



UADY

CIENCIAS DE LA SALUD

FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA

VARIACIÓN GENÉTICA DE *AXIN2* EN PACIENTES CON
AGENESIA DENTAL

Tesis presentada por:

JOEL EFRAÍN CANUL MAY

En opción al Diploma de Especialización en:

ORTODONCIA

Directores:

DR. JOSÉ RUBÉN HERRERA ATOCHE

DRA. LIZBETH JOSEFINA GONZÁLEZ HERRERA

Mérida, Yucatán, junio 2021



UADY

CIENCIAS DE LA SALUD

FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA

VARIACIÓN GENÉTICA DE *AXIN2* EN PACIENTES CON
AGENESIA DENTAL

Tesis presentada por:

JOEL EFRAÍN CANUL MAY

En opción al Diploma de Especialización en:

ORTODONCIA

Directores:

DR. JOSÉ RUBÉN HERRERA ATOCHE

DRA. LIZBETH JOSEFINA GONZÁLEZ HERRERA

Mérida, Yucatán, junio 2021



UADY
UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE YUCATÁN

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

UNIDAD DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN

Mérida, Yucatán, 16 de junio de 2021

C. JOEL EFRAÍN CANUL MAY

Con base en el dictamen emitido por sus Directoras y revisores, le informo que la Tesis titulada **"Variación genética de AXIN2 en pacientes con agenesia dental"**, presentada como cumplimiento a uno de los requisitos establecidos para optar al Diploma de la Especialización en Ortodoncia, ha sido aprobada en su contenido científico, por lo tanto, se le otorga la autorización para que una vez concluidos los trámites administrativos necesarios, se le asigne la fecha y hora en la que deberá realizar su presentación y defensa.


Dr. José Rubén Herrera Atoche
Jefe de la Unidad de Posgrado e Investigación
Y Director de Tesis




FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
E INVESTIGACIÓN



Dra. Lizbeth Josefina González Herrera
Directora de Tesis

M. en O. Gabriel Eduardo Colomé Ruiz
Revisor de Tesis


Dra. Zacil-Ha Vilchis Zapata
Revisora de Tesis

Artículo 78 del reglamento interno de la facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán.

Aunque una tesis hubiera servido para el examen profesional y hubiera sido aprobada por el sínodo, solo el autor o autores son responsables de las doctrinas en ella emitida.

Este trabajo fue realizado en la clínica del posgrado de Ortodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán, en el laboratorio de genética del Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi”, y en el laboratorio Diagnósticos Moleculares y Genéticos, bajo la dirección del Dr. José Rubén Herrera Atoche y la Dra Lizbeth Josefina González Herrera.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco Dios por permitirme la vida, a mis padres por el apoyo incondicional que me brindaron durante toda mi formación académica; a Claudia, mi compañera de vida, por su motivación, ayuda y apoyo incondicional en todos mis proyectos y metas.

A mis directores de tesis, al Dr. José Rubén Herrera Atoche y la Dra Lizbeth Josefina González Herrera, por su asesoría, sus conocimientos, su apoyo y guía durante la elaboración de este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada.

A mis profesores del posgrado de ortodoncia por transmitirme sus conocimientos y sus experiencias durante toda mi formación.

A mis compañeros y amigos de generación, por el apoyo y motivación mutua entre nosotros.

ÍNDICE

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
JUSTIFICACIÓN	15
OBJETIVOS	16
MATERIAL Y MÉTODOS	17
RESULTADOS	21
DISCUSIÓN	30
CONCLUSIONES	33
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Fig. 1. Bases moleculares de la odontogénesis	5
Fig. 2. Ubicación del gen <i>AXIN2</i>	7
Fig. 3. Organización genómica de <i>AXIN2</i>	7
Tabla 1. Síndromes y anomalías dentales	10
Tabla 2. Primers y secuencia de los exones del gen <i>AXIN2</i>	18
Tabla 3. Pacientes por edad y sexo	21
Tabla 4. Pacientes con agenesia dental: variantes genéticas, genotipo y fenotipo	26
Tabla 5. Variantes encontradas, fenotipo y significado clínico	27
Fig. 4a. Variante de inserción heterocigoto g.8150C>Y(T/C)	28
Fig. 4b. Variante de inserción heterocigoto g.8434T>Y(T/C)	28
Fig. 5a. Variante g.28952 A>G	29
Fig. 5b. Variante de inserción heterocigoto g.28973C>Y(T/C)	29

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La dentición, es resultado del proceso en el cual aparecen los dientes de una persona o animal, en los humanos; la dentición temporal está compuesta por 20, mientras que la dentición permanente por 32. Existen diversas anomalías en la morfología, tamaño y número, que han sido reportadas a través de estudios, y pueden presentarse en ambas denticiones (1).

La agenesia dental, se define como la ausencia congénita del germen dentario, es una anomalía que puede presentarse en ambas denticiones. Es menos común en la dentición decidua, con una prevalencia del 1% en la población general, mientras que en la dentición permanente es de hasta el 25% . Se define como hipodoncia a la ausencia de uno o a seis dientes, la ausencia mayor a 6 dientes se define como oligodoncia; la anodoncia es la ausencia total. Se conoce que estas anomalías, son resultado de un trastorno en la iniciación y proliferación de la lámina dental, causando la ausencia de células que forman el germen dentario (1,2).

La agenesia dental ocurre en formas sindrómicas y no sindrómicas y se clasifica como una condición genética y clínicamente heterogénea que afecta a varias combinaciones de dientes. Existen diversos genes que intervienen en las diferentes etapas del desarrollo dentario, los cuales también forman parte en el desarrollo de otros órganos del cuerpo, por lo cual también se relaciona a diversos síndromes, como el síndrome de Witkop por mutación del gen *MSX* (muscle segment homeobox), el síndrome de Axenfeld Rieger por mutación de los genes *BMP4/FGF8 (PITX2)* y *PAX9* siendo de tipo autosómico dominante. Recientemente el gen *AXIN2*, un receptor de señalización Wnt, fue identificado como responsable de una forma no sindrómica de agenesia dental (3,4).

La agenesia no sindrómica puede ser de tipo esporádica o familiar, esta última se transmite como una condición genética autosómica dominante, autosómica recesiva o ligada al cromosoma X. Los factores genéticos han tomado mucha importancia debido a la prevalencia familiar observada, así como por estudios de gemelos y familiares, pero se ha obtenido evidencia definitiva durante la era de la genética molecular, gracias a la cual se han detectado defectos en varios genes asociados a anomalías dentales de número, forma y tamaño (5).

Con el fin de encontrar posibles mutaciones en un ámbito familiar, en genes asociados a la agenesia dental que no han sido estudiados en la población yucateca, se plantea la siguiente pregunta:

¿Existen variaciones genéticas presentes en el gen *AXIN2* como causa de agenesia dental familiar en pacientes yucatecos?

REVISION BIBLIOGRÁFICA

ODONTOGÉNESIS

La dentición humana, es un sistema biológico conformado por dientes, ubicados a lo largo del maxilar y mandíbula de forma articulada; su desarrollo comienza en el día 28 de gestación, con el inicio de la hebra epitelial primaria y termina con la formación de las raíces de los terceros molares. La lámina dental maxilar y mandibular está formada a las 6 semanas en el útero, y el desarrollo de los dientes primarios comienza a partir de la 8va semana. Es el proceso más largo de organogénesis en el cuerpo humano, regulado por interacciones de tejidos y redes de genes similares a otros órganos ectodermales, e involucra un proceso repetitivo de mecanismos de auto organización, cruciales para la formación de las series dentarias, su forma y renovación (2,6–8).

El desarrollo de los dientes (odontogénesis), es un proceso altamente complejo, que implica la interacción entre el ectodermo oral, y las células del ectomesénquima que se derivan de la cresta neural. Las señales de los centros de señalización subyacentes, están mediadas por más de 350 moléculas, que incluyen factores de transcripción, de crecimiento, receptores y otras proteínas reguladoras. La vía de señalización de Wnt / β -catenina está involucrada en el desarrollo embrionario, es activada en las regiones de formación dental, durante todas las etapas del desarrollo, por lo cual tiene un papel esencial en la odontogénesis. (9,10).

La formación de la dentición, es uno de los procesos más notables del desarrollo, proporciona un modelo poderoso, para estudiar las interacciones epitelio-mesenquimales que controlan los patrones y la morfogénesis. Se desarrolla a partir del epitelio del primer arco branquial del proceso frontonasal, y mesénquima de la cresta neural, se forma de una serie secuencial y recíproca, de señales inductivas entre el epitelio y el mesénquima. Posteriormente, las células del ectodermo darán lugar a los

ameloblastos, las células de la mesénquima de la cresta neural, formarán odontoblastos y cementoblastos (11–14).

La proliferación del ectodermo oral dentro de la lámina dental conduce a la formación de brotes dentales. Estos brotes dentales en desarrollo contienen los determinantes genéticos para la transcripción de proteínas responsables de iniciar señales que eventualmente regulan la cantidad de dientes que se formarán. El proceso de diferenciación de la dentición se divide en 3 etapas. En la primera (botón o yema), ocurre un engrosamiento de la capa epitelial conocido como lámina dental, el ectodermo se engrosa y forma un placode (engrosamiento del ectodermo) que brota al mesénquima subyacente neural-crestado; en las yemas se producen productos de una gran cantidad de genes, que incluyen moléculas de señalización, y sustancias responsables de la interacción del epitelio y mesénquima. En la siguiente etapa, conocida como casquete, las células forman el saco dental, el cual dará lugar al periodonto; el epitelio señala al mesénquima, que luego se condensa alrededor del brote epitelial; durante la posterior morfogénesis, el epitelio se pliega y crece para rodear el mesénquima de la papila dental. Finalmente, en la etapa de campana se fija la forma final de la corona del diente, cuando las células formadoras de tejido duro del diente (odontoblastos y ameloblastos) se diferencian en la interfaz del epitelio y el mesénquima y depositan las matrices de esmalte y dentina, respectivamente (8,12,15).

BASES MOLECULARES DE LA ODONTOGÉNESIS

Las fases del desarrollo de la dentición están controladas genéticamente, se han identificado varios genes que están involucrados en la morfogénesis, y su papel regulador a lo largo del desarrollo del órgano dental, es decir, desde la iniciación hasta el patrón (determinación de la ubicación, identidad, tamaño y forma) e histogénesis. Incluye una serie de eventos inductivos que involucran genes que regulan principalmente las interacciones epiteliales-mesenquimales. Los mecanismos moleculares que proporcionan un código posicional para la morfogénesis de los dientes, se basan en un código de genes homeobox expresados en células mesenquimáticas, que se conoce como código odontogénico homeobox (11,13,14,16).

Las bases moleculares de la odontogénesis, son similares a las de otros órganos que incluyen desarrollos epitelio-mesenquimales. Mas de 300 moléculas se involucran en el desarrollo dental: factores de crecimiento de fibroblastos (FGF), proteínas morfogenéticas óseas (BMP), hedgehog sónico (SHH) y WNT. Se han descubierto bucles de reticulación entre estas vías que están interconectadas y son mutuamente dependientes. El gen *AXIN2*, tiene un papel importante en en la regulación de la β catenina en la vía de señalización WNT. Los estudios han identificado que tanto *MSX1* como *PAX9*, son esenciales para la inducción de la proteína morfogenética ósea 4 (BMP4), que se considera un paso fundamental en el desarrollo de los dientes en los mamíferos (10,16,17).

Entre los genes involucrados directa o indirectamente, en la regulación del desarrollo dental se encuentran: *LEF1*, *PITX2*, *AXIN2*, *TGFA*, *IRF6*, *FGFR1*, *MSX1* y *PAX9*, siendo estos últimos fundamentales en la odontogénesis, mientras que otros genes tienen un efecto menos pronunciado: *DLX1*, *DLX2*, *GLI2*, *GLI3* (14,18).

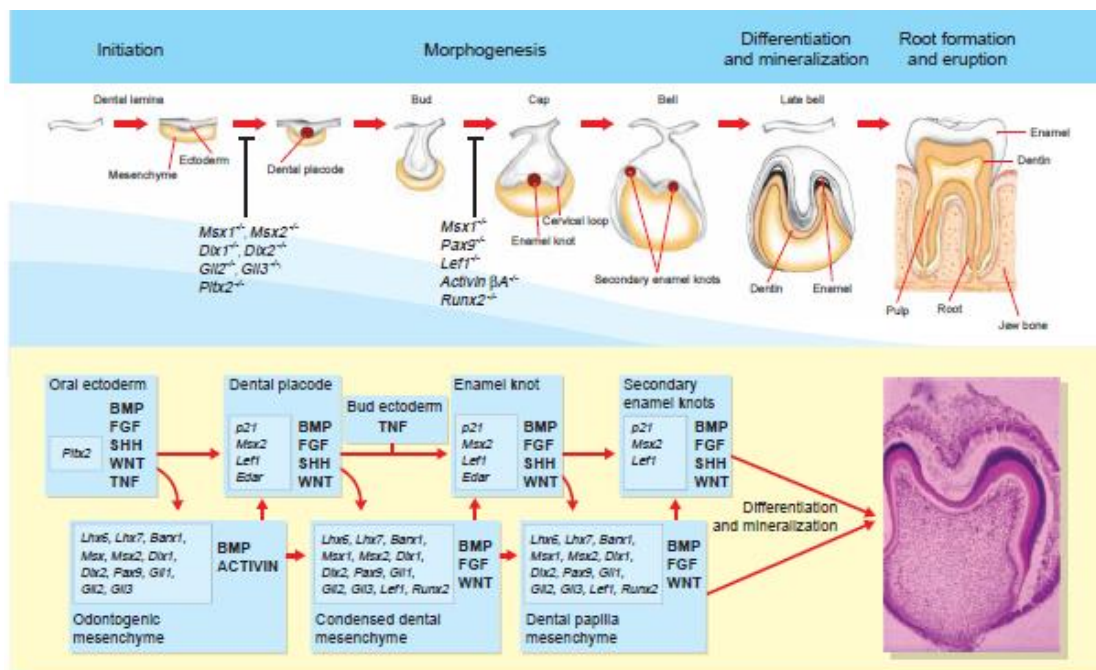


Fig. 1. Bases moleculares de la odontogénesis (15).

El gen *PAX9* ha sido identificado como un factor clave de control durante el proceso odontogénico, y su expresión se encuentra específicamente, en los sitios prospectivos de todos los dientes antes de que existan signos morfológicos de odontogénesis; codifica los factores de transcripción, que se expresan en la mesénquima dental en todas de iniciación, brote, capuchón y campana (14,19,20).

Los genes *MSX*, son una familia de genes homeobox, está compuesta por tres genes: *MSX 1*, *MSX2* y *MSX 3*; se expresan en muchos órganos, especialmente en sitios donde ocurren relaciones epitelio-mesénquima; manifiestan de manera activa durante el desarrollo craneofacial. Durante la embriogénesis, tienen un papel importante en la odontogénesis (21,22).

El gen *MSX1*, tiene un papel general en el desarrollo de derivados ectodérmicos que se expresa fuertemente en el mesénquima dental, el gen *PAX9* presenta un mecanismo de retroalimentación que regula la expresión de la proteína BMP4 en la mesénquima, la cual es de suma importancia por ser clave en la formación del nódulo del esmalte, estructura que dirige el proceso de cambio de fase de yema a casquete (14,20,23).

BMP4 es un miembro de la superfamilia del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) de moléculas secretorias que participan en la vía de señalización BMP. Durante el desarrollo del diente, la expresión de BMP4 cambia del epitelio dental al mesénquima, por lo cual juega un papel central en las interacciones epitelio-mesénquimales durante la morfogénesis dental. Las primeras señales epiteliales inducen en el mesénquima la expresión de moléculas de señal recíprocas, como FGF y BMP4, que actúan de nuevo en el epitelio (15,24,25).

El gen *BMP4*, en humanos presenta al menos dos promotores funcionales, los cuales se usan de manera específica para cada tipo celular. Funciona durante todo el desarrollo en la inducción del mesodermo, el desarrollo de los dientes, la formación de extremidades, la inducción ósea y la reparación de fracturas (26,27). Se ha relacionado su expresión en el epitelio dental durante la morfogénesis dental temprana.

Los genes *BMP4* y *BMP2* intervienen en la primera fase del desarrollo de los dientes, desde el engrosamiento epitelial hasta el estadio de brote y la primera condensación de la mesénquima. Estos factores regulan la expresión de los genes *MSX1* y *MSX2* que determinan el patrón microscópico del órgano dentario a través de la regulación de distintas moléculas de la superficie celular y de la matriz extracelular (24,28).

El gen *AXIN2* se localiza en el cromosoma 17 en el brazo largo q24.1 (fig. 2), está conformado por diez exones que varían en tamaño desde 96 pb (exón 8) hasta 904 pb (exón 1), el tamaño total del gen *AXIN2* es de 625 kb (fig. 3). Codifica la proteína *AXIN2* que tiene un papel importante en la regulación de la estabilidad de la β -catenina, es un regulador negativo de la vía de señalización Wnt. Se expresa durante la odontogénesis en el mesénquima dental, el nudo del esmalte, el mesénquima de la papila dental y en los odontoblastos mesenquimales. La proteína *AXIN* funciona como una plataforma que facilita la fosforilación de las β -catenina por GSK-3 β , y actúa como un importante mediador de la señalización celular (5,29,30).

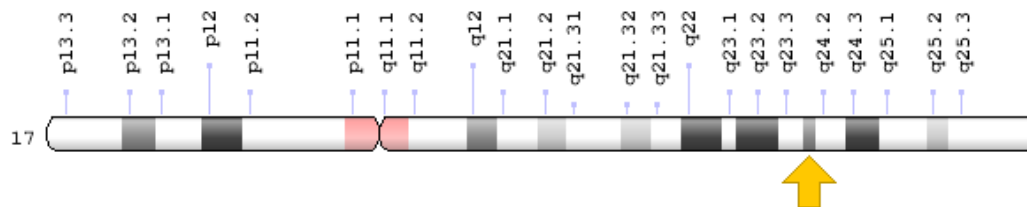


Fig. 2. Ubicación del gen *AXIN2*.

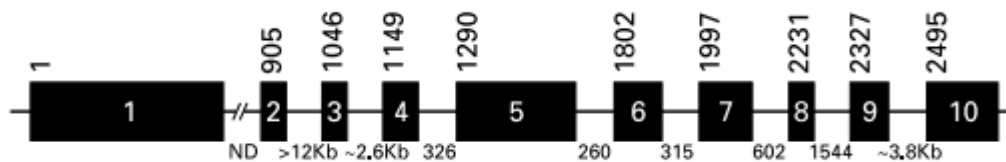


Fig. 3. Organización genómica de *AXIN2*

Los Wnts son una familia de moléculas de señalización que desempeñan un papel fundamental en diversos aspectos del desarrollo craneofacial; *AXIN2* actúa como un gen supresor de tumores en numerosos cánceres mapeados en el cromosoma humano sirve como un componente de andamiaje del complejo multiproteína y regula negativamente Wnt / β -catenina, señalizando la vía corriente abajo a través de la degradación de β -catenina. Se ha demostrado que los miembros de la familia de genes Wnts están asociados con hendiduras palatinas en humanos; así como las mutaciones o polimorfismos en *AXIN2* están asociados con una mayor susceptibilidad al cáncer y agenesia dental familiar (29,31).

AGENESIA DENTAL

La agenesia dental es una de las anomalías craneofaciales más frecuentes en el desarrollo humano el cual se especifica como un desorden heterogéneo determinado genéticamente que se presenta como la ausencia congénita de uno o más dientes; e siendo más frecuente en mujeres que en hombres. Se diagnostica mediante examen dental y evaluación radiográfica de la cavidad oral. La agenesia dental puede afectar las denticiones primarias y permanentes, aunque la mayoría de los informes de casos y estudios genéticos y moleculares evalúan la agenesia de los dientes permanentes. Es una anomalía que en el campo de la ortodoncia, conduce a varios tipos de maloclusión, alteración de la función masticatoria y estética (1,8,32,33).

Existen varios términos para describir las anomalías dentales de número, dependiendo de la cantidad faltante, agenesia: ausencias congénitas de los dientes temporales y permanentes, sin antecedentes de extracción, avulsión o exfoliación. Hipodoncia indica una entidad más compleja, se usa a menudo como un término colectivo para la ausencia congénita de dientes, involucra no solo aberraciones en número, tamaño y forma, sino también anomalías en la tasa global del desarrollo dental y secuencia de erupción parcial; aunque específicamente, describe la ausencia de uno a seis dientes, excluyendo terceros molares. Oligodoncia que significa "pocos dientes", se refiere a la ausencia congénita de seis o más dientes, excluyendo los terceros molares. Anodoncia, representa una falla completa en el desarrollo de una o ambas denticiones, denota ausencia parcial o completa de dientes; Se considera

anodoncia total cuando el germen dentario no se forma en el maxilar ni en la mandíbula, y parcial si únicamente en una arcada se presenta la anomalía (3,14,34,35).

Los dientes que se encuentran ausentes con mayor frecuencia, son los terceros molares, seguidos por los incisivos laterales superiores o segundos premolares superiores e inferiores. Otros estudios mencionan que las ausencias más frecuentes son los segundos premolares mandibulares, seguidos de los incisivos laterales superiores y los segundos premolares superiores (3,13,36).

Se han reportado factores epigenéticos y ambientales, como posibles causas de agenesia dental, la evidencia científica demuestra que son los factores genéticos, los que desempeñan un papel etiológico predominante para la aparición de esta anomalía. La genética molecular ha identificado estos factores, y los mecanismos responsables de su aparición; con el uso de técnicas de mapeo genético en familias con hipodoncia/oligodoncia, se ha vinculado varias mutaciones genéticas con agenesia dental (10,14).

Se ha descubierto que muchas mutaciones genéticas causan agenesia dental aislada y sindrómica. Se puede clasificar en sindrómica o esporádica según esté asociada a otra condición de origen genético o no. A la forma esporádica también se le conoce como familiar o no-sindrómica y poseen diversas formas de herencia mendeliana: autosómica dominante, autosómica recesiva, y ligada al cromosoma X (13,14).

AGENESIA SINDRÓMICA

Se han identificado genes subyacentes en todos los síndromes comunes que presentan agenesia dental (tabla 1), y una parte significativa de la oligodoncia no sindrómica. Los pacientes con agenesia sindrómica pueden tener otras anomalías tales como: microdoncia, raíces cortas, retrasos en la formación y erupción dental, taurodontismo, hipoplasia del esmalte, impactaciones y retenciones dentales, transposición de caninos. La génesis dental familiar, se caracteriza por una heterogeneidad genética moderada, y se ha informado que tiene un modo de herencia autosómico dominante, autosómico recesivo o ligado al cromosoma X (8,36) .

Tabla 1. Síndromes y anomalías dentales

Síndrome	Anomalías dentales
Displasia ectodérmica	Número, forma y tamaño
Síndrome de Hollermann-Streiff	Agenesia de dientes primarios y permanentes
Disgénesis mesoectodérmica	Hipodoncia
Síndrome de Christ-Siemens	Agenesia
Síndrome de Book	Aplasia premolares y molares
Síndrome de Riegar	Microdoncia y oligodoncia
Síndrome de Witkop	Hipodoncia
Síndrome de Down	Hipoplasias del esmalte, agenesia.
Síndrome de Ellis van Creveld	Agenesia

El papel de los factores genéticos fue sugerido por la presencia familiar observada, las diferencias de prevalencia entre las poblaciones, y la asociación con síndromes hereditarios, así como por estudios de gemelos y familiares, se adquirió evidencia definitiva durante la era genética molecular: han sido detectados defectos en varios genes, que son causa de agenesia, anomalías en tamaño y morfología (5).

AGENESIA NO SINDRÓMICA

Cuando la agenesia es no sindrómica, la ausencia dental suele ser el único hallazgo clínico aparente, ésta es la de tipo más común como causa de dientes faltantes congénitos, puede ser de tipo esporádico o familiar. Los casos esporádicos se presentan con hipodoncia como el único fenotipo. La base biológica de la agenesia se debe en gran parte, al fracaso de la proliferación lingual o distal, de las células de la lámina dental. Es causada por factores ambientales, traumatismos en la región de los maxilares, radiaciones; también a factores genéticos dominantes hereditarios o a ambos. En la actualidad, se han realizados diversos estudios, con el objetivo de encontrar otras posibles causas de ausencia dental congénita, relacionando el módulo genético con el desarrollo de la dentición (8,37).

Estudios realizados han encontrado a los incisivos laterales superiores ,como los dientes ausentes congénitamente mas frecuentes, seguidos de los segundos premolares inferiores. Sin embargo, otros estudios han mencionado los segundos premolares inferiores como los dientes que faltan con mayor frecuencia, seguidos de incisivos laterales superiores y segundos premolares superiores (38,39).

BASES GENÉTICAS DE LA AGENESIA DENTAL

Aunque los factores ambientales pueden contribuir al fenotipo de agenesia (formas multifactoriales), en la mayoría de los casos se hereda como autosómico dominante. Como factores genéticos, se han identificado como la principal etiología de la agenesia dental las variantes en varios genes: *AXIN2*, *EDA*, *FGF3*, *FGFR2*, *FGFR10*, *MSX1* y *PAX9*, esto se asocia con el papel importante que expresan cada uno durante la odontogénesis. (18,39,40).

Los defectos de la función génica pueden afectar la formación dental y conducir agenesias congénitas, aunque las bases moleculares de tales defectos no se entienden completamente. *MSX1* tiene importancia en las interacciones epiteliales-mesenquimales en la odontogénesis temprana, fue el primero en asociarse a agenesia no sindromica; mutaciones del gen *PAX9* es probable que se manifiesten como agenesia de segundo molares o una combinación de agenesia de segundos premolares e incisivos mandibulares; las mutaciones en el *AXIN2* se han asociado con agenesia dental, con el fenotipo que se presenta como una mezcla de agenesia dental de zonas anteriores y posteriores, un estudio lo asoció con agenesia de incisivos inferiores (8,41).

La oligodoncia como resultado de mutaciones en el gen *AXIN2*, fue de mayor severidad en comparación a las mutaciones en los genes *MSX1* y *PAX9*; faltaban más molares, premolares, incisivos laterales superiores e incisivos inferiores, pero estaban presentes incisivos centrales superiores. El fenotipo de los portadores de mutaciones en el gen *AXIN2*, son variables, aunque principalmente involucran una o más de las tres características principales que incluyen: oligodoncia, displasia ectodérmica

(desarrollo anormal de la piel, cabello, uñas o glándulas sudoríparas) y poliposis adenomatosa colorrectal y / o riesgo de cáncer colorrectal (5,42).

Otros estudios han identificado mutaciones en los genes *EDA* y *WNT10A*. El *EDA* codifica una molécula de señal similar a TNF ectodisplasina activa en el epitelio y se identificó como el gen mutado en forma ligada a X de displasia ectodérmica anhidrótica, ambos genes se han asociado a agenesia dental aislada. La importancia de *WNT10A* para la agenesia dental, está en línea con su expresión bastante específica en el epitelio centros de señalización importantes para el desarrollo dental (43).

Se han encontrado polimorfismos en los genes *TGFB3* y *BMP4*, asociados con agenesia dental, en *TGFB3* se asoció con otra alteración del desarrollo común en el maxilar superior y paladar hendido, esta relacionado principalmente con agenesia de incisivos inferiores, caninos y molares. *BMP4* se ha asociado en agenesia tanto del maxilar como mandíbula, las personas afectadas por agenesia debido a este gen, siguen un patron similar, por lo cual se piensa que este gen esta involucrado en casos de mayor gravedad de agenesia dental; su asociación frecuentemente es la ausencia de incisivos laterales superiores y premolares; también se ha relacionado con osteopenia y osteoporosis temprana, en el mismo cohorte de pacientes con mutaciones causantes de agenesia dental. (25,44).

AGENESIA FAMILIAR

Estudios sistemáticos de cohortes de pacientes con agenesia dental y sus familias, indican que los factores genéticos intervienen en la génesis de los dientes por diferentes modos de herencia: autosómico dominante, autosómico recesivo y ligado a X, así como la herencia compleja sugerida se ha informado en familias con oligodoncia. En la hipodoncia familiar, la herencia mayormente es autosómica dominante con penetrancia incompleta y expresividad variable. Varios genes han sido reportados como agentes etiológicos de la hipodoncia; los casos familiares pueden representar una condición compleja y multifactorial. (36,45).

Diversos estudios han identificado una mutación de cambio de marco en el gen *PAX9*, en una familia con hipodoncia autosómica dominante con agenesia de molares permanentes. Se reportó que una combinación de hipodoncia / oligodoncia y labio y paladar hendido asociados a una mutación del gen *MSX1* en una familia holandesa. Gerits estudió a ocho pacientes con oligodoncia severa y encontró una asociación a mutaciones de los genes *PAX9* y *AXIN2*. (16,45,46).

El miembro de la familia Wnt 10A (*WNT10A*), expresa una molécula de señalización secretada esencial para la activación de la ruta de señalización de Wnt. Este gen se asoció con displasia odontoonico-dérmica con hipodoncia variable que involucra incisivos laterales y premolares en una familia estadounidense. confirmando el patron autosomido dominante. (47,48).

Huang et al informaron hallazgos de una nueva mutación sin sentido en el gen *BMP4* (c.124 G> C; Ala42Pro) en una familia pequeña donde la madre y la hija presentaron ausencia congénita de premolares, se analizaron los efectos de esta mutación en el procesamiento, así como en las propiedades funcionales de *BMP4*, concluyendo que podría desempeñar un papel en la causalidad del fenotipo dental observado. Mu et al realizaron un estudio en dos familias mexicanas, en sus hallazgos clínicos observaron anomalías de numero, morfología y tamaño dental; el análisis de secuencia reveló tres SNP. Entre los seis pacientes afectados en las dos familias, estas mutaciones se asociaron con ausencia de entre 6 a 15 dientes ausentes (41,49).

La asociación con el gen *AXIN2* y la agenesia dental se ha reportado en diversos estudios, Mostowska realizó un estudio de casos y controles relativamente en Polonia y se encontró una asociación entre la agenesia dental y los marcadores en dicho este gen; el análisis de las secuencias reveló seis polimorfismos conocidos: c.148C> T, c.432T> C, c.1365A> G, c.1386C> T, c.1712 + 19G> T y c.2141 + 73G> A. Además, de encontrar tres variantes nuevas (c.956 + 16A> G y c.1060-17C> T) y uno, un polimorfismo sinónimo, se localizó en exón 7 (c.2062C> T. Lammi reportó un estudio realizado en 4 generaciones de una familia finlandesa, describiendo la asociación de la agenesia dental familiar (oligodoncia) y mutaciones en el gen *AXIN2*,

encontrando que en el grupo familiar se heredaron en un patron autosomico dominante. Marvin, evaluó 3 generaciones de una familia en la cual encontro una mutacion en el gen *AXIN2* causante de la oligodoncia, con un patron autosomico dominante(47,48,50).

En un estudio realizado en dos familias mexicanas, se secuenciaron los exones e intrones de *AXIN2*, en donde se observo oligodoncia no sindrónica aislada; se identificaron 7 SNP c.148C>T (P50S), c.1060-17C>T, c.1201+69A>G, c.1365A>G (P455P), c.1386C>T (P462P), c.1907+73T>C, c.1904-18C>G; 6 de los 8 miembros afectados en las familias revelaron múltiples dientes perdidos, todos con perdida de premolares e incisivos, concordando con otros estudios que reportan la ausencia de estos dientes asociados a este gen. Las mutaciones en *AXIN2* se heredan de manera autosómica dominante, esto significa que los hijos, los hermanos y los padres de las personas con una mutación tienen un 50 % de probabilidad (1 de cada 2) de también tener la mutación. Las personas con una mutación en este gen pueden tener uno o más signos de la condición, o no tener ninguno. Tanto hombres como mujeres pueden heredar una mutación familiar en *AXIN2* y transmitírsela a sus hijos(48,51)

JUSTIFICACIÓN

La agenesia dental es una anomalía de número que se observa día a día en la práctica odontológica, diversos estudios la han clasificado según sus características y el número de órganos dentarios faltantes; esta es la anomalía dental más frecuente. En la práctica ortodóntica es de suma importancia identificarla y conocer el impacto que tiene en la oclusión y el crecimiento y desarrollo craneofacial, ya que esto influirá en el diagnóstico y plan de tratamiento.

Estudios en diferentes partes del mundo han tratado de correlacionar la etiología de la agenesia con factores ambientales y genéticos, en los cuales se ha encontrado cierta evidencia de esta posible relación entre mutaciones genéticas que como consecuencia se identifican como causa de agenesia dental. En México son pocos los estudios realizados con la finalidad a determinar las bases y posibles causas genéticas de la agenesia dental, o de la implicación de ciertos genes presentes en la odontogénesis, por lo cual es relevante realizar un estudio que se enfoque en identificar los genes implicados en la aparición de esta anomalía, la literatura menciona entre sus principales causantes a los genes *PAX9*, *MSX1* y *AXIN2*, en nuestro medio, existen estudios realizados en la población con los dos primeros genes, pero no hay reportes de investigaciones realizadas en el gen *AXIN2* y debido a su importancia y relación con la agenesia dental, se considera importante conocer su implicación genética con esta anomalía.

Se ha reportado prevalencia de agenesia dental en la población yucateca, siendo esta común en varios miembros de una misma familia, lo cual puede estar relacionado directamente a la carga genética transmitiéndose a cada generación, por lo cual es importante conocer el origen fenotípico de esta anomalía para el asesoramiento genético, evaluación del paciente y anticipar un manejo correcto cuando exista presencia de la misma.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar la variación del gen *AXIN2* en pacientes yucatecos con agenesia dental no sindrómica.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Establecer el espectro de variación genética en *AXIN2* presentes en pacientes con agenesia dental en la clínica de ortodoncia de la Universidad Autónoma de Yucatán.
2. Identificar si la agenesia dental es dominante o recesiva.
3. Describir las características clínicas con los hallazgos genéticos en los pacientes (genotipo-fenotipo)

MATERIAL Y MÉTODOS

I. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó un estudio de tipo descriptivo, transversal, observacional y retrospectivo.

II. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Pacientes con muestreo a conveniencia no aleatorizado, que acudieron a la clínica de la Especialización en Ortodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán. El diagnóstico de agenesia dental se realizó a través del examen clínico y con el uso de radiografías panorámicas. Se elaboraron árboles genealógicos que incluyeron al menos tres generaciones.

1. UNIVERSO DE ESTUDIO: Pacientes con agenesia dental no sindrómica que acudieron a la clínica de ortodoncia para tratamiento odontológico cuyas muestras de ADN se obtuvieron durante el período de agosto de 2016 a julio de 2018.

2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- a. Individuos con agenesia dental de dientes permanentes que no sean terceros molares y que cuenten con otros miembros de su familia afectados.
- b. Pacientes con radiografía panorámica que demuestre la ausencia del diente considerado congénitamente ausente.

3. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- a. Pacientes con síndromes clínicamente identificables.
- b. Pacientes con labio y/o paladar hendido.

III. METODOLOGÍA

1. EXTRACCIÓN ADN

- a) Obtención de material genético: se realizó un hisopado bucal, utilizando un hisopo estéril *Omniswab* durante 30 seg. en ambos carrillos y en piso lingual, tomando la muestra de saliva y se colocó el hisopo en un tubo eppendorf®.
- b) Extracción de ADN: Se aisló ADN genómico utilizando el kit *Wizard® Genomic DNA Purification de Promega REF A1120*, siguiendo los protocolos descritos por el fabricante.

2. AMPLIFICACIÓN POR REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

- a) Se amplificaron los fragmentos de los exones 2b, 6 y 7 del gen *AXIN2*; en sentido forward y reverse, utilizando secuencia de nucleótidos descritos en la tabla 2.

Tabla 2. Primers y secuencia de los exones del gen *AXIN2*

Primer	Secuencia
AXIN2 exon 2b F	AGCGCTATGTTGGTGACTTG
AXIN2 exon 2b R	CCCCACTCCTCACATATTCG
AXIN2 exon 6F	GTAGGGAGCCGAATGTTGC
AXIN2 exon 6R	TGCCGCCCTCTTAGAACTA
AXIN2 exon 7F	GCCGCATTACAGGCATTTAG
AXIN2 exon 7R	GTGGTCTGCTCAGTCCAACG

- b) Reacción en cadena polimerasa: la mezcla para las reacciones de PCR fueron preparadas de la siguiente manera: master mix 5 µl, primero F 0.5 µl, primer Reverse 0.5 µl, H₂O libre de nucleasas 3 µl, y 1 µl de ADN, teniendo un volumen final de 10 µl.

Las condiciones de PCR fueron 95°C por dos minutos, 97°C por 40 segundos, las temperaturas de alineación para los exones del gen *AXIN2*

fueron: exón 2b 56.6°C-57°C, exón 6 57.5°C-58°C, exón 7 55.6°C-58°C.

- c) Electroforesis por medio de gel de agarosa: Los productos amplificados se observaron por medio de electroforesis con geles de agarosa al 2% utilizando Bromuro de etidio como colorante a 100 voltios, durante 20 min aproximadamente, utilizando un marcador de peso molecular de 100pb como referencia.

3. PURIFICACION DE FRAGMENTOS AMPLIFICADOS

Los fragmentos amplificados se purificaron utilizando kit comercial *CleanSweep™ PCR Purification* de Thermofisher.

4. CUANTIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS AMPLIFICADOS

Los amplicones purificados se cuantificaron con el Fluorómetro *Quantus®* de Promega mediante el sistema *QuantiFluor® One dsDNA*.

5. SECUENCIACIÓN

a) ESTANDARIZACION DE CICLOSECUENCIACION

Se realizó la ciclosecuenciación de los exones propuestos del gen *AXIN2*

b) PURIFICACIÓN DE FRAGMENTOS

Se purificaron las muestras de los fragmentos de los exones propuestos de los genes *AXIN2*

c) ELECTROFORESIS CAPILAR

A través del Analizador Genético ABI PRISM 310 mediante electroforesis capilar se secuenciarán los fragmentos de cada una de las muestras.

6. ANALISIS DE DATOS

Las secuencias obtenidas se procesaron en el software *Sequencing Analysis V.6* de *Applied Biosystem* y se analizaron en los programas MEGA para la obtención de la secuencia única e identificación de las variantes BIOEDIT, las variantes encontradas se localizaron en la base de datos de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> para confirmar si habían sido reportadas previamente.

ASPECTOS ÉTICOS

El artículo 7º del Pacto Internacional de Derechos Civiles y Políticos, aprobado por la Asamblea General de las Naciones Unidas, señala: "Nadie será sometido a torturas o tratos crueles, inhumanos o degradantes. En particular, nadie será sometido sin su libre consentimiento a experimentos médicos o científicos".

Se presentó un documento para consentimiento del paciente sometido al estudio, el cual firmo previamente para garantizar que el sujeto ha expresado voluntariamente su intención de participar en esta investigación. Se siguieron los lineamientos éticos de acuerdo a la Ley General de Salud en investigación para humanos y de acuerdo a la Declaración de Helsinki.

RESULTADOS

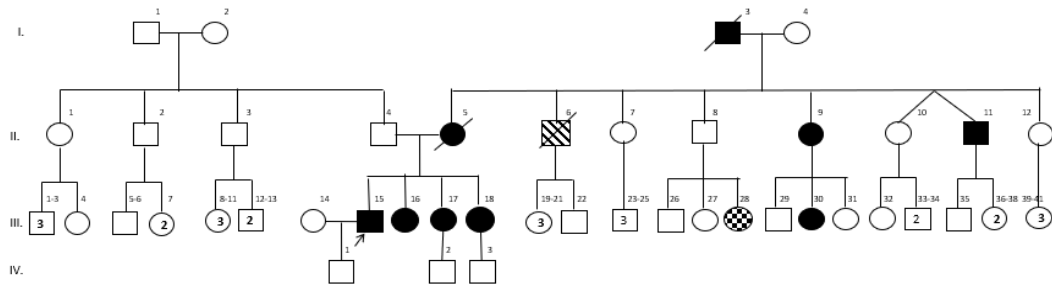
Este estudio se llevo a cabo con 6 pacientes de diferentes edades y sexo, que presentaban agenesia dental no sindromica (tabla 3).

Tabla 3. Pacientes por edad y sexo

Paciente	Edad	Sexo	Total de ausencias dentales
1	33	Masculino	16
2	17	Femenino	1
3	29	Femenino	1
4	29	Femenino	2
5	12	Femenino	1
6	20	Femenino	2

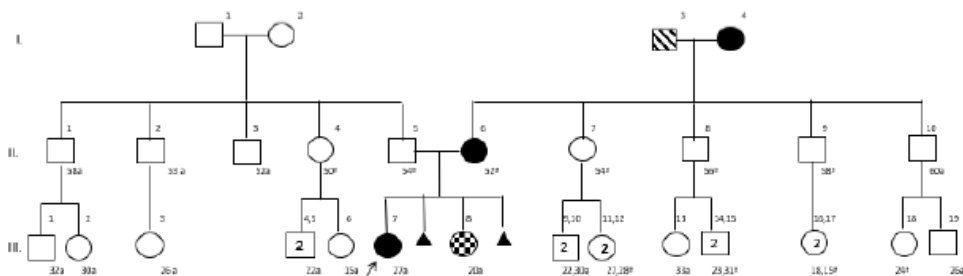
Se realizó la genealogía de las familias de cada paciente con su descripción clínica, los hallazgos de agenesia revisados en las radiografías panorámicas.

FAMILIA 1



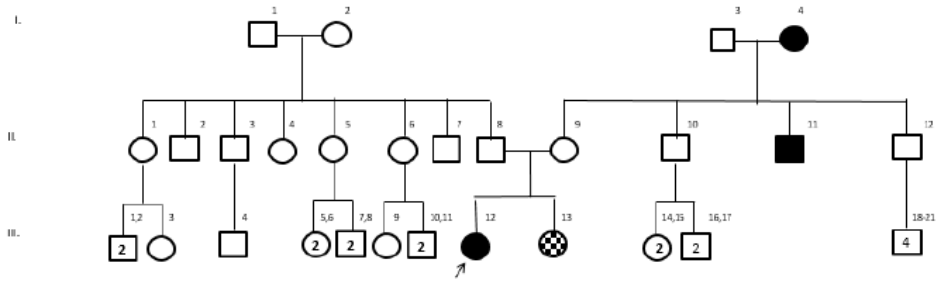
- III.15: Oligodoncia OD.12, 16, 17, 18, 22, 27, 28, 31, 36, 37, 38, 41, 45, 46, 47, 48
- III.16: Oligodoncia OD.12, 16, 17, 18, 22, 24, 27, 28, 31, 37, 38, 41, 47, 48
- III.17: Oligodoncia OD.12, 17, 18, 22, 24, 27, 28, 31, 37, 38, 47, 48
- III.18: Oligodoncia OD. 16, 17, 18, 26, 27, 28, 31, 37, 38, 41, 47, 48; colapso maxilar
- ⊗ III.28: Agenesia y lupus
- III.30: Oligodoncia y microdoncia
- II.5: Fallecida por infarto durante cirugía de fractura de pierna
- II.4 Hipertensión y diabetes
- ⊗ II.6 Agenesia, fallecido por nefropatía crónica
- II.9: Agenesia
- II.11: Anodoncia
- I.3: Agenesia, fallecido por embolia e infarto

FAMILIA 2



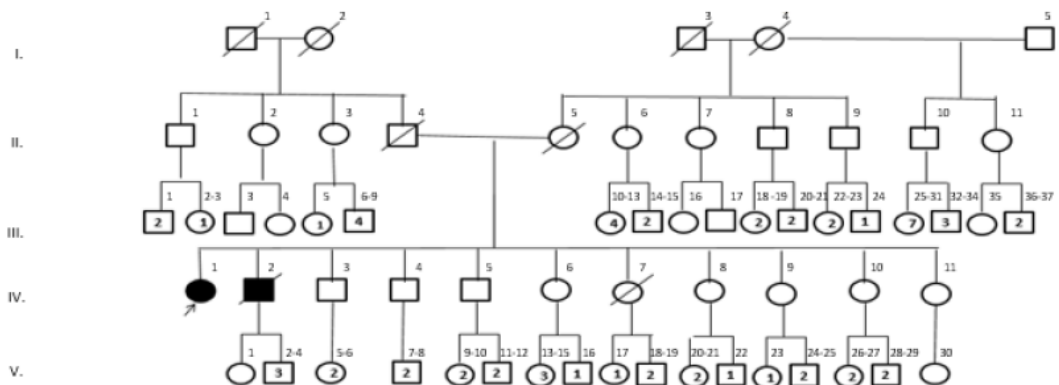
- III.7: agenesia OD 12, microdoncia OD 22, migraña
- ⊗ III.8: Síndrome de Down, agenesia OD 31 y 41, OD 12 y 22 cónicos, epilepsia.
- II.6: Agenesia OD 12 y 36, litiasis renal.
- I.4: Agenesia OD 36, enfermedad tiroidea, osteoporosis
- I.3: Poliglobulia y Parkinson

FAMILIA 3



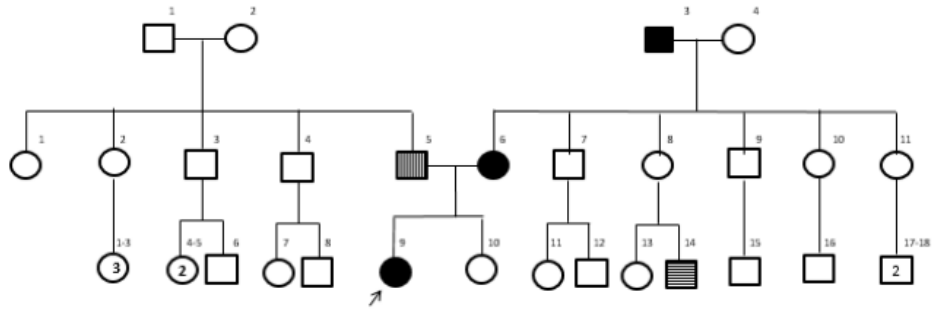
- III.12: Agenesia OD 4.5 y lateral en barril
- III.13: dens in dente OD 12
- I.4: Agenesia
- II.11: Agenesia OD 45

FAMILIA 4



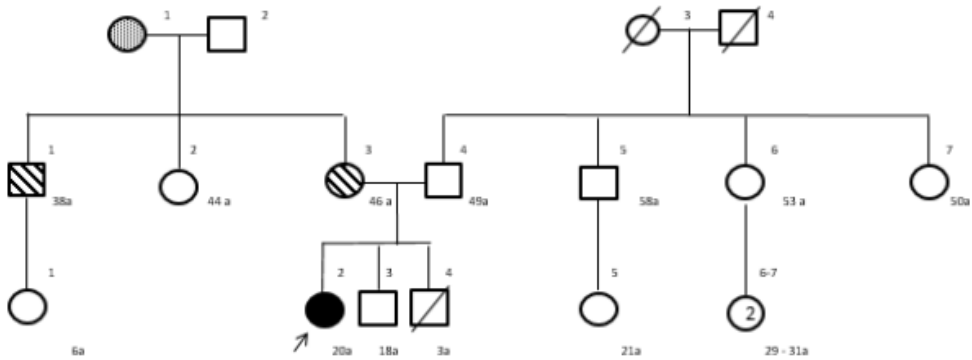
- IV.1: Agenesia OD 3.5 y 4.5
- IV.2: Agenesia molares inferiores

FAMILIA 5



- III.9: Agenesia OD 41
- ▤ III.14: Retenciones y agenesia
- II.6: Agenesia OD 31 y 41
- ▤ II.5: Geminación
- I.3: Agenesia

FAMILIA 6



- III.2: Agenesia OD 15 y 25, retención OD 45
- ☒ III.4: Fallecido por leucemia linfocítica aguda
- ⊗ II.3: Agenesia O.D. 45, microdoncia OD 12 y 22, piedras en riñón
- ▤ II.1: Agenesia de molares inferiores y piedras en riñón
- ⊗ I.1: Agenesia, trombocitopenia e hipertensión
- ☒ I.4: Fallecido por cáncer de próstata
- III.1: Kawasaki

Se realizó el análisis de las secuencias del gen *AXIN2*, se encontraron 2 variantes genéticas en el exón 2b, 2 variantes genéticas en el exón 6, mientras que el exón 7 no se observaron variantes. Se observaron distintos tipos de agenesia dental con diferente número de ausencias, así patrones de herencia tanto autosómico dominante y recesivo (Tabla 4).

Las mutaciones del gen *AXIN2*, están relacionadas con agenesia tanto de dientes anteriores como dientes posteriores, con fenotipos variables, se observan ausencias de molares, premolares, incisivos laterales superiores e incisivos inferiores, pero presencia de incisivos centrales superiores, todos los pacientes participantes de este estudio, tenían presente dichos dientes, y ausencia de los antes mencionados en distinta severidad (42).

Las variantes encontradas en los pacientes participantes de este estudio, han sido reportadas previamente en la base de datos de NCBI, todas con antecedentes de Oligodoncia, el fenotipo y significado clínico se expresan en la tabla 5.

Tabla 4. Pacientes con agenesia dental: variantes genéticas, genotipo y fenotipo

Paciente	Variante	Cambio alelico	Agenesia dental	Clasificación	Tipo de herencia
1	exón 6: rs9915936 rs1133683	g.28952A>G g.28973C>Y(T/C)	12, 16, 17, 18, 22, 27, 28, 31, 36, 37, 38, 41, 45, 46, 47, 48	Oligodoncia	Dominante
2	exón 2: rs2240308	exón 2: g.8150 C>Y(T/C)	12	Hipodoncia	Dominante
3	exón 6: rs9915936 rs1133683 exón 2: rs2240307	exón 6: g.28952 A>G g.28973 C>Y(T/C) exón 2: exon 2: g.8434 T>C	45	Hipodoncia	Recesivo
4	exón 6: rs9915936 rs1133683	exon 6: g.28952A>G g.28973C>T	35 y 45	Hipodoncia	Recesivo
5	exón 2: rs2240308	g.8150 C>T	41	Hipodoncia	Dominante
6	exón 6: rs9915936	g.28952A>G	15 y 25	Hipodoncia	Dominante

Tabla 5. Variantes encontradas, fenotipo y significado clínico.

Variante	Nucleótido	Fenotipos/condición reportado	Significado clínico	Referencia
rs9915936	g.28952A>G	Síndrome de oligodoncia-cáncer colorrectal, síndrome predisponente al cáncer hereditario.	de Benigna	National Center for Biotechnology Information. ClinVar; [VCV000259509.7], https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000259509.7 (accessed Feb. 9, 2021).
rs1133683	g.28973C>T	Síndrome de oligodoncia-cáncer colorrectal, síndrome predisponente al cáncer hereditario.	de Benigna	National Center for Biotechnology Information. ClinVar; [VCV000279696.2], https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000279696.2 (accessed Feb. 9, 2021).
rs2240308	g.8150C>T	Síndrome de oligodoncia-cáncer colorrectal, síndrome predisponente al cáncer hereditario.	de Benigna	National Center for Biotechnology Information. ClinVar; [VCV000259511.8], https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000259511.8 (accessed June 16, 2021).
rs2240307	g.8470T>C	Síndrome de oligodoncia-cáncer colorrectal, síndrome predisponente al cáncer hereditario.	de Benigna	National Center for Biotechnology Information. ClinVar; [VCV000808313.5], https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000808313.5 (accessed June 16, 2021).

Se identificó en el exón 2 del gen *AXIN2* la variante con inserción heterocigoto g.8150C>Y(T/C) (Fig. 4a), y la variante de inserción heterocigoto g.8434T>Y(T/C) (Fig. 4b).

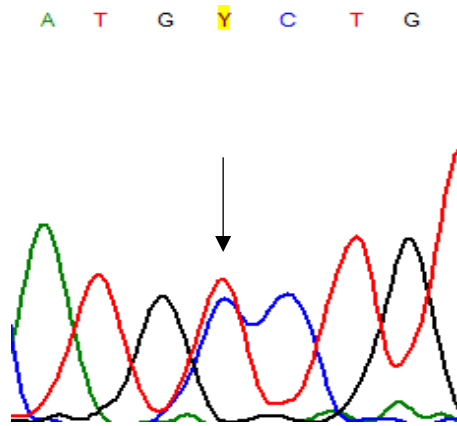


Fig. 4a. Variante de inserción heterocigoto g.8150C>Y(T/C)

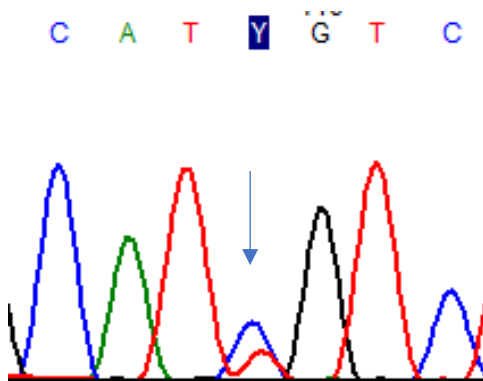


Fig. 4b. Variante de inserción heterocigoto g.8434T>Y(T/C)

Se identificó en el exón 6 del gen *AXIN2* la variante g.28952A>G (Fig. 5a) y la variante de inserción heterocigoto g.28973C>Y(T/C) (Fig. 5b).

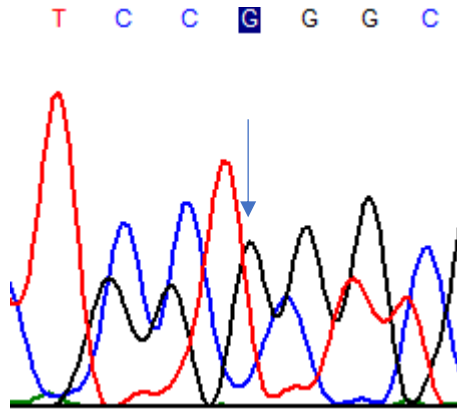


Fig. 5a. Variante g.28952 A>G

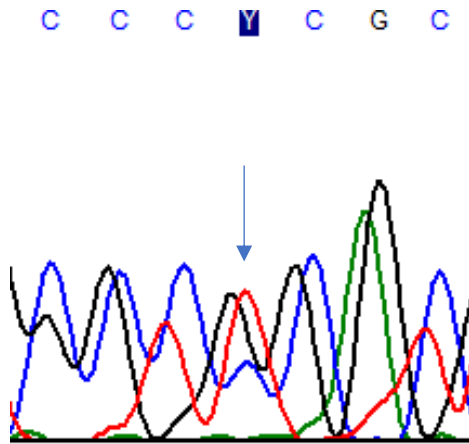


Fig. 5b. Variante de inserción heterocigoto g.28973C>Y(T/C)

DISCUSIÓN

El complejo proceso de la odontogénesis está regulado por diferentes mecanismos genéticos en los cuales un gran número de proteínas, genes y vías de señalización intervienen, para dar paso a las etapas del desarrollo dental. Uno de estos genes involucrados en este proceso, es el gen *AXIN2* el cual fue objeto de estudio de la presente investigación.

Las mutaciones del gen *AXIN2*, se han asociado con la agenesia dental y ha sido reportada en diversos estudios; Lammi y cols encontraron en 11 pacientes con oligodoncia de una familia multigeneracional, mutaciones en dicho gen, mostrando una segregación completa con el fenotipo de oligodoncia, hallazgo similar a lo observado en una familia participante de este estudio, en la cual se observó oligodoncia de tipo autosómico dominante, concordando con los resultados obtenidos por Bergendal que en su estudio reportó a una familia con un miembro que presentó ausencia de 8 dientes, y otro miembro con nueve ausencias (47,52).

La literatura reporta que las variantes del gen *AXIN2* están asociadas a ausencia de molares, premolares, incisivos inferiores e incisivos laterales superiores permanentes; concordante a lo que se observó en los participantes de este estudio. Bergendal et al encontró que dos de cada tres personas tenían ausencia de tres incisivos cada uno; un incisivo lateral maxilar y dos centrales mandibulares (51,52).

Callahan y colaboradores reportaron la presencia de la variante rs2240308, en casos de pacientes brasileños con al menos un incisivo faltante; otro estudio realizado por Mostowska, analizó secuencia de exones y límites exón-intrón de *AXIN2* realizado en pacientes con agenesia dental selectiva reveló seis polimorfismos conocidos de este gen: en el exón 2 las variantes rs2240308 c.148C>T, rs2240307 c.432T>C, similar a lo observado en el presente estudio donde 3 pacientes presentaron la variante rs2240308, dos de inserción heterocigoto g.8150 C>Y(T/C), y un paciente con la variante g.8434 T>C correspondiente a rs2240307, misma que fue reportada con

presencia en 7 familias turcas (Dinckan). Para el exón 6 reportó las variantes rs9915936 c.1365A>G, rs1133683 c.1386C>T y para el exón 7 c.2062C>T, concordando con los pacientes proposito de esta investigación en los que se observaron las variantes g.28973 C>T, g.28952 A>G y g.28973 C>Y(T/C) en el exon 6; en el exon 7 contrario al reporte de Mostowska no se encontró alguna variante. Martha et al reportaron que los cambios en los alelos de esta variante, es un factor de riesgo en agenesis dental de dientes frontales (laterales), concordante a lo observado en este estudio en un paciente con agenesis de un lateral (30,50,53,54).

La literatura reporta que las variantes encontradas en el gen *AXIN2* tienen significancia clínica de agenesis dental y también de cancer colorectal; respecto a esta asociación Lindor y cols., analizó dos individuos que presentaban fenotipo de cáncer de colon y agenesis dental (hipodoncia), observó una mutación con cambio de sentido (missense, P50S rs2240308) en uno de los individuos, a pesar de ello, reportó posiblemente una poca probabilidad de relación entre la variante genética rs2240308 y el fenotipo estudiado; las familias estudiadas en esta investigación no refirieron algún antecedente de cáncer colorectal en ningún miembro, ni en generaciones pasadas, siendo la agenesis dental el único fenotipo hereditario (55).

En un estudio realizado en familias mexicanas (Mu et al.), se secuenciaron varios fragmentos del gen *AXIN2*; se observaron las siguientes variantes: exon 1 c.148C>T, intron 3 c.1060-17C>T, intron 4 c.1201+69A>G, exon 5 c.1365A>G y c.1386C>T, intron 6 c.1907+73T>C y c.1904-18C>G. Estos hallazgos no concuerdan con las variantes encontradas en el presente estudio, debido a que las regiones a analizar fueron distintas; sin embargo tanto las variantes encontradas por Mu et al, y las variantes observadas en este estudio, tienen similitud en el fenotipo: síndrome de oligodoncia-cáncer colorrectal, síndrome predisponente al cáncer hereditario, y significancia clínica de carácter benigno (56).

Se reportó una nueva mutación sin sentido en *AXIN2*. La secuencia de nucleótidos mostró una transición heterocigótica de T a G en el nucleótido 314 (c.314T> G) de la secuencia codificante en el exón 2, en un estudio realizado en una

familia china, la mutación solo estuvo presente en el sujeto de estudio sin antecedentes familiares de oligodoncia, esta mutación fue reportada con significancia clínica patogénica; no encontramos la presencia de esta mutación en los pacientes participantes del presente estudio, lo cual podría indicar, que la mutación nueva solo se observa en la población china; otra observación es que las mutaciones reportadas en este estudio tienen significancia clínica benigna, contrario a la mutación china (57).

CONCLUSIONES

Se encontraron 4 variantes genéticas: rs9915936, rs1133683, rs2240308 y rs2240307 en los exones estudiados del gen *AXIN2* en pacientes yucatecos, las cuales ya han sido reportadas previamente en la base de datos de NBCI.

Los datos observados en diferentes estudios y los obtenidos en esta investigación, concuerdan que distintas variantes en el gen *AXIN2*, están asociadas directamente con agenesia dental no sindrómica, tanto en su fenotipo de hipodoncia y oligodoncia, y pueden expresarse en varios miembros de una misma familia y de diferentes generaciones, como herencia autosómica dominante o recesiva.

Las variantes encontradas en los pacientes participantes de este estudio, tiene relación con oligodoncia y síndrome predisponente al cáncer hereditario, pero no hay antecedentes de cáncer en las genealogías de dichos pacientes, por lo cual no se puede concluir con una relación directa entre ellas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Azzaldeen A, Watted N, Mai A, Borbély P, Abu-Hussein M. Tooth Agenesis; Aetiological Factors. *J Dent Med Sci*. 2017;16(01):75–85.
2. Nieminen P. Genetic Basis of Tooth Agenesis. *J Exp Zool*. 2009;342:320–42.
3. Lagos D, Martinez A, Palacios J, Hernandez J, Jaramillo A. Prevalencia de anomalías dentarias de número en pacientes infantiles y adolescentes de las clínicas odontológicas de la Universidad del Valle desde el 2005 hasta el 2012. *Rev Nac Odontol*. 2015;11(20):33–9.
4. Ogawa T, Kapadia H, Feng JQ, Raghov R, Peters H, D'Souza RN. Functional consequences of interactions between Pax9 and Msx1 genes in normal and abnormal tooth development. *J Biol Chem*. 2006;281(27):18363–9.
5. Abu-Hussein M, Watted N, Yehia M, Proff P, Iraqi F. Clinical Genetic Basis of Tooth Agenesis. *J Dent Med Sci*. 2015;14(12):2279–861.
6. M.V. K. Molecular mechanisms of odontogenesis. *Stomatologiia (Mosk)*. 2016;95(2):79–83.
7. Cobourne MT, Sharpe PT. Diseases of the tooth: The genetic and molecular basis of inherited anomalies affecting the dentition. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*. 2013;2(2):183–212.
8. Ritwik P, Patterson KK. Diagnosis of tooth agenesis in childhood and risk for neoplasms in adulthood. *Ochsner J*. 2018;18(4):345–50.
9. Bonczek O, Bielik P, Krejčí P, Zeman T, Izakovičová-Hollá L, Šoukalová J, et al. Next generation sequencing reveals a novel nonsense mutation in MSX1 gene related to oligodontia. *PLoS One*. 2018;13(9):1–13.
10. Yu M, Wong S-W, Han D, Cai T. Genetic analysis: Wnt and other pathways in nonsyndromic tooth agenesis. *Oral Dis*. 2019;25:646–51.
11. Schwabe GC, Opitz C, Tinschert S, Mundlos S. Molecular Mechanisms of Tooth Development and Malformations. *Oral Biosci Med*. 2004;1(2):77–91.

12. Revuelta R. La cavidad bucal del nacimiento a la infancia: Desarrollo, patologías y cuidados. *Perinatología y Reprod Humana*. 2009;23(2):82–9.
13. Kolenc Fusé F. Agenesias dentarias: en busca de las alteraciones genéticas responsables de la falta de desarrollo. *Med y Patol oral*. 2004;9(10):385–95.
14. Chhabra N, Goswami M, Chhabra A. Genetic basis of dental agenesis - Molecular genetics patterning clinical dentistry. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2014;19(2):112–9.
15. Thesleff I. Epithelial-mesenchymal signalling regulating tooth morphogenesis. *J Cell Sci*. 2003;116(9):1647–8.
16. Haddaji Mastouri M, De Coster P, Zaghabani A, Jammali F, Raouahi N, Ben Salem A, et al. Genetic study of non-syndromic tooth agenesis through the screening of paired box 9, msh homeobox 1, axin 2, and Wnt family member 10A genes: a case-series. *Eur J Oral Sci*. 2018;126(1):24–32.
17. Shahid M, S J, Alqhtani NR, AlSaidan M, Aldossari K, Abuderman AA, et al. Single Nucleotide Polymorphism (SNPs) in the Genes Associated with Tooth Agenesis. *Eur J Exp Biol*. 2017;07(03):1–13.
18. Boeira Junior BR, Echeverrigaray S. Dentistry and molecular biology: A promising field for tooth agenesis management. *Tohoku J Exp Med*. 2012;226(4):243–9.
19. Zhang W, Qu HC, Zhang Y. PAX-9 polymorphism may be a risk factor for hypodontia: a meta-analysis. *Genet Mol Res*. 2014;13(4):9997–10006.
20. H K, G M, D’Souza R. Genes affecting tooth morphogenesis. *Orthod Craniofacial Res*. 2007;10:105–13.
21. Ortiz MA MC. Actividad de los genes tipo msx-1 durante el desarrollo craneofacial. *Rev Estomatol*. 2007;15(1):34–8.
22. Doshi R, Kulkarni U, Shinde S, Sabane A. Role of Genes in Odontogenesis. *Br J Med Med Res*. 2016;14(6):1–9.
23. De Coster PJ, Marks LA, Martens LC, Huysseune A. Dental agenesis: Genetic and clinical perspectives. *J Oral Pathol Med*. 2009;38(1):1–17.

24. Chen D, Zhao M, Mundy G. Bone Morphogenetic Proteins. *Growth Factors*. 2004;22(4):1–7.
25. Yu M, Wang H, Fan Z, Xie C, Liu H, Liu Y, et al. BMP4 mutations in tooth agenesis and low bone mass. *Arch Oral Biol*. 2019;103:40–6.
26. Bakrania P, Efthymiou M, Klein JC, Salt A, Bunyan DJ, Wyatt A, et al. Mutations in BMP4 Cause Eye, Brain, and Digit Developmental Anomalies: Overlap between the BMP4 and Hedgehog Signaling Pathways. *Am J Hum Genet*. 2008;82(2):304–19.
27. Shore EM, Xu MQ, Shah PB, Janoff HB, Hahn G V., Deardorff MA, et al. The human bone morphogenetic protein 4 (BMP-4) gene: Molecular structure and transcriptional regulation. *Calcif Tissue Int*. 1998;63(3):221–9.
28. Cobourne MT. The genetic control of early odontogenesis. *Br J Orthod*. 1999;26(1):21–8.
29. Dong X, Seelan RS, Qian C, Mai M, Liu W. Genomic structure, chromosome mapping and expression analysis of the human AXIN2 gene. *Cytogenet Cell Genet*. 2001;93(1–2):26–8.
30. Callahan N, Modesto A, Meira R, Seymen F, Patir A VA. Axis Inhibition Protein 2 (AXIN2) Polymorphisms and Tooth Agensis. *Arch Oral Biol*. 2009;54(1):45–9.
31. Rafighdoost H, Hashemi M, Danesh H, Bizhani F, Bahari G, Taheri M. Association of single nucleotide polymorphisms in AXIN2, BMP4, and IRF6 with non-syndromic cleft lip with or without cleft palate in a sample of the southeast Iranian population. *J Appl Oral Sci*. 2017;25(6):650–6.
32. Grejtakova D, Gabrikova-Dojcakova D, Boronova I, Kyjovska L, Hubcejova J, Fecenkova M, et al. WNT10A variants in relation to nonsyndromic hypodontia in eastern Slovak population. *J Genet*. 2018;97(5):1169–77.
33. Yordanova G. Tooth Agensis - the Problem and Its Solving in Our Practice, Prevalence and Relation With Other Deformities. *J IMAB*. 2015;21(3):859–63.
34. Martinez Ortiz R, Tavizón García J. Oligodoncia tipo I . Revisión

- bibliográfica y reporte de un caso and case report. *Context Odontol.* 2018;90–7.
35. Vastardis H. The genetics of human tooth agenesis: new discoveries for understanding dental anomalies. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2000;117(6):650–6.
 36. Salvi A, Giacomuzzi E, Bardellini E, Amadori F, Ferrari L, De Petro G, et al. Mutation analysis by direct and whole exome sequencing in familial and sporadic tooth agenesis. *Int J Mol Med.* 2016;38(5):1338–48.
 37. Tangade P, Batra M. Non Syndromic Oligodontia : Case Report. *Ethiop J Heal Sci.* 2012;22:219–21.
 38. Souza-Silva BN, Vieira W de A, Bernardino Í de M, Batista MJ, Bittencourt MAV, Paranhos LR. Non-syndromic tooth agenesis patterns and their association with other dental anomalies: A retrospective study. *Arch Oral Biol.* 2018;96:26–32.
 39. de Andrade RS, Martelli AJ TA and M-J, H. Association between Dental Agenesis and Cancer-A Systematic Review of Literature. *J Dent Sci.* 2019;4(3):1–9.
 40. Zhao K, Lian M, Zou D, Huang W, Zhou W, Shen Y, et al. Novel mutations identified in patients with tooth agenesis by whole-exome sequencing. *Oral Dis.* 2019;25(2):523–34.
 41. Mu Y, Xu Z, Contreras CI, McDaniel JS, Donly KJ, Chen S. Phenotype characterization and sequence analysis of BMP2 and BMP4 variants in two Mexican families with oligodontia. *Genet Mol Res.* 2012;11(4):4110–20.
 42. Beard C, Purvis R, Winship IM, Macrae FA, Buchanan DD. Phenotypic confirmation of oligodontia, colorectal polyposis and cancer in a family carrying an exon 7 nonsense variant in the AXIN2 gene. *Fam Cancer.* 2019;18(3):311–5.
 43. Arte S, Parmanen S, Pirinen S, Alaluusua S, Nieminen P. Candidate Gene Analysis of Tooth Agenesis Identifies Novel Mutations in Six Genes and Suggests Significant Role for WNT and EDA Signaling and Allele

- Combinations. *PLoS One*. 2013;8(8):1–12.
44. Antunes LDS, Küchler EC, Tannure PN, Lotsch PF, Costa MDC, Gouvêa CVD, et al. TGFB3 and BMP4 polymorphism are associated with isolated tooth agenesis. *Acta Odontol Scand*. 2012;70(3):202–6.
 45. Klein OD, Oberoi S, Huysseune A, Hovorakova M, Peterka M, Peterkova R. Developmental disorders of the dentition: An update. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet*. 2013;163(4):318–32.
 46. Dreesen K, Swinnen S, Devriendt K, Carels C. Tooth agenesis patterns and phenotype variation in a cohort of Belgian patients with hypodontia and oligodontia clustered in 79 families with their pedigrees. *Eur J Orthod*. 2014;36(1):99–106.
 47. Lammi L, Arte S, Somer M, Järvinen H, Lahermo P, Thesleff I, et al. Mutations in AXIN2 Cause Familial Tooth Agenesis and Predispose to Colorectal Cancer. *Am J Hum Genet*. 2004;74(5):1043–50.
 48. Marvin ML, Mazzoni SM, Herron CM, Edwards S, Gruber SB, Petty EM. AXIN2-associated autosomal dominant ectodermal dysplasia and neoplastic syndrome. *Am J Med Genet Part A*. 2011;155(4):898–902.
 49. Huang Y, Lu Y, Mues G, Wang S, Bonds J, D’Souza R. Functional evaluation of a novel tooth agenesis-associated bone morphogenetic protein 4 prodomain mutation. *Eur J Oral Sci*. 2013;121(4):313–8.
 50. Mostowska A, Biedziak B, Jagodzinski PP. Axis inhibition protein 2 (AXIN2) polymorphisms may be a risk factor for selective tooth agenesis. *J Hum Genet*. 2006;51(3):262–6.
 51. Mu YD, Xu Z, Contreras CI, McDaniel JS, Donly KJ, Chen S. Mutational analysis of AXIN2, MSX1, and PAX9 in two Mexican oligodontia families. *Genet Mol Res*. 2013;12(4):4446–58.
 52. Bergendal B, Klar J, Stecksén-Blicks C, Norderyd J, Dahl N. Isolated oligodontia associated with mutations in EDARADD, AXIN2, MSX1, and PAX9 genes. *Am J Med Genet Part A*. 2011;155(7):1616–22.
 53. Mártha K, Kerekes Máthé B, Moldovan VG, Bănescu C. Study of rs12532,

rs8670 Polymorphism of Msh Homeobox 1 (MSX1), rs61754301, rs4904155 Polymorphism of Paired Box Gene 9 (PAX9), and rs2240308 Polymorphism of Axis Inhibitor Protein 2 (AXIN2) Genes in Nonsyndromic Hypodontia. *Biomed Res Int.* 2019;2019.

54. Dinckan N, Uyguner ZO, Kayserili H, Letra A. Association of AXIN2 gene polymorphisms with nonsyndromic oligodontia in Turkish families. *Dent* 3000. 2016;4(1):34–42.
55. Lindor NM, Win AK, Gallinger S, Daftary D, Thibodeau SN, Silva R, et al. Colorectal cancer and self-reported tooth agenesis. *Hered Cancer Clin Pract.* 2014;12(1):1–5.
56. Mu YD, Xu Z, Contreras CI, McDaniel JS, Donly KJ, Chen S. Mutational analysis of AXIN2, MSX1, and PAX9 in two Mexican oligodontia families. *Genet Mol Res.* 2013;12(4):4446–58.
57. Liu H, Ding T, Zhan Y, Feng H. A novel AXIN2 missense mutation is associated with non-syndromic oligodontia. *PLoS One.* 2015;10(9):18–9.