genome-wide linkage analysis of mandibular prognathism in Korean and Japanese patients. **J Dent Res**, v. 84, n. 3, p. 255-259, 2005.

ZHU, J. et al. Supernumerary and congenitally absent teeth: a literature review. **J Clin Pediatric Dentistry**, v.20, n.2, p.8795, 1996.

8. ANEXO

Anexo 1. Aprovação do Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Genes Candidatos às Anomalias Dentárias em Pacientes Portadores de Maloclusão Esquelética

Pesquisador: Clarissa Christina Avelar Fernandez

Área Temática: Genética Humana:

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

Versão: 2

CAAE: 27357714.6.0000.5257

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Patrocinador Principal: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 619.096

Data da Relatoria: 17/04/2014

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

- 1) O pesquisador deverá apresentar relatórios anuais (parciais ou finais, em função da duração da pesquisa).
- 2) Eventuais emendas (modificações) ao protocolo devem ser apresentadas, com justificativa, ao CEP, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada.

RIO DE JANEIRO, 17 de Abril de 2014

Assinador por:
Carlos Alberto Guimarães
(Coordenador)

9. APENDICES

Apêndice 1: TCLE – estudo II

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: “**Avaliação dos Métodos de Coleta Salivar e de Células Bucais para Extração de DNA Genômico**”.

Pesquisador Responsável: **Dra. Fernanda Farage da Costa Felipe**, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) - Tel: **2562-2101**.

O(A) Sr. (a) está sendo convidado(a) a participar do projeto de “**Avaliação dos Métodos de Coleta Salivar e de Células Bucais para Extração de DNA Genômico**”. O contato será feito por **Fernanda Farage da Costa Felipe**– Pós graduanda em Odontopediatria pela Universidade Federal do Rio de Janeiro.

1 – Por que e para que estudaremos isto:

Existem vários métodos de coletar DNA a partir da saliva. Porém cada método fornece uma quantidade de DNA obtido da extração de DNA genômico. Possivelmente, isso ocorre devido à falta de padronização na coleta, prejudicando os estudos, em genética. O nosso estudo visa comparar os métodos de coleta salivar e de células bucais para obtenção de DNA genômico.

2 – Como será feito:

Primeiramente faremos perguntas simples e rápidas a respeito da sua história médica (o que já aconteceu na sua vida, em relação a doenças, cirurgias, remédios que você toma ou já tomou e, também, doenças na sua família), e, também, questões sociais (perguntas sobre a sua casa e seu trabalho). Em seguida, iremos coletar sua saliva de seis maneiras diferentes e em dias diferentes. Os métodos serão simples consistindo basicamente em expectoração da saliva e bochecho de água com sal. Das células presentes no cuspe, poderemos tirar apenas as partes das células necessárias que serão utilizadas nesta pesquisa. A sobra do cuspe será jogada fora após ser usada neste estudo. Não dói nada, não tem perigo nenhum e não faz mal. Pode ser que você sinta apenas um gosto diferente na boca, por causa da água com sal do bochecho.

3- Benefícios:

A população deve se beneficiar através da padronização do método de coleta de DNA a partir da saliva para futuros estudos genéticos. Este é um projeto de pesquisa e não uma forma de tratamento ou diagnóstico. Com este trabalho, acreditamos que, além dos riscos muito pequenos, seus benefícios (mais demorados) serão altamente importantes.

4- Confidência:

Os participantes que desejarem, poderão ter acesso aos dados da pesquisa em qualquer momento, ou mesmo ter suas informações pessoais removidas deste arquivo, fazendo apenas um contato com os pesquisadores **Dra. Fernanda Farage da Costa Felipe, Prof. Dr. Marcelo de Castro Costa ou Dra. Clarissa Christina Avelar Fernandez**, responsáveis por este projeto, pelo **telefone (21) 2562-2101**.

Esta pesquisa garante o sigilo da sua participação e os seus dados serão mantidos, mas de forma confidencial, através do uso de códigos numéricos (uso de números, ao invés, do nome) e arquivos fechados (ninguém terá acesso aos seus dados, somente a pesquisadora responsável). Desta forma, você terá a sua privacidade garantida. Além disso, você terá garantia de indenização por qualquer dano ou prejuízo que possa acontecer durante esta pesquisa. Todos os resultados, serão publicados em literatura científica especializada.

Você não é obrigado(a) a participar deste projeto e este consentimento pode ser retirado a qualquer momento, sem prejuízos à continuidade do seu tratamento. Assim, se quiser desistir, é só falar e você vai continuar sendo tratado normalmente. As informações fornecidas pelo senhor(a) serão confidenciais, assim como os resultados obtidos pela pesquisa.

Qualquer dúvida ou informação poderá ser fornecida pela pesquisadora responsável, **Dra. Fernanda Farage da Costa Felipe, Prof. Dr. Marcelo de Castro Costa ou Dra. Clarissa Christina Avelar Fernandez**, através do **telefone (21)2562-2101**. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho/HUCFF/UFRJ – R. Prof. Rodolpho Paulo Rocco, n.º 255 – Cidade Universitária/Ilha do Fundão - Sala 01D-46/1º andar - pelo telefone (21) 2562-2480, de segunda a sexta-feira, das 8 às 15 horas, ou através do e-mail: cep@hucff.ufrj.br; Caso seja de interesse do participante, os resultados gerais da pesquisa lhes serão enviados tão logo a pesquisa seja concluída. Além disso, estes ficarão disponíveis na

biblioteca do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFRJ localizado na Cidade Universitária, Ilha do Fundão – Rio de Janeiro, RJ.

Eu, _____,
responsável pelo (a) menor, _____,
acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações sobre o estudo acima citado que li ou que foram lidas para mim.

Eu discuti com a Dra. Fernanda Farage da Costa Felipe sobre a minha decisão quanto a participação do(a) _____ nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento odontológico quando necessário.

Concordo voluntariamente com a participação do meu filho(a) neste estudo, ciente de que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízos e sem a perda do atendimento odontológico nesta Instituição ou de qualquer benefício que eu possa ter adquirido. Eu receberei uma cópia desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e a outra ficará com o pesquisador responsável por essa pesquisa. Além disso, estou ciente de que eu e o pesquisador responsável deveremos rubricar todas as folhas desse TCLE e assinar na última folha.

Rio de Janeiro, _____ de _____ de 2016.

Assinatura do Responsável

RG

do Responsável

Fernanda Farage da Costa Felipe
Pós Graduada em Odontopediatria – FO/UFRJ

Christina Avelar Fernandez
Odontopediatria – FO/UFRJ

Clarissa
Doutoranda em
Pesquisadora Responsável

Apêndice 2. TCLE – Estudo III

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: **“Genes Candidatos às Anomalias Dentárias em Pacientes Portadores de Maloclusão Esquelética”**

Pesquisador Responsável: **Dra. Clarissa Christina Avelar Fernandez**, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) - Tel: **2562-2101**.

O(A) Sr. (ª) está sendo convidado(a) a participar do projeto de **“Genes Candidatos às Anomalias Dentárias em Pacientes Portadores de Maloclusão Esquelética”**. O contato será feito por **Clarissa Christina Avelar Fernandez** – doutoranda em Odontologia – Área de Concentração: Odontopediatria - pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

1 – Por que e para que estudaremos isto:

Existem estudos que mostram que alterações nos ossos da face podem estar relacionadas a algumas alterações genéticas (mudanças na células). Na população do Estado do Rio de Janeiro este tipo de estudo ainda não foi realizado. Nosso estudo pretende verificar se alguns genes (algumas partes das células) poderiam aumentar o risco para o aparecimento de alterações nos dentes em pacientes com essas alterações nos ossos da face.

2 – Como será feito:

Primeiramente iremos avaliar sua radiografia panorâmica (raio-x da boca toda) arquivada no seu local de tratamento. Em seguida, faremos um exame da boca (visual) em você e uma entrevista (conversa simples) com perguntas simples e rápidas a respeito da sua história médica (o que já aconteceu na sua vida, em relação a doenças, cirurgias, remédios que você toma ou já tomou e, também, doenças na sua família), e, também, questões sociais (perguntas sobre a sua casa e seu trabalho). Depois, você vai cuspir num copo. Das células presentes no cuspe, poderemos tirar apenas as partes das células necessárias que serão utilizadas para esta pesquisa. A sobra do cuspe será jogada fora após ser usada neste estudo. Não dói nada, não tem perigo nenhum e não faz mal.

3- Benefícios:

Aqueles pacientes que, durante o exame da cavidade bucal, apresentarem necessidade de tratamento odontológico serão agendados para atendimento na Clínica de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia/UFRJ. A população deve se beneficiar através do conhecimento de mudanças na células associadas às alterações nos dentes. Este é um projeto de pesquisa e não uma forma de tratamento ou diagnóstico. Com este trabalho, acreditamos que, além dos riscos muito pequenos, seus benefícios (mais demorados) serão altamente importantes.

4- Confidência:

Os participantes que desejarem, poderão ter acesso aos dados da pesquisa em qualquer momento, ou mesmo ter suas informações pessoais removidas deste arquivo, fazendo apenas um contato com os pesquisadores **Dra. Clarissa Christina Avelar Fernandez ou Prof. Dr. Marcelo de Castro Costa**, responsáveis por este projeto, pelo **telefone (21) 2562-2101**.

Esta pesquisa garante o sigilo da sua participação e os seus dados serão mantidos, mas de forma confidencial, através do uso de códigos numéricos (uso de números, ao invés, do nome) e arquivos fechados (ninguém terá acesso aos seus dados, somente a pesquisadora responsável). Desta forma, você terá a sua privacidade garantida. Além disso, você terá garantia de indenização por qualquer dano ou prejuízo que possa acontecer durante esta pesquisa. Todos os resultados serão publicados em revistas da área da saúde e da odontologia.

Você não é obrigado(a) a participar deste projeto e este consentimento pode ser retirado a qualquer momento, sem prejuízos à continuidade do seu tratamento. Assim, se quiser desistir, é só falar e você vai continuar sendo tratado normalmente. As informações fornecidas pelo senhor(a) serão confidenciais, assim como os resultados obtidos pela pesquisa.

Qualquer dúvida ou informação poderá ser fornecida pela pesquisadora responsável, **Dra. Clarissa Christina Avelar Fernandez ou Prof. Dr. Marcelo de Castro Costa**, através do **telefone (21)2562-2101**. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho/HUCFF/UFRJ – R. Prof. Rodolpho Paulo Rocco, n.º 255 – Cidade Universitária/Ilha do Fundão - Sala 01D-46/1º andar - pelo telefone (21) 2562-2480, de segunda a sexta-feira, das 8 às 15 horas, ou através do e-mail: cep@hucff.ufrj.br; Caso seja de interesse do participante, os resultados gerais da pesquisa lhes serão enviados tão logo a pesquisa seja concluída. Além disso, estes ficarão disponíveis na biblioteca do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFRJ localizado na Cidade Universitária, Ilha do Fundão – Rio de Janeiro, RJ.

Eu, _____,
responsável pelo (a) menor, _____,
acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações sobre o estudo acima citado que li ou que foram lidas para mim.

Eu discuti com a Dra. Clarissa Christina Avelar Fernandez sobre a minha decisão quanto a participação do(a) _____ nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento odontológico quando necessário.

Concordo voluntariamente com a participação do meu filho(a) neste estudo, ciente de que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízos e sem a perda do atendimento odontológico nesta Instituição ou de qualquer benefício que eu possa ter adquirido. Eu receberei uma cópia desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e a outra ficará com o pesquisador responsável por essa pesquisa. Além disso, estou ciente de que eu e o pesquisador responsável deveremos rubricar todas as folhas desse TCLE e assinar na última folha.

Rio de Janeiro, _____ de _____ de 2017.

_____	Assinatura
do Responsável	
_____	RG do
Responsável	
_____	Clarissa
Christina Avelar Fernandez	Doutoranda em
Odontopediatria – FO/UFRJ	Pesquisadora Responsável

Apêndice 3. Termo de Assentimento – Estudo III

TERMO DE ASSENTIMENTO

Este formulário de assentimento informado é para crianças/adolescentes entre as idades de 08 à 17 anos que comparecerão aos serviços de ortodontia e que estamos convidando a participar do projeto de pesquisa: “*Genes Candidatos às Anomalias Dentárias em Pacientes Portadores de Maloclusão Esquelética*”.

Nome da criança/adolescente:

Nome do responsável legal:

Pesquisador Responsável: **Dra. Clarissa Christina Avelar Fernandez - Universidade Federal do Rio de Janeiro** – Faculdade de Odontologia – Departamento de Odontopediatria. Tel: (21) 2562-2101.

Você está sendo convidado(a) a participar do estudo “*Genes Candidatos às Anomalias Dentárias em Pacientes Portadores de Maloclusão Esquelética*”. O contato será feito por **Clarissa Christina Avelar Fernandez** – doutoranda em Odontologia pela Universidade Federal do Rio de Janeiro.

1 – Por que e para que estudaremos isto:

Existem estudos que mostram que alterações nos ossos da face podem estar relacionadas a algumas alterações genéticas (mudanças nas células). Na população do Estado do Rio de Janeiro este tipo de estudo ainda não foi realizado. Nosso estudo pretende verificar se alguns genes (algumas partes das células) poderiam aumentar o risco para o aparecimento de alterações nos dentes em pacientes com essas alterações nos ossos da face.

2 – Como será feito:

Primeiramente iremos avaliar sua radiografia panorâmica (raio-x da boca toda) arquivada no seu local de tratamento. Em seguida, faremos um exame da boca (visual) em você e uma entrevista (conversa simples) com perguntas simples e rápidas a respeito da sua história médica (o que já aconteceu na sua vida, em relação a doenças, cirurgias, remédios que você toma ou já tomou e, também, doenças na sua família), e,

também, questões sociais (perguntas sobre a sua casa e seu trabalho). Depois, você vai fazer cuspir num copo. Das células presentes no cuspe, poderemos tirar apenas as partes das células necessárias que serão utilizadas para esta pesquisa. A sobra do cuspe será jogada fora após ser usada neste estudo. Não dói nada, não tem perigo nenhum e não faz mal.

3- Benefícios:

Aqueles pacientes que, durante o exame da cavidade bucal, apresentarem necessidade de tratamento odontológico serão agendados para atendimento na Clínica de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia/UFRJ. A população deve se beneficiar através do conhecimento de mudanças nas células associadas às alterações nos dentes. Este é um projeto de pesquisa e não uma forma de tratamento ou diagnóstico. Com este trabalho, acreditamos que, além dos riscos muito pequenos, seus benefícios (mais demorados) serão altamente importantes.

4- Confidência:

Não falaremos para outras pessoas que você está nesta pesquisa e também não compartilharemos informação sobre você para qualquer um que não trabalha na pesquisa. Depois que a pesquisa acabar, os resultados serão publicados em revistas da área de saúde e de dentistas.

As informações sobre você serão coletadas na pesquisa e ninguém, exceto os investigadores poderão ter acesso a elas. Qualquer informação sobre você terá um número, ao invés de seu nome. Só os investigadores saberão qual é o seu número e manteremos em segredo.

Os participantes que desejarem poderão ter acesso aos dados da pesquisa em qualquer momento, ou mesmo ter suas informações pessoais removidas deste arquivo, bastando para isso um contato com os pesquisadores **Dra. Clarissa Christina Avelar Fernandez ou Prof. Dr. Marcelo de Castro Costa**, responsáveis por este projeto, pelo **telefone (21) 2562-2101**.

Você pode escolher se quer participar ou não. Conversamos sobre essa pesquisa com seus pais ou responsáveis e eles sabem que também estamos pedindo seu acordo. Para você participar da pesquisa, seus pais ou responsáveis também terão que concordar. Mas se você não desejar fazer parte da pesquisa, não é obrigado, até mesmo se seus pais concordarem. Assim, se quiser desistir, é só falar e você vai continuar sendo tratado normalmente.

Você pode discutir qualquer coisa deste formulário com seus pais, amigos ou qualquer um com quem você se sentir a vontade de conversar. Você pode decidir se quer participar ou não depois de ter conversado sobre a pesquisa e não é preciso decidir imediatamente. Pode haver algumas palavras que não entenda ou coisas que você quer que eu explique mais detalhadamente porque você ficou mais interessado ou preocupado. Por favor, peça que pare a qualquer momento e eu explicarei.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho/HUCFF/UFRJ – R. Prof. Rodolpho Paulo Rocco, n.º 255 – Cidade Universitária/Ilha do Fundão - Sala 01D-46/1º andar - pelo telefone (21) 2562-2480, de segunda a sexta-feira, das 8 às 15 horas, ou através do e-mail: cep@hucff.ufrj.br; Caso seja de interesse do participante, os resultados gerais da pesquisa lhes serão enviados tão logo a pesquisa seja concluída. Além disso, estes ficarão disponíveis na biblioteca do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFRJ localizado na Cidade Universitária, Ilha do Fundão – Rio de Janeiro, RJ.

Eu, _____, RG _____ nº _____
 _____ declaro ter sido informado e concordo em participar, como voluntário, do projeto de pesquisa acima descrito.

Estou ciente de que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízos e sem a perda do atendimento odontológico nesta Instituição ou de qualquer benefício que eu possa ter adquirido. Eu receberei uma cópia desse Termo de Assentimento (TA) e a outra ficará com o pesquisador responsável por essa pesquisa. Além disso, estou ciente de que eu e o pesquisador responsável deveremos rubricar todas as folhas desse TA e assinar na última folha.

Rio de Janeiro, ____ de _____ de 2017

Assinatura do Paciente

Assinatura do Responsável

Responsável

RG do

Clarissa

Christina Avelar Fernandez
Odontopediatria – FO/UFRJ

Doutoranda em
Pesquisadora Responsável

Apêndice 4. Ficha de Coleta de Dados

Ficha de Coleta de Dados – 2ª Etapa

PRONTUÁRIO N°: _____ BANCO DNA N°: _____

INSTITUIÇÃO _____

NOME DO PACIENTE: _____ IDADE : _____

ENDEREÇO: _____

CIDADE: _____ ESTADO: _____ CEP: _____ TELEFONES: _____

E-MAIL : _____ DATA DE NASCIMENTO: _____

NOME DA MÃE: _____ ESCOLARIDADE: _____

NOME DO PAI: _____ ESCOLARIDADE: _____

RENDA MENSAL FAMILIAR (SALÁRIOS MÍNIMOS): 0-1 () ; 2-4 () ; 5-8 () ; MAIS DE 8 ()

() TRATAMENTO () PÓS TRATAMENTO INÍCIO DO TRATAMENTO EM: _____

QUESTIONÁRIO:

SEXO: () MASCULINO () FEMININO ()

ETNIA: () CAUCASIANA () NEGRA () PARDA () OUTROS _____

O PACIENTE É PORTADOR DE ALGUMA SÍNDROME? () SIM () NÃO

QUAL? _____

O PACIENTE APRESENTA ALGUMA ALTERAÇÃO SISTÊMICA? () SIM () NÃO

QUAL? _____

O PACIENTE ESTÁ SOB TRATAMENTO MÉDICO? () SIM () NÃO

POR QUE? _____

O PACIENTE OU ALGUÉM DA FAMÍLIA NASCEU COM ALGUMA ALTERAÇÃO CONGÊNITA?

() SIM () NÃO () NÃO SEI

QUAL? _____ GRAU DE PARENTESCO? _____

ALGUÉM DA FAMÍLIA NASCEU COM DENTE A MENOS OU A MAIS?

() SIM () NÃO () NÃO SEI

QUAL? _____ GRAU DE PARENTESCO? _____

VOCÊ OU ALGUÉM DA SUA FAMÍLIA TEM OU JÁ TEVE CÂNCER? ()SIM ()NÃO ()NÃO SEI
 QUEM? _____ TIPO/REGIÃO DO CÂNCER:

O PACIENTE, OU ALGUÉM DA FAMÍLIA APRESENTA OU APRESENTOU ALGUM DESEQUILÍBRIO
 ENDÓCRINO?

()SIM ()NÃO ()NÃO SEI

QUEM? _____ QUAL? _____

O PACIENTE, OU ALGUÉM DA FAMÍLIA APRESENTA OU APRESENTOU ALGUM TRANSTORNO
 METABÓLICO?

()SIM ()NÃO ()NÃO SEI

QUAL? ()PROTEÍNAS ()LIPÍDEOS ()CARBOIDRATOS ()AVITAMINOSES

OBS: _____

PERGUNTAS SOBRE A GESTAÇÃO DA MÃE DO PACIENTE (PRIMEIRO TRIMESTRE):

MEDICAMENTOS? ()SIM ()NÃO

QUAL? _____

INGERIU BEBIDAS ALCOÓLICAS? ()SIM ()NÃO FUMOU? ()SIM ()NÃO

EXAME CLÍNICO:

TIPO FACIAL: ()MESOFACIAL ()DOLICOFACIAL ()BRAQUIFACIAL

DENTIÇÃO: ()MISTA ()PERMANENTE

RELAÇÃO MOLAR; ()CLASSE I ()CLASSE II ()CLASSE III

RELAÇÃO CANINA: ()CLASSE I ()CLASSE II ()CLASSE III

()APINHAMENTO ()DIASTEMA

ANÁLISE RADIOGRÁFICA:

➔ RADIOGRAFIA CEFALOMÉTRICA DE PERFIL:

SNA: _____ SNB: _____ ANB: _____ SN-GoGN: _____

TIPO DE MALOCCLUSÃO ESQUELÉTICA HORIZONTAL: ()CLASSE I ()CLASSE II ()CLASSE III

TIPO DE MALOCCLUSÃO ESQUELÉTICA VERTICAL: ()HIPO DIVERGENTE ()NORMAL ()HIPER
 DIVERGENTE

RELAÇÃO MOLAR: ()CLASSE I ()CLASSE II ()CLASSE III

SUBDIVISÃO: () DIREITA () ESQUERDA

RELAÇÃO CANINA: () CLASSE I () CLASSE II () CLASSE III

SUBDIVISÃO: () DIREITA () ESQUERDA

➔ RADIOGRAFIA PANORÂMICA:

() APINHAMENTO () DIASTEMA

ELEMENTOS ENVOLVIDOS: _____

ANOMALIA DENTÁRIA: () SIM () NÃO

TIPO DE ANOMALIA / ELEMENTO(S) ENVOLVIDO(S): _____

AGENESIA: () SIM () NÃO ELEMENTOS ENVOLVIDOS: _____

() UNI () BILATERAL () DIR. () ESQ. () MÁX. () MAND.

AGENESIA DE TERCEIRO MOLAR: () SIM () NÃO ELEMENTOS: _____

() UNI () BILATERAL () DIR. () ESQ. () MÁX. () MAND.
