

Agencias dentarias: en busca de las alteraciones genéticas responsables de la falta de desarrollo

Francisco Javier Kolenc Fusé⁽¹⁾

(1) Asistente de la Cátedra de Bioquímica y Biofísica. Facultad de Odontología. Universidad de la República, Montevideo, Uruguay
Asistente de la Cátedra de Fisiología General y Buco-Cérvico-Facial. Facultad de Odontología. Universidad Católica del Uruguay

Correspondencia:

Grecia 3678. CP 12800. Montevideo. Uruguay.

Teléfono: +598-2-3118163

E-mail: kolenc@adinet.com.uy

Recibido: 1-06-2003 Aceptado: 22-10-2003

Indexed in:

-Index Medicus / MEDLINE / PubMed

-EMBASE, Excerpta Medica

-Índice Médico Español

-IBECs

Kolenc-Fusé FJ. Agencias dentarias: en busca de las alteraciones genéticas responsables de la falta de desarrollo. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2004;9:385-95.
© Medicina Oral S. L. C.I.F. B 96689336 - ISSN 1698-4447

RESUMEN

En conjunto, las agencias dentarias son la malformación craneofacial más frecuente. Su prevalencia alcanza el 20% en la dentición permanente, y su expresión puede variar desde la ausencia de una sola pieza, generalmente un tercer molar, hasta la de toda la dentición. En la pasada década, los estudios de ligamiento genético y biología molecular han permitido identificar algunas mutaciones responsables de distintos patrones de agencias dentarias sindrómicas y no sindrómicas. Dichas mutaciones se encuentran en genes clave para el desarrollo de la dentición, como los que codifican a los factores de transcripción MSX1, PAX9 y PITX2, la proteína de señalización EDA y su receptor EDAR. Los estudios que están en curso podrían derivar en nuevas clasificaciones que relacionen los fenotipos observados con el defecto genético subyacente. De esta manera, se posibilitaría un diagnóstico previo a la aparición del defecto somático, que técnicas como la terapia génica o la ingeniería de tejidos y órganos, podrían llegar a solucionar.

Palabras clave: Agencias dentarias, hipodoncia, oligodoncia, PAX9, MSX1.

INTRODUCCION

La dentición de los mamíferos es un sistema segmentado, constituido por una serie de elementos homólogos, de estructura similar pero diferentes en forma y tamaño (1). Es análoga a la columna vertebral, en la que una estructura modular se repite con modificaciones para constituir un sistema complejo. En este tipo de sistema, alguna de las unidades puede estar ausente por falta de desarrollo, y nos encontramos frente a una agencia. El desarrollo de las piezas dentarias es el resultado de un complejo proceso, en el cual interacciones recíprocas y secuenciales entre células epiteliales y mesenquimáticas (2) regulan actividades celulares –como la proliferación, condensación, adhesión, migración, diferenciación y secreción– que dan lugar a la formación

de un órgano dentario funcional. A grandes rasgos, se distinguen tres etapas en la organogénesis: a) la iniciación, en la cual un conjunto de células reciben e interpretan información posicional para iniciar la formación de un órgano en el lugar y momento correctos; b) la morfogénesis, durante la cual las células construyen el rudimento de un órgano, y c) la diferenciación, en la que las células forman las estructuras específicas de ese órgano (3). El avance realizado en los últimos años en el conocimiento de los aspectos moleculares de la odontogénesis (2-5) permite afirmar que el desarrollo de la dentición está bajo un estricto control genético, que determina las posiciones, número y formas de las diferentes piezas dentarias (6). La mayor parte de los estudios se han realizado con ratones, que son el principal modelo utilizado por los biólogos para investigar el desarrollo en los mamíferos. Los escasos conocimientos directos de las bases moleculares de la odontogénesis humana derivan del estudio de la patología. Se han identificado más de doscientos genes que participan en la odontogénesis (7). Las proteínas codificadas por éstos pueden actuar de muchas maneras, siendo algunas de las más importantes para el desarrollo los factores de transcripción, las moléculas de señalización, los receptores para éstas y las moléculas de la matriz extracelular. Las alteraciones en cualquiera de estas proteínas podrían producir, consecuentemente, alteraciones en la odontogénesis. Cuanto antes cumplen estas moléculas su función en la organogénesis, más grave puede ser la malformación que produce su alteración. Una alteración en una proteína necesaria en las etapas de iniciación o morfogénesis temprana puede producir una agencia. Muchas proteínas tienen funciones diferentes, tanto en las distintas etapas de la organogénesis como en la formación de distintas piezas dentarias o en el desarrollo de las denticiones primaria y permanente. Así, se podría explicar la asociación de varias anomalías dentarias como las agencias con retrasos en la erupción y alteraciones en el tamaño, la forma y posición de las otras piezas dentarias (6, 8-11). La más común de las anomalías del desarrollo dentario es la agencia de al menos una pieza (12). La ausencia de hasta cinco

piezas se denomina hipodoncia; la de seis o más piezas, oligodoncia (13); y la falta de desarrollo de toda la dentición, anodoncia. La prevalencia de las agencias en la dentición permanente varía entre 1,6% y 9,6%, según la población estudiada, llegando a 20% si se incluyen los terceros molares (12). En la dentición temporaria la prevalencia es menor –se ha calculado entre 0,5% y 0,9%– (12). Las piezas que se encuentran ausentes con mayor frecuencia son los terceros molares, seguidos por los incisivos laterales superiores o segundos premolares inferiores (12).

Las agencias dentarias pueden presentarse aisladas –como la única alteración fenotípica de un individuo–, o ser parte de un síndrome –al estar asociadas con otras alteraciones–. Las agencias no sindrómicas pueden ser esporádicas o familiares, y poseen diversas formas de herencia mendeliana: autosómica dominante, autosómica recesiva, y ligada al cromosoma X (12). La penetrancia se ha considerado tradicionalmente como incompleta pero elevada. Si bien –como se verá al analizar los casos particulares–, para cada defecto genético se puede definir un fenotipo característico, la expresividad de las distintas formas es típicamente muy variable, con un amplio rango de piezas ausentes. Algunos autores consideran las alteraciones en la forma –por ejemplo, la reducción en el tamaño mesiodistal o los dientes con forma de grano de arroz– como parte de la expresión variable del gen afectado. Como causa de esta variabilidad, se ha postulado el efecto de genes moduladores (14) o de factores epigenéticos. Debe tenerse presente que estas moléculas, en general, tienen su actividad regulada por la interacción con otras proteínas, que pueden ser tejido-específicas, y de las cuales se pueden encontrar distintas variantes alélicas normales, las que, al interactuar, pueden producir los diferentes fenotipos. Muchos de los genes que participan en el desarrollo dentario también tienen importantes funciones en el desarrollo de otros órganos; esto explica la presencia de agencias dentarias en por lo menos 45 síndromes (15), siendo los más comunes las displasias ectodérmicas.

AGENCIAS DENTARIAS NO SINDRÓMICAS

Oligodoncia por ausencia de molares. MIM 604625.

Esta forma de oligodoncia autosómica dominante se caracteriza por la ausencia de la mayoría de los molares permanentes y puede incluir eventualmente a otras piezas como segundos premolares e incisivos centrales inferiores (16-19). El fenotipo de los casos descritos se resume en las figuras 1 y 2. En las formas más graves pueden faltar molares en la dentición primaria (17, 19). Los dientes presentes pueden presentar reducción en el tamaño mesiodistal o ser incisivos con forma de grano de arroz. Se han identificado varias mutaciones (Tabla 1) en el gen *PAX9*, en 14q12-q13, en las personas afectadas por esta forma de oligodoncia. Las mutaciones implicarían pérdida de función y producirían el fenotipo por haploinsuficiencia (17, 19). El fenotipo más grave descrito hasta el momento se debe a la delección heterocigota del locus de *PAX9* (19); lo que confirmaría el mecanismo de haploinsuficiencia y podría indicar que en las otras mutaciones –de sentido equivocado o con pérdida

de sentido– las proteínas podrían retener parte de su actividad biológica.

PAX9 pertenece a una familia de factores de transcripción (20) que en los mamíferos tiene nueve miembros, caracterizada por poseer un dominio par (“paired domain”) de unión al ADN, y en la mayoría de los casos –excepto *PAX9*– un homeodominio adicional. Son reguladores importantes de la organogénesis, pueden actuar como desencadenantes de la diferenciación celular, o como mantenedores de la pluripotencia de las poblaciones de células madre durante el desarrollo. Los estudios en ratones han revelado las funciones de *Pax9* en el desarrollo (21). *Pax9* se expresa ampliamente en el mesénquima derivado de la cresta neural, involucrado en el desarrollo de las estructuras craneofaciales, incluidas las piezas dentarias. Los ratones *Pax9* *-/-* presentan fisura del paladar secundario junto a otras alteraciones del desarrollo esquelético, carecen de timo, paratiroides y de todos los dientes. El desarrollo de los gérmenes dentarios se detiene en el estadio de brote, en el cual *Pax9* es necesario para la expresión de *Bmp4*, *Msx1* y *Lef1* por el mesénquima; por lo que su función sería fundamental para establecer la capacidad inductiva de dicho tejido (21). Sin embargo, los ratones *Pax9* *+/-* son normales. En conjunto, estos datos parecen indicar que *PAX9* posee una función dependiente de la concentración en los humanos, y que, de alguna forma, es más importante en el desarrollo de las piezas dentarias más distales –principalmente de aquellas derivadas de la proliferación de la lámina dentaria que da origen a los molares permanentes–. Al tener los ratones una sola dentición, sería necesario realizar estudios en primates para aclarar la expresión y función de este gen en el desarrollo de una dentición bifiodonte.

Hipodoncia con ausencia de segundos premolares y terceros molares. MIM 106600.

Los trabajos de Vastardis (22) fructificaron en 1996 con la identificación de la causa genética para este tipo de hipodoncia hereditaria no sindrómica de herencia autosómica dominante. Se caracteriza por la ausencia de segundos premolares y terceros molares, aunque también pueden estar ausentes otras piezas. En una familia holandesa, tres de los 11 miembros afectados y uno de los no afectados presentaban, además, fisura palatina (23). En otra familia (24) los dientes presentes eran de menor tamaño, los segundos molares superiores carecían de la cúspide distolingual y los primeros molares inferiores carecían de la cúspide distovestibular. El fenotipo de los casos descritos se resume en las figuras 3 y 4. Las mutaciones responsables (Tabla 2) se encontraron en el gen *MSX1*, en 4p16.1. La expresión de este gen se observa en el mesénquima odontogénico desde muy temprano (7). Los ratones *Msx1* *-/-* presentan fisura del paladar secundario, ausencia de todos los dientes –cuyo desarrollo se detiene en estado de brote– y defectos en el cráneo, mandíbula y oído medio (25). Los genes *MSX* codifican factores de transcripción con homeodominio que participan en las distintas etapas del desarrollo –en el diseño, morfogénesis e histogénesis–, y funcionan como represores de la transcripción (25). Se expresan en células indiferenciadas multipotenciales que están proliferando o muriendo, confieren información posicional y regulan la señalización epitelio-mesénquima en el desarrollo craneofacial

Mutación	Efecto
InsG219, exón 2 (16).	Desplazamiento del marco de lectura a partir del residuo 73 y terminación prematura en el residuo 316.
A→T nt 340, exón 2 (17).	Mutación con pérdida de sentido, Lys114stop, proteína truncada que carece de la última alfa hélice de la caja pareada y de toda la región C terminal.
InsC793, exón 4 (18).	Desplazamiento del marco de lectura a partir del residuo 264 y terminación prematura en residuo 315. Cambia el sentido de 51 residuos y remueve los 25 residuos N terminales. No altera la caja pareada.
Deleción en 14q de 44 - 100 kb, abarcando el locus de <i>PAX9</i> . Heterocigota. (13).	Haploinsuficiencia por pérdida de uno de los alelos del gen.
T→C nt 62, exón 2 (19).	Leu21Pro, mutación de sentido equivocado en el dominio pareado.
A→G nt 271, exón 2 (19).	Lys91Glu, mutación de sentido equivocado en el dominio pareado.
Inserción de 288-bp en el exón 2 (19).	Produce un desplazamiento del marco de lectura a partir del residuo 58, y terminación prematura en el residuo 177.

Tabla 1. Mutaciones en *PAX9* responsables de agencias dentarias. Referencias entre paréntesis.

(25). Se ha demostrado que *MSX1* inhibe la diferenciación celular al mantener elevados los niveles de la ciclina D1 y la actividad de Cdk4, necesarios para evitar la salida del ciclo celular y mantener a las células con capacidad de responder a los factores proliferativos (26). Las mutaciones con pérdida de función permitirían a las células diferenciarse tempranamente y dejar de proliferar, con la consiguiente falla en la morfogénesis (26). La mutación identificada por Vastardis *et al.* (22) implica una sustitución de un residuo clave en el homeodominio y produce una proteína menos estable, con poca o nula capacidad de unirse al ADN y que pierde su función biológica (27); por lo cual el mecanismo de patogenidad sería la haploinsuficiencia. Una mutación identificada fuera del homeodominio (24) indicaría la importancia de la región N-terminal para la interacción de *MSX1* con otras proteínas necesarias para la transcripción. La selectividad para producir su efecto en determinadas piezas dentarias puede explicarse: por una distinta sensibilidad a la concentración de la proteína en los tejidos de las distintas piezas en desarrollo (27); por la cronología de la expresión del gen y del desarrollo de las distintas piezas –en combinación con la presencia o ausencia de redundancia con otros genes durante la morfogénesis dentaria (14)–; o por mecanismos genéticos de la odontogénesis no necesariamente idénticos en los distintos grupos dentarios en los primates.

Deficiencia He-Zhao. MIM 604625.

Esta afección fue descrita en una familia del noroeste de China, en la que, de 328 miembros estudiados, 52 –pertenecientes a 6

Mutación	Efecto
G→C, exón 2 (22).	Mutación de sentido equivocado, Arg239Pro [numerada según (23)], en el homeodominio.
C→A nt 752, exón 1 (23).	Mutación con pérdida de sentido, Ser104stop, proteína truncada a N-terminal del homeodominio.
C→A nt 605 (contado desde la A del codón de comienzo de la traducción en la región codificante), exón 2 (14).	Mutación con pérdida de sentido, Ser202stop, proteína truncada desde el homeodominio.
T→A nt 620 (24).	Mutación de sentido equivocado, Met61Lys. No altera el homeodominio.

Tabla 2. Mutaciones en *MSX1* responsables de agencias dentarias. Referencias entre paréntesis.

generaciones– estaban afectados (28). La herencia es autosómica dominante, con una penetrancia estimada de 88%, y de expresividad muy variable. La dentición primaria es normal. El número de piezas permanentes ausentes es muy variable; implica principalmente a los terceros molares, segundos premolares e incisivos laterales superiores y puede alcanzar a toda la dentición. El gen responsable ha sido mapeado a una región de 5.5cM en 10q11.2 (29), en la cual existen varios genes. Los principales candidatos son: *Dkk-1*, que codifica una proteína antagonista de la señalización por Wnt; *PRKG1B*, que produce una proteinquinasa cGMP-dependiente; y un conjunto de factores de transcripción de dedos de zinc *KOX* (29). Actualmente, se están desarrollando estudios de secuenciación para detectar mutaciones en estos genes.

Hipoponcia con ausencia de incisivos y premolares (IPH, Incisor-premolar hypodontia). MIM 150400.

Es la forma más común de hipodoncia hereditaria. Un equipo de trabajo finlandés estudia su base genética desde hace casi una década (6, 30). El promedio de piezas ausentes entre los afectados es 2,3. Las piezas ausentes con mayor frecuencia son los segundos premolares inferiores (47%), segundos premolares superiores (30%), incisivos laterales superiores (17%) e incisivos centrales inferiores (4,2%) –los terceros molares fueron excluidos del estudio–. La dentición primaria no está afectada. La penetrancia calculada es de 97%, y su herencia es autosómica dominante. Los autores consideran a los dientes con coronas con forma de grano de arroz como parte de la variabilidad en la expresividad; varias anomalías de la dentición aparecen asociadas a esta forma de hipodoncia: caninos superiores ectópicos desplazados hacia palatino, premolares rotados, y taurodontismo (6). Todavía no se ha podido encontrar la causa de esta afección, aunque se han descartado mutaciones en *MSX1*, *MSX2*, *EGF*, *EGFR* y *FGF-3* (30, 31) –todos con participación demostrada en el desarrollo dentario (7)–.

Hipoponcia autosómica recesiva. MIM 602639.

Ahmad *et al.* (32) describieron esta afección de expresividad variable en una familia con alta consanguinidad en Pakistán. La hipodoncia aparece asociada a un incompleto desarrollo de casi todas las piezas dentarias, a la malformación de las coronas, a

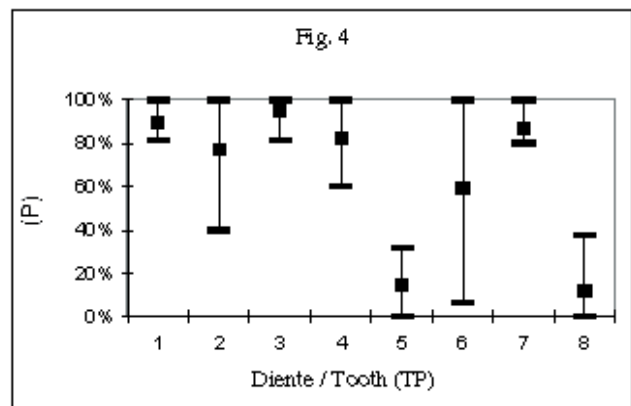
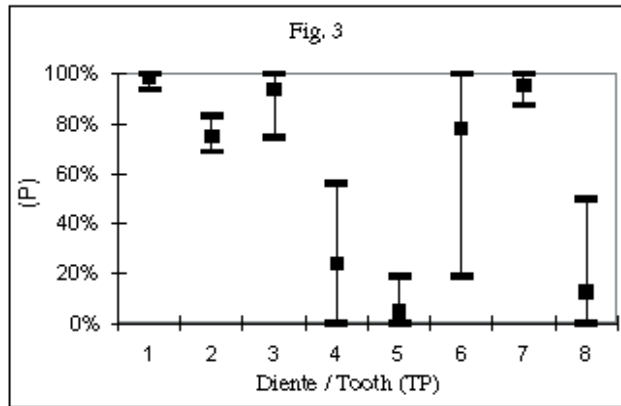
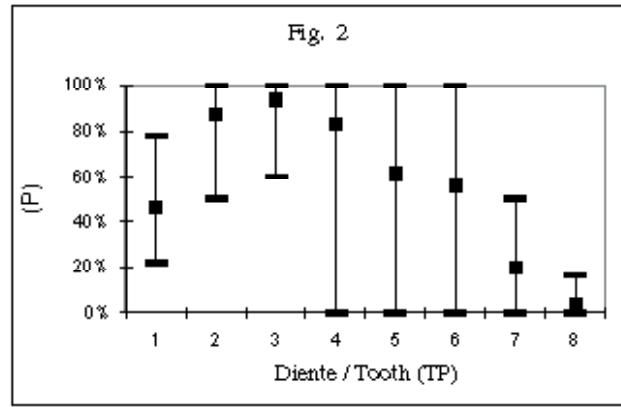
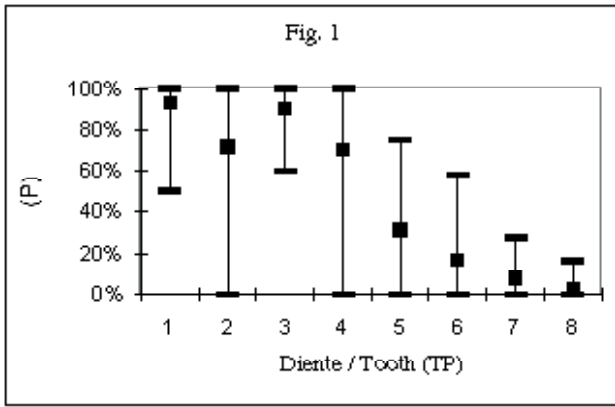


Fig. 1. Patrón de agencias dentarias en el maxilar superior, en mutaciones de *PAX9*. Para cada pieza dentaria, se calculó el porcentaje $P = E/(E+A) \times 100$, donde E es el número de dientes presentes y A el número de dientes ausentes en la dentición. El P se calculó para cada caso familiar descrito hasta el momento. Para cada pieza dentaria (TP), se graficó el P máximo, el mínimo, y la media (-▲-) como indicador de la tendencia. Para realizar los cálculos se utilizaron los datos publicados en las referencias 13 y 16 – 19. La idea de los gráficos está basada en los estudios de campos morfogenéticos relativos de Line (48).

Fig. 2. Patrón de agencias dentarias en la mandíbula, en mutaciones de *PAX9*. Ver leyenda de Fig. 1 para interpretación. Para realizar los cálculos se utilizaron los datos publicados en las referencias 13 y 16 – 19.

Fig. 3. Patrón de agencias dentarias en el maxilar superior, en mutaciones de *MSX1*. Ver leyenda de Fig. 1 para interpretación. Para realizar los cálculos se utilizaron los datos publicados en las referencias 14 y 22 – 24.

Fig. 4. Patrón de agencias dentarias en la mandíbula, en mutaciones de *MSX1*. Ver leyenda de Fig. 1 para interpretación. Para realizar los cálculos se utilizaron los datos publicados en las referencias 14 y 22 – 24.

Fig.1. Pattern of tooth agenesis in the maxilla, in *PAX9* mutations. A percentage $P = E/(E+A) \times 100$, was calculated for each tooth piece, where E is the number of existing teeth and A is the number of absent teeth in the dentition. P was calculated for every familiar case described to date. For each tooth piece (TP), maximum, minimum and media (-▲-) as an index of tendency, were plotted. Calculations were based on references 13, 16 – 19. The plot idea is based on Line's studies of relative morphogenetic fields (48).

Fig. 2. Pattern of tooth agenesis in the mandible, in *PAX9* mutations. See legend of Fig. 1 for interpretation. Calculations were based on references 13, 16 – 19.

Fig. 3. Pattern of tooth agenesis in the maxilla, in *MSX1* mutations. See legend of Fig. 1 for interpretation. Calculations were based on references 14, 22 – 24.

Fig. 4. Pattern of tooth agenesis in the mandible, in *MSX1* mutations. See legend of Fig. 1 for interpretation. Calculations were based on references 14, 22 – 24.

la falta de desarrollo radicular, a la hipoplasia del esmalte y a una falla en la erupción. El gen responsable se ha mapeado en 16q12.1, pero todavía no se ha identificado.

Hipodontia autosómica recesiva con ausencia de incisivos inferiores (RIH, Recessive incisor hypodontia).

Pirinen *et al.* (11) caracterizaron esta afección en individuos de 34 familias finlandesas. Se caracteriza por la ausencia de varios incisivos inferiores y de incisivos laterales superiores

permanentes; y en menor medida, afecta a todas las piezas, principalmente a los segundos premolares. En la mitad de los pacientes, las piezas caducas correspondientes tampoco se habían desarrollado o tenían forma de grano de arroz. Aparece asociada a otras anomalías, como taurodontismo, retrasos en la erupción, y atopías. Los autores consideran que esta afección podría ser la misma anteriormente descrita por otros en varios países. Su alta prevalencia en Finlandia se debería al aislamiento

genético de la población de este país, que posee un conjunto de unos 40 desórdenes genéticos característicos, principalmente de herencia recesiva.

AGENCIAS DENTARIAS SINDROMICAS

El hecho de que numerosos genes que participan en el desarrollo dentario sean necesarios también para el desarrollo de otros órganos, hace que las agencias dentarias aparezcan asociadas a otras alteraciones en numerosos síndromes. Se destacarán aquí tres de ellos cuyas bases moleculares se establecieron recientemente.

Displasia ectodérmica anhidrótica (DEA). MIM 305100.

Las displasias ectodérmicas son un conjunto de aproximadamente 150 afecciones que incluyen alteraciones de al menos dos de las estructuras derivadas del ectodermo –como el pelo, la piel, las uñas y los dientes (33)–. La displasia ectodérmica anhidrótica se caracteriza por hipohidrosis, hipotricosis e hipodoncia. Se observa una oligodoncia grave en la dentición temporaria y permanente. Los dientes presentes suelen ser coniformes. Puede haber taurodontismo. La herencia está ligada al cromosoma X, por lo que afecta principalmente a los hombres, aunque las mujeres heterocigotas también presentan alteraciones (34). Las mutaciones puntuales, deleciones o translocaciones que afectan al gen *EDI* (=EDA), en Xq12-q13.1, producen la enfermedad (35, 36). *EDI* codifica a la ectodisplasina-A, una proteína de 391 aminoácidos perteneciente a la familia de ligandos del TNF (factor de necrosis tumoral). Ésta posee un dominio citoplasmático, uno transmembrana y otro extracelular. Dentro de éste se encuentran: una región con una secuencia repetitiva Gly-x-y característica del colágeno que permite la trimerización; varias regiones altamente conservadas en la familia del TNF; y una secuencia para la escisión proteolítica por la furina (36). Esta escisión le permitiría actuar a distancia como una señal difusible. Se expresa en el desarrollo de los folículos pilosos, glándulas sudoríparas y dientes, y es importante en la señalización epitelio-mesénquima. Se han encontrado mutaciones en el gen de su receptor *DL* (=EDAR), en 2q11-q13, que producen formas de DEA autosómicas recesivas o dominantes con un fenotipo indistinguible de la forma ligada al cromosoma X (37). La señalización EDA/EDAR activa el factor de transcripción NF-kappaB mediante el complejo de la IKK (IkappaB quinasa) (38). En los ratones, el homólogo de *EDI* (*Ta*) se expresa durante la odontogénesis en el epitelio oral y en el epitelio externo del órgano del esmalte; mientras que el homólogo de *DL* (*DI*) lo hace primero en el epitelio oral y luego se restringe al nudo del esmalte –centro de señalización que controla la proliferación y apoptosis, y dirige el desarrollo de las cúspides– (39). En los ratones con mutaciones en *Ta*, el nudo del esmalte posee un menor tamaño y la expresión de los genes marcadores característicos (*Shh*, *Fgf-4*, *Bmp-4* y *Wnt10b*) necesaria para la señalización es débil (39). En cambio, las mutaciones en *DI* producen fallas en el desarrollo del nudo, apareciendo como una banda de células desorganizadas, aunque manteniendo su actividad señalizadora (39). Estos datos muestran la importancia de la vía de señalización en la que participan estas moléculas para la organización del nudo del esmalte como centro de señalización y su función en la

morfogénesis dentaria, principalmente del patrón cuspídeo.

Síndrome Witkop “de dientes y uñas”. MIM 189500.

Es también una displasia ectodérmica, caracterizada por hipodoncia u oligodoncia y por disgenesia ungueal. Los dientes presentes pueden ser coniformes, con raíces cortas o molares taurodontiformes. Puede afectar a la dentición primaria. La herencia es autosómica dominante. Las uñas son hipoplásicas y con forma de cuchara, principalmente las de los pies (14, 34). La expresividad es muy variable. Se ha identificado una mutación con pérdida de sentido en el homeobox de *MSX1* (4p16.1) como responsable de este desorden (14). La proteína producida a partir del alelo mutado estaría truncada, carente de toda su región C terminal y de las hélices II y III del homeodominio –necesarias para la estabilidad y la unión al ADN–. Esto determinaría la pérdida de función de la proteína, lo que permite proponer la haploinsuficiencia como mecanismo de la patogenia (14). Estudios realizados en ratones han demostrado la necesidad de la expresión de *Msx1* en el mesénquima para el desarrollo normal de las uñas y de los dientes (14, 40); lo que indicaría una función o mecanismo común de este factor de transcripción en el desarrollo de ambas estructuras. El fenotipo dentario es más grave en este síndrome que en las otras mutaciones que afectan a *MSX1* y producen agencias no sindrómicas (figuras 3 y 4), aunque el patrón es coincidente y evidencia la selectividad de la función de *MSX1* en la odontogénesis humana.

Síndrome Rieger Tipo 1. MIM 180500.

Se caracteriza por hipodoncia, malformación de la cámara anterior de los ojos y anomalías umbilicales. El tercio medio de la cara, incluyendo la premaxila, está poco desarrollado. Hay ausencia de los incisivos superiores temporarios y permanentes, y de los segundos premolares superiores. Las piezas inferiores anteriores suelen ser coniformes, y puede haber fisura palatina. La herencia es autosómica dominante, con penetrancia casi completa y expresividad variable (34). Las mutaciones responsables de esta malformación se encontraron en el gen *PITX2* (=RIEG1), en 4q25-q26, que codifica a un factor de transcripción con homeodominio, relacionado con *bicoid* (41). La expresión de *PITX2* es uno de los primeros marcadores del desarrollo dentario durante la iniciación (2), previo a cualquier manifestación morfológica. Se observa en el epitelio oral en las áreas odontogénicas, en el mesénquima periocular y en la zona umbilical (41). La señalización por Wnt induce la expresión de *PITX2*. Éste, junto con otros cofactores específicos de determinados tipos celulares y actuando sinérgicamente con las vías de señalización activadas por factores de crecimiento, promueve la proliferación celular al regular la expresión de varios genes que controlan el ciclo celular en G1, como la ciclina D2 (42). *PITX2* también aumenta la expresión de *DLX2* –otro factor de transcripción importante en el desarrollo dentario–, uniéndose a su promotor (43). Las mutaciones responsables del síndrome implicarían pérdida de función de la proteína derivada de ese alelo y el mecanismo de la patogénesis sería la haploinsuficiencia (43).

CONCLUSIONES

El descubrimiento de los genes que participan en los programas de desarrollo dentario y la identificación de mutaciones que

producen malformaciones craneofaciales, nos permite empezar a comprender la etiología y la patogenia de estas afecciones. Las agenesias dentarias son un carácter complejo, con una expresividad variable y que aparecen asociadas a otras alteraciones de la dentición. Las mutaciones encontradas hasta ahora pueden explicar sólo un pequeño porcentaje de la prevalencia observada (44). El hecho de que mutaciones en un solo gen, como se observa en *MSX1*, puedan producir agenesias aisladas o una forma sindrómica como extensión del fenotipo, permite suponer que el descubrimiento del defecto génico responsable de los síndromes que incluyen anomalías dentarias llevaría a identificar genes que expliquen las formas aisladas (44).

El hallazgo de que las mutaciones en determinados genes afectan selectivamente el desarrollo de ciertas piezas dentarias, sustenta las conclusiones desprendidas de los estudios con ratones modificados genéticamente, de que habría mecanismos genéticos básicos diferentes para distintos grupos dentarios. Estos datos apoyarían la existencia del código de homeoboxes odontogénico postulado por Sharpe (45), equivalente al que existe para la especificación de los huesos de los miembros (46).

Nuevas técnicas permiten ya realizar diagnósticos tempranos de mutaciones que implican un riesgo de desarrollar enfermedades de base genética. La combinación de los estudios genéticos y clínicos podría, en el futuro, permitir elaborar clasificaciones satisfactorias de estas anomalías que combinaran los fenotipos con los defectos genéticos subyacentes. Esto traería nuevas posibilidades de diagnóstico temprano y previsión del tratamiento ortopédico/ortodóncico, quirúrgico o protésico. Los avances en la ingeniería de órganos y tejidos y la terapia génica podrían llegar incluso a permitir la implantación de gérmenes de cultivo o a subsanar el defecto genético tempranamente y permitir un desarrollo normal (47).

Es necesario destacar la importancia del registro de casos por parte de los clínicos para el desarrollo de futuras investigaciones. El estudio apropiado de las agenesias dentarias familiares hereditarias y esporádicas es imprescindible para seguir descubriendo mutaciones en genes responsables de estas anomalías. Frente a la presencia de agenesias dentarias, debería consultarse y estudiarse la existencia de la anomalía en los otros miembros de la familia; y previo a cualquier tratamiento quirúrgico u ortodóncico, debería registrarse el caso con una completa historia clínica que permitiera caracterizar el fenotipo –incluyendo ortopantomografías y modelos–. Es necesario caracterizar no sólo las agenesias, sino también cualquier alteración –de tamaño, forma, posición, erupción o estructural– de las piezas presentes; así como la búsqueda de alteraciones en otros órganos y sistemas. Los métodos actuales permiten obtener ADN para estudios moleculares con métodos no invasivos –como un simple raspado de la mucosa oral–, presentando mínimas molestias para el paciente. Será mediante la conjunción de los estudios clínicos y los moleculares que, acertadamente, podremos avanzar en el conocimiento de las causas de estas alteraciones.

Tooth agenesis: in search of mutations behind failed dental development

KOLENC-FUSÉ FJ. TOOTH AGENESIS: IN SEARCH OF MUTATIONS BEHIND FAILED DENTAL DEVELOPMENT. MED ORAL PATOL ORAL CIR BUCAL 2004;9:385-95.

ABSTRACT

Tooth agenesis are the most common craniofacial malformations. Its prevalence in permanent dentition reaches 20% and its expressivity ranges from only one tooth, usually a third molar, to the whole dentition. Genetic linkage and molecular biology studies have allowed, in the last decade, the identification of mutations responsible for some patterns of syndromic and non-syndromic tooth agenesis. The mutated genes are key genes for the development of dentition, like the ones that encode the transcription factors *MSX1*, *PAX9* and *PITX2*, the signalling protein *EDA* and its receptor *EDAR*. Current research would lead to the development of new classifications of tooth agenesis that took into account both the phenotypes and the genetic background. This would allow an early diagnosis of the condition, before the development of the somatic defect, that could eventually be repaired with gene therapy or tissue and organ engineering.

Key words: *Tooth agenesis, hypodontia, oligodontia, PAX9, MSX1.*

INTRODUCTION

Mammalian dentition is a segmented system, composed of a series of homologous elements, sharing a similar structure but different in shape and size (1). It is analogous to the vertebral column in that a modular structure repeats itself with modifications to constitute a complex system. In this kind of system, some units can be absent due to lack of development, and that is what is called an agenesis. Tooth development is a complex process, in which reciprocal and sequential interactions between epithelial and mesenchymal cells (2) regulate cell activities like proliferation, condensation, adhesion, migration, differentiation and secretion, that lead to the formation of a functional tooth organ. Organogenesis involves three fundamental processes: a) initiation, in which a group of cells interprets positional information provided by other cells to initiate organ formation at both the right place and time, b) morphogenesis, in which the cells build up an organ rudiment and c) differentiation, in which cells build up organ-specific structures (3). Recent advances in our understanding of molecular aspects of odontogenesis (2-5) indicate that the development of teeth is under strict genetic control, which determines the positions, numbers and shapes of different types of teeth (6). Most studies have been done using mice as models. The scarce direct knowledge on the molecular basis of human odontogenesis derives from the study of pathological cases. More than 200 genes are known by now to have a role in odontogenesis (7). Proteins coded by these genes have many functions, being transcription factors, signalling molecules

and its receptors and extracellular matrix molecules some of the more relevant for tooth development. Mutations in any of these genes could eventually lead to failures in odontogenesis. The earlier these proteins are needed for the development, the worse the malformation derived from their altered function may be. An alteration in the function of a protein needed for the initiation or early morphogenesis could lead to agenesis. Many proteins can have different functions during the various processes of organogenesis, during the development of the different kinds of teeth or during the development of primary and permanent dentitions. This could explain the association between different dental anomalies like agenesis and delayed eruption and alterations in shape, size and position of the other teeth (6, 8-11).

Agenesis of at least one tooth is the most common anomaly of dental development (12). Lack of up to five teeth is called hypodontia; lack of six or more teeth is called oligodontia (13), and anodontia is the failure of development of the whole dentition. The prevalence of permanent tooth agenesis ranges between 1.6% and 9.6%, depending on the studied population and it reaches 20% if third molars are considered (12). The prevalence in primary dentition is lower, ranging between 0.5% and 0.9% (12). The most common missing teeth are third molars, followed by lateral maxillary incisors or second mandibular premolars (12).

Tooth agenesis can be isolated, as the only phenotypic alteration in a person, or associated to other alterations as part of a syndrome. Isolated, non-syndromic agenesis can be sporadic or familiar; and may be inherited in mendelian dominant or recessive autosomic mode, or X-linked (12). Penetrance has been traditionally considered as incomplete but high. The expressivity of the various forms is quite variable, with a wide range of missing teeth, despite the fact that a typical phenotype can be defined for each known genetic defect. Some researchers consider the alterations in shape, like mesio-distally reduced or peg-shaped teeth, as a variation in the expression of the mutated genes. Effects of modifying genes (14) or epigenetic factors could explain this variation. It should be taken into account that the activity of these molecules is regulated by the interaction with other molecules that can be tissue-specific and have allelic variants, and the interplay between them could result in different phenotypic outcomes. Many of the genes with a role in tooth development also have important functions in the development of other organs. This explains the finding of tooth agenesis in at least 45 syndromes (15)

NON-SYNDROMIC TOOTH AGENESIS

Molar oligodontia. MIM 604625.

This form of autosomal dominant oligodontia is characterized by agenesis of most permanent molars, and can eventually involve other teeth like second premolars and central mandibular incisors (16-19). Figures 1 and 2 summarize the phenotype of published cases. Primary molars can be missing in the more severe cases (17, 19). The existing teeth can show a mesio-distal reduction in size, or be peg-shaped incisors. Many mutations in the *PAX9* gene, mapped to 14q12-q13, were found in patients affected by

this form of oligodontia (Table 1). The mutations would lead to a loss of the protein function, and haploinsufficiency would be the pathogenic mechanism (17, 19). The most severe phenotype published to date is due to a heterozygous deletion of *PAX9* locus (13), supporting the haploinsufficiency mechanism proposed, and indicating that in the other mutations, like the missense or nonsense ones, some biological activity of the proteins could remain.

PAX9 belongs to a transcription factor family (20) with nine members in mammals, characterized by a DNA-binding domain called "paired domain" and an additional homeodomain in most members (but not in *PAX9*). They are important regulators of organogenesis that can trigger cellular differentiation or maintain the pluripotency of cell populations in development. The functions of *Pax9* in development have been studied in mice (21). *Pax9* is widely expressed in the neural crest-derived mesenchyme involved in craniofacial and tooth development. *Pax9*^{-/-} mice show cleft secondary palate -besides other skeletal alterations-, lack thymus and parathyroid glands and all teeth are absent. Tooth development is arrested at the bud stage. At this stage *Pax9* is required for the mesenchymal expression of *Bmp4*, *Msx1* and *Lef1*, suggesting that its function is essential to establish the inductive capacity of this tissue (21). Nevertheless, *Pax9*^{+/-} mice are normal. Taken together, these findings suggest that *PAX9* is a dosage-sensitive gene in humans, and that somehow its function is more important in the posterior teeth, especially in those derived from the proliferation of the dental lamina that gives origin to the permanent molars. Research in primates is needed to clarify the expression and function of this gene in a bifidodontic dentition.

Second premolar and third molar hypodontia. MIM 106600.

Vastardis's work fructified in 1996 with the identification of the underlying genetic cause for this form of dominantly-autosomal inherited non-syndromic hypodontia (22). It is characterized by second premolars and third molars agenesis, involving also other teeth. In a Dutch family, three of the 11 affected members had also cleft palate (23). In another family (24), existing teeth were smaller, second upper molars lacked the distal lingual cusp and mandibular first molars lacked the distal buccal cusp. Phenotype of published cases is summarized in figures 3 and 4. The responsible mutations (Table 2) were found in the *MSX1* gene, mapped to 4p16.1. The expression of this gene is observed very early in odontogenic mesenchyme (7).

Msx1^{-/-} mice have cleft secondary palate, lack all teeth - whose development is arrested at bud stage- and have skull, jaw and middle ear defects (25). *MSX* genes encode a group of homeodomain transcription factors required in different stages of development, like patterning, morphogenesis and histogenesis, and they function as transcriptional repressors (25). They are expressed in undifferentiated multipotential cells that are proliferating or dying; provide positional information and regulate epithelial-mesenchymal signalling in craniofacial development (25). It has been shown that *MSX1* inhibits cell differentiation by maintaining high levels of cyclin D1 expression and Cdk4 activity, thus preventing the exit from the cell cycle and keeping the cells able to respond to proliferative factors (26). The loss-of-

function mutations would lead these cells to differentiate earlier and stop proliferating, producing impaired morphogenesis (26). The mutation identified by Vastardis *et al.* (22) involves the substitution of a key aminoacid residue within the homeodomain and leads to a less stable protein, with little or no ability to bind DNA and lacking biological activity (27); accordingly, the phenotype is due to haploinsufficiency. A mutation found outside the homeodomain (24) remarks the role of the N-terminal region for the interaction of *MSX1* with other proteins needed for transcription. The selective effect on specific types of teeth can be explained by a different sensitivity to the protein concentration in the tissues of the different developing types of teeth (27); by the timing of expression of *MSX1*; in combination with the presence or absence of functional redundancy from other genes during tooth morphogenesis (14); or by different genetic mechanisms for the development of the different tooth types in primates.

He-Zhao deficiency. MIM 604625.

This condition was characterized in a kindred from northwest China, in which 52 out of 328 members, belonging to six generations, were affected (28). The mode of inheritance is autosomal dominant, with an estimated penetrance of 88% and very variable expressivity. Primary dentition is not affected. The number of absent permanent teeth is very variable, eventually reaching the whole dentition, being the most commonly missing teeth the third molars, second premolars and lateral upper incisors. The disease locus has been mapped to a 5.5 cM region on 10q11.2 (29). Several genes in this region can be considered as candidates, such as *Dkk-1*, that codes a protein which is an antagonist to Wnt signalling; *PRKG1B*, that produces a cGMP-dependent protein kinase; and a *KOX* zinc finger gene cluster (29). Researches are currently conducted to detect mutations in this genes.

Incisor-premolar hypodontia (IPH). MIM 150400.

This is the most common form of inherited hypodontia. A Finnish research team has been studying its genetic basis for a decade (6, 30). The mean number of missing teeth in probands is 2.3. The most frequently teeth missing are lower second premolars (47%), upper second premolars (30%), upper lateral incisors (17%), and lower central incisors (4.2%) –third molars were excluded from the study-. Primary dentition is not affected. Calculated penetrance is 97%, and it is transmitted in an autosomal dominant manner. The authors considered peg-shaped teeth as a variation in expression. Many dental anomalies are associated with this form of hypodontia: ectopic palatally displaced upper canines, rotated premolars and taurodontism (6). The genetic cause for this condition has not been found yet, but mutations in *MSX1*, *MSX2*, *EGF*, *EGFR* and *FGF-3* –all of them with roles in dental development (7)- have been excluded (30, 31).

Autosomal recessive hypodontia. MIM 602639.

Ahmad *et al.* (32) characterized this condition of variable expressivity from a highly consanguineous family from Pakistan. Hypodontia is associated with incomplete development of almost all teeth, malformation of crowns, lack of root development, enamel hypoplasia and failure of eruption. The disease locus has

Mutation	Effect
InsG219, exon 2 (16).	Frameshifted aminoacid sequence starting at residue 73 and premature truncation of the protein at residue 316.
A→T nt 340, exon 2 (17).	Nonsense mutation, Lys114stop, truncated protein that lacks the last alpha-helix of the paired-box and the entire C-terminal region.
InsC793, exon 4 (18).	Frameshifted aminoacid sequence starting at residue 264 and premature truncation of the protein at residue 315. Add 51 nonsense aminoacids and remove 25 N-terminal aminoacid residues. Paired-box is not altered.
14q deletion of 44 -100 kb, including the <i>PAX9</i> locus. Heterozygous.(13).	Haploinsufficiency, one of the alleles is deleted.
T→C nt 62, exon 2 (19).	Leu21Pro, missense mutation within paired box.
A→G nt 271, exon 2 (19).	Lys91Glu, missense mutation within paired box.
Insertion of 288-bp within exon 2 (19).	The inserted sequence results in a shift in the reading frame at aa 58, and in premature truncation at residue 177.

Table 1. *PAX9* mutations responsible for human tooth agenesis. References in brackets.

Mutation	Effect
G→C, exon 2 (22).	Missense mutation, Arg239Pro [numeration follows (23)], within the homeodomain.
C→A nt 752, exon 1 (23).	Nonsense mutation, Ser104stop, protein truncated at N-terminal of homeodomain.
C→A nt 605 (counted from the A of the translational start codon within the coding region), exon 2 (14).	Nonsense mutation, Ser202stop, protein truncated by the homeodomain.
T→A nt 620 (24).	Missense mutation, Met61Lys. Homeodomain is not altered.

Table 2. *MSX1* mutations responsible for human tooth agenesis. References in brackets.

been mapped to a yet unidentified gene in chromosome 16q12.1. *Recessively inherited lower incisor hypodontia (RIH).*

Pirinen *et al.* (11) described this condition in patients from 34 Finnish families. It is characterized by the absence of several lower incisors and upper lateral permanent incisors, also involving other teeth, particularly second premolars. In half of the patients, the corresponding deciduous teeth had either been missing or peg shaped. It is associated with other anomalies, like taurodontism, eruption delays and atopic conditions. The authors believe this

condition can be the same formerly reported by others from various countries. Its high prevalence in Finland may be explained by the genetic isolation of the population of this country, and RIH can belong to the Finnish Disease Heritage, a collection of some 40 rare disorders, many of them recessive.

SYNDROMIC TOOTH AGENESIS

Tooth agenesis is commonly associated with other abnormalities in many syndromes, because many genes take part in common molecular mechanisms between tooth and other organs' development. We will now describe the recent findings into the molecular basis of three of these syndromes.

Anhydrotic ectodermal dysplasia (EDA). MIM 305100.

Ectodermal dysplasias are a group of some 150 conditions that involve anomalies in at least two of the following ectodermal-derived structures: hair, skin, nails, and teeth (33). Anhydrotic ectodermal dysplasia is characterized by hypohidrosis, hypotrichosis and hypodontia. The absence of most primary and permanent teeth is a characteristic finding. Present teeth usually have a conical crown shape. Taurodontism can be present. This syndrome has X-linked inheritance, so it occurs mostly in males, although heterozygous women may express the condition (34). The disease is produced by point mutations, deletions or translocations in the *EDI* (=EDA) gene, mapped to Xq12-q13.1 (35, 36). *EDI* encodes ectodysplasin-A, a 391 aminoacid protein, that belongs to the TNF-ligand family. It has a cytoplasmic, a transmembrane and an extracellular domain. Within the last domain are: a region with a repetitive collagen-like sequence Gly-x-y needed for the trimerization of the protein; various sequences highly conserved in TNF family; and a site for furin proteolytic cleavage (36). This cleavage would allow the protein to act as a diffusible signal. *EDI* is expressed in the developing hair follicles, sweat glands and teeth, and it plays an important role in epithelial-mesenchymal signalling. Mutations have been found in *DL* (=EDAR), mapped to 2q11-q13, the gene that codes the ED1 receptor, that produces recessive or dominant autosomic forms of EDA whose phenotype is indistinguishable from the X-linked form (37). EDA/EDAR signalling activates transcription factor NF-kappaB through IKK (IkappaB kinase) complex (38). In mice, *Ta* (the homologue of *EDI*) is expressed in the oral epithelium and in the outer enamel epithelium during tooth development; while *DI* (the homologue of *DL*) is expressed first in the oral epithelium and then it is restricted to the enamel knot –a signalling center that controls proliferation and apoptosis, and regulates cusp development- (39). In mice with mutations in *Ta*, the enamel knot is smaller and the expression of the marker genes needed for signalling (*Shh*, *Fgf-4*, *Bmp-4* and *Wnt10b*) is weak (39). Instead, mutations in *DI* lead to failure in enamel knot development, that appears as an elongated band of disorganized cells, though signalling activity is retained (39). These facts remark the role of the EDA/EDAR signalling pathway in enamel knot organization as a signalling center, and its function in tooth morphogenesis, especially in the cusp patterning.

Witkop "tooth and nail" syndrome. MIM 189500.

This syndrome is also an ectodermal dysplasia. It is characterized

by hypo or oligodontia and nail dysgenesis. The existing teeth may be cone-shaped, with short roots or taurodontiform molars. Primary dentition can be affected. The mode of inheritance is autosomal dominant. Nails are hypoplastic, spoon-shaped, being the toenails more severely affected than fingernails (14, 34). The expressivity is quite variable. A nonsense mutation within *MSX1* homeobox (4p16.1) has been identified as responsible for this disorder (14). The protein produced from the mutated allele would be truncated, and lacking the entire C-terminal region and the II and III homeodomain helices, that are important for protein stability and DNA binding. The mutant protein would have no biological function, and haploinsufficiency is probably the pathogenic mechanism (14). *Msx1* mesenchymal expression is important for both normal nail and tooth development in mice (14, 40); this data suggests that this transcription factor shares a common function or mechanism in the development of those structures. The tooth phenotype is more severe in this syndrome than in other non-syndromic tooth agenesis produced also by *MSX1* mutations (figs. 3 and 4), although the pattern of missing teeth is coincident and shows the selectivity of the *MSX1* function in human odontogenesis.

Rieger syndrome Type 1. MIM 180500.

It is characterized by hypodontia, malformation of the anterior chamber of the eyes and umbilical anomalies. There is midfacial hypoplasia and underdevelopment of the premaxillary area. The upper maxillary deciduous and permanent incisors and second upper premolars are most commonly missing. The lower anterior teeth have usually conical crowns, and cleft palate may be present. The mode of inheritance is autosomal dominant, with almost complete penetrance and variable expressivity (34). Mutations responsible for this malformation have been found in *PITX2* (=RIEG), a gene mapped to 4q25-q26, that encodes a bicoid-related homeodomain transcription factor (41). *Pitx2* expression is one of the first markers of tooth development at the initiation stage (2), previous to any morphological manifestation. It is expressed in the odontogenic areas of oral epithelium, in the periocular mesenchyma and the umbilicus (41). Wnt signalling induces *PITX2* expression. *PITX2* promotes cell proliferation by regulating the expression of genes that control cell cycle at G1 stage, like cyclin D2; and provides a link between Wnt and growth factor pathways in synergistically mediating cell type-specific regulation of growth control gene expression (42). *PITX2* also upregulates *DLX2* expression – another transcription factor with a role in tooth development – by binding to its promoter (43). The mutations responsible for this syndrome would be loss-of-function ones, supporting haploinsufficiency as the proposed pathogenic mechanism (43).

CONCLUSIONS

The discovery of genes that take part in tooth development programs and the identification of mutations responsible for craniofacial malformations, allow us to start understanding the etiology and pathogenic mechanisms of these conditions. Tooth agenesis is a complex trait, with variable expressivity, and it appears associated with other tooth alterations. Mutations found

by now can explain only a little percentage of the observed prevalence (44). The fact that mutations in a single gene, like *MSX1*, produce either an isolated or a syndromic –as extension of the phenotype – form of tooth agenesis, supports the assumption that the discovery of mutations responsible for syndromes that have tooth abnormalities, could be a tool to identify genes whose mutations explain the isolated forms (44).

The finding that mutations in certain genes selectively affect the development of only some kind of teeth, supports the conclusions of the studies made with genetically altered mice, that there would be different underlying genetic mechanisms for the different kind of teeth. They also support the existence of the odontogenic homeobox code proposed by Sharpe (45), equivalent to the one that determines the identity of the limb bones (46).

New techniques are already available for the early diagnosis of mutations that imply a risk of developing genetic diseases. The combination of genetic and clinic studies could lead to satisfactory classifications of these anomalies, that combine the phenotypes with the underlying genetic defects. This would bring new possibilities of early diagnosis and the foresight of orthodontic, surgical or prosthetic treatment. Recent advances in tissue and organ engineering and gene therapy, could even allow the implantation of cultured tooth germs or the early repair of the genetic defect, leading to normal development (47).

The recording of cases by clinicians is of great importance for future research. The proper study of familial hereditary and sporadic forms of tooth agenesis is essential for the discovery of new gene mutations that cause these anomalies. When a case of tooth agenesis is seen, the presence of the anomaly should be investigated in the other family members; and the case should be recorded with a complete clinical history including panoramic radiographs and models, for proper phenotype characterization prior to any surgical or orthodontic treatment. A precise description of missing teeth and any other tooth malformation –of size, shape, position, eruption or even structural- is needed, as well as the search for alterations in other organs and systems. Current methods allow taking DNA samples by non-invasive methods like a swab of the oral mucosa, with minimum discomfort for the patient. The conjunction of clinical and molecular studies is the right way to improve our understanding of the causes of these alterations.

BIBLIOGRAFIA/REFERENCES

1. Stock DW, Weiss KM, Zhao Z. Patterning the mammalian dentition in development and evolution. *BioEssays* 1997;19:481-90.
2. Jernvall J, Thesleff I. Reiterative signalling and patterning during mammalian tooth morphogenesis. *Mech Dev* 2000;92:19-29.
3. Peters H, Balling R. Teeth. Where and how to make them. *Trends Genet* 1999; 15:59-65.
4. Cobourne MT. The genetic control of early odontogenesis. *Br J Orthodontics* 1999;26:21-8.
5. Tucker AS, Sharpe PT. Molecular genetics of tooth morphogenesis and patterning: the right shape in the right place. *J Dent Res* 1999;78:826-34.
6. Arte S, Nieminen P, Apajalahti S, Haavikko K, Thesleff I, Pirinen S. Characteristics of incisor-premolar hypodontia in families. *J Dent Res* 2001;80:1445-50.
7. Gene Expression in Tooth. <http://bite-it.helsinki.fi/>
8. Apajalahti S, Arte S, Pirinen S. Short root anomaly in families and its association with other dental anomalies. *Eur J Oral Sci* 1999;107:97-101.
9. Goldenberg M, Das P, Messersmith M, Stockton DW, Patel PI, D'Souza RN. Clinical, radiographic and genetic evaluation of a novel form of autosomal-dominant oligodontia. *J Dent Res* 2000;79:1469-75.
10. Pirinen S, Arte S, Apajalahti S. Palatal displacement of canine is genetic and related to congenital absence of teeth. *J Dent Res* 1996;75:1346-52.
11. Pirinen S, Kentala A, Nieminen P, Varilo T, Thesleff I, Arte S. Recessively inherited lower incisor hypodontia. *J Med Genet* 2001;38:551-6.
12. Vastardis H. The genetics of human tooth agenesis: new discoveries for understanding dental anomalies. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2000;117:650-6.
13. Das P, Stockton DW, Bauer C, Shaffer LG, D'Souza RN, Wright JT, *et al.* Haploinsufficiency of *PAX9* is associated with autosomal dominant hypodontia. *Hum Genet* 2002;110:371-6.
14. Jumlongras D, Bei M, Stimson JM, Wang WF, DePalma SR, Seidman CE, *et al.* A nonsense mutation in *MSX1* causes Witkop Syndrome. *Am J Hum Genet* 2001;9:743-6.
15. On Line Mendelian Inheritance in Man. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/>
16. Stockton DW, Das P, Goldenberg M, D'Souza RN, Patel PI. Mutation of *PAX9* is associated with oligodontia. *Nat Genet* 2000;24:18-9.
17. Nieminen P, Arte S, Tanner D, Paulin L, Alaluusua S, Thesleff I, *et al.* Identification of a nonsense mutation in the *PAX9* gene in molar oligodontia. *Eur J Hum Genet* 2001;9:743-6.
18. Frazier-Bowers SA, Guo DC, Cavender A, Xue L, Evans B, King T, *et al.* A novel mutation in human *PAX9* causes molar oligodontia. *J Dent Res* 2002;81:129-33.
19. Das P, Hai M, Elcock C, Leal S, Brown D, Brook A, *et al.* Novel missense mutations and a 288-bp exonic insertion in *PAX9* in families with autosomal dominant hypodontia. *Am J Med Genet* 2003;118:35-42.
20. Chi N, Epstein JA. Getting your Pax straight: Pax proteins in development and disease. *Trends Genet* 2002;18:41-7.
21. Peters H, Neubuser A, Kratochwil K, Balling R. *Pax9*-deficient mice lack pharyngeal pouch derivatives and teeth and exhibit craniofacial and limb abnormalities. *Genes Dev* 1998;12:2735-47.
22. Vastardis H, Karimbux N, Guthua SW, Seidman JG, Seidman CE. A human *MSX1* homeodomain missense mutation causes selective tooth agenesis. *Nat Genet* 1996;13:417-21.
23. van den Boogaard MJ, Dorland M, Beemer FA, van Amstel HKP. *MSX1* mutation is associated with orofacial clefting and tooth agenesis in humans. *Nat Genet* 2000;24:342-3.
24. Lidral AC, Reising BC. The role of *MSX1* in human tooth agenesis. *J Dent Res* 2002;81:274-8.
25. Bendall AJ, Abate-Shen C. Roles for *Msx* and *Dlx* homeoproteins in vertebrate development. *Gene* 2000; 247:17-31.
26. Hu G, Lee H, Price SM, Shen MM & Abate-Shen C. *Msx* homeobox genes inhibit differentiation through upregulation of cyclin D1. *Development* 2001; 128:2373-84.
27. Hu G, Vastardis H, Bendall AJ, Wang Z, Logan M, Zhang H, *et al.* Haploinsufficiency of *MSX1*: a mechanism for selective tooth agenesis. *Mol Cell Biol* 1998;18:6044-51.
28. Wang H, Zhao S, Zhao W, Feng G, Jiang S, Liu W, *et al.* Congenital absence of permanent teeth in a six-generation Chinese kindred. *Am J Med Genet* 2000; 90:193-8.
29. Liu W, Wang H, Zhao S, Zhao W, Bai S, Zhao Y, *et al.* The novel gene locus for agenesis of permanent teeth (He-Zhao deficiency) maps to chromosome 10q11.2. *J Dent Res* 2001;80:1716-20.
30. Nieminen P, Arte S, Pirinen S, Peltonen L, Thesleff I. Gene defect in hypodontia: exclusion of *MSX1* and *MSX2* as candidate genes. *Hum Genet* 1995;96: 305-8.
31. Arte S, Nieminen P, Pirinen S, Thesleff I, Peltonen L. Gene defect in hypodontia: exclusion of *EGF*, *EGFR*, and *FGF-3* as candidate genes. *J Dent Res* 1996;75:1346-52.
32. Ahmad W, Brancolini V, ul Faiyaz MF, Lam H, ul Haque S, Haider M, *et al.* A locus for autosomal recessive hypodontia with associated dental anomalies maps to chromosome 16q12.1. *Am J Hum Genet* 1998;62:987-91.
33. Slavkin HC. Entering the era of molecular dentistry. *JADA* 1999;130:413-7.
34. Gorlin RJ, Cohen MM Jr, Hennekam RCM, eds. *Syndromes of the head and neck*. 4th ed. New York: Oxford University Press; 2001.
35. Kere J, Srivastava AK, Montonen O, Zonana J, Thomas N, Ferguson B, *et al.*

- X-linked anhidrotic (hypohidrotic) ectodermal dysplasia is caused by mutation in a novel transmembrane protein. *Nat Genet* 1996;13:409-16.
36. Pääkkönen K, Cambiaghi S, Novelli G, Ouzts LV, Penttinen M, Kere J, *et al.* The mutation spectrum of the EDA gene in X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia. *Hum Mutat* 2001;17:349.
37. Monreal AW, Ferguson BM, Headon DJ, Street SL, Overbeek PA, Zonana J. Mutations in the human homologue of mouse dl cause autosomal recessive and dominant hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Nat Genet* 1999;22:366-9.
38. Doffinger R, Smahi A, Bessia C, Geissmann F, Feinberg J, Durandy A, *et al.* X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia with immunodeficiency is caused by impaired NF-kappaB signaling. *Nat Genet* 2001;27:277-85.
39. Tucker A, Headon D, Schneider P, Ferguson B, Overbeek P, Tschopp J, *et al.* Edar/Eda interactions regulate enamel knot formation in tooth morphogenesis. *Development* 2000;127:4691-700.
40. Satokata I, Maas R. *Msx1* deficient mice exhibit cleft palate and abnormalities of craniofacial and tooth development. *Nat Genet* 1994;6:348-56.
41. Semina EV, Reiter R, Leysens NJ, Alward WL, Small KW, Datsun NA, *et al.* Cloning and characterization of a novel bicoid-related homeobox transcription factor gene, *R/EG*, involved in Rieger syndrome. *Nat Genet* 1996;14:392-9.
42. Kioussi C, Briata P, Baek SH, Rose DW, Hamblet NS, Herman T. *et al.* Identification of a Wnt/Dvl/beta-catenin-to-Pitx2 pathway mediating cell-type-specific proliferation during development. *Cell* 2002;111:673-85.
43. Espinoza H, Cox C J, Semina EV, Amendt BA. A molecular basis for differential developmental anomalies in Axenfeld-Rieger syndrome. *Hum Molec Genet* 2002;11:743-53.
44. Vieira AR. Oral clefts and syndromic forms of tooth agenesis as models for genetics of isolated tooth agenesis. *J Dent Res* 2003;82:162-5.
45. Sharpe PT. Homeobox genes and orofacial development. *Connect Tissue Res* 1995;32:17-25.
46. Gilbert S. *Developmental biology*. 6th ed. Massachusetts: Sinauer Associates Inc. Sunderland; 2001.
47. Baum BJ, Mooney DJ. The impact of tissue engineering on dentistry. *JADA* 2000;131:309-18.
48. Line SRP. Molecular morphogenetic fields in the development of human dentition. *J Theor Biol* 2001;211:67-75.

AGRADECIMIENTOS.

El autor agradece a Mariana Juambeltz, Claudio Martínez Debat y Enrique Zinemanas por la revisión del manuscrito en sus distintas versiones y las valiosas sugerencias y correcciones; a Natalia Acevedo y Graciela Duarte, quienes realizaron aportes que mejoraron el texto; a Clare Rymer, por su apoyo en la hemeroteca de la Facultad de Odontología de la UDELAR; a Elizabeth Lettier por corregir la versión inglesa del texto; y a un conjunto de orientales dispersos por el mundo que aportaron valiosos artículos sin los cuales esta revisión no hubiera sido posible.

AKNOWLEDGEMENTS

The author wants to thank Mariana Juambeltz, Claudio Martínez Debat and Enrique Zinemanas who reviewed the various versions of the manuscript and made valuable suggestions and corrections; Natalia Acevedo and Graciela Duarte made suggestions that improved the text; Clare Rymer for her support in the library of the Faculty of Dentistry/UDELAR; Elizabeth Lettier for the correction of the English version of the text; and a lot of compatriots scattered around the world who supplied valuable papers that made possible this review.