UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

Dissertação

Incidência do primeiro molar em cavalos Crioulos e sua correlação com a genética.

Rafaela Simões Pires Esteves Jacques

Pelotas, 2015

RAFAELA SIMÕES PIRES ESTEVES JACQUES

Incidência do primeiro molar em cavalos Crioulos e sua correlação com a genética.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial para obtenção do título Mestre em Ciências (área do conhecimento: Produção Animal)

Orientador: Prof. Dr. Heden Luiz Marques Moreira
Co-Orientador: Prof. Dr. Charles Ferreira Martins

Pelotas, 2015

Banca examinadora:

Dr. Heden Luiz Marques Moreira – Universidade Federal de Pelotas, UFPel
Dr. Nelson José Laurino Dionello – Universidade Federal de Pelotas, UFPel – PPGZ
Dra. Marília Danyella Nunes Rodrigues – Universidade Federal do Rio Grande do Sul,UFRGS– Instituto de Biosciências

“A Deus, todo poderoso,

Minha família, Diogo, Martín e meus pais, pelo amor incondicional, apoio, bendições e desejos de êxito”.

Dedico

Agradecimentos

Quando planejamos algo, para cumprir essas metas e objetivos, precisamosdo acompanhamento e ajuda de muitas pessoas, nos momentos difíceis, nos momentos mais fáceis ou quando simplesmente achamos que não conseguiremos mais. Nesses momentos sempre existirá alguém que te ensina, te ajuda, te empurra para continuar adiante e cumprir com essas metas e esses objetivos que no início de tudo propusemos. Quero agradecer a todas as pessoas e entidades que me acompanharam neste processo.

Primeiramente, agradeço a Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, mostrar os caminho nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades.

Muito obrigada Diogo, meu marido, e Martín, meu filho, pelo apoio diário. Ajudando-me quando possível, na ausência das viagens, mas principalmente agüentando-me em momentos difíceis, cansativos e mau-humorados, nunca me deixando desistir. Sem vocês não teria conseguido;

Agradeço a meus pais, Miguel e Vera, sem eles e seus conselhos não teria entendido como funciona a vida e que as coisas boas chegam a seu momento, sempre me apoiando de todas as maneiras possíveis.

Palavras não descrevem todo meu agradecimento ao professor Heden e sua esposa Carla pelo que fizeram por mim.Muito obrigada por seus tempos, palavras, conselhos, conhecimentos e por todas as coisas que aportaram na minha formação e realização deste trabalho;

Agradeço ao professor Charles, grande mestre durante minha graduação e agora também no mestrado, como co-orientador, sendo incansável na sua ajuda, com suas palavras e seu conhecimento, me tranqüilizando e me mostrando a maneira correta de seguir adiante;Vocês três sem dúvidas são responsáveis por grande parte do meu crescimento profissional e pessoal.

Aos amigos do Grupo de Pesquisa Cavalo Crioulo, agradeço por cada momento compartilhado, risadas, projetos, estudos, que sempre me apoiaram no desenvolvimento dos meus trabalhos, especialmente à Naiana, ao Lucas, ao Angelo,

pelos aportes que fizeram nesta pesquisa, muito obrigada pela ajuda e pelo interesse e disposição que sempre tiveram para me ajudar e aconselhar neste processo;

Ao pessoal do Laboratório de Engenharia Genética Animal LEGA, fornecedor do material responsável por parte da analises deste trabalho, meu muito obrigada.

Um agradecimento especial ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela formação obtida de seus professores e o serviço sempre de qualidade dos funcionários vinculados ao programa;

Por último e não menos importante queria agradecer a Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos (ABCCC) e todos os criatórios que permitiram que este trabalho fosse realizado, acreditando na importância da pesquisa e seus benefícios, não medindo esforços para que seguisse todo o protocolo, fornecendo mão de obra para essa lida pesada, e mesmo assim sempre nos recebendo de “porteiras abertas”.

O começo de todas as ciências
é o espanto de as coisas serem o que são”. (Aristóteles)

Resumo

JACQUES, Rafaela Simões Pires Esteves. **Incidência do primeiro molar em cavalos Crioulos e sua correlação com a genética.** 2015. 75f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS

A valorização de animais com alto desempenho funcional e alto valor zootécnico, fez com que a criação desses animais fosse conduzida em alta escala, concentrando muitas vezes uma mesma linhagem, a fim de acelerar o melhoramento e valorizar seus produtos. Com isso, a consanguinidade é uma realidade dentro das criações. Além disso, deu-se a modificação dos hábitos alimentares naturais do cavalo, alterando substancialmente o padrão de mastigação. Com isso, as mais variadas alterações odontológicas passaram a ter influência no desenvolvimento e performance. A odontologia equina não está incluída nos critérios de seleção de animais para a reprodução, principalmente devido a ausência de estudos correlacionando anormalidades odontológicas com a genealogia e desempenho. Entretanto, isto é muito importante, pois orientará o criador para evitar efeitos indesejáveis da endogamia. Entre as anormalidades odontológicas o dente de lobo ou pré-molar 1 (PM1) é a mais frequente. Com base nisto, este estudo teve o objetivo de avaliar a incidência do PM1 e identificar os fatores que contribuem para sua variação em uma amostra de 443 equinos, machos e fêmeas da raça Crioula examinados clinicamente, entre os anos de 2013 e 2014. Um total de 223 (50,34%) de animais apresentaram o primeiro pré-molar. Avaliações usando *qui-duadrado* (χ^2) não identificaram nenhuma associação significativa (P=0,4648) entre sexo e a presença do primeiro pré-molar. As percentagens de ocorrência de acordo com a posição 105, 205 e ambas (105-205) foram respectivamente, 6,32%, 7,00% e 37,02%. Houve uma associação significativa (P < 0,0001) entre a idade do animal (grupos de I, II e III) e a presença de dente de lobo. A maior frequência de dente de lobo foi observada em animais do grupo I (idade de 1 a 3 anos) e a menor em animais do grupo III (acima de 10 anos). Houve uma associação também significativa entre linhagens (brasileira, uruguaia e chilena) e a presença de dente de lobo. A maior incidência de dente de lobo ocorreu na linhagem uruguaia (66,67%) e a menor na linhagem brasileira (46,35%). A consanguinidade avaliada na população analisada variou entre 0,0 e 0,2812. A consanguinidade média (erro padrão) em machos foi de 0,015 (0,026) e em fêmeas 0,009 (0,021). As consanguinidades entre animais sem e com dente de lobo foram: 0,011 (0,025) e 0,015 (0,024) respectivamente. As consanguinidade média e

erros padrão de acordo com os grupos de idade (I, II e III) foram: 0,016 (0,021), 0,014 (0,027) e 0,007 (0,019) respectivamente. As médias de consanguinidade e desvio padrão de acordo com as linhagens (brasileira, chilena e uruguaia) foram: 0,009 (0,019), 0,011 (0,012) e 0,023 (0,032) respectivamente.Dos 443 animais coletados foram escolhidos 50 para análise do gene *MSX1*, sendo 25 com presença de dente de lobo e 25 sem esta alteração. Estas 50 amostras foram submetidas a análise de SSCP e sequenciamento para verificação de polimorfismo no primeiro *exon* do gene *MSX1*. Embora nenhuma relação de causa tenha sido estabelecida entre o *exon* I do gene *MSX1* e a presença de dente de lobo, esta é a primeira tentativa de relacionar este tipo de alteração dentária e gene homeobox em equinos. Podemos concluir neste estudo que há uma forte relação entre dente de lobo com idade e linhagem, mas não há influência do sexo sobre esta alteração dentária. Uma grande influência genética também existe, pois há uma expressão mais forte (ocorrência) desta anomalia na arcada dentária superior. De forma especulativa podemos dizer que estas associações observadas neste trabalho sejam em parte devido aos níveis de consanguinidades apresentados pelos animais avaliados.

Palavras Chave: consanguinidade, genealogia, odontologia equina.

Abstract

JACQUES, Rafaela Simões Pires Esteves. **First molar incidence in Creole horses and their correlation with genetic.** 2015. 75f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS

The placement values in high functional performance animals and high value livestock, made the breeding of these individuals wascarried out in high scale, focusing often the same lineages in order to accelerate the improvement and enhance their products. So, inbreeding is a reality within the creations. In addition, there was the modification of natural horse eating habits, substantially altering the pattern of chewing. With this, the most varied dental disorders started to have an influence in the performance. Equine dentistry is not included in the selection criteria of animals for reproduction, mainly due to lack of studies correlating dental abnormalities with genealogy and athletic performance. However, this is very important, as it will guide the breeder to avoid undesirable effects of inbreeding. Among the dental abnormalities wolf tooth or premolar 1 (PM1) is the most frequent. On this basis, this study aimed to assess the impact of PM1 and identify the factors contributing to the variation in a sample of 443 horses, male and female of the Criollo breed examined clinically, between the years 2013 and 2014. Two hundred and twenty three out of 443 animals, (approximately 50.34%), showed the first premolar. Assessments using chi-square ($\chi 2$) did not identify any significant association ($P = 0.4648$) between sex and the presence of the first premolar. The percentages of occurrence in accordance with the position 105, 205 and both (105-205) were, respectively 6.32%, 7.00% and 37.02%. There was a significant association ($P < 0.0001$) between the age of the animal (groups 1-3) and the presence of wolf tooth. The highest frequency of wolf tooth wasobserved in animals from group I (age 1-3 years) and the lowest in animals of group III (above 10 years). There was also a significant association ($P=0.0004$) between lineages (Brazilian, Uruguayan and Chilean) and the presence of wolf tooth. The highest incidence of wolf tooth occurred in the Uruguayan lineage (66.67%) and the lowest in the Brazilian strain (46.35%). Inbreeding evaluated in the study population ranged from 0.0 to 0.2812. The average inbreeding (standard error) in males was 0.015 (0.026) and females 0.009 (0.021). The inbreeding among animals with and without wolf tooth were 0.011 (0.025) and 0.015 (0.024) respectively. The mean and standard errors from inbreeding coefficientin accordance with age groups (I, II and III) were 0.016 (0.021) 0.014 (0.027) and 0.007

(0.019), respectively. The mean and standard deviation of consanguinity according to the lineages (Brazilian, Chilean and Uruguayan) were 0.009 (0.019) 0.011 (0.012) and 0.023 (0.032), respectively. Fifty out of 443 animals were selected for genetic analysis, 25 with the presence of wolf tooth and 25 without this change. Genomic DNA was extracted from whole blood and checked on 1% agarose gel. These 50 samples were subjected to SSCP analysis and sequencing to check polymorphism in the first *exon* of the gene *MSX1*. Although no causal relationship has been established between *exon I* of *MSX1* gene and the presence of wolf tooth, this is the first attempt to relate this kind of change and homeobox gene in horses. We can conclude from this study that there is a strong relationship between wolf tooth with age and lineage, but there is no influence of gender on this dental anomaly. A large genetic influence also exists because there is a stronger expression (occurrence) of this anomaly in the upper dental arch. Speculatively,we can say that these associations observed in this study are partly due to inbrreding levels presented by the evaluated animals.

Key words: inbreeding, genealogy, equine dentisty

Lista de Figuras

Projeto de Pesquisa Pag.

Figura 1. Sistema Triadan modificado para a nomenclatura dental 22

Figura 2. Ficha individual para identificação das alterações odontológicas 23

Figura 3. Genealogia Individual 24

Revisão Bibliográfica

Figura 4. Cavalo Andaluz 30

Figura 5. Cavalo Jaca Espanhol 31

Figura 6. Cavalo Crioulo 32

Figura 7. Medidas mínimas e máximas referentes ao padrão da raça Crioula 33

Figura 8. Criação de cavalos Crioulos localizada no município de Jaguarão-RS 34

Figura 9. Hyracotherium 39

Figura 10. Sistema Modificado de Triadan para identificação dentária .. 40

Figura 11. A- Braquignatismo. B- Prognatismo 44

Figura 12. Dente de lobo 46

Artigo

Figura 1. Presença de dente de lobo cavalo raça Crioula 68

Anexo

Figura 1 – Genealogia do animal de maior consanguinidade encontrado pertencente a linhagem uruguaia..... 77

Figura 2 – Histograma de frequências geral para variável consanguinidade..... 77

Figura 3 - Checagem da extração gene *MSX1*..... 78

Lista de Tabelas

Projeto de Pesquisa

Tabela 1. Cronograma de atividades a realizar em um período de 12 meses ... 27

Artigo

Tabela 1. Incidência do dente de lobo (primeiro pré-molar) de acordo com o sexo em equinos da raça Crioula.....66

Tabela-2. Incidência de dente de lobo de acordo com sexo e posição na arcada superior (maxilar) em equinos da raça Crioula.....66

Tabela-3. Incidência de dente de lobo de acordo com o grupo de idade em equinos da raça Crioula.....66

Tabela-4. Incidência de dente de lobo de acordo com a linhagem (origem genética) em equinos da raça Crioula.....67

Tabela-5. Consanguinidade de acordo com a idade, linhagem e número de PM1 em equinos da raça Crioula..... 67

Sumario

1. Introdução geral.....15
2. Projeto de Pesquisa.....18
2.1. Caracterização do Problema.....19
2.2. Objetivos e Metas.....20
2.3. Metodologia.....22
2.4. Resultados e Impactos esperados.....26
2.5. Cronograma de Projeto.....27
2.6. Aspectos Éticos.....28
2.7. Referências 29
3. Revisão de literatura.....30
3.1. Cavalo Crioulo.....30
3.2. A criação.....33
3.3. Consanguinidade.....35
3.4. Odontologia.....39
3.5. Maloclusões.....43
3.6. Dente de lobo.....46
3.7. Genética da Odontologia.....48
4. Artigo 51
4.1 Resumo.....52
4.2 Abstract.....53
4.3 Introdução.....55
4.4 Materiais e métodos.....57
4.5 Resultados e discussão.....60
4.6 Conclusões.....62
4.7 Referências.....63
4.8 Tabelas.....66
4.9 Figuras.....68
5. Conclusão 69
6. Bibliografia 70
7. Anexos.....76

Introdução Geral

De acordo com o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) o Brasil possui o maior rebanho de equinos na América Latina, sendo o terceiro maior produtor mundial da espécie.O rebanho baseado no último censo agropecuário de 2006 é de aproximadamente 5.947.073 animais (incluindo asininos e muares) (IBGE, 2006). Atualmente o rebanho estimado de equídeos é de 8 milhões de cabeças. O Complexo do Agronegócio Cavalo envolve mais de 30 segmentos distribuídos entre insumos, criação e destinação final, responsável pela geração de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos(Ministério da Agricultura - Equídeos, acesso em 08 de setembro 2015).

Durante muitos anos a espécie foi utilizada exclusivamente como meio de transporte, principalmente ao homem do campo, e até hoje continua tendo como principal função o trabalho diário nas atividades agropecuárias. Atualmente o uso dos cavalos domesticados não se restringe somente ao uso na agricultura ou consumo, mas também para esporte, recreação, entretenimento e mesmo em terapias. Na história da humanidade nenhum outro animal doméstico ocupou um lugar tão importante nos processos de desenvolvimento social e político como os cavalos. Isto por que desde a antiguidade estes fazem parte da cultura, da economia e do lazer do homem.O Brasil possui um rebanho de cavalos de quase cinco milhões de cabeças, divididos em aproximadamente 11 raças, dentre elas o cavalo Crioulo (Giacomoni, 2007).

Entretanto, nas últimas décadas, a raça Crioula vem passando por uma evidente transição. Animais de trabalho, criados extensivamente, passaram a ser utilizados como cavalos atletas, ganharam destaque em diversas competições, e passaram a realizar com desenvoltura tarefas, a que até então, nunca tinham sido submetidos, aumentando a procura por animais de maior valor zootécnico, elevando o valor econômico da raça. O número de registros tem crescido anualmente, sendo que em 2013 foram registrados 27.200 animais, sendo 14.517 fêmeas e 12.683 machos. O total de animais (leiloados e vendidos diretamente) compreendeu 17.418 animais, gerando em 2013 uma movimentação financeira de R$ 183.170.707,40.(ABCCC, 2014). Atualmente a associação conta com mais de 311 mil animais, mantidos por cerca de 35 mil criadores e proprietários (ABCCC, 2015).

Com essa valorização econômica, áreas específicas da medicina veterinária, como a Odontologia Equina, estão ganhando mercado. Das enfermidades orais que acometem os equinos, as ocorrências dentárias são de maior importância na prática veterinária equina. Constituem a terceira casuística mais comum na abundante prática animal nos Estados Unidos. (DIXON & DACRE, 2005). Além disso, estudos pósmortem têm demonstrado achados significativos, de problemas dentários não diagnosticados em eqüinos (BRIGHAM & DUNCANSON, 2000).

A Medicina Dentária em equinos de desporto é ainda uma área com pouca expressão, apesar da grande relevância que representa para a saúde e bem-estar do cavalo. A saúde oral influencia tanto a condição corporal como a performance desportiva do animal (ALLEN, 2003; DACRE, 2006c).

Com a domesticação e confinamento, a dieta dos equinos sofreu drásticas alterações uma vez que passou a ser essencialmente composta por alimentos concentrados em detrimento de forragem. O fato dos concentrados apresentarem um teor calórico elevado predispõe a uma diminuição do período de ingestão diário e altera significativamente o movimento mastigatório, passando a mandíbula a exibir movimentos mais verticais e a exercer pouca excursão lateral (movimentação deste osso de um lado para o outro). A natureza do material mastigado em consonância com outros fatores tais como a existência de processos dolorosos, o tempo de mastigação e as características físicas dos dentes ditam então a intensidade e o movimento das forças exercidas entre as duas superfícies oclusais, conduzindo a uma maior ou menor taxa de desgaste oclusal devida ao atrito. Este fenômenopode incitar o aparecimento de alterações dentárias que, ao progredirem são susceptíveis de provocar danos severos nos tecidos adjacentes (ex. lesões, ulcerações, doença periodontal, etc.). Estas alterações odontológicas têm também sido associadas à perda de peso e à diminuição do desempenho desportivo do animal afetado como consequência da diminuição da ingestão de alimento devido às dificuldades mastigatórias (DACRE, 2006c).O convívio com o homem modificou totalmente o habitat dos cavalos, e trouxe a estes animais algumas alterações comportamentais irreversíveis (DIAS, 1997).

Os problemas dentários podem comprometer a saúde e o bem-estar dos cavalos, influenciando negativamente a sua performance e produtividade (ALLEN,2003).Na maioria das disciplinas equestres, os cavalos utilizam embocaduras próprias necessárias para a sua condução e controle. Para um animal responder corretamente

a pressões subtis, feitas na embocadura, através das rédeas, pelo cavaleiro ou condutor, tem de ter uma dentição saudável e uma cavidade oral sem problemas (GEOR et al., 2004).

Até o momento, a odontologia equina não está incluída nos itens de referência para compra e venda de indivíduos desta espécie. Menos ainda na seleção de animais para a reprodução, até mesmo pela ausência de estudos correlacionando anormalidades odontológicas com desempenho atlético desses indivíduos.

Há necessidade de que proprietários, treinadores e veterinários incluam na rotina equestre a investigação odontológica dos equinos, pois muitos problemas zootécnicos e clínicos poderão ser identificados precocemente, orientando o criador para efeitos endogâmicos inoportunos, evitando prejuízos como a impossibilidade de registro definitivo ou reflexos negativos na performance atlética futura.

Dentre as alterações no comportamento animal de origem odontológica, observa-se dificuldade de mastigar ou engolir, devolução do alimento parcialmente triturado durante a mastigação, salivação excessiva, movimentos com a cabeça durante a ingestão de alimentos, entre eles sacudir, inclinar e balançar, limitação ou queda de performance, perda ou dificuldade de ganhar peso, halitose oral ou nasal, síndrome cólica recorrente, cortes e ulceras nas bochechas e gengivas, sangramento oral após o treinamento, mastigar, morder e reagir contra a embocadura e resistência ao comandos pela embocadura de parar e virar.

Embora algumas observações empíricas tenham sido relatadas por criadores, profissionais e técnicos envolvidos com a raça, não há registros científicos que auxiliem na análise da associação entre as alterações odontológicas e a genealogia desses animais, a fim de auxiliar na escolha reprodutiva como mais um parâmetro de análise preventiva para competições e longevidade de animais reprodutores.

Os critérios, hoje utilizados para a escolha da genética a reproduzir baseiam-se muito em tipo morfológico e desempenho funcional, não tendo suporte cientifico quantitativo e qualitativo para determinar as alterações odontológicas que podem comprometer indivíduos e gerações. As observações subjetivas de criadores experientes baseiam-se apenas em escore corporal e reações à embocadura durante as provas funcionais.

PRPPG – PRÓ-REITORIADEPESQUISAEPÓS-GRADUAÇÃO

1. PROJETO DE PESQUISA

INCIDÊNCIA DO PRIMEIRO MOLAR EM CAVALOS CRIOULOS E SUA CORRELAÇÃO COM A GENÉTICA.

Equipe:

Orientador

Dr.Heden Luiz Marques Moreira

ProfessorAdjuntodoDepto.DeZoologiaeGenética – InstitutodeBiologia – UFPEL

Co-orientador

Prof. Dr. Charles Ferreira Martins

Departamento de Clínicas Veterinárias

Colaboradores

CarlaG.ÁvilaMoreira – Doutoranda-UFRGS

Ângelo Berwaldt – Graduando em Zootecnia UFPel

Lucas Sedrez – Graduando em Zootecnia UFPel

Naiana Perobelli –Graduanda em Medicina Veterinaria UFPel

Graduação

Grupo de Pesquisa Cavalo Crioulo

Rafaela Simões Pires Esteves Jacques

Pelotas-RS,Setembro/2015

2.1 CaracterizaçãodoProblema

Os excelentes resultados nas competições desportivas, bem como o mercado, são fatores que têm determinado intervenções humanas nos métodos de criação e seleção dos animais, sendo o melhoramento genético, constante.

Por essa seleção estar sendo feita em alta escala, a endogamia é uma realidade, o que proporciona fixação de características desejáveis, porém com possibilidade de adesão a outras indesejáveis. Tecnicamente a endogamia é constituída pela ancestralidade comum entre pares de acasalamento.

Quando se estuda o padrão de herança das anomalias, recessivas por exemplo, enfatiza-se que, entre os indivíduos afetados por elas, a porcentagem dos que são filhos de casais consanguíneos pode atingir valores muito altos, porque tais casais têm maior probabilidade de gerar filhos homozigotos do que os não-consanguíneos.

Com isso, decisões empíricas e a falta de análises das alterações odontológicas em cavalos Crioulos limitam essa seleção. Por muitas vezes um animal com baixo desempenho é excluído, sendo que seu problema não era funcionalidade e sim dor causada por alterações odontológicas.

2.2 ObjetivoseMetas

ObjetivoGeral:

- **Objetivo Geral:** Estabelecer características odontológicas específicas associadas à genética em cavalos Crioulos.

Responder questões como:

- Quais as principais alterações odontológicas encontradas em determinadas linhagens?
- A consanguinidade propicia maior número de alterações odontológicas? Alterações mais específicas?
- Verificar se a prevalência do dente de lobo tem relação com a linhagem genética.

Objetivos específicos:

- Identificar fatores que possam interferir na prevalência de dente de lobo em equinos da raça Crioula;
- Identificar se existe alguma relação entre a presença de dente de lobo e a consanguinidade;
- Verificar se existe polimorfismo no gene homeobox *MSX1* e se este polimorfismo possui relação com a presença de dente de lobo;

Metas

- Coletar e realizar exames odontológicos em pelo menos 400 amostras de equinos da raça Crioulo, representando as diversas linhagens presentes na raça.
- Obter as estimativas dos coeficientes de consanguinidade dos animais amostrados que permitam avaliar a influencia na presença ou ausência do dente de lobo.
- Realizar em uma sub-amostra, composta por animais com e sem dente de lobo, a amplificação dos exons do gene *MSX1* para busca de polimorfismo neste

gene. Na ocorrência de polimorfismo verificar se existe relação com a presença de dente de lobo;

Hipótese:

- O nível de consanguinidade afeta a percentagem de alterações odontológicas do tipo dente de lobo em equinos da raça Crioula;
- O primeiro pré-molar possui genes determinantes semelhante aos humanos.

2.3 Metodologia

População experimental

Serão utilizados para este estudo, equinos da raça Crioula, de diferentes criatórios do Brasil e países vizinhos (Uruguai, Argentina e Paraguai), no período de um ano (12 meses). Todos os animais serão avaliados em exame odontológico completo.

Avaliação Odontológica

A obtenção dos dados odontológicos será dada por meio de avaliação odontológica extra-oral, através da inspeção e palpação das estruturas ósseas, musculares e articulares

A avaliação interna sem o auxílio de um “abre-boca” será realizada levantando os lábios com suavidade de forma a permitir a inspeção dos incisivos e caninos.

Segundo a técnica, a língua é puxada cuidadosamente para um dos lados através do diastema onde é então segura. Este procedimento vai fazer com que o animal mantenha a boca aberta, permitindo a utilização de uma fonte de luz para melhor visualização da cavidade oral e evitando que o cavalo morda o operador. A mão livre será posteriormente inserida do lado oposto ao que se encontra a língua entre as arcadas dentárias e a bochecha, sendo os quatro quadrantes inspecionados (TRIADAN) para presença de lesões, defeitos anatômicos presentes, anormalidades ou a integridade de tecidos moles e duros (ROSE, 2000; LEÓN MARIN, 2002).

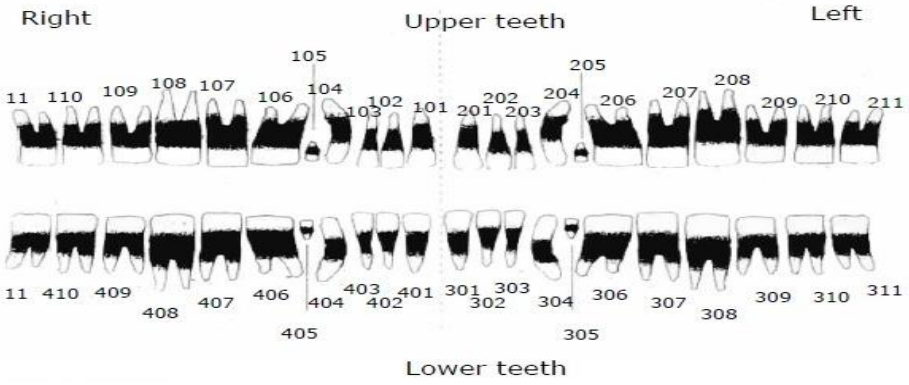


Figura 1. Sistema Triadan modificado para a nomeclatura dental.

Fonte: Dixon, 2002.

Animais que não permitam o exame sem o abre bocas, serão sedados, utilizando Xilazina 10% na dose de 0,5-1mg/kg ou Cloridrato de Detomidina 10% na

dose de 0,02-0,04mg/kg, e a cabeça suspensa por uma cabeçada odontológica ou muleta, com o abridor de boca tipo McPherson (Baker & Easley, 2002), com uso de um espelho odontológico e o foco de luz, será realizada avaliação completa da cavidade oral, buscando as mesmas alterações do exame sem “abre bocas”.

Após o término da avaliação odontológica, os animais serão registrados em fichas individuais, constando as alterações encontradas e sua genealogia (quinta geração).

AVALIAÇÃO ODONTOLÓGICA EQUINA
CAVALO CRIOULO

NOME:
FINALIDADE: | IDADE: | PELAGEM: | SEXO:
DATA: | LOCAL:
TREINADOR: | TELEFONE:
PROPRIETÁRIO: | TELEFONE:
TREINAMENTO:
HISTÓRICO:
( ) NUTRICIONAL: | ( ) DERRUBA COMIDA / MASTIGACAO ANORMAL, LENTA
( ) CÓLICA RECENTE/FREQUENTEMENTE | ( ) REAÇÃO EMBOCADURA:
( ) INAPETENCIA | ( )
TRANQUILIZANTES
DOSE: | VIA: | EFEITO:
DOSE: | VIA: | EFEITO:
DOSE: | VIA: | EFEITO:
DENTE DE LOBO
ELEMENTOS: | INCLUSOS:
EXTRACAO:
INCISIVOS
DIASTEMA
PROJECAO
PROGNATISMO/BRAQUIGNATISMO
AGENESIA
RAIOX -
DIASTEMA
OCLUSAO ANORMAL
AGENESIA
GANCHO CAUDAL
GANCHO ROSTRAL
IDENTIFICACAO
AMOSTRA DE SANGUE:
GRAU DE CONSANGUISNIDADE:
INTERPRETAÇÃO GENEALOGIA:

Figura 2. Ficha individual para identificação das alterações odontológicas.

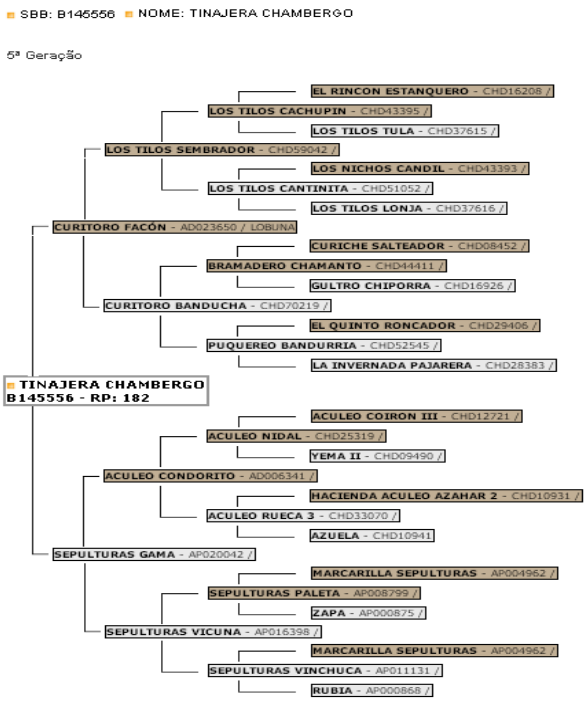


Figura 3. Genealogia individual (5 gerações). Fonte: ABCCC

Para caracterização da presença ou não de uma determinante genético, serão coletadas amostras de sangue total em tubos vacuntainner com EDTA.

O DNA será extraído a partir de sangue periférico usando o kit Axygen DNA blood (Axygen USA). A checagem da quantidade e qualidade será realizado através de gel de agarose corado com Gelred e visualizado em transluminador de luz branca Darkreader (Clarechemical, USA).

A consanguinidade será obtida através da análise da genealogia obtida junto a ABCCC e utilizando a metodologia definida no programa Pedigreeviwer V.4.6.5b (Kinghorn, 2011).

Serão avaliadas as seguintes alterações odontológicas:

Articulação têmporo-mandibular: avaliação bilateral, simetria, aumento de volume, sensibilidade, mobilidade lateral, cranial e caudal.

Incisivos: ausência de algum elemento dentário (oligodontia), alinhamento de oclusão, diastema entre os dentes, projeção odontológica, braquignatismo, prognatismo e angulação.

Caninos: presença dos elementos dentários ou inclusão, localização e tamanho.

Pré-molares e molares: presença de alterações de oclusão (ganchos), ausência de dentes (oligodontia), diastema dental, ângulo de oclusão, com avaliação bilateral.

Presença do primeiro pré-molar: também chamado de “dente de lobo”’, verificando a presença e localização.

Genealogia

Após o término das avaliações odontológicas, os dados de alterações serão comparados com graus de consanguinidade e origens genealógicas, determinando linhagens conforme o percentual de determinados garanhões importantes na formação da raça Crioula.

Juntamente serão associados genes determinantes às características alterações odontológicas.

Análise de Associação

As características a serem utilizadas nas análises estatísticas serão as alterações odontológicas citadas anteriormente. As alterações são de característica binária, sendo que os animais que serão diagnosticados com a presença da alteração recebem o valor 1 e, com ausência, valor 0.

As frequências alélicas e genotípicas para cada polimorfismo serão calculadas de acordo com Weir (1996).

Embora as características tenham distribuição binária, modelos lineares têm sido utilizados para sua análise, em função da maior facilidade de implementação einterpretação dos resultados. Desta forma, para verificar a associação entre cada marcador e a cada característica de interesse serão realizados estudos considerando um modelo linear misto utilizando-se programas estatísticos apropriados, incluindo no modelo os efeitos classificatórios linhagem e nível de consanguinidade. Associações significativas serão consideradas quando os valores de P para linhagem e/ou nível de consanguinidade forem inferiores à 0,05, para uma dada característica.

2.4 ResultadoseImpactosesperados

Contribuição científica

Ao final deste estudo, após todas as etapas cumpridas, espera-se que os resultados obtidos sirvam como ferramenta objetiva de auxílio a técnicos, ginetes e criadores na seleção genética que visa selecionar melhores indivíduos, com melhor saúde oral, sem alterações naturais, prevenindo problemas e sobretudo, para que estes indivíduos tenham maior longevidade, assim com superior desempenho funcional para raça Crioula.

Contribuição Tecnológica

Criação de vídeos e maquetes informativos/educativos a partir dos resultados do estudo. Também a realização de simpósios envolvendo profissionais (Zootecnistas, Médicos Veterinários, Ginetes e Técnicos) atuantes na área, difundindo a importância da odontologia equina no manejo nutricional, reprodutivo e a influência dos resultados no cotidiano equestre.

Resultados esperados:

No final do projeto espera-se obter informação sobre a prevalência de alterações dentárias, em especial do dente de lobo, na raça Crioula. Ao mesmo tempo espera-se estabelecer as relações entre fatores ambientais ou genéticos sobre a incidência de dente de lobo nesta raça.

2.5 CronogramadoProjeto

Tabela 1. Cronograma de atividades a realizar em um período de 12 meses.

Atividade	2013						2014				
	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M
Revisão bibliográfica	X	x	X	x	x	x	x	X	x	x	X
Seleção dos animais	X	x	X	x	x	x	x	X			
Exames odontológicos	X	x	X	x	x	x	x	X			
Escore corporal	X	x	X	x	x	x	x	X			
Pesagem	X	x	X	x	x	x	x	X			
Análise da genealogia	X	x	X	x	x	x	x	X	X		
Análise de dados					x					x	
Realização de vídeos e maquetes	X	x	X	x	x	x	x	X	x		
Realização de simpósios					x						X
Preparação do artigo			X	x					X	x	
Submissão do artigo					x						X

2.6 AspectosÉticos

Todos os procedimentos que serão realizados com os animais estarão de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Esta proposta científica será encaminhada ao COCEPE, estando aprovado pela Comissão de ética em experimentação animal (CEEA) da Universidade Federal de Pelotas.

2.7 ReferênciasBibliográficas

BAKER, G.J; EASLEY, J. Odontologia Equina. **Editora Intermédica**, p. 191-193; p20-21, 2002.

KINGHORN, B.P. An algorithm for efficient constrained mate selection **Genetics Selection Evolution**, vol., 43 n.4, p.1-9, 2011.

LEON MARÍN, R. Introducción prática a la odontología. ***Equinus*****,** II (2), 13-17, 2002.

ROSE, R.J; HODGSON, D. R. Manual of equine practice. (Second edition). **USA: Saunders**, 2000.

WEIR, B.R; Genetic Data Analisys II: Methods for Discrete Population Genetic Data .**University of Washington**, 1996.

2. Revisão de Literatura

3.1 O Cavalo crioulo

O cavalo crioulo é um dos ícones do Rio Grande do Sul devido a sua fama e importância histórica para o estado. Para exemplificar este fato, foi sancionado em 2002 o projeto de lei 11.826/02 da Assembléia Legislativa do Rio Grande do Sul, o qual incluiu o cavalo Crioulo como animal símbolo do Estado.Relacionando as atividades da raça crioula dentro do complexo agroindustrial do cavalo, ela participa de todos os aspectos relacionados e em todas as dimensões (antes, dentro e pós-porteira), principalmente no sul do Brasil onde quase metade da população equina é da raça crioula(Mattos et al., 2010).

O cavalo Crioulo tem sua origem nos equinos Andaluz e Jacas espanhóis, trazidos da península ibérica no século XVI pelos colonizadores (ABCCC,2015).

Figura 4. Cavalo Andaluz. Fonte: http://ritaturfe.blogspot.com.br/2010/10/andaluz-cavalo-andaluz.html

Figura 5. Cavalo Jaca espanhol.Fonte:https://sites.google.com/site/zaldienmundua/caballo?mobile=true

Após a chegada a América estes cavalos se disseminaram a partir da Ilha de São Domingos, hoje Republica Dominicana para Panamá, Colombia Chile e Argentina.Este processo durou todo o século XVI. Somente no século XVII é que os cavalos perdidos e abandonados ao longo de todo o território americano do sul, incluindo o Rio Grande do Sul, passaram a viver livres em manadas.Muitos destes animais trazidos por estas comitivas a partir do século XVII acabavam extraviando-se, passando então a se criar livremente nas planícies da região sul do continente americano vivendo em estado selvagem por cerca de quatro séculos. As duras condições climáticas impostas e toda a dificuldade por encontrar alimento e abrigo acabaram criando, através da seleção natural, uma raça notavelmente resistente à alta amplitude térmica, à secae à falta de alimento. (ABCCC, 2015).

Assim é que a raça Crioula foi moldada: em um ambiente hostil, onde só os mais fortes sobreviviam e conseguiam passar seus genes para as futuras gerações. Em meados do século XIX, após este período evolutivo, os fazendeiros do sul da América começaram a tomar consciência da importância e da qualidade dos cavalos Crioulos que vagavam por suas terras. Então, esta nova raça, bem definida e com características próprias, passou a ser preservada, vindo a ganhar notoriedade mundial a partir do século XX, quando várias associações foram criadas para exaltar e comprovar o valor do cavalo Crioulo. (ABCCC, 2015).

Em 1932, foi fundada a Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos - ABCCC, com a missão de preservar e difundir o cavalo Crioulo no país. Cinquenta anos depois, a prova do Freio de Ouro veio para ficar, tornando-se uma importante ferramenta de seleção, uma vez que motivou a otimização da raça, tanto morfológica quanto funcionalmente. A transmissão da prova pela televisão aumentou a visibilidade do cavalo Crioulo, cujo universo movimenta anualmente R$ 1,28 bilhão. Hoje são mais de 300 mil animais distribuídos em 100% do território nacional(ABCCC, 2014).

Figura 6. Cavalo Crioulo. Fonte: Arquivo pessoal

Conhecido como “o pequeno grande cavalo das Américas”, o Crioulo é um equino caracterizado pela silhueta harmônica e pelo equilíbrio perfeito. a cabeça curta, triangular, de perfil reto ou subconvexo; as orelhas curtas bem separadas, amplas em sua base e pouco perfiladas; o pescoço erguido, a garupa pouco inclinada e o temperamento ativo; a abundância de crinas e cola; o aspecto “baixo e forte” e o caráter tranquilo de seus antepassados europeus.Seu padrão racial admite praticamente todos os tipos de pelagens, exceto pintada e albina total. O peso varia entre 400 e 450 quilos e a altura mínima admitida para as fêmeas é de 1,38 metro e nos machos de 1,40 metro, já a máxima para fêmeas é 1,48 metro e para machos é de 1,50 metro (ABCCC2013).

	Alçada		Torax (perímetro)	Canela (perímetro)
	Min.	Max.	Min.*	Min.*
Machos	1,40	1,50	1,68	0,18
Fêmeas	1,38	1,48	1,70	0,17
Castrado	1,38	1,50	1,68	0,18

* não existe máximo estabelecido

Figura 7. Medidas mínimas e máximas referentes ao padrão da raça Crioula. Fonte: ABCCC, 2013

Apesar da beleza e do temperamento dócil, sua rusticidade, facilidade de adaptação e resistência são algumas das características mais marcantes. O cavalo Crioulo é um animal de coragem, ativo, bondoso, inteligente, longevo, e hoje comprovadamente versátil, pois se destaca em todas as exigências que lhe são impostas (ABCCC,2015).

3.2 A Criação

Várias condições favorecem a obtenção de bons equinos. Em primeiro lugar, devemos citar a potencialidade genética. Pouco adianta o conhecimento de um longo pedigree. Os elementos que dispomos para avaliar o genótipo de um produto nascido ou a nascer devem ser baseados na avaliação das qualidades dos seus parentes mais próximos – pais, avós, irmãos e meio-irmãos, que já tenham completado seu desenvolvimento e tenham sido utilizados. A probabilidade de um animal ser muito melhor ou pior que estes parentes é pequena na prática, a menos que recebam melhor ou pior tratamento (TORRES & JARDIM, 1979).

Para Torres & Jardim (1979), a criação de cavalos deveria processar-se de maneira natural, inteiramente a campo, pois estes animais poderiam encontrar nas pastagens não só o alimento necessário para seu crescimento normal, como as demais condições para se desenvolverem de maneira saudável, contudo algumas criações, devido ao alto valor zootécnico, e para lhe dar maior assistência, estabulam esses animais durante algumas horas ou fases da sua vida.

Figura 8. Criação de cavalos Crioulos localizada no município de Jaguarão-RS.
Fonte: Arquivo Pessoal

O desenvolvimento de alterações odontológicas adquiridas está largamente atribuído à domesticação, associada ao fornecimento de alimentos concentrados, que é marcado pela redução do tempo de mastigação desses alimentos pelos equinos. Tal tempo, em equinos mantidos a pasto (ambiente natural), chega a ser, normalmente, maior do que 18 horas por dia. A ingestão de grãos de alta energia promove um movimento de mandíbula mais vertical do que lateral e isto promove o desenvolvimento de pontas dentárias (DIXON & DACRE, 2005; THOMASSIAN, 2005).

Segundo Dacre (2006a), a natureza do material mastigado, juntamente com outros fatores tais como a existência de processos dolorosos, o tempo de mastigação e as características físicas dos dentes, ditam a intensidade e o movimento das forças exercidas entre as duas superfícies oclusais, conduzindo a uma maior ou menor taxa de desgaste oclusal devida ao atrito. Este fenômeno pode incitar o aparecimento de alterações dentárias que, ao progredirem provocam danos severos nos tecidos adjacentes.

Estas alterações odontológicas têm também sido associadas à perda de peso e à diminuição do desempenho desportivo do animal afetado como consequência da diminuição da ingestão de alimento devido às dificuldades mastigatórias (DACRE, 2006c).

De acordo com a literatura, os fatores genéticos são claramente predominantes durante a morfogênese craniofacial embriológica, enquanto o ambiente é o principal fator quando se considera a morfologia dentofacial pós-natal, particularmente durante o crescimento da face (DOHMOTO et al, 2002).

Várias malformações do crânio, face, dos ossos maxilares e dentes têm tido sua etiologia ligada a fatores genéticos. Poderíamos citar alguns exemplos como: displasia ectodérmica fissuras palatinas, prognatismo mandibular, anadontias (KERE et al, 1996; YAMAGUCHI et al, 2005).

3.3 Consanguinidade

Para Ivers (1994), todas as coisas vivas são capazes de adaptar-se fisicamente ao seu ambiente. Em algumas espécies, não ocorre somente umaadaptação individual, mas uma adaptação genética imediata é possível.

Dentre os métodos de seleção, a **seleção por pedigree** caracteriza-se por selecionar indivíduos considerando o desempenho dos pais, avós e ancestrais mais distantes. As limitações deste método de seleção, de não proporcionar informação do indivíduo, diminui a sua utilização ou direciona o seu uso a situações especificas, sendo isto o principal motivo para ser inutilizado quando se tem outras fontes de informação disponíveis (MOREIRA et al., 2013). Esta metodologia é usada quando se quer avaliar o desempenho de animais juvenis que ainda não possuem informação sobre seu comportamento produtivo (GJEDREM & BARANSKI, 2009). Embora o indivíduoherde metade do material genético de cada um dos seus progenitores pelo efeito da segregação mendeliana, pode existir variação entre a prole diminuindo a precisão do método (FJALESTAD, 2005).

A **seleção por família** refere-se ao método de seleção que se realiza mediante um ranking das famílias que estão sendo avaliadas segundo odesempenho de cada família, sendo descartada ou armazenada a família completa (FJALESTAD, 2005). Este tipo de metodologias é implementada em análises de características que não podem ser medidas em indivíduos vivos tais como qualidade da carne. Uma das desvantagens deste método é o efeito do ambiente comum de cada família. Este ambiente sendo muito diferente entre as famílias pode favorecer ou prejudicar um grupo de animais específico. Outro atributo que deve ser cumprido para poder executar este tipo de métodos é o conhecimento do parentesco de cada indivíduo,

portanto é importante manter registros adequados do pedigree e identificação individual, incrementando o custo da metodologia (GJEDREM & BARANSKI, 2009). Variáveis como o tamanho da família (n), o grau de parentesco (irmãos completos e/ou meios irmãos) e o efeito ambiental comum entre as famílias também devem ser considerados (FJALESTAD, 2005).

A seleção dentro de família é quanto se desvia a média individual da média da família que pertence, sendo contraria ao método anterior (seleção por família) (FJALESTAD, 2005). Este método ignora o valor médio da família, sendo de interesse quando o efeito ambiental comum é grande. Além disso, este método permite diminuir o aumento da consanguinidade sendo aplicável somente para características que são medidas em animais vivos (GJEDREM & BARANSKI, 2009).

A metodologia de seleção combina toda a informação disponível de um indivíduo, seus irmãos completos, meios irmãos, prole e parentes com a finalidade de maximizar a eficácia na estimação dos valores de criação e obtenção de indivíduos superiores.Estes valores de criação podem ser fortemente reduzidos quando o efeito ambiental comum entre irmãos completos aumenta. Destacando a importância da padronização do meio ambiente durante o período da análise (DA COSTA et al., 2000; GJEDREM & BARANSKI, 2009).

Segundo Fjalestad (2005), a seleção individual se baseia no fenótipo ou desempenho individual, este método é amplamente utilizado nos sistemas de criação animal. Este mesmo autor descreve o método como uma metodologia fácil de ser aplicada e em muitas circunstâncias produz respostas muito rápidas. Apesar das vantagens anteriormente mencionadas pelo autor, cabe ressaltar que este método de seleção é inadequado quando se utiliza sistemas de produção com grande variação ambiental ou baixa uniformidade dos lotes. A intensidade da seleção realizada nos sistemas de criação pode levar a um acumulo indesejado da consanguinidade, isto é explicado no fato dos pedigrees não serem conhecidos facilitando o acasalamento de indivíduos aparentados (MOREIRA et al., 2013).

A consanguinidade é o método de acasalamento que consiste na união entre indivíduos parentes, que são geneticamente semelhantes. Quando os pais de um indivíduo possuem um ou mais ancestrais em comum, isto é, são parentes, diz-se que o animal é consanguíneo. O resultado deste acasalamento entre indivíduos consanguíneos é o aumento da homozigose. Os acasalamentos consanguíneos aumentam a fração da homozigose decorrente da autozigose (quando a homozigose

é consequência de genes idênticos por descendência) e diminuem a heterozigose da população. Portanto, dois parentes possuem maior probabilidade de apresentarem entre si maior percentagem de alelos idênticos por descendência. Consequentemente, o acasalamento de indivíduo geneticamente semelhante aumenta a probabilidade de que diferentes lócus alcançarem o estado homozigótico (LOBO & VILLELA, 2005).

O efeito fundamental da consanguinidade é aumentar a homozigose e, consequentemente, provocar o decréscimo da heterozigose da população. Essa alteração é quantificada pelo coeficiente de consanguinidade ou endogamia (*F*), definido como a probabilidade de que o indivíduo seja autozigótico para os loci considerados (LOBO & VILLELA, 2005).

Em avaliação endogâmica feita com animais da raça Mangalarga Marchador, utilizando arquivo contendo 2.186 informações de parentesco, gerados em 55 anos de existência de uma determinada fazenda, os resultados mostraram que baixos níveis de endogamia impactam significativamente nas características morfométricas. Acasalamentos planejados mantêm a endogamia em níveis baixos, evitando efeitos desfavoráveis (GONÇALVES et al., 2012).

Devido ao aumento da homozigose, a consanguinidade permite apurar geneticamente os animais, sendo importante para a fixação e refinamento do tipo desejado. O aumento da homozigose ocorre tanto para alelos dominantes, quanto para alelos recessivos. Quando a homozigose ocorre para alelos dominantes, os indivíduos assim obtidos, quando acasalados com outros não consanguíneos, tendem a imprimir com maior intensidade suas características. A endogamia permite que a seleção para a separação da população em famílias diferentes, facilitando a eliminação das piores, seja mais eficiente. Isto pode contribuir para a formação de linhagens consanguíneas distintas que, quando acasaladas, contribuem para aumentar a heterose em características econômicas. Por outro lado, apura tanto as qualidades, quanto os defeitos. Os efeitos desfavoráveis da consanguinidade são caracterizados pela redução geral da fertilidade, sobrevivência e vigor dos animais (LOBO & VILLELA, 2005).

Segundo Beiguelman (2008), em humanos, o parentesco genético entre dois seres pode ser medido por intermédio da probabilidade de eles terem alelos idênticos, herdados de um ancestral comum a ambos, independentemente de tais genes condicionarem fenótipos dominantes ou recessivos, normais ou anômalos. Essa medida do parentesco, ou da correlação genética entre dois indivíduos, é denominada

coeficiente de consanguinidade (*f*) ou coeficiente de parentesco dos pais e, geralmente, indicada pela letra *r*, inicial da palavra inglesa *relationship* = parentesco. A indicação do cálculo do coeficiente de consanguinidade pode ser resumida pela fórmula $r = \sum (1/2)^n$, na qual n é o número de passos que unem dois consanguíneos a um ancestral comum.

Usando o mesmo raciocínio para parentes consanguíneos colaterais com outros graus de consanguinidade concluímos que o coeficiente de consanguinidade de irmãos é ¼ ; de tios e sobrinhos é igual ao de meio-irmãos ou de primos duplos em primeiro grau, isto é, 1/8; de tios e meio-sobrinhos é 1/16, como no caso de primos em primeiro grau; de primos em segundo grau é 1/16; de primos em terceiro grau é 1/32; e assim por diante (BEIGUELMAN, 2008).

Para estudar o comportamento genético das populações ou linhas é importante conhecer a variabilidade genética delas através da caracterização genética que é utilizada como uma alternativa na quantificação e otimização desta variabilidade (MENEZES, 2005). Sendo importante pois as metodologias de reprodução em cativeiro nos sistemas de produção, assim como a introdução das linhagens podem influenciar esta variabilidade (MASSAGO et al., 2009). As variações podem acontecer por vários motivos, especificamente são duas opções, a primeira, produto de pequenas modificações por alterações em poucos nucleotídeos, ou seja a substituição de uma base nitrogenada por outra e a segunda é o resultado direto ou indireto de inserções ou deleções de um ou vários nucleotídeos numa porção de DNA (BARNES& BREEN, 2010).

As variações genéticas podem ser estudadas através de diversas técnicas moleculares, com a finalidade de oferecer informação sobre a distância genética entre indivíduos e com isto orientar o acasalamento de animais menos similares geneticamente (MENEZES, 2005). Metodologias como os marcadores moleculares são utilizadas para avaliar o parentesco entre os indivíduos. Portanto, na ausência de pedigree os marcadores moleculares podem ser utilizados na seleção e orientação dos cruzamentos a serem realizados.

3.4 Odontologia

O cavalo moderno (*Equus caballus*) evoluiu do *Hyracotherium*, cujos dentes apresentavam pequeno desenvolvimento da coroa (sendo por isso designados braquiodontes). As grandes alterações climáticas sofridas durante o período neogênico provocaram enormes mudanças na vegetação, tornando-se mais abrasiva, exigindo um maior período de mastigação. Consequentemente, começaram a surgir modificações nos descendentes do *Hyracotherium* que se traduziram num aumento do comprimento dentário e prolongamento do tempo de erupção, que no cavalo atual dura cerca de 20 anos nos dentes permanentes (GORREL, 1997). Geneticamente, essa evolução pode ser definida como mudanças de frequências de genes ao longo das gerações o que representa que alguns indivíduos da população são geneticamente de maior qualidade que outros (PITCHER & MAYS, 2008).

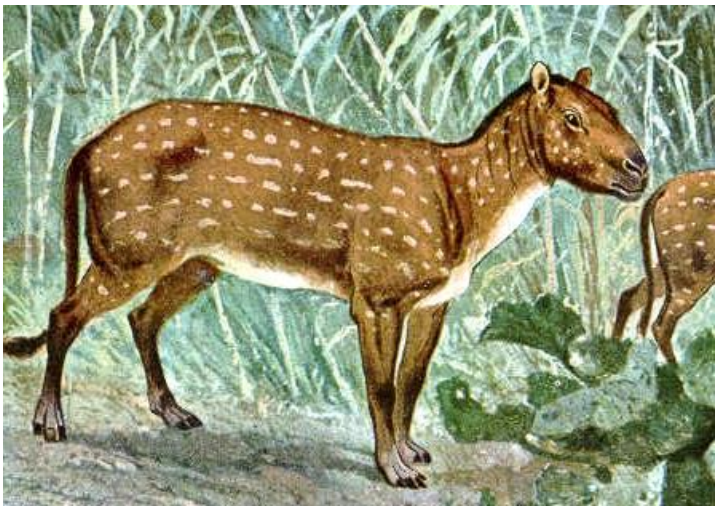


Figura 9. *Hyracotherium*. Fonte: Wikipédia

Devido ao fato de apresentarem raízes curtas e uma coroa longa que continua a erupcionar cerca de 2-3 mm por ano ao longo de toda a vida, os dentes dos equinos são classificados como hipsodontes. A velocidade de erupção é sensivelmente a mesma a que é feito o desgaste da face oclusal com exceção doscaninos e primeiros pré-molares ou “dentes de lobo” (KOBLUK et al, 1995; DIXON, 2000; DACRE, 2006b). Esta constante erupção ocorre para compensar o enorme desgaste a que a mesa dentária destes dentes está sujeita devido às necessidades de mastigação exigidas pela elevada quantidade de fibra que compõe a dieta destes animais (DIXON, 1997).

A utilização de uma nomenclatura dentária concisa facilita bastante a comunicação entre profissionais, permitindo a elaboração de registros precisos e uma

avaliação oral mais organizada. No sistema Triadan modificado, que é um sistema exclusivamente numérico, cada dente é descrito através de três dígitos. O primeiro refere-se ao quadrante, sendo a dentição permanente numerada de 1 a 4 (no sentido dos ponteiros do relógio), e a decídua de 5 a 8. Por exemplo: 1 identifica o quadrante superior direito de dentes permanentes, 7 identifica o quadrante inferior esquerdo de dentes decíduos. O segundo e terceiro dígitos desta nomenclatura identificam o dente dentro do respectivo quadrante, por exemplo, 1 identifica o primeiro incisivo e 11 o último molar (DIXON, 2000; TOIT, 2006; JOHNSON, 2006). Este sistema é o mais utilizado atualmente (LOWDER, 1998).

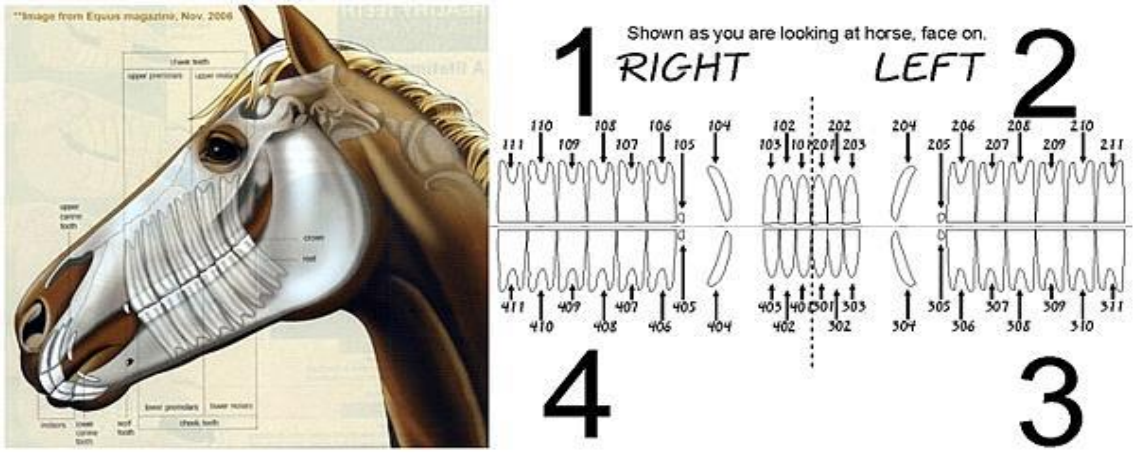


Figura 10. Sistema Modificado de Triadan para identificação dentária.
1-quadrante maxilar direito, 2- quadrante maxilar esquerdo, 3- quadrante mandibular esquerdo e 4- quadrante mandibulardireito.
Fonte:. Imagem modificada de *http://www.kznbreeders.co.za/Guest25.html*.

São vários os sinais clínicos apresentados por um equino com alterações na cavidade oral etendem a ser manifestados a nível da alimentação e docomportamento do animal quando montado ou aparelhado. Também se podem verificar outras alterações: deformações faciais, fístulas, corrimento nasal, sinusite, alterações a nível respiratório,presença de sangue na cavidade oral, problemas neurológicos, alterações na língua e infecçõesdo palato.As alterações a nível respiratório podem surgir como consequência de deformações ósseas nointerior das vias respiratórias devidas a tumores, infecções, retenção de pré-molares decíduos,entre outros. As deformações faciais maxilares e mandibulares aparecem comoconsequência da retenção de pré-molares temporários, tumores e traumatismos. As fístulasresultam habitualmente de infecções nos pré-molares e molares. A saída de corrimentounilateral mucopurulento pelas fossas nasais pode ser indicativa de infecções a nível dentário.O aparecimento

de sinusite pode dever-se a infecções nos quartos pré-molares e nos molares.A presença de sangue na cavidade oral quando o animal está montado ou quando come podeaparecer como consequência da presença de lesões. Podem também surgir ainda problemasneurológicos associados a alterações da articulação temporo-mandibular, como consequência de distúrbios a nível dentário. Alterações da língua como cortes ou cicatrizes e/ou infecçõesdo palato são também passíveis de ser encontradas (MANSO et al, 2002).

As alterações na alimentação costumam ser o primeiro indício da existência de patologia nacavidade oral. Vários comportamentos são evidenciados: o cavalo deixa de comer como consequência dedor insuportável e, consoante a alteração a que está sujeito, pode ter deixado de o fazer deforma repentina ou progressiva. Quando o faz de forma repentina os principais motivos são aretenção de dentes decíduos, feridas profundas, fraturas ósseas ou dentárias.O animal pode também continuar a alimentar-se, mas uma vez que as alterações lhe afetam amastigação, fazê-lo com dificuldade, ou seja, apresentando disfagia oral. Exibe movimentosestranhos com a cabeça, engole rapidamente a comida impropriamente mastigada ou opta portentar mastigar o alimento vagarosamente, seleciona apenas um tipo de alimento que lhe sejade mais fácil mastigação, molha a comida no bebedouro com o intuito de amolecer ou deixacair comida inteira ou semi-mastigada da boca. Uma outraevidência é o fato do equino nãoengordar proporcionalmente à quantidade de alimento que ingere, havendo um mauaproveitamento deste como consequência de uma mastigação pouco eficaz. Pode aindaverificar-se uma excessiva salivação durante a alimentação. Cólicas e outras alteraçõesdigestivas e metabólicas podem também ocorrer devido a complicações na mastigação.Alterações nas fezes resultantes das alterações digestivas ou halitose como consequência deinfecção na cavidade oral podem também estar presentes (MANSO et al, 2002).

Modificações de comportamento apresentadas pelo equino quando montado ou aparelhadosão também indicadoras do tipo de alteração presente na boca do animal uma vez que osmovimentos da cabeça e, consequentemente toda a biomecânica da locomoção, são alterados (MANSO et al., 2002).Quando montado o animal pode mostrar-se perturbado essencialmente devido a padrõesanormais de desgaste ao nível dos dentes pré-molares e molares que lesionam alíngua e a mucosa, e à presença de “dentes de lobo” ou caninos que entram em contato com aembocadura,provocando grande dor e desconforto.Como consequência destas

alteraçõesdentárias podem então ser observados certoscomportamentos por parte do equino tais como a execução de movimentos com a cabeça quepodem variar na intensidade e frequência com que ocorrem, a tendência a inclinar a cabeça,desviando-a sempre para o mesmo lado como resposta à alteração dentária, o baixorendimento desportivo como consequência da dor, a dificuldade em deixar-se controlar devido mais uma vez, à dor, a rejeição do freio ou do bridão em animais com lesões profundasda mucosa oral na zona das comissuras ou no diastema, a recusa em virar a cabeça para umdos lados como consequência da presença de pontas excessivas de esmalte nos pré-molarese/ou molares, de “dentes de lobo” e/ou de ganchos (entre outros) que lesionam a mucosa.Outras alterações como dificuldade em flexionar e esticar o pescoço, o que pode provocar dor nodorso e consequentemente dificultar a movimentação dos membros são também passíveis deser encontradas. É ainda também frequente amovimentação assimétrica dos membros comoconsequência do desequilíbrio resultante das alterações na mobilidade da cabeça e pescoço. Também podem ser verificadas mudanças temperamento do animal, apresentando-se nervoso reagindo mal à tentativa de aparelhamento e chegando mesmo a impedir o contato físico (MANSO et al, 2002).

Em humanos é comprovado que a morfologia dentária obedece um padrão genético. As anomalias de tamanho dentário, representadas pelas macros e microdontias, podem gerar mal oclusões como apinhamentos e diastemas por exemplo (URSI, 1988). O papel da hereditariedade no estudo da má oclusãoem gêmeos idênticos (monozigóticos) também representa significante importância na determinação das características morfológicas e dento-faciais. Os estudos de LUNDSTRÖM (1984) revelaram que gêmeos idênticos geralmente apresentam a mesma má oclusão, o que não ocorre necessariamente nos gêmeos heterozigóticos.

Segundo Alves (2004), o Brasil possui o segundo maior rebanho equino do mundo com aproximadamente sete milhões de animais. É possível que menos de 1% receba algum tipo de cuidado odontológico. Apesar de utópico, o ideal seria que todo equino dispusesse de assistência médica preventiva, incluindo a odontológica. Contudo, a realidade é que diversas outras emergências são prioritárias, o que não implica proferir que os cuidados com os dentes constituem medidas dispensáveis. Pelo contrário, cuidados dentários de preferência preventivos, denotam zelo pelo patrimônio, evitando prejuízos diversos.

3.5 Má oclusões

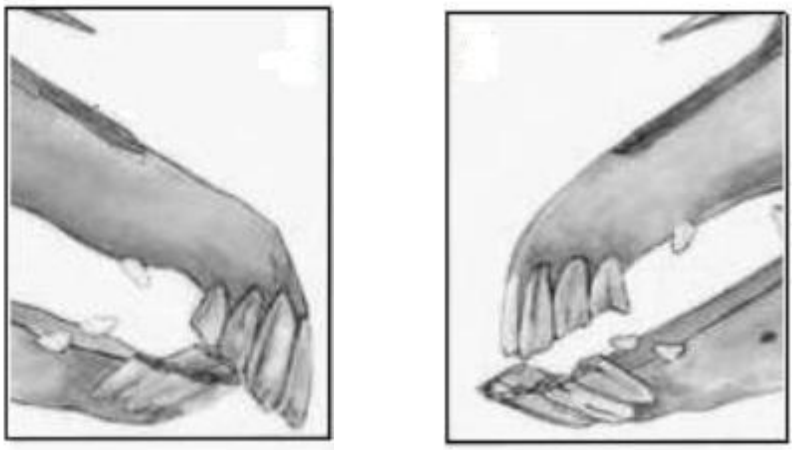
Oclusão é o contato entre os dentes superiores e inferiores. A oclusão normal é o relacionamento ou o encaixe correto entre os dentes da arcada superior e os dentes da arcada inferior. As más oclusões que derivam da conformação óssea das arcadas podem ser genéticas, adquiridas ou surgir durante o desenvolvimento, não tendo necessariamente que ser hereditárias. Quando discretas, podem não apresentar repercussões na mastigação, no entanto, estes desalinhamentos estão habitualmente associados a alterações do padrão mastigatório de outros dentes, o que faz realçar a importância dos cuidados odontológicos com o equino. (JOHNSON & PORTER, 2006).

Em humanos, a etiologia das más oclusões torna-se polêmica, uma vez que toda má oclusão apresenta uma origem multifatorial e não uma única causa específica. Uma interação de vários fatores pode influenciar o crescimento e o desenvolvimento dos maxilares suscitando em más oclusões (MOYERS, 1979). Segundo Ferreira (1996), a hereditariedade constitui um dos principais fatores etiológicos pré-natais das más oclusões. O padrão de crescimento e desenvolvimento sofre forte influência dos fatores hereditários. Existem certas características raciais e familiares que podem comprometer a morfologia dentofacial de um indivíduo.

Profissionais da odontologia humana, afirmam que as anomalias de tamanho dentário por associarem-se à hereditariedade são facilmente diagnosticadas clinicamente e por meio da história familiar (anamnese), descartando a necessidade de averiguações em tabelas específicas. As anomalias de forma, que se encontram intimamente relacionadas às anomalias de tamanho, também são determinadas principalmente pela herança e interferem diretamente na oclusão do portador (FERREIRA, 1996; GRABER, 1980).

Em humanos, outro fator hereditário que contribui para o desencadeamento de uma má oclusão é a miscigenação racial. Nas populações raciais homogêneas (grupos geneticamente puros) quase não se observa má oclusão, enquanto que nos grupos que apresentam grande miscigenação racial a prevalência de más oclusões aumenta substancialmente. O tipo facial hereditário também influencia na determinação das características dentofacias e representa um importante fator etiológico de algumas más oclusões (GRABER, 1980).

Das enfermidades orais que acometem os equinos, as ocorrências dentárias são de maior importância na prática veterinária equina. Além disso, estudos *post mortem* têm demonstrado achados significativos, de problemas dentários não diagnosticados em equinos (DIXON & DACRE, 2005). Neste contexto, estas afecções incluem principalmente tumores, cistos dentários, fendas palatinas e problemas de oclusão como braquignatismo e prognatismo (OMURA, 2009).



A B

Figura 11. A- Braquignatismo. B- Prognatismo. Fonte: Johnson & Porter, (2006)

Os problemas dentários podem comprometer a saúde e o bem-estar dos cavalos, para além de poderem influenciar negativamente a sua performance e produtividade (ALLEN, 2003). Na maioria das disciplinas equestres, os cavalos utilizam embocaduras próprias necessárias para a sua condução e controle. Para um animal responder corretamente a pressões sutis, feitas na embocadura, através das rédeas, pelo cavaleiro ou condutor, tem de ter uma dentição saudável e uma cavidade oral sem problemas (GEOR et al., 2004).

A embocadura e as rédeas são usadas há mais de 5.000 anos para transmitir os comandos do treinador ao cavalo. Apesar da grande variedade de embocaduras, podemos considerar que os dois tipos principais utilizados são o bridão e o freio. Dependendo do tipo de embocadura usada, uma ação nas rédeas pode provocar pressão na língua, no palato duro, nas barras, lábios, chanfro ou nuca. Não é apenas a embocadura que controla a condução do animal. Os *hackamores*, focinheiras e outros acessórios, auxiliam a ação da embocadura, colocando pressão na face (GEOR et al., 2004).

Nos cavalos, montados ou engatados, os problemas dentários que causam dor, como a presença de pequenas áreas afiadas de esmalte no bordo labial dos dentes pré-molares ou molares (pontas), ou que limitam o movimento rostro-caudal da mandíbula, como o alongamento do esmalte nas margens mesial e distal (ganchos) dos dentes pré-molares ou molares, respectivamente, podem afetar a performance desportiva de várias formas. As manifestações de dor são variáveis, incluindo, normalmente, mastigar na embocadura, colocar a língua para fora da boca enquanto são treinados, abanar frequente da cabeça ou pendura-la par a um dos lados. Como consequência da dor, o cavalo exibe resistência à embocadura, recusa à ordem de paragem, relutância ou inabilidade para executar exercícios que requeiram flexão da nuca, desobedecendo às ordens do cavaleiro, comportamentos associados ao abanar repetido da cauda, a andamentos rígidos e inclusivamente a claudicações (ALLEN, 2003).

A falta de reconhecimento da patologia dentária como causa destes problemas comportamentais em cavalos jovens poderá estar na origem de dificuldades no treino e performance para toda a vida do animal. Num estudo realizado por Allen (2003), a performance atlética e a resposta positiva ao treino melhoraram em todos os animais estudados, após o primeiro tratamento de odontologia, que incluiu a remoção de pontas afiadas de esmalte e correção de desalinhamentos. A resposta à criação do *bit seat*, isto é, o arredondamento da margem mesial do segundo pré-molar, para que a embocadura tenha a colocação mais correta, foi também muito positiva, tendo 60% dos cavalos tratados melhorado a sua performance.

Em resumo, a resolução dos problemas dentários que causam dor ou que interferem com a função normal dos dentes e estruturas adjacentes, é fundamental para aumentar a performance dos equinos (ALLEN, 2003).

3.6 Dente de Lobo

O primeiro pré-molar é habitualmente chamado “dente de lobo”. Este é um pequeno dente vestigial sem precursor decíduo, cujo tamanho, forma e localização são bastante variáveis e que apenas possui o remanescente de uma raiz. Nem todos os equinos possuem estes dentes. Embora o número destes possa variar num

indivíduo entre um e quatro, o mais comum é a presença de um ou dois na arcada superior. Os “dentes de lobo” podem ser facilmente visualizados após terem erupcionado. Quando inclusos podem ser facilmente palpados, no entanto, o recurso de radiografias pode ser importante na medida em que esclarece relativamente ao tamanho e à forma da raiz (KRELING, 2003; SCUTCHFIELD, 2006).

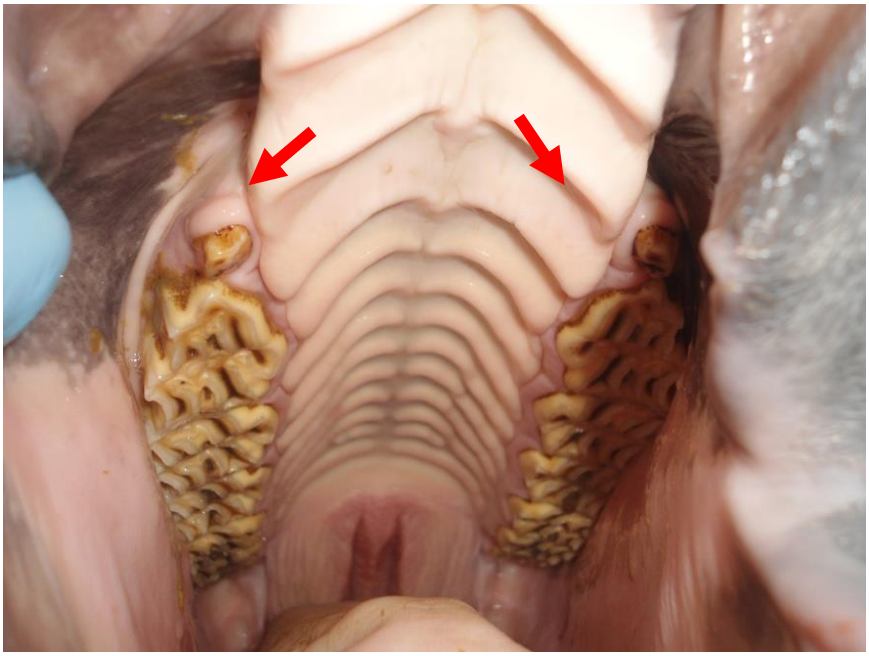


Figura 12. Dente de lobo (seta). Fonte: Arquivo pessoal.

Segundo Scrutchfield (2006), a sua posição, geralmente 1-2 cm rostralmente ao segundo pré-molar, torna-os passíveis de entrar em contato com a embocadura, o que habitualmente resulta em alterações do desempenho desportivo e no desenvolvimento de lesões da língua. Há ainda relatos de “dentes de lobo” que se soltam ou infectam, provocando alterações de comportamento quando o cavalo se encontra aparelhado. Reed e Bayly (2000), afirmam que os dentes-de-lobo não costumam existir e quando presentes se restringem a arcada superior, com uma incidência de 20% em equinos da raça Puro Sangue Inglês. Valor muito superior de incidência de dente de lobo em PSI foi observado por Fernandes-filho et al. (2014), onde uma percentagem de 74,6% foi obtida. Estes autores também observaram uma diferença entre machos (82,4%) e fêmeas (92,2%).Esta verificação de ocorrência do dente-de-lobo também foi realizada por Taminini & Ribeiro (2008) em equinos da raça Quarto-de-milha e mestiços desta raça, com o exame em 342 animais, sendo 188

machos e 154 fêmeas, abrangendo uma faixa etária de 3 a 24 anos, onde foi encontrado em 34 animais (9,94%).

Em se tratando de equinos atletas, alguns autores e treinadores de raças, que exigem atitudes do animal através de comandos bucais do equino, relatam que este dente muitas vezes atrapalha a utilização do freio ou bridão, por causar dor no momento do contato com tais instrumentos (RIBEIRO, 2004).Segundo Dixon & Dacre (2005), a presença do primeiro pré-molar é a causa de muitos problemas comportamentais em equinos, pelo fato de atrapalhar a ação de freios ou bridões. Por conseguinte, devido aos transtornos e complicações geralmente ruins, é quase sempre extraído.

O primeiro pré-molar, entretanto, em alguns casos, desloca-se lateralmente para dentro da cavidade oral ou um pouco para frente, por conseguinte, causando distúrbios na mastigação (RIBEIRO, 2004). Segundo Smith (2006), algumas vezes, em vez de irromperem para baixo, penetram através da gengiva em sentido rostral causando aumento subgengival, que é irritante para o equino. Esses primeiros pré-molares que não erupcionam são chamados de dentes de lobo “ocultos” e quando encontrados devem ser removidos cirurgicamente. Sendo assim, geralmente pratica-se sua extração em animais novos. Para esta extração deve-se utilizar elevador dental e extrator, sendo o animal sedado para facilitar o procedimento (RIBEIRO, 2004). Nesses animais também é comum o aparamento da superfície dos pré-molares restantes para um melhor posicionamento da embocadura (ARCHANJO, 2009).

Os dentes considerados “adicionais” ao contido na fórmula dentária normal são habitualmente referidos como supranumerários, sendo a alteração congênita que lhes dá origem, e frequentemente designada por poliodontia ou hiperdentição (QUINN, et al, 2005; EASLEY, 2006). A oligodontia é a ausência congênita de um botão germinativo ou retenção e inclusão de um dente na mandíbula ou maxila. A falta de uso por parte do seu correspondente da arcada oposta pode conduzir ao sobrecrescimento do mesmo e a alterações na mastigação. O diagnóstico definitivo de oligodontia é feito através de radiografia (EASLEY, 2006).

As anomalias de número, na sua grande maioria, são de origem hereditária, porém podem também estar associadas às deformidades congênitas como a displasia ectodérmica e a disostose cleidocraniana. Diversos autores acreditam que os dentes supranumerários e as agenesias dentárias, além de apresentarem originariamente um componente genético, também estão relacionadas ao atavismo e à evolução do

homem, respectivamente (FERREIRA, 1996; GUARDO, 1953; LUNDSTROM, 1971). Segundo estes mesmos autores, em humanos, as anomalias de número, na sua grande maioria, são de origem hereditária, porém podem também estar associadas às deformidades congênitas como a displasia ectodérmica e a disostose cleidocraniana.

São classificados em duas categorias: dentes suplementares que se assemelham aos restantes na morfologia da raiz e coroa, embora nem sempre apresentem o mesmo tamanho, o que impossibilita a distinção entre estes e os dentes normais da arcada; e os dentes rudimentares ou dismórficos, que diferem dos dentes normais em forma e tamanho (EASLEY, 2006).

A sua incidência em ambas as arcadas do mesmo animal é bastante incomum, sendo possível aparecer uni ou bilateralmente e individual ou coletivamente (um ou mais dentes). Podem ainda desenvolver-se no sentido duma erupção normal ou surgir invertidos, transversos ou numa posição ectópica. Esta condição pode surgir nos vários tipos de dentes, sendo que os pré-molares e molares supranumerários são habitualmente encontrados na arcada superior e, embora possam erupcionar numa orientação lingual, bucal ou rostral à normal da arcada, a sua prevalência é maior numa posição caudal à normal, razão pela qual são também designados distomolares (QUINN et al., 2005; EASLEY, 2006).

3.7 Genética da Odontologia

Em humanos é comprovado que a morfologia dentária obedece um padrão genético. As anomalias de tamanho dentário, representadas pelas macro e microdontias, podem gerar más oclusões como apinhamentos e diastemas, por exemplo (URSI, 1988). O papel da hereditariedade no estudo das más oclusões de gêmeos idênticos (monozigóticos) também representa significante importância na determinação das características morfológicas e dentofaciais. Os estudos de LUNDSTRÖM (1984) revelaram que gêmeos idênticos geralmente apresentam a mesma má oclusão, o que não ocorre necessariamente nos gêmeos heterozigóticos.

A agenesia dentaria tem sido observada como uma condição multifatorial com influências genéticas, ambientais, patológicas e evolutivas. Hoje em dia, sabe-se que existem aproximadamente 250 genes envolvidos no desenvolvimento dentário, cuja formação está geneticamente determinada pela migração de células da crista neural.

A migração destas células e suas especificações para formar diversos tipos de dentes, é controlada por uma família de genes conhecida como genes homoebox, especificamente o MSX1, MSX2 e PAX9 (FRAZIER-BOWERS, 2002).

Estudos experimentais e em animais, bem como mutações genéticas no homem, têm indicado que o desenvolvimento da dentição está sob o controle de diversos genes, e distúrbios nesse desenvolvimento podem acarretar várias anomalias dentárias, incluindo a agenesia (KIM et al, 2006; KLEIN et al, 2005). Em humanos a herança é, tipicamente, autossômica dominante, mas heranças autossômicas recessivas e ligadas ao cromossomo X também podem estar presentes (FRAZIER-BOWERS, 2002). Segundo Kim (2006), as oligodontias resultantes afetam os molares em cerca de 80% dos casos, embora pré-molares também possam ser afetados.

Em humanos, o gene MSX1 está localizado no cromossoma 4p16, e está envolvido com múltiplas interações epitélio-mesenquimais durante a embriogênese dos vertebrados, ou seja, controla a sinalização e regulação de tecidos durante as etapas iniciais do desenvolvimento dental, e sugere um papel na expressão de derivados do tecido ectodermo. Com efeito, parece ser de importância crítica durante as fases iniciais de desenvolvimento dos dentes. Uma falha em sua ativação reduz a expressão de uma cascata de moléculas sinalizadoras e alguns fatores de transcrição (PERRY, 2006). Esse é responsável por um padrão especifico de herança da agenesia dental autossômica dominante, e assim mesmo parece ser o responsável pela agenesia de segundos pré-molares e terceiros molares. A ausência de um ou dois dentes é explicada pela mutação do MSX1, ou seja, este gene está relacionado com casos de agnesia ou oligodontia. Camundongos transgênicos que em que este gene está nocauteado (sem função) têm anomalias craniofaciais. Em humanos, mutações nas regiões codificadoras causam oligodontias que afetam diferentes tipos de dentes, especialmente os pré-molares (VIEIRA, 2003).

O gene PAX9 está presente no cromossomo 14 e pertence à família de genes PAX, que engloba um grupo de fatores de transcrição presentes nos mamíferos que atuam durante o início do desenvolvimento do embrião. É um importante regulador da organogênese. Expressa-se no mesênquima derivado da crista neural dos arcos mandibular e maxilar, contribuindo para a formação do palato e dos dentes. A expressão ocorre antes das primeiras manifestações morfológicas da odontogênese.

Várias famílias já foram estudadas que apresentaram mutações nas regiões codificadoras do gene ou deleções (KLEIN et al, 2005; FRAZIER-BOWERS, 2002).

Clinicamente, sabe-se que, quando ocorre mudança no número de dentes, como na anodontia parcial, modificam-se outras características dos dentes presentes, tal como a forma da coroa e da raiz, resultando no fenômeno da simplificação morfológica (CONSOLARO,2005; OLIVEIRA, 1988; VELLOSO, 2001).

Segundo Consoloaro (2009), provavelmente, outras características também podem estar modificadas, como a cor e a posição dos dentes nos maxilares. Em consequência, os maxilares também podem sofrer alterações no seu crescimento e forma. Esta interligação de uma característica dentária e/ou maxilar com as demais que ditam a forma e a função pode ser explicada pela epigenética e à luz de outros dois conceitos.

3. Artigo

CONTRIBUIÇÃO DO SEXO, IDADE, LINHAGEM, CONSANGUINIDADE E GENE MSX1 PARA A PRESENÇA DO PRIMEIRO PRÉ-MOLAR (DENTE DE LOBO) EM EQUINOS DA RAÇA CRIOULA.

Artigo formatado de acordo com as normas da Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira

Contribuição do sexo, idade, linhagem, consanguinidade e gene msx1 para a presença do primeiro pré-molar (dente de lobo) em equinos da raça crioula.

Rafaela Simões Pires Esteves Jacques[1], Charles Ferreira Martins[2], Heden Luiz Marques Moreira[3]

[1] rafa.spej@hotmail.com
[2] martinscf68@yahoo.com.br
[3] heden.luiz@gmail.com

Resumo

As anormalidades do desenvolvimento dentário em equinos podem envolver alterações no número, morfologia ou posição. Alterações supranumerárias podem causar uma faixa ampla de complicações, interferindo inclusive no desempenho de equinos utilizados em provas. Entre as alterações supranumerárias, pode ser citada a do pré-molar 1 (PM1) ou dente de lobo. Com base nisto, este estudo teve o objetivo de avaliar a incidência desta alteração dentária e fatores que contribuem para sua variação em uma amostra de 443 equinos, machos e fêmeas da raça Crioula examinados clinicamente, entre os anos de 2013 e 2014. Um total de 223 (50,34%) de animais apresentaram o primeiro pré-molar. Avaliações usando *qui-duadrado* (χ^2) não identificaram nenhuma associação significativa (P=0,4648) entre sexo e a presença do primeiro pré-molar. As percentagens de ocorrência de acordo com a posição 105, 205 e dupla (105-205) foram respectivamente, 6,32%, 7,00% e 37,02%. Houve uma associação significativa (P < 0,0001) entre a idade do animal (grupos de I, II e III) e a presença de dente de lobo. A maior frequência de dente de lobo foi observada em animais do grupo I (idade de 1 a 3 anos) e a menor em animais do grupo III (acima de 10 anos). Houve uma associação também significativa entre linhagens (brasileira, uruguaia e chilena) e a presença de dente de lobo. A maior incidência de dente de lobo ocorreu na linhagem uruguaia (66,67%) e a menor na linhagem brasileira (46,35%). A consanguinidade avaliada na população analisada variou entre 0,0 e 0,2812. A consanguinidade média (erro padrão) em machos foi de 0,015 (0,026) e em fêmeas 0,009

(0,021). As consanguinidades entre animais sem e com dente de lobo foram: 0,011 (0,025) e 0,015 (0,024) respectivamente. As consanguinidade média e erros padrão de acordo com os grupos de idade (I, II e III) foram: 0,016 (0,021), 0,014 (0,027) e 0,007 (0,019) respectivamente. As médias de consanguinidade e desvio padrão de acordo com as linhagens (brasileira, chilena e uruguaia) foram: 0,009 (0,019), 0,011 (0,012) e 0,023 (0,032) respectivamente.Dos 443 animais coletados foram escolhidos 50 para análise do gene *MSX1*, sendo 25 com presença de dente de lobo e 25 sem esta alteração. O DNA genômico foi extraído de sangue total e checado em agarose 1%. Estas 50 amostras foram submetidas a análise de SSCP e sequenciamento para verificação de polimorfismo no primeiro *exon* do gene *MSX1*. Embora nenhuma relação de causa tenha sido estabelecida entre o *exon* I do gene *MSX1* e a presença de dente de lobo, esta é a primeira tentativa de relacionar este tipo de alteração dentária e gene homeobox em equinos. Podemos concluir neste estudo que há uma forte relação entre dente de lobo com idade e linhagem, mas não há influência do sexo sobre esta alteração dentária. Uma grande influência genética também existe, pois há uma expressão mais forte (ocorrência) desta anomalia na arcada dentária superior. De forma especulativa podemos dizer que estas associações observadas neste trabalho sejam em parte devido aos níveis de consanguinidades apresentados pelos animais avaliados.

Termos para indexação: dente de lobo, sexo, *MSX1*, Cavalo crioulo.

Sex, age, origen, inbreeding and MSX1 gene contribuiton for the presence of first premolar (wolf tooth) in Crioulo horse breed

Abstract

Abnormalities of tooth development in horses may involve changes in the number, morphology or position. Supernumerary changes can cause a wide range of complications, including

interfering in equine performance used in sports. Among the supernumerary changes we can name the first premolar (PM1) or wolf tooth. On this basis, this study aimed to evaluate the prevalence of dental disords and factors contributing factors to the variation in a sample of 443 horses, male and femalefrom Crioulo horse breed. A total of 223 (50,34%) animals showed the first premolar. Assessments using chi-square ($\chi 2$) did not identify any significant association (P = 0.4648) between sex and the presence of the first premolar. The percentages of occurrence in accordance with the position 105, 205 and both (105-205) were, respectively 6.32%, 7.00% and 37.02%. There was a significant association (P <0.0001) between the age of the animal (groups 1-3) and the presence of wolf tooth. The highest frequency of wolf tooth was observed in animals of group I (age 1-3 years) and the lowest in animals of group III (above 10 years). There was also a significant association (P=0.0004) between lineagens (Brazilian, Uruguayan and Chilean) and the presence of wolf tooth. The highest incidence of wolf tooth occurred in the Uruguayan lineage (66.67%) and the lowest in the Brazilian strain (46.35%). Inbreeding evaluated in the study population ranged from 0.0 to 0.2812. The average inbreeding (standard error) in males was 0.015 (0.026) and females 0.009 (0.021). The inbreedingamong animals with and without wolf tooth were 0.011 (0.025) and 0.015 (0.024) respectively. The mean and standard errors from inbreedings in accordance with age groups (I, II and III) were 0.016 (0.021) 0.014 (0.027) and 0.007 (0.019), respectively. The mean and standard deviation of consanguinity according to the lineages (Brazilian, Chilean and Uruguayan) were 0.009 (0.019) 0.011 (0.012) and 0.023 (0.032), respectively. From 443 animals collected 50 were chosen for genetic analysis, 25 with the presence of wolf tooth and 25 without this change. Genomic DNA was extracted from whole blood and checked on 1% agarose. These 50 samples were subjected to SSCP analysis and sequencing to check polymorphism in the first *exon* of the gene *MSX1*. Although no causal relationship has been established between *exon I* of *MSX1* gene and the presence of wolf tooth, this is the first attempt to relate this kind of change and homeobox gene

in horses.We can conclude from this study that there is a strong relationship between wolf tooth with age and lineage, but there is no influence of gender on this dental anomaly. A large genetic influence also exists because there is a stronger expression (occurrence) of this anomaly in the upper dental arch. Speculatively We can say that these associations observed in this study are partly due to inbrreding levels presented by the evaluated animals.

Index terms: Wolf tooth, sex, *MSX1,* Crioulo horse.

Introdução

O desenvolvimento dentário em mamíferos envolve a interação recíproca entre o epitélio dental e o ectomesênquima originário das células da crista neural, as quais ao longo deste processo envolvem mudanças no potencial odontogênico desses tecidos (Silva e Alves, 2008).

É muito comum a ocorrência de anormalidades no desenvolvimento dentário e erupção em equinos e são resultantes de uma ampla variedade de condições clinicas. As anormalidades do desenvolvimento podem envolver alterações no número, morfologia ou posição (Dixon et al., 2005). As alterações numéricas podem ser supranumerárias (dentes extras) ou agênese (ausência de dentes que pode variar de um até a perda total) (Kamamoto et al., 2011; Yamaguchi et al., 2014). Alterações supranumerárias podem causar uma faixa ampla de complicações, as quais incluem retenção ou atraso na erupção dos dentes permanentes, diastemas, deslocamento, rotação, aglomeração, reabsorção da raiz, lesões periodontais, ou necrose da polpa de dentes adjacentes (Garvey et al., 1999; Hyun *et al*., 2008; Diaz *et al*., 2009; Ferres-Padro *et al*., 2009). Entre as alterações supranumerárias está o dente de lobo que equivale ao primeiro pré-molar (Figura-1), sendo um dente pequeno e vestigial sem precursor decíduo, com quantidade, tamanho, forma e posição variáveis (Fernandes-Filho et al., 2014).

Que fatores estariam implicados no aparecimento do dente de lobo (PM1)? Alguns estudos em equinos têm relacionado esta alteração com o sexo e idade em diferentes raças equinas e mesmo entre espécies. Contudo, parece não haver um consenso do efeito destes fatores sobre a prevalência desta anormalidade de desenvolvimento dentário, haja visto que Ribeiro et al., (2013) em equinos da raça Quarto de Milha Americano encontraram maior incidência em machos, por outro lado Fernandes-Filho et al. (2014) em cavalos da raça PSI obtiveram maior percentagem em fêmeas. Em humanos a proporção maior é observada em machos, podendo chegar até 4,5:1(Brook, 1984; Rajab and Hamdan, 2002; Salcido-Garcia *et al*., 2004; Fernandez Montenegro *et al*., 2006; Leco Berrocal *et al*., 2007). A exceção de Baker e Easley (2000) que afirmaram que o primeiro pré-molar em equinos emerge dos 6 ao 18 meses, não foi encontrado mais nenhum outro trabalho relacionado esta anomalia dentária e idade em equinos. Tambem não foi encontrado nenhum artigo relacionando consanguinidade e a prevalência do primeiro molar. Contudo, dada a repetibilidade do aparecimento do primeiro pré-molar em diversas raças, bem como estudos genéticos em humanos com genes ligados ao aparecimento de dentes extras espera-se que esta característica tenha um fundo genético.

Um grande número de genes (acima de 200) tem sido implicados no desenvolvimento dentário em mamíferos (Silva e Alves, 2005). Grande parte deles são fatores de transcrição pertencentes a família HOX. Genes da família HOX possuem um homeodomínio chamado homeobox. Genes homeobox são um grupo grande e diverso de genes, onde a maioria deles executam papéis importantes na regulação transcricional durante o desenvolvimento embrionários (Zhong e Holland, 2011). Entre os genes implicados com alterações numéricas nos dentes estão o *Muscle segment homeobox 1(MSX1*), o *Paired box homeobox 9* (*PAX9*) e o *Adenomatous polyposis coli* (*APC*) (Silva e Alves, 2008; Wang et al., 2009; Kamamoto et al., 2011; Yamaguchi et al., 2014).

O gene *MSX1*em equinos está localizado no cromossomo 3, possui um tamanho 6.963 pares de bases na sua região codificadores, sendo composto por 3 éxons de tamanhos de 141, 162 e 1237 pb e um tamanho de proteína de 242 aminoácidos (www.ncbi.nlm.nih.gov).

Apesar dos avanços no conhecimento da morfogênese e diferenciação dos dentes, (Wang e Fan, 2011) apontam que pouco é conhecido acerca da etiologia e mecanismos moleculares que fundamentam a formação de dentes supranumerários. Portanto, novos estudos relacionando alterações dentárias e genes homeobox se fazem necessários para identificar os mecanismos que produzem estas alterações numéricas em equinos, incluindo o dente de lobo.

Cabe também salientar que o dente de lobo atrapalha as atividades que exigem comandos bucais, devido a dor que pode ser causada durante o contato com o freio ou bridão (Ribeiro et al., 2004).

Com base no exposto este trabalho teve como objetivos avaliar as relações entre a presença de dente de lobo e fatores, tais como sexo, idade, linhagem, consanguinidade e o gene *MSX1*.

Material e métodos

Foram coletadas informações de 456 equinos da raça Crioula, dois quais 443 foram utilizados neste estudo. Estes animais pertencem a diferentes criatórios do Brasil e países vizinhos (Uruguai, Argentina e Chile). As amostras foram obtidas entre os anos de 2013 a 2014. Todos os animais foram submetidos ao exame odontológico completo. O exame odontológico extra-oral foi realizado através da inspeção e palpação das estruturas ósseas, musculares e articulares. A avaliação interna sem o auxílio de um "abre-boca" foi realizada levantando os lábios com suavidade de forma a permitir a inspeção dos incisivos e caninos. Segundo a técnica, a língua foi puxada cuidadosamente para um dos lados através do diastema onde foi então segura. Este procedimento faz com que o animal mantenha a boca aberta, permitindo a utilização de uma fonte de luz para melhor visualização da cavidade oral e ao mesmo tempo evita que o cavalo morda o operador. A mão livre é posteriormente inserida do lado oposto ao que se encontra a

língua entre as arcadas dentárias e a bochecha, sendo os quatro quadrantes inspecionados (TRIADAN) para presença de lesões, defeitos anatômicos presentes, anormalidades ou a integridade de tecidos moles e duros. Durante o exame foi buscado identificar a presença ou ausência do dente de lobo, se estava erupcionado ou incluso e seu posicionamento. Para os animais que não permitiam o exame sem o abre-boca, estes foram sedados, utilizando Xilazina 10% na dose de 0,5-1mg/kg ou Cloridrato de Detomidina 10% na dose de 0,02-0,04mg/kg, e a cabeça suspensa por uma cabeçada odontológica ou muleta, com o abridor de boca tipo McPherson (BAKER & EASLEY, 2002), com uso de um espelho odontológico e o foco de luz, foi realizada a avaliação completa da cavidade oral, buscando as mesmas alterações do exame sem "abre bocas".

Após o término da avaliação odontológica, os animais foram registrados em fichas individuais, constando as alterações encontradas e dados de registros.

Para caracterização da presença ou não de um determinante genético, foram coletadas de todos os animais, amostras de sangue total em tubos vacuntainner com EDTA (BD Bioscience, USA)

As informações de pedigree dos animais analisados foram obtidas juntos as associações de criadores de cavalo crioulo do Brasil, Uruguai e Chile a partir das informações de registros coletadas no exame odontológico. A partir destas informações foi gerado um arquivo com o nome do animal, pai e mãe e usando a metodologia do programa Pedigreewier 6.5b (Kinghorn, 2011) foram estimados os coeficientes de consanguinidades para cada indivíduo do arquivo. Os valores estão expressos em uma escala de 0 a 1 e são equivalentes a percentagens entre 0 e 100%. Coeficientes de consanguinidade foram obtidos para todos os animais amostrados.

Análise estatística

Análise estatística descritiva foi realizada usando o pacote estatístico SAS (SAS, 2002). Análise estatística foi conduzida ao nível de animal no sentido de identificar a prevalência de dente de lobo, sexo, idade (grupos I, II e III) e linhagem (brasileira, chilena e uruguaia). As análises de associação entre supranumerário (considerando a presença e posição do dente de lobo) e sexo, supranumerário e idade e supranumerário e linhagem foram realizadas usando o teste χ^2, com nível de significância quando P menor ou igual a 0,05 ($P \leq 0,05$). A significância foi testada través do procedimento *Proc Freq* do SAS (SAS, 2002). Estatísticas descritivas entre presença, posição do dente de lobo, idade e linhagens para os coeficientes de consanguinidade foram realizadas com o procedimento *Proc Means* também do pacote estatístico SAS.

Amplificação dos *exons* do gene MSX1 e análise de SSCP.

Para análise de SSCP do gene MSX1 e verificação de polimorfismo foram escolhidos 50 animais, sendo 25 com presença de dente de lobo e 25 sem dente de lobo. A extração de DNA foi realizada a partir de sangue total utilizando o kit Axygen Blood DNA de acordo com as instruções do fabricante (Axygen Bioscience, USA). Após a extração do DNA o mesmo foi checado em gel de agarose 1% corados com Gelred e verificado em transluminador de luz branca (Clarechemical, USA). Após a checagem da extração o DNA foi submetido a amplificação utilizando os primers EC-MSX1-exon1F (5´ATGCCTCGGGGCGGG3´) e EC-MSX1-exon1R (5´GAC TGTGGAGCCGCTTCG3´) para o primeiro exon e os primer EC-MSX1-exon2F (5´GACTTCCTTCTTGTCGCC3´) e EC-MSX1-exon2R (5´CAGGTACAGA CGCCGGAGA3´) para o segundo exon. Os pares de primers utilizados foram desenhados a partir da sequência (Acceso NCBI no. M84774.1). Foram utilizadas as seguintes condições para amplificação.

Resultados e discussão

Foram coletadas informações de 443 animais da raça Crioula, sendo que deste total 223 (50,34%) apresentaram dente de lobo (**Tabela-1**). Esta percentagem é inferior ao obtido por Fernandes-Filho et al. (2014), quando avaliaram 177 cabeças de animais da raça PSI. Além da diferença em termos percentuais, houve diferença também com relação ao local de incidência, pois neste trabalho ocorreu somente no maxilar e no de Fernandes-Filho tanto no maxilar, como na mandíbula. Por outro lado, Ribeiro et al. (2013) obtiveram frequências da ordem de 11,75%, a qual é bem inferior ao que foi obtido neste trabalho. A percentagem de ocorrência considerando o sexo foi levemente maior em fêmeas 50,48% em relação aos machos 50,00%, contudo está diferença não foi significativa (χ^2, P=0,4648). Diferença a favor dos machos, a semelhança do que ocorrem em humanos (Hyun et al., 2009), foi observado por Ribeiro et al., (2013) na raça Quarto de Milha. Embora, estas diferenças ocorram, dada a ausência de significância observada podemos concluir que não há interferência do sexo no aparecimento de dentes de lobo.

Com relação a posição do dente de lobo, podemos observar que do total de 223 animais que possuíam dente de lobo, 59 (13,32%) apresentaram um único dente de lobo, sendo 28 no lado direito (posição 105) e 31 no lado esquerdo do maxilar (posição 205) e, os restantes 164 (37,02%) animais apresentaram dois (105-205), sendo ambos no maxilar (**Tabela-2**). Levando em consideração o observado na literatura em equinos (Reed S.M.; Bayly; 2000; Pagliosa et al., 2004; Fernandes-Filho et al., 2014), o que ocorre em humanos (Hyun et al., 2009) e os obtidos aqui, podemos concluir que parece haver um controle rígido da prevalência em relação as arcadas, sendo sempre maior na superior (maxilar) em relação a inferior (mandíbula) (**Tabela-2**). Ao mesmo tempo há um controle para que a ocorrência em ambos os lados seja maior do que a ocorrência em somente um (**Tabela-2**).

Na **Tabela-3** são apresentadas as incidências de dente de lobo de acordo com o agrupamento de idade. Neste trabalho optamos por dividir a idade de acordo com a formação dentária e idade

de atividade. No grupo I foram agrupados animais com idades inferiores a 3 anos, pois até os 2,8 anos ocorre a troca do 2º pré-molar e isto pode fazer com que o primeiro seja perdido. A separação entre o II e III grupo foi por questões funcionais, já que animais com idades acima de 10 anos (grupo III) tendem a terem uma redução nas atividades de prova. Portanto, é esperado nesta idade que ocorra uma redução na prevalência de dente de lobo. A idade teve um efeito significativo ($P < 0,001$) sobre a ocorrência de dente de lobo, sendo que foi observado uma tendência a redução da ocorrência a medida que aumenta a idade em anos. Não há na literatura trabalhos relatando a prevalência e a incidência de dente de lobo, apenas a referência de Baker e Easley (2000) em que o surgimento deste tipo de dente ocorre dos 6 aos 18 meses.

Entre os animais coletados foram identificadas 3 origens, as quais foram agrupadas de acordo com a procedência (ancestralidade) em brasileira, chilena e uruguaia. Os níveis de prevalência de dente de lobo foram diferentes entre as linhagens, sendo a menor ocorrência na linhagem brasileira (40,88%) e a maior na linhagem uruguaia (67,38%) (**Tabela-4**).

O coeficiente de consanguinidade médio dos animais com presença de dente de lobo foi maior (1,61%) do que a sem dente de lobo (1,15%). No tocante a posição de ocorrência, os coeficientes de consanguinidades foram: 1,76% e 1,56%, respectivamente para um ou dois dentes extras. Houve uma redução dos coeficientes de consanguinidade a medida que aumentou a idade, sendo os coeficientes médios nos grupos I, II e III de 1,69%, 1,41% e 0,7% respectivamente. Em relação as linhagens brasileira, chilena e uruguaia os coeficientes de consanguinidade foram respectivamente: 0,9%, 1,41% e 2,33 (**Tabela-5**). Infelizmente não foram encontrados na literatura estudos relacionando níveis de consanguinidade e a presença de dentes supranumerários.

No sentido de estabelecer uma ligação entre dente de lobo e fator genético, foi analisado por SSCP o primeiro *intron* do gene *MSX1* em 50 animais, sendo que 25 continham esta anomalia e 25 não. De acordo com as condições e primers utilizados nas amplificações não foi possível

obter produtos para o segundo *exon* do gene *MSX1*. Os primers utilizados para amplificações do gene *MSX1* foram baseados no DNA de uma égua Puro Sangue Inglês, a qual pode ter divergências na região de anelamento dos primers em relação a sequência presentes no genoma de equinos da raça Crioula. A ausência de polimorfismo na região promotora do gene *BMP-4* foi observada por De Conto et al., (2004) ao relacionar esta região do gene com a agenesia dental em humanos. Com relação ao primeiro *intron* a análise de SSCP não revelou nenhum polimorfismo, o que permite concluir que esta parte do gene não está envolvido com esta anomalia em equinos. Por outro lado, face a ineficácia dos primers utilizados para o segundo *exon* e ausência de análise do terceiro *exon* não se pode afirmar que não haja uma relação entre este gene e a presença de dente de lobo. Contudo, cabe salientar, que em humanos se tem verificado efeito de diversos alelos do gene *MSX1* que exibem uma herança mendeliana em fenótipos de oligodontia (agênese de mais que 6 dentes secundários além do terceiro molar) (Kamamoto et al., 2011). Cabe concluir então, que o *MSX1* está envolvido com casos de alterações numéricas dos dentes, mas no caso de reduzir o número e não de supranumerários. Apesar dos resultados obtidos com o gene MSX1 este é a primeira tentativa de relacionar este tipo de alteração e um gene homeobox em equinos.

Conclusões

A partir das análises realizadas podemos concluir neste estudo que há uma forte relação entre dente de lobo com idade e linhagem, mas não há influência do sexo sobre esta alteração dentária. Uma forte influência genética também existe, pois há uma expressão mais forte (ocorrência) desta anomalia na arcada dentária superior. De forma especulativa podemos dizer que estas associações observadas neste trabalho sejam em parte devido aos níveis de consanguinidades apresentados pelos animais avaliados.

Agradecimentos

Aos criadores de cavalos Crioulos, que forneceram os animais para as avaliações e análises.

Referências

Baker, G.J.; Easley J. Equine dentistry. London: Saunders; 2000

Brook, A.H. A unifying aetiological explanation for anomalies of human tooth number and size. *Arch Oral Biol*., v. 29 p.373–378, 1984

De Conto, F.; Silva, E.R.; Peres, R.C.R.; Scerel-Ceninege, R. Line, S.R.P. Investigação de polimorfismos na região promotora do gene BMP - 4 em indivíduos com agenesia dental. *Revista da Faculdade de Odontologia,* v. 9, n. 1, p. 7-11, 2004.

Diaz, A, Orozco J, Fonseca M. Multiple hyperodontia: Report of a case with 17 supernumerary teeth with non syndromic association. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*., v.14 p.E229–E231., 2009.

Dixon, P.M.; Easley K.J; Ekmann A. Supernumerary teeth in the horse. *Clinical techniques in equine practice*, v 4, p.:155-161, 2005.

Fernandes-Filho, A.; Borelli, V.; Pereira, J.G.L.; Castro, M.F.S. Prevalência do primeiro pré-molar (dente-de-lobo) em equinos puro sangue inglês. *J Health Sci Inst*. V.32, n.2 p.:198-202, 2014.

Fernandez Montenegro P, Valmaseda Castellon E, Berini Aytes L, Gay Escoda C. Retrospective studyof 145 supernumerary teeth. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*.,v. 11, p.E339–E344, 2006.

Ferres-Padro E, Prats-Armengol J, Ferres-Amat E. A descriptive study of 113 unerupted supernumerary teeth in 79 pediatric patients in Barcelona. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*., 2009; v.14, *p.*E146–E152,2009.

Garvey M.T.; Barry H.J.; Blake M. Supernumerary teeth—An overview of classification, diagnosis and management. *J Can Dent Assoc*.,v., 65 p.612–616, 1999.

Hyun H.K.; Lee S.J.; Ahn B.D.; Lee Z.H.; Heo M.S.; Seo B.M.; Kim J.W. Nonsyndromic multiple mandibular supernumerary premolars. *J Oral Maxillofac Surg.*,v.66, p.1366–1369, 2008.

Hyun HK, Lee SJ, Lee SH, Hahn SH, Kim JW. Clinical characteristics and complications associatedwith mesiodentes. *J Oral Maxillofac Surg.*,v. 67, p2639–2643. 2009.

Kamamoto, M.; Machida, J.; Yamaguchi, S.; Kimura, M.; Ono, T.; Jezewski, P.; Higashi, Y.; Nakayama, A.; Shimozato, K.; Tokita, Y. Clinical and functional data implicate the Arg(151)Ser variant of MSX1 in familial hypodontia. *European Journal of Human Genetics*, v. 19, p.844–850, 2011.

Leco-Berrocal M.I; Martin-Morales J.F; Martinez-Gonzalez J.M. An observational study of the frequency of supernumerary teeth in a population of 2000 patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.*,v. 12, p.E134–E138, 2007.

Pagliosa GM, Alves GES, Hering C, Montello JTG, Vianna WS. Incidência de dentes primeiros pré-molares –PM1- em equinos da cavalaria da PMMG. *In*: IV Congresso do Colégio Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária. 2004; Indaiatuba, SP.

Rajab L.D; Hamdan M.A. Supernumerary teeth: Review of the literature and a survey of 152 cases. *Int J Paediatr Dent.*, v. 12, p.:244–254, 2002.

Reed S.M.; Bayly W.M. Medicina interna equina. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan; 1ª ed. 2000. 1.700p.

Ribeiro M.G. Principais avanços técnicos e indicações de exodontiasde pré-molares e molares de equinos. *In*: VI CongressoBrasileiro de Cirurgia Anestesia Veterinária. Mini curso de OdontologiaEquina: 2004; Indaiatuba, SP: p. 72-86.

Riberio, M.G.; Tamanini, A.; Ribeiro, L.V.P.; Silva, J.R.; Meirelles, G.P. Incidência dos dentes primeiro pré-molar em equinos da raça Quarto de Milha da região noroeste do Paraná. *Rev. Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias*, v. 8, n. 2, p. 55-58, dez, 2013.

Salcido-Garcia JF, Ledesma-Montes C, Hernandez-Flores F, Perez D, Garces-Ortiz M. Frequency ofsupernumerary teeth in Mexican population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*., v. 9, p.407–409, 2004.

SAS Institute Inc., SAS 9.1.3 Help and Documentation, Cary, NC: SAS Institute Inc., 2000-2004.

Silva, E.R.da; Alves, J.B.A genética da odontogênese. *Biosci. Journal*, v. 24, n. 2, p.113-124, 2008.

Wang, X.P.; Fan, J. Molecular genetics of supernumerary tooth formation. *Genesis*, v49, n.4 p.261-77, 2011.

Wang, X-P.; O´Connell, D.J.; Lund, J.J.; Saadi, I.; Kuraguchi, M.; Turbe-Doan, A.; Cavallesco, R.; Kim, H.; Park, P.J.; Harada, H.; Kucherlapati, R.; Maas, R.L. Apc inhibition of Wnt signaling regulates supernumerarytooth formation during embryogenesis and throughoutadulthood. *Development*, v., 136, p.1939-1949, 2009.

Yamaguchi, S.; Machida, J..kanamoto, M.; Kimura, M.; Shibata, A.; Tatematsu, T.; Miyachi, H.; Higashis, Y.; Jezewskis, P.; Nakayama, A.; Shimozato, K; Tokita, Y. Characterization of Novel MSX1 Mutations Identified in Japanese Patients with Nonsyndromic Tooth Agenesis. *PLOS ONE*, v. 9, n.8, e102944, 2014.

Zhong, Y-F Holland, P.W.H. The dynamics of vertebrate homeobox gene evolution: gain and loss of genes in mouse and human lineages. BMC Evolutionary Biology 2v 11 p.:169-181, 2011.

Tabela 1. Incidência do dente de lobo (primeiro pré-molar) de acordo com o sexo em equinos da raça Crioula.

Primeiro pré-molar	Ausência		Presença		
Sexo	Número	(%)	Número	(%)	Totais
Machos	64	50,00	64	50,00	128
Fêmeas	156	49,52	159	50,48	315
Totais	220[a]	49,66	223[a]	50,34	443

[a] – diferença não significativaχ^2, (*P*=0,4648) na percentagem de ocorrência de dente de lobo entre machos e fêmeas

Tabela-2. Incidência de dente de lobo de acordo com sexo e posição na arcada superior (maxilar) em equinos da raça Crioula.

Primeiro	Posição						
Pré-molar	105		205		105-205		
Sexo	N	(%)	N	(%)	N	(%)	Totais
Macho	10	2,26	8	1,81	46	10,38	64
Fêmea	18	5,71	23	5,19	118	26,64	159
Totais	28	6,32	31	7,00	164	37,02	223

Obs. – diferença não significativaχ^2, (*P*=0,8401) na percentagem de ocorrência de dente de lobo entre machos e fêmeas com relação a posição. Contudo, a diferença de ocorrência entre as posições não foi avaliada.

Tabela-3. Incidência de dente de lobo de acordo com ogrupo de idade em equinos da raça Crioula.

Primeiro	Grupos de Idade						
Pré-molar	I (1 a < 3 anos)		II (3 a 10 anos)		III (+ de 10 anos)		
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	Totais
Ausência	25	5,64	134	30,25	61	13,77	220
Presença	104	23,48	109	24,38	11	2,48	223
Totais [a]	129		242		72		443

[a] - diferença significativa entre os grupos de idade (χ^2, P < 0,0001)

Tabela-4. Incidência de dente de lobo de acordo com a linhagem (origem genética) em equinos da raça Crioula.

Primeiro Pré-molar	Linhagens						
	Brasileira		Chilena		Uruguaia		
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	Totais
Ausência	162	59,12	12	40,88	46	32,38	220
Presença	112	40,88	16	57,14	95	67,38	223
Totais [a]	274		28		141		223

[a] - diferença significativa entre os grupos de idade (P < 0,0001)

Tabela-5. Coeficientes de consanguinidade de acordo com a idade, linhagem e número de PM1 em equinos da raça Crioula

Idade [a]			**Linhagem**[b]			**Número de PM1** [c]	
Média	**SD**		**Média**	**SD**		**Média**	**SD**
I	0,0169	0,0216	Bras.	0,0090	0,0196	0	0,0115	0,0258
II	0,0141	0,0279	Chil.	0,0117	0,0122	1	0,0176	0,0274
II	0,0076	0,0191	Urug.	0,0237	0,0326	2	0,0156	0,0230

[a]– I (0 a < 3 anos), II (3 a 10 anos) e III (acima de 10 anos)

[b]– Bras. Brasileira, Chil. = chilena e Urug. = uruguaia

[c]– 0 (ausência dente de lobo); 1 (na posição 105 ou 205) e 2 (105+205)

Figura-1 Cavidade oral com a presença do primeiro pré-molar (dente de lobo). Foto: Rafaela Simões Pires Esteves Jacques

4. Conclusão

Os excelentes resultados nas competições desportivas, bem como o mercado, são fatores que têm determinado intervenções humanas nos métodos de criação e seleção dos animais, sendo o melhoramento genético, constante.

Por essa seleção estar sendo feita em alta escala, a endogamia é uma realidade, o que proporciona fixação de características desejáveis, porém com possibilidade de adesão a outras indesejáveis. Tecnicamente a endogamia é constituída pela ancestralidade comum entre pares de acasalamento.

Quando se estuda o padrão de herança das anomalias recessivas enfatiza-se que, entre os indivíduos afetados por elas, a porcentagem dos que são filhos de casais consanguíneos pode atingir valores muito altos, porque tais casais têm maior probabilidade de gerar filhos homozigotos do que os não-consanguíneos.

Com isso, decisões empíricas e a falta de análises das alterações odontológicas em cavalos Crioulos limitam essa seleção. Por muitas vezes um animal com baixo desempenho é excluído, sendo que seu problema não era funcionalidade e sim dor causada por alterações odontológicas.

A compreensão da morfologia dentária e dos maxilares passa, necessariamente, pelos conceitos de epigenética, gene pleiotrópico e sistema poligênico, para explicar a interligação entre as várias características como cor, tamanho, número, forma, estrutura e posição dos dentes e dos próprios maxilares. A compreensão da etiopatogenia dos distúrbios do desenvolvimento dentário e dos maxilares também passa por esses três conceitos.

Estudar a interrelação entre as morfologias dentárias e maxilares, assim como dos seus distúrbios do desenvolvimento, também denominados como disgenesias, pode gerar conhecimentos para contribuir em pesquisas na identificação dos genes, cromossomos e mecanismos epigenéticos responsáveis pelas características dos dentes e maxilares.

Neste estudo foi possível identificar que não há efeito do sexo sobre a presença do dente de lobo. Entretanto, a idade e linhagem contribuem de forma diferenciada para a prevalência desta desordem dentária. Baseado nos coeficientes de consanguinidades estimados podemos inferir que a mesma tem influência sobre prevalência de dente de lobo neste estudo realizado. Baseado nas evidências obtidas

através do coeficientes de consanguinidade e que existe um forte controle da arcada de ocorrência, bem como da posição onde o dente de lobo é mais frequente.

5. Bibliografia

ABCCC, 2013. Manual do criador da raça - Histórico da raça. p. 43. Dated Acessed: Ago 30, 2015

ABCCC, 2014.JornalCavaloCrioulo. vol. 240, p. 32.

ABCCC, 2015 – HISTÓRIA DO CAVALO CRIOULO, STUDBOOK http://cavalocrioulo.org.br/studbook/historia

ALLEN, T. (Eds.) Manual of Equine Dentistry. USA: Mosby, Inc. 2003.

ALVES, G.E.S. Odontologia como parte da gastroenterologia: sanidade e digestibilidade. In: Cong. Bras. Cir. Anest. Vet. Mini Curso de Odontologia Equina, Indaiatuba, 2004, p.7-22.

ARCHANJO, A. Odontologia Equina: uma história. www.revistahorse.com.br 27 Mar 2009.

BARNES. M. R.; BREEN. G. Genetic Variation Methods and Protocols. New York: Springer, 2010. p. 1-21.

BEIGUELMAN, B. Genética de Populações Humanas, capítulo 5, Ribeirão Preto: São Paulo Editora SBG, 2008 acessado em 25 Mai de 2014, disponível em: http://lineu.icb.usp.br/~bbeiguel/Genetica%20Populacoes/Cap.5.pdf

CONSOLARO, A. Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas. 2. ed. Maringá: Dental Press, 2005.

CONSOLARO, A. A reabsorção radicular ortodôntica é inflamatória, os fenômenos geneticamente gerenciados, mas não é hereditariamente transmitida. Sobre a identificação dos receptores P2X7 e CP-23. R. Dental Press Ortodon. Ortop. Facial, Maringá, v. 14, n. 4, p. 25-32, jul./ago. 2009.

DA COSTA, R. B.; RESENDE, M. D. V.; DE ARAUJO, A. J.; GONÇALVES, P. S.; BORTOLLETO, N. Seleção combinada univariada e multivariada aplicada ao melhoramento genético da seringueira. Pesquisa agropecuária brasileira, v. 35, n. 2, p. 381-388, 2000.

DACRE, I. Caries of peripheral cementum. Focus meeting, Indianopolis, USA. 2006a. Acessado em 25 Mai 2014, disponível em: www.ivis.org/proceedings/aaepfocus/2006/itdacre3.pdf

DACRE, I. Histological and ultrastructural anatomy of equine dentition. Focus meeting,Indianopolis, USA. 2006b. Acessado em 25 Mai 2014, disponível em: http://www.ivis.org/proceedings/aaepfocus/2006/itdacre2.pdf

DACRE, I. Physiology of mastication. Focus meeting, Indianopolis, USA. 2006c. Acessado em 25 Mai 2014, disponível em:

www.ivis.org/proceedings/aaepfocus/2006/itdacre1.pdf

DIXON, P.M. Dental Disease. In N.E. Robinson (ed.), Current Therapy in Equine Medicine. (Fourth Edition). (pp.149-153). W.B. Saunders Company. 1997

DIXON, P.M. Removal of equine dental overgrowths. *Equine veterinary education*, v.12, n.2, p.68-91, 2000.

DIXON, P. M.; DACRE, I. A review of equine dental disorders. *The Veterinary Journal*,v.169, p.165–187, 2005.

DOHMOTO, A; SHIMIZU, K; ASADA, Y; MAEDA, T. Quantitative trait loci on chromosomes 10 and 11 influencing mandible size of SMXA RI mouse strains. *J dent Res*. v 81. N7. P 501-504, 2002.

EASLEY, J. (). Equine dental developmental abnormalities. Focus meeting, Indianopolis, USA. 2006. Acessado em 25 Mai 2014, disponível em: www.ivis.org/proceedings/aaepfocus/2006/easley2.pdf

FERNANDES-FILHO, A.; BORELLI, V.; PEREIRA, J.G.L.; CASTRO, M.F.S. Prevalência do primeiro pré-molar (dente-de-lobo) em equinos purosangue inglês. J Health Sci Inst. V.32, n.2 p.:198-202, 2014.

FERREIRA, F. V. Ortodontia diagnóstico e planejamento clínico. São Paulo: Artes Médicas, 1996.

FJALESTAD, K. T. Selection methods. In GJEDREM, T.; THODESEM, J. Selection and breeding programs in aquaculture. 2005. p 159-170.

FRAZIER-BOWERS, S. A.; GUO, D. C.; CAVENDER, A.; XUE, L.; EVANS, B.; KING, T.; MILEWICZ, D.; D'SOUZA, R. N. A novel mutation in human PAX9 causes molar oligodontia. *J Dent Res*, Chicago, v. 81, no. 2, p. 129-133, 2002.

GEOR, R.J., HINCHCLIFF, K.W. & KANEPS, A.J. (2004). Equine Sports Medicine and Surgery: Basic and Clinical Sciences of the Equine Athlete (4th ed.). Saunders.

GIACOMONI, E. H., 2007. Estudo da variabilidade genética em quatro raças brasileiras de cavalos (EquusCaballus - Equidae) utilizando marcadores microssatélites. Programa de Pós- Graduação em Genética e Biologia Molecular. Tese Doutorado. UFRGS, Porto Alegre

GRABER, T. M. Ortodoncia. Teoria y práctica. 3.ed. México: Interamericana. 1980.

GONÇALVES, R.W.; COSTA, M.D.; REZENDE, A.S.C.; ROCHA JUNIOR, V.R.; LEITE, J.R.A. Efeito da endogamia sobre características morfométricas em cavalos da raça Mangalarga Marchador. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.64, n.2, p.419-426, 2012 .

GORREL, C. Equine dentistry: evolution and structure. Equine veterinary journal, 29 (7), 169- 170, 1997.

GJEDREM, T.; BARANSKI, M. Seletion Methods. In: GJEDREM, T.; BARANSKI, M. Selective Breeding in Aquaculture: An Introduction. Reviews: Methods and Technologies in Fish Biology and Fisheries. 2009.

GUARDO, A. J.() Temas de ortodoncia. Buenos Aires: El Ateneo. 1953.

IBGE;http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/brasil_2006/Brasil_censoagro2006.pdf

IVERS, T. The fit racehorse II, Equine Research Inc., Texas, USA, 1994, 638p.

JONHSON, T. J. Iatrogenic damage caused by modern dentistry procedures. In N. E. Robinson; K. A.Sprayberry (eds.). Current therapy in equine medicine. (6th edition). 2006 (pp. 324-328). W. B. Saunders Company

JONHSON, T. & PORTER, C. Common disorders of incisor teeth and treatment. Focus meeting, Indianopolis, USA. 2006. Acessado em 25 Mai 2014, disponível em: www.ivis.org/proceedings/aaepfocus/2006/johnson1.pdf

KIM, J. W.; SIMMER, J. P.; LIN, B. P. J.; HU, J. C. C. Novel MSX1 frameshift causes autosomal-dominant oligodontia. J Dent Res, Chicago, v. 85, no. 3, p. 267-271, 2006.

KLEIN, M. L.; NIEMINEN, P.; LAMMI, L.; NIEBUHR, E.; KREIBORG, S. Novel mutation of the initiation codon of PAX9 causes oligodontia. J Dent Res, Chicago, v. 84, no. 1, p. 43-47, 2005.

KOBLUK, C. N.; AMES, T. R. & GEOR, R. J. The horse diseases and clinical management. (Vol. 1) (pp. 289-296). W.B. Saunders company. 1995.

KRELING, K. (ed.). Horses' teeth and their problems: prevention, recognition and treatment. (2nd ed.). Luneburg, Germany: Cadmos. 2003.

KERE, J; SRIVASTAVA, A.K; MONTONEN, O. X-linked anhidrotic (hipohidrotic) ectodermal dysplasia is caused by mutation in a novel transmembrane protein. Nature Genetics, v13, p.409-416, 1996.

LOBO, R. N. B.; VILLELA, L. C. V. Ferramentas para o melhoramento genético. EMBRAPA, 2005

YAMAGUCHI H, et al. (2005) Mutations in TERT, the gene for telomerase reverse transcriptase, in aplastic anemia**.** ***N Engl J Med*****352**(14):1413-24

LOWDER, M.Q. & MUELLER, P.O. Dental embryology, anatomy, development and aging. Veterinary Clinics of North America: Equine practice, Dentistry, 14 (2), 227-245, 1998.

LUNDSTRÖM, A. Introducion a la ortodoncia. Buenos Aires: Ed. Mundi, 1971.

LUNDSTRÖM, A. Nature versus nurture in dento-facial variation. *Eur J Orthod*, London, v. 6, no. 2, p. 77- 91, 1984.

MANSO, C; SAN ROMÁN, F; LLORENS, P. Signos clínicos de las diversas alteraciones dentales. *Equinus, II* (2), p.57-63, 2002.

MOREIRA, H. L. M.; HILSDORF, A. W.S.; PEREZ, H.J.G.; FREITAS, R. T. F. Seleção genética de caracteres qualitativos e quantitativos. *Panorama da aquicultura*, v. 23, n. 139, p. 47-53, 2013.

MATTOS, P., RODRIGUES, R. G., CELIA, A. P., SAGGIN, K. D., PADILHA, A. C. M., 2010. O perfil empreendedor do criador de cavalo crioulo no estado do Rio Grande do Sul. Anais 48º Congresso SOBER-Sociedade Brasileira de Economia Administração e Sociologia Rural, Campo Grande-MS, 2010.

MASSAGO, H.; RIBEIRO, R. P.; BARRERO, N. M. L.; POVH, J. A.; CASTAGNOLLI, N.; GOMES, P. C.DIVERSIDADE GENÉTICA DE QUATRO LINHAGENS DE Oreochromis niloticus UTILIZANDO O MARCADOR RAPD. *Bioscience Journal*, v. 25, n. 4, p. 150-159, 2009.

MENEZES, M. P. C. Variabilidade e relações genéticas entre raças caprinas nativas brasileiras, ibéricas e canárias. *Revista Científica de Produção Animal*, v.7, n. 1, 2005.

MELO, D. C.; OLIVEIRA, D. A. A.; SEERIG, A.; CARVALHO, D. C. Aplicações práticas de marcadores microssatélites na caracterização genética e identificação de plantéis de tilápia. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.32, n.4, p.220-224, 2008.

OLIVEIRA, A. G. Associação da anodontia parcial com o tamanho e morfologia dos dentes permanentes, com apinhamento dentário e com as dimensões do arco dentário de brasileiros. 140 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia Ortodontia Bauru)-Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 1988.

OMURA, C. M. Dentes e Companhia – Odontologia Equina. 2009. Acessado em 25 Mai 2014. Disponível em http://equinocompleto.com.sapo.pt/w004.htm

PITCHER, T. E.; MAYS, H.L. An introduction to genetic quality in the context of sexual selection. Genetica, v. 134, p. 1-4, 2008.

PERRY, G. H.; VERRELLI, B. C.; STONE, A. C. Molecular evolution of the primate developmental genes MSX1 and PAX9. Mol Biol Evol, Chicago, v. 23, no. 3, p. 644 – 654, March 1, 2006.

QUINN, G.; TREMAINE, W. & LANE, J. Supernumerary cheek teeth (n=24): clinical features, diagnosis, treatment and outcome in 15 horses. Equine veterinary journal, 37 (6), 505-509. 2005.

REED SM, BAYLY WM. Medicina interna equina. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000

RIBEIRO, M. G. Principais avanços técnicos e indicações de exodontias de pré-molares e molares de equinos. In: Cong. Bras. Cir. Anest. Vet. Mini Curso de Odontologia Equina, 6, 2004, Indaiatuba, 2004, p.72-86.

SCRUTCHFIELD, W. L. Wolf teeth: how to safely and effectively extract and is it necessary. Focus meeting, Indianopolis, USA. 2006. Acessado em 25 Mai 2014, disponível em: www.ivis.org/proceedings/aaepfocus/2006/scrutchfield1.pdf

SMITH, B. P. Medicina interna de grandes animais, 3 ed. Barueri, SP: Manole, 2006. 1900p.

TAMANINI AG, RIBEIRO MG. Incidência de dentes primeiro pré- molares em equinos da região de Umuarama-PR. In: Anais do XVII Encontro Anual de Iniciação Científica: 2008; Foz do Iguaçu. Foz do Iguaçu, PR

THOMASSIAN, A. Enfermidades dos cavalos. 4 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2005. 573p.

TORRES, A. P; JARDIM, W. R. Criação do Cavalo e de outros equinos. 2 ed. São Paulo: Livraria Nobel S.A. 1979. p 258, 394

TOIT, N. Gross equine dentition and their supporting structures. Focus meeting,Indianopolis, USA. 2006 Acessado em 25 Mai 2014, disponível em: www.ivis.org/proceedings/aaepfocus/2006/dutoit2.pdf

VELLOSO, T. R. G. et al. Anodontia parcial: forma e tamanho dos dentes remanescentes e prováveis implicações clínicas. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica - SBPqO, 18., 2001, Águas de Lindóia. Pesquisa Odontológica Brasileira - Brazilian Oral Research. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2001. v. 15, p. 123.

VIEIRA, A. R. Oral clefts and syndromic forms of tooth agenesis may be the best models for genetics of isolated tooth agenesis. J Dent Res, Chicago, v. 82, p. 162-165, 2003.

MOYERS, R. E. Ortodontia. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1979.

URSI, W.J.S.; ALMEIDA, R. R.; ALMEIDA, J. V. Mesiodens, macrodontia e má-oclusão: relato de caso clínico. Rev Fac Odontol Univ São Paulo, São Paulo, v.2, n.2, p.109-114, 1988.

ANEXOS

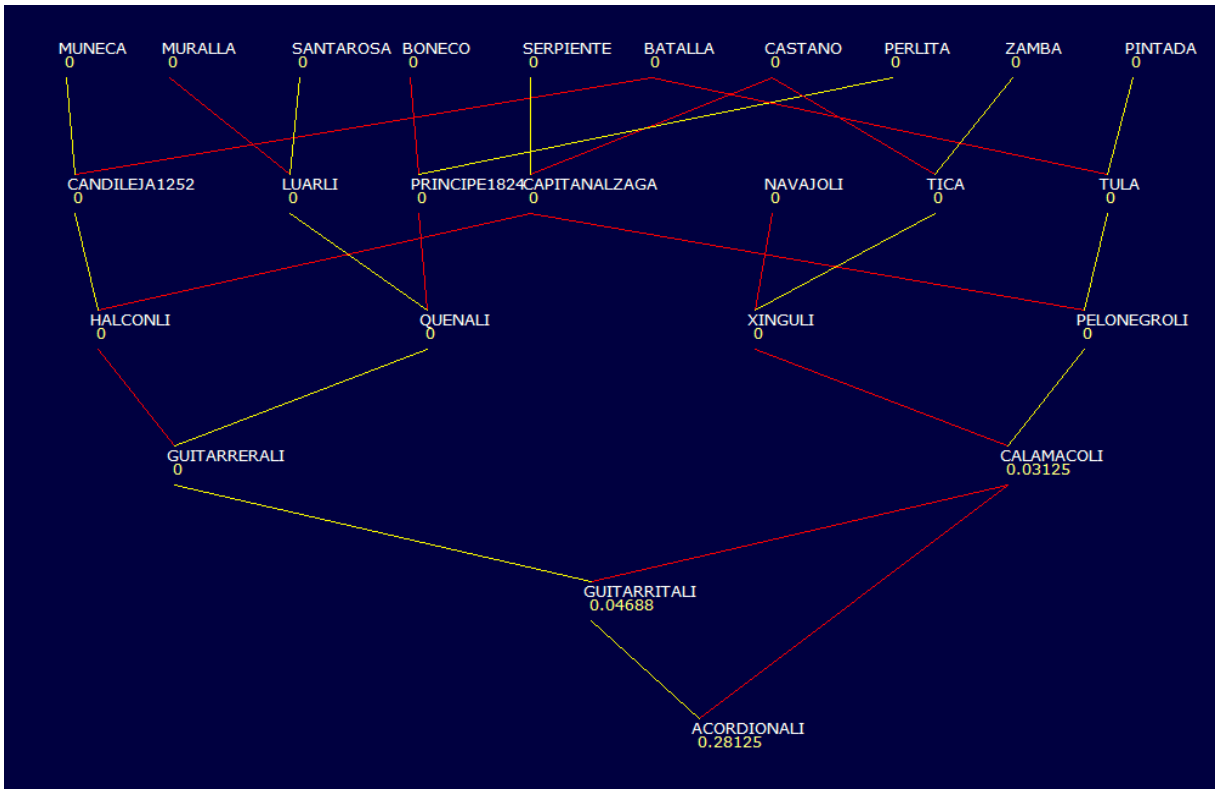


Figura 1 – Genealogia do animal de maior consanguinidade encontrado. Pertence a linhagem uruguaia.

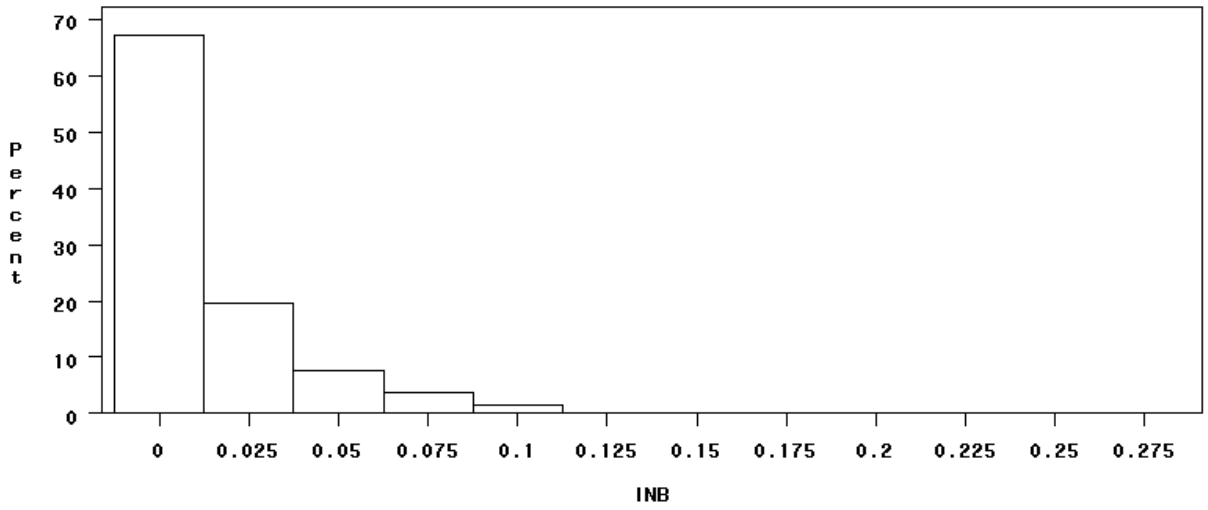


Figura 2 – Histograma de frequências geral para variável consanguinidade.

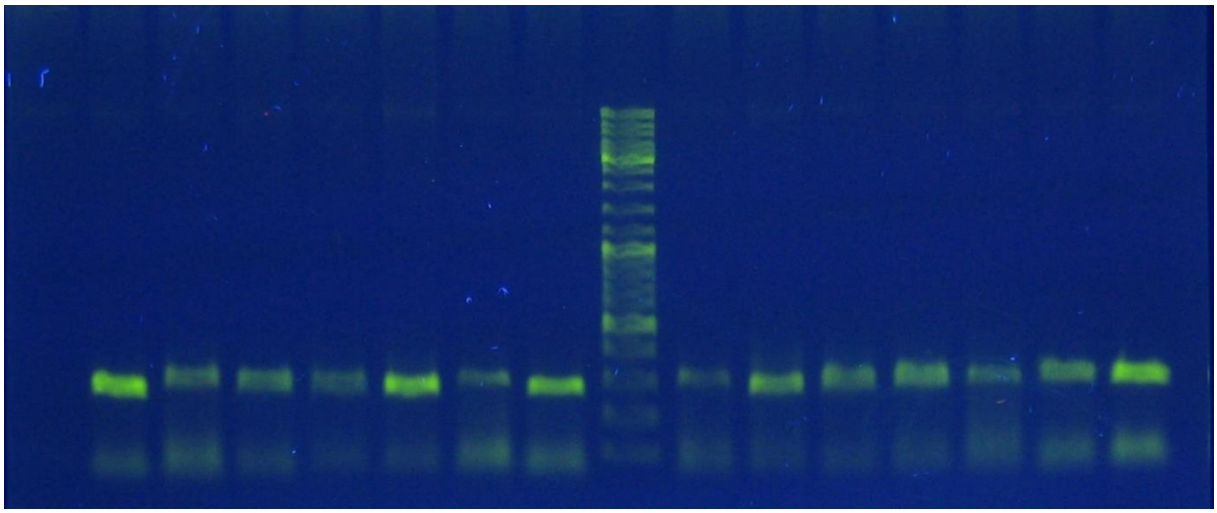


Figura 3 – Checagem amplificação gene MSX1