



**UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA ESTOMATOLÓGICA**

**HACIA EL ENTENDIMIENTO DE LA ETIOPATOGENIA DE LA
HIPOMINERALIZACIÓN MOLAR. UNA REVISIÓN NARRATIVA**

*Towards the understanding of the aetiopathogenesis of molar hypomineralisation. A
narrative review.*

Memoria presentada a la Escuela de Odontología de la Universidad de Talca como parte de los requisitos científicos exigidos para la obtención del título de Cirujano Dentista.

**ESTUDIANTES: DANIELA CASTILLO SÁNCHEZ
JOSEFA GALDAMES SALGADO
PROFESOR GUÍA: DR. VIDAL PÉREZ VALDÉS**

TALCA - CHILE

2021

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2021

INFORMACIONES CIENTÍFICAS

| |
|---|
| Nombre del profesor guía |
| Vidal Pérez Valdés |
| ORCID del profesor guía |
| https://orcid.org/0000-0003-1213-6274 |
| Google Scholar del profesor guía |
| https://scholar.google.com/citations?hl=pt-BR&user=ynq8SXsAAAAJ |
| Correo electrónico del profesor guía |
| vperez@utalca.cl |

DEDICATORIA

Este trabajo esta dedicado a nuestra familia por su cariño y apoyo incondicional durante todo este proceso, en especial a nuestros padres, quienes con su amor, paciencia y esfuerzo, nos han permitido cumplir con una de nuestras metas, gracias por enseñarnos a perseverar durante todos estos años de aprendizaje.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer de manera muy especial a nuestro profesor guía, el Dr. Vidal Pérez Valdés, por ser un excelente docente, quien con su gran calidad humana y profesional nos acompañó, motivó e inspiró, compartiendo sus conocimientos y pasión por el tema. Gracias a lo anterior, sumado a su increíble disposición a contestar cada duda y corregir nuestras deficiencias como escritoras principiantes, es que logramos dar vida a este trabajo.

También queremos dar las gracias a todos aquellos docentes que de una u otra manera fueron parte de nuestro proceso formativo, siendo quienes nos alentaron, apoyaron y aconsejaron a través de su experiencia. Nos sentimos afortunadas de que nos ayudaran a construir los cimientos para nuestro futuro profesional, siempre los recordaremos con mucho cariño.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1. RESUMEN..... | 1 |
| 1.1. Palabras clave: Esmalte Dental, Causalidad, Albúmina Sérica..... | 1 |
| 2. ABSTRACT..... | 2 |
| 2.1. Keywords: Dental Enamel, Causality, Serum Albumin..... | 2 |
| 3. INTRODUCCIÓN..... | 3 |
| 4. MÉTODOS | 5 |
| 4.1. Diseño..... | 5 |
| 4.2. Unidades de estudio..... | 5 |
| 4.3. Procedimiento..... | 5 |
| 4.4. Estrategia de búsqueda y selección | 5 |
| 5. ASPECTOS IMPORTANTES DE LA HIPOMINERALIZACIÓN MOLAR | 7 |
| 6. POTENCIALES FACTORES ETIOLÓGICOS DE MH | 11 |
| 7. ASPECTOS MOLECULARES DEL MH..... | 14 |
| 8. DISCUSIÓN | 18 |
| 9. REFERENCIAS | 20 |

1. RESUMEN

La Hipomineralización Molar (MH por su acrónimo en inglés) es un particular defecto del desarrollo dentario que se presenta clínicamente como zonas circunscritas de esmalte tizoso, conocidas como opacidades demarcadas, las cuales afectan principalmente los primeros molares permanentes y segundos molares primarios. Reportando una alta prevalencia entre los defectos de esmalte, MH afecta negativamente la calidad de vida de las personas afectadas, siendo ampliamente estudiada en la literatura. Sin embargo, aún no se ha determinado exactamente su etiopatogenia y aunque muchas investigaciones la asocian a diferentes causas, ninguna de ellas es concluyente.

Recientemente, estudios biomoleculares del esmalte tizoso característico de la condición y el hallazgo de albúmina como el principal componente proteico presente en las opacidades demarcadas de superficie intacta, han permitido desarrollar nuevas hipótesis que podrían ayudar a explicar su causa. En esta revisión dilucidamos la evidencia emergente disponible sobre la etiopatogenia de la MH, con el objeto de mejorar el entendimiento de esta condición entre la comunidad odontológica. Además discutimos el rol de la albúmina, su procedencia y mecanismo en su posible participación en la interrupción de la calcificación del esmalte favoreciendo la formación de un esmalte hipomineralizado o tizoso. Finalmente, identificamos desafíos que presenta la investigación de esta condición, y como el establecimiento de la etiopatogenia podría ayudar a lograr un mejor manejo clínico de los pacientes afectados y posiblemente a la prevención de la MH.

1.1. Palabras clave: Esmalte Dental, Causalidad, Albúmina Sérica.

2. ABSTRACT

Molar hypomineralisation (MH) is a particular developmental dental defect clinically characterised as delineated areas of “chalky” dental enamel known as demarcated opacities, which mainly affect first permanent molars and second primary molars. Being highly prevalent among enamel defects, MH negatively affects the quality of life of affected individuals and has been widely studied in the literature. However, its actual aetiopathogenesis has not been determined so far. Even though many investigations associate MH to different causes, none of them is conclusive.

Currently, biomolecular studies of chalky enamel have found albumin as the main protein component in demarcated opacities with intact surface, allowing the development of new hypotheses that may explain its cause. In this review we elucidate the emerging evidence available on the aetiopathogenesis of MH, with the aim of improving understanding of this condition among the dental community. In addition, we discuss the role of albumin, its origin and mechanism in its possible involvement in the disruption of enamel calcification favouring the formation of hypomineralised or chalky enamel. Finally, we identify research challenges in this condition, and how the establishment of the aetiopathogenesis could help to achieve better clinical management of affected patients and possibly the prevention of MH.

2.1. **Keywords:** Dental Enamel, Causality, Serum Albumin.

3. INTRODUCCIÓN

La Hipomineralización Molar (MH por su acrónimo en inglés) es un particular defecto del desarrollo dentario (D3) altamente prevalente a nivel mundial. MH causa sensibilidad y dolor a los niños con esta condición, además, es difícil de restaurar y presenta una alta tasa de retratamientos, pudiendo alterar la calidad de vida de las personas afectadas⁽¹⁾. A pesar de ser ampliamente estudiada, su etiología permanece incierta⁽²⁾. Por lo que, entender los aspectos patogénicos involucrados en la formación del esmalte (amelogénesis) podría ser un paso clave para dilucidar su causa y potencialmente prevenir su ocurrencia.

El esmalte dental es un tejido altamente mineralizado y acelular, lo que implica que cualquier anomalía durante su formación va a desencadenar cambios permanentes en su estructura, denominados defectos del desarrollo dentario (D3s)⁽³⁾. En 1987, se describió por primera vez un D3 de esmalte de etiología desconocida que afectaba, en algunos casos, severamente a dientes específicos⁽⁴⁾. Conocida como MH, esta condición se caracteriza clínicamente por zonas de hipomineralización bien circunscritas, llamadas opacidades demarcadas, presentes principalmente en primeros molares e incisivos permanentes, aunque estos últimos en mucha menor frecuencia (esta variante también se conoce en la literatura como hipomineralización incisivo molar)⁽⁵⁾. También puede afectar la dentición primaria donde los segundos molares primarios podrían estar involucrados y en algunos pacientes ambas denticiones pueden estar afectadas en sucesión⁽⁶⁾. Las opacidades corresponden a un esmalte con menor contenido mineral, poroso, frágil y altamente susceptible a quiebre post eruptivo⁽⁷⁾. Esto supone un gran desafío para el odontólogo y se reconoce como un problema de salud pública global. Se ha reportado que los niños con MH tienen 10 veces más necesidad de tratamiento y reintervenciones que aquellos no afectados por la condición⁽⁸⁾. Tienen un alto riesgo de lesiones de caries de rápida progresión y en zonas atípicas del diente, riesgo que es exacerbado por la omisión de la higiene oral debido a la frecuente sensibilidad dental⁽⁹⁾. Por otro lado, para su tratamiento debemos enfrentar la dificultad de lograr la anestesia local y múltiples intervenciones, puesto que la tasa de fracaso de las restauraciones es mayor que en esmalte sano, al igual que las extracciones prematuras con necesidad de ortodoncia⁽¹⁰⁾.

La MH tiene mayor impacto en la población mundial que la amelogenesis imperfecta (AI), fluorosis e hipoplasias. Ya que, si bien la AI es clínicamente más severa que la MH, también es mucho menos frecuente (0,01%). Por otro lado, la fluorosis (10%) e hipoplasias (5%) además de tener baja prevalencia en comparación a la MH (17%), también se tratan de condiciones menos graves y con una mejor comprensión de su prevención y tratamiento⁽²⁾. Debido a lo anterior, la MH está adquiriendo cada vez más relevancia. En el caso de Chile, más precisamente en la región del Maule, la prevalencia de la MH el año 2020 fue del 19,8% en los niños de 6 años y el 22% de ellos se presentaron en forma grave⁽¹¹⁾.

A pesar de conocerse los aspectos clínicos de la MH, aún no se ha esclarecido completamente su etiología⁽⁹⁾. La evidencia ha identificado las enfermedades de la madre durante el embarazo, enfermedades de la infancia (respiratorias), uso de antibióticos o exposición a tóxicos ambientales (BPA) como factores que pueden contribuir a la aparición de la MH^(12, 13). Sin embargo, la relación causa efecto de estos factores no ha podido ser explicada. Otras líneas de investigación han ido más allá e incluyeron estudios tanto en animales como humanos para dilucidar molecularmente las peculiares características que presentan las opacidades demarcadas características de esta afección⁽¹⁴⁾, distinguiéndose en el esmalte hipomineralizado algunas proteínas relacionadas con la sangre y/o líquido tisular; y la saliva, sugiriendo que estas parecen estar involucradas en este D3s de esmalte⁽¹⁵⁾. Dentro de las proteínas que más llaman la atención tenemos a la albúmina sérica, cuyos hallazgos preliminares sobre su posible rol en la formación del esmalte hipomineralizado nos hace pensar que, si entendemos cómo esta proteína se incorporó a la matriz del esmalte durante la amelogenesis, podríamos establecer estrategias que permitirían la prevención de este particular D3s⁽²⁾. Por esta razón, en esta revisión identificamos e interpretamos la evidencia disponible sobre la etiopatogenia de esta condición, con el objeto de mejorar su entendimiento entre los odontólogos y contribuir a la posible prevención de la MH.

4. MÉTODOS

4.1. Diseño

Revisión narrativa de la literatura

4.2. Unidades de estudio

Artículos científicos cuya metodología incorpore estudios epidemiológicos, experimentales in vitro y/o in vivo ya sea de animales y/o humanos, publicados principalmente entre los años 2010-2021, con resumen disponibles, escritos en inglés y pertenecientes mayoritariamente a revistas científicas de alto impacto (Q1 y Q2).

4.3. Procedimiento

Para la revisión narrativa de la literatura aplicamos una estrategia de búsqueda en las siguientes bases de datos: Medline mediante el buscador de Pubmed, Web of Science y Google Scholar. Ingresamos a través del buscador meta catálogo PRIMO del sistema de biblioteca de la página web de la Universidad de Talca.

Restringimos la búsqueda por periodo de publicación e idioma, limitándose principalmente a manuscritos entre 2010 y 2021 escritos en inglés. Evaluamos la calidad de cada artículo según impacto de la revista, revisado en la página SJR (<https://www.scimagojr.com>) y analizamos título y resumen de cada uno.

Identificamos los artículos de interés y los obtuvimos en texto completo, luego los leímos y analizamos críticamente en su totalidad e interpretamos la evidencia disponible.

4.4. Estrategia de búsqueda y selección

Para la búsqueda, utilizamos términos libres: “*Molar Hypomineralisation*”, “*enamel defects*”, “*pathogenesis*”, “*protein content*” y términos Mesh: “*dental enamel*”[Mesh], “*kallikreins*” [Mesh], “*serum albumin*”[Mesh]; a través del operador booleano “AND” y “OR”.

Aplicamos la estrategia de búsqueda de forma independiente y en caso de existir discrepancia en la recopilación, analizamos los artículos involucrados.

| Término de búsqueda libre | Operador Booleano | Término de búsqueda libre |
|----------------------------------|--------------------------|----------------------------------|
| Molar hypomineralisation | AND | Pathogenesis |
| Molar hypomineralisation | AND | Protein content |
| Término de búsqueda Mesh | Operador Booleano | Término de búsqueda Mesh |
| Dental enamel | AND | Serum albumin |
| Dental enamel | AND | kallikreins |

Tabla N°1: descripción de estrategia de búsqueda sólo utilizando términos de búsqueda libres y términos Mesh por separado, con operador booleano AND.

| Término de búsqueda libre | Operador Booleano | Término de búsqueda libre | Operador Booleano | Término de búsqueda libre |
|---------------------------|-------------------|---------------------------|-------------------|---------------------------|
| Enamel defects | OR | Molar Hypomineralisation | AND | Bisphenol A |

Tabla N°2: descripción de estrategia de búsqueda utilizando sólo términos de búsqueda libres, utilizando operador booleano OR y AND.

| Término de búsqueda Mesh | Operador Booleano | Término de búsqueda Mesh | Operador Booleano | Término de búsqueda Mesh |
|--------------------------|-------------------|------------------------------|-------------------|--------------------------|
| Dental enamel/chemistry | OR | Dental enamel/ultrastructure | AND | Kallikreins |

Tabla N°3: descripción de estrategia de búsqueda utilizando sólo términos de búsqueda Mesh, utilizando operador booleano OR y AND.

5. ASPECTOS IMPORTANTES DE LA HIPOMINERALIZACIÓN MOLAR

Para comenzar este intrincado camino hacia el entendimiento de la patogénesis de la Hipomineralización Molar (Molar Hypomineralisation; MH por su acrónimo en inglés), debemos entender que los dientes son estructuras altamente refinadas formadas por varios tipos de células especializadas ⁽¹⁶⁾. Es precisamente esto lo que genera mucho interés en distintas áreas biomédicas, ya sea tanto por el mecanismo celular para el manejo del calcio, la secreción y reabsorción de proteínas o la producción de tejido mineralizado ⁽¹⁷⁾. El esmalte dental es uno de esos tejidos que se considera una sustancia única en el cuerpo humano, dado que es un tejido acelular y altamente mineralizado con una dureza comparable a la del acero ⁽¹⁸⁾. Sin embargo a pesar de estas características, también es un tejido resiliente dado principalmente a su estructura mineral organizada e intrincada de cristales muy compactos que están en estrecho contacto y a una pequeña cantidad de agua y material orgánico que posee este tejido luego de la maduración posteruptiva que sigue a la erupción dentaria en la cavidad bucal ⁽¹⁹⁾.

La amelogénesis es un proceso complejo y muy lento, que puede dividirse en dos etapas principales; una de secreción y otra de maduración ⁽²⁰⁾. En la etapa de secreción el ameloblasto, célula formadora del esmalte, libera gran cantidad de proteínas que estructuran el andamiaje para el desarrollo de delgadas cintas minerales de longitud determinada que permitirá formar el espesor del esmalte ⁽²¹⁾. Entre estas proteínas encontramos la amelogenina que ocupa aproximadamente el 90% de la matriz el esmalte en esta etapa, el 10% restante lo ocupan otras proteínas del tipo no-amelogeninas como la enamulina y ameloblastina ⁽²²⁾. También se liberan algunas enzimas que degradarán estas proteínas estructurales en la siguiente etapa conocida como etapa de maduración ⁽²³⁾. En esta etapa, la degradación proteica permite crear espacios que serán ocupados por el calcio y fosfato responsables del endurecimiento final del esmalte ⁽²⁰⁾. La etapa de maduración puede tardar entre 3 a 4 años en terminar de completar la corona de algunos dientes, como es el caso de los primeros molares permanentes ⁽²²⁾. Por lo tanto, cuando una de estas etapas es alterada, desencadena cambios permanentes en la estructura del esmalte, dando origen a diversos D3s, dependiendo principalmente del momento de la amelogénesis en que ocurren las alteraciones ⁽²⁰⁾. Si la injuria afecta la etapa secretora, se produce como resultado un

alargamiento insuficiente de los cristales, lo que genera una capa de esmalte delgada, de menor espesor o hipoplásica. Por otro lado, si las alteraciones afectan la etapa de maduración y la matriz proteica del esmalte no se degrada o no es reabsorbida adecuadamente, da origen a una capa de esmalte que es de espesor normal, pero con menor contenido mineral dando como resultado un esmalte hipomineralizado o tizoso ^(23, 24).

La MH es una condición que se caracteriza clínicamente por zonas de hipomineralización del esmalte bien circunscritas, llamadas opacidades demarcadas, que pueden afectar principalmente de uno a cuatro primeros molares permanentes (PMP) ⁽¹⁾. Los incisivos permanentes también pueden estar afectados, aunque en menor frecuencia, en este caso recibe el nombre de Hipomineralización Incisivo Molar ^(5, 25). Los segundos molares primarios (SMP) también pueden estar afectados por esta condición y la presencia de opacidades demarcadas en estos dientes puede considerarse como un factor predictivo de su aparición en los primeros molares permanentes. Las investigaciones han mostrado que existe una colocalización anatómica de los segundos molares primarios y los primeros molares permanentes durante su desarrollo intraóseo y se ha encontrado que aproximadamente la mitad de los primeros molares permanentes con opacidades demarcadas se relacionan con lesiones similares previas en los segundos molares primarios. Sin embargo, la ausencia de estas opacidades en la dentición temporal no descarta su futura aparición en la dentición permanente ^(26, 27).

Las opacidades demarcadas pueden presentarse intactas y de color variado, pudiendo ser blancas, blanco-cremosas, amarillas o marrones/café ⁽²⁸⁾. Sin embargo, en los casos más severos también puede manifestarse con extensas zonas de fractura, ya que el esmalte contenido en la opacidad posee menor contenido mineral, es poroso, frágil, tizoso y altamente susceptible al quiebre post eruptivo y al desarrollo de lesiones de caries de rápida progresión ^(5, 7, 29). Del mismo modo, los dientes afectados por estas zonas de esmalte tizoso expresan una mayor sensibilidad a estímulos que habitualmente no causan molestias en un esmalte normal ⁽³⁰⁾. Por lo anterior, muchos niños con MH evitan el cepillado de la zona afectada, aumentando el riesgo de acúmulo de biofilm; lo que se ve favorecido además por la superficie irregular que tiene este esmalte tizoso, incluso en lesiones intactas ⁽³¹⁾. Por otra parte, en los casos más severos, la pulpitis resultante dificulta la anestesia local y como

consecuencia, los niños con esta condición muestran significativamente más ansiedad y miedo al dentista ⁽³²⁾, sin olvidar la carga estética y psicológica asociada especialmente cuando los dientes anteriores se encuentran afectados ⁽³³⁾. Todo lo anterior va a significar un desafío al momento de tratar estas lesiones. Se ha reportado que los niños con MH, especialmente en los casos más graves, tienen 10 veces más necesidad de tratamiento (preventivo, restaurativo y ortodoncia) y reintervenciones que aquellos no afectados por la condición ⁽⁸⁾. Además, la tasa de fracaso de las restauraciones en este esmalte tizoso es mayor que en esmalte sano, al igual que las extracciones prematuras lo que aumenta también la subsecuente necesidad de tratamientos de ortodoncia ⁽¹⁰⁾.

La MH se ha convertido en una condición prevalente para los profesionales de la salud oral alrededor del mundo ⁽²⁴⁾. Según Dongdong Zhao et al (2018) ⁽³⁵⁾ la prevalencia de esta condición a nivel mundial es del 14,7%, siendo Sudamérica (18%) una de las regiones con más casos de MH en comparación a los otros continentes, Oceanía (16,3%), Europa (14,3%), Asia (13%) y África (10,9%). A pesar de que Sudamérica presenta mayor prevalencia de MH, Mejías et al (2019) ⁽³⁶⁾ establece que esta información está limitada sólo aquellos países que la han reportado, como Montevideo–Uruguay (11.8 %), Araraquara – Brasil (12.3 %), Buenos Aires – Argentina (15.9 %) y Ciudad de México–México (15.8 %), siendo Medellín-Colombia (11,2%) la prevalencia más baja entre los países sudamericanos. Da Costa-Silva et al (2010) ⁽³⁷⁾ observó que la prevalencia en Sao Paulo-Brasil (19.8%) es variable, debido a la ubicación geográfica y al área residencial (urbano 8.9% y rural 12%), lo que se traduce en una distribución desigual de las enfermedades bucodentales. Schwennicke et al (2018) ⁽³³⁾ sostiene que la diversidad étnica y ambiental pueden explicar las diferencias de prevalencia. Además las variaciones en el tamaño de la muestra, los criterios de diagnóstico y grupos de edad también pueden contribuir a la gran variación encontrada hasta ahora. En el caso de Chile, se ha informado la prevalencia de MH promedio de 16,8% y 12,7% en niños de la ciudad de Temuco y Santiago, respectivamente ⁽³⁸⁾, mientras que en la región del Maule, el año 2020 fue del 19,8% en los niños de 6 años y el 22% de ellos se presentaron en forma grave ⁽¹¹⁾.

En virtud de lo expuesto, la MH es un defecto de esmalte altamente prevalente que afecta negativamente la calidad de vida de las personas que la padecen. Y aunque se han realizado

múltiples estudios para comprender la epidemiología y presentación clínica de esta condición, la etiología de la MH permanece incierta ⁽³⁰⁾.

6. POTENCIALES FACTORES ETIOLÓGICOS DE MH

Una vez reconocida la importancia de la MH como problema de salud global, la siguiente pregunta es entender cómo se desarrolla esta condición. Estudios epidemiológicos han estudiado diversos factores posiblemente vinculados al desarrollo de la MH en niños, entre los que se mencionan:

Aspectos perinatales: las enfermedades de la madre como diabetes e hipertensión durante el embarazo han mostrado una asociación con la presencia de dientes con zonas de esmalte hipomineralizado en sus hijos. Sin embargo, el consumo de fármacos, alcoholismo y tabaquismo durante el embarazo, no han presentado tal asociación ^(39, 40, 41, 42, 43). En cuanto al estrés materno, se ha observado que podría desencadenar cambios en el estado nutricional, calidad de sueño y peso de la madre, condiciones que se vinculan a la generación de D3s de esmalte ^(41, 42), pero aún se requieren más estudios al respecto para generalizar estos resultados.

Aspectos neonatales: Los más importantes a considerar son la prematuridad y las complicaciones al nacer, donde este último se reporta 4,5 veces más en niños con MH. Lo anterior se puede explicar por el hecho que las dificultades en el nacimiento pueden causar hiperbilirrubinemia e hipoxia en el recién nacido, siendo estos, factores asociados a la producción de D3s de esmalte ⁽⁴⁴⁾. En cuanto al nacimiento por cesárea y bajo peso al nacer, existe pobre evidencia para relacionarlos con la generación de opacidades demarcadas, que son los signos clínicos específicos de la MH ^(39, 40, 42).

Aspectos postnatales: El historial de enfermedades y el consumo de fármacos durante los primeros tres años de vida, se repiten entre los casos de MH ⁽⁴⁴⁾. Se ha mostrado en estudios retrospectivos, que patologías como varicela, otitis media, neumonía, bronquitis/asma ⁽⁴⁵⁾, síndrome febril e hipocalcemia, tienen una fuerte asociación con la aparición de esmalte hipomineralizado ^(39,46), mientras que enfermedades renales, gastrointestinales, dermatitis atópica, alergias alimentarias ⁽⁴⁶⁾ y deficiencia de vitamina D ⁽⁴⁷⁾ también se han asociado a la generación de estos D3, pero con mucha menos evidencia. En cuanto al consumo de antibióticos, es un tema controversial, particularmente la amoxicilina que es la más mencionada ⁽⁴⁸⁾. Souza et al (2012) ⁽⁴³⁾ encontró que la MH era más común en niños

provenientes de zonas rurales que habían usado algún antibiótico como amoxicilina durante su infancia, asociado a padecimiento de enfermedades del tracto respiratorio superior ⁽⁴³⁾. En relación con los fármacos utilizados para asma, se sugiere que la terapia con corticosteroides podría suprimir la actividad ameloblástica pudiendo ser un agente causante de D3s de esmalte ⁽⁴⁰⁾. Sin embargo, cuánto pesa la enfermedad en sí o su tratamiento en la generación de esmalte hipomineralizado requiere más investigación.

Tóxicos ambientales: Lesiones de esmalte poroso en infantes se han observado frente a exposición de altos niveles de dioxinas vía leche materna ⁽¹²⁾ y a disruptores endocrinos como el bisfenol A, genisteína y vinclozolina ^(42, 49). Jedeon et al (2014) ⁽⁴⁹⁾ probó varias combinaciones de estos disruptores endocrinos en el esmalte de incisivos de ratones, encontrando que el bisfenol A (BPA) por sí solo tiene un mayor impacto en la generación de lesiones de esmalte. Dentro de los resultados encontraron que aumenta la expresión de la proteína enamelina, mientras que los niveles de la proteasa calicreína-4 disminuyeron, expresándose en una acumulación anormal de albúmina exógena en el esmalte afectado por BPA. Sin embargo, sus estudios usan los dientes incisivos como modelo para generar las lesiones de esmalte y no los molares que son los dientes que definen la MH ⁽⁴⁹⁾.

Etnicidad: Se ha estudiado el rol de la etnia en el desarrollo de la MH, a través de la diferencia de prevalencia entre distintos grupos étnicos dentro de una misma población. Por un lado, Mahoney et al (2011) ^(50, 51) encontró que la etnicidad entre Maori, Las Islas del Pacífico, grupos europeos de Nueva Zelanda y Wellington no es un factor que contribuya a la aparición de opacidades demarcadas en los primeros molares permanentes. Por el contrario, Jing Jing et al (2015) ⁽⁵²⁾ sugiere que la etnia malaya es más susceptible a desarrollar la condición que los niños de Singapur, China. Probablemente esta asociación se debe en gran medida al estilo de vida de este grupo de personas. Sin embargo, la participación de la etnicidad en el desarrollo de la MH requiere más investigación.

Genética: Texeira et al (2018) ⁽⁵³⁾ estudiaron 167 pares de gemelos y observaron que existe mayor prevalencia de MH entre gemelos homocigóticos que los dicigóticos, sugiriendo una alta susceptibilidad genética a desarrollar opacidades demarcadas, pero también resalta la importancia que tiene la variable medioambiental en la que se desarrollan. Por lo que el rol de la genética en la etiopatogenia de esta condición aún no es clara.

Como sabemos, todos los procesos durante el embarazo y la primera infancia, si bien son dirigidos estrictamente por la genética también son muy sensibles a alteraciones en su entorno, y la amelogénesis no es la excepción, entonces, considerando que el Primer Molar Permanente comienza su formación alrededor del cuarto mes de gestación y finaliza a los 3 años aproximadamente, siendo dos terceras partes de este tiempo dirigidas a la etapa de maduración ⁽¹²⁾ es sensato pensar que cualquiera de estos factores podría interrumpir la función normal de los ameloblastos y producir un esmalte alterado. Lamentablemente, todas estas asociaciones provienen de estudios observacionales retrospectivos, donde múltiples elementos, incluso algunos no pesquisados, podrían estar interactuando y donde la relación causa-efecto de los factores sugeridos no es explicada de manera específica, hasta ahora. Por lo que, siguen siendo sólo potenciales factores asociados y la etiología de la MH continúa siendo desconocida ⁽²⁾. Posiblemente, si nos adentramos en los mecanismos moleculares que afectan la amelogénesis en esta condición, podríamos encontrar pistas que nos ayuden a determinar su causa.

7. ASPECTOS MOLECULARES DEL MH

A pesar del significativo impacto de la MH en la calidad de vida de los niños afectados, existe escasa literatura sobre la patogénesis molecular de esta condición ⁽¹⁾. Los signos clínicos, como lo analizamos previamente, son las opacidades demarcadas que pueden afectar tanto los PMPs o SMPs ⁽²⁾. El esmalte contenido dentro de la opacidad es tizoso, presentando reducida dureza, aumentada porosidad debido principalmente a una ultraestructura defectuosa lo que se traduce en una alta susceptibilidad a quiebre post eruptivo y rápido desarrollo de caries ⁽³⁾. Además, estas características físicas disminuidas lo hacen difícil de restaurar con los materiales dentales actuales, ya que su alto contenido proteico los hace altamente resistentes al grabado ácido ⁽⁵⁴⁾. Por lo anterior, es necesario comprender los aspectos moleculares presentes en este esmalte tizoso, si queremos intentar conocer cuándo y cómo se origina la MH durante la amelogénesis.

Fisiológicamente en la etapa de secreción de la amelogénesis existen altos niveles de proteínas en la matriz del esmalte en formación, como la amelogenina ⁽²¹⁾. Estas proteínas, son degradadas en su mayoría por la enzima calicreína-4 (KLK4; por su acrónimo en inglés) tempranamente en la etapa de maduración, permitiendo la entrada de minerales y resultando un esmalte altamente resistente con un muy bajo porcentaje de materia orgánica (por ejemplo restos de proteínas amelogeninas y no amelogeninas) ⁽⁵⁵⁾. Estudios han demostrado que el esmalte tizoso característico de la MH tiene una mayor cantidad de proteínas, sin embargo, este aumento no está relacionado a proteínas de la matriz del esmalte sin degradar, sino a otras relacionadas con la sangre y/o líquido tisular; y la saliva ⁽¹⁵⁾. Las investigaciones también revelan que estas proteínas de la saliva y sangre están en diferentes concentraciones dependiendo de la integridad de la superficie del esmalte, donde la albúmina es la proteína predominante en las opacidades demarcadas con superficie intacta ⁽¹⁵⁾. Por su parte, Robinson et al (1994) ⁽⁵⁶⁾ analizó la presencia de albúmina sérica durante la amelogénesis en incisivos de ratones, detectando albúmina intacta en la etapa de secreción, teniendo un aumento de esta proteína al finalizar esta fase, además encontró trazas de albúmina al principio de la maduración del esmalte y muy poca cantidad de esta fue encontrada al finalizar la etapa. Sugiriendo que la albúmina podría ser parte normal de la amelogénesis y que su degradación empieza, al igual que todas las proteínas de la matriz

del esmalte, durante la etapa de transición y termina casi completa en la etapa de maduración gracias a la acción de KLK4, dejando sólo trazas de proteína en el esmalte maduro ^(54,56). Sus resultados fueron apoyados por el trabajo de Farah et al ⁽⁵⁴⁾ quien también encontró fragmentos de albúmina en esmalte normal. Aunque este último no evaluó la capacidad proteolítica de KLK4 sobre la albúmina.

Sin embargo, Mangum et al (2010) y William et al (2020) mostraron que tanto la albúmina como su isoforma fetal, la alfafetoproteína, no se degradan por completo luego de su exposición a la KLK4 *in vitro*, por lo que podemos observar que esta particular proteína presenta cierta resistencia a la proteasa que supuestamente está encargada de degradarla ^(2, 15). Además, si la albúmina formara parte de la amelogénesis debería degradarse junto con la amelogenina, no obstante los estudios *in vitro* demuestran que la KLK4 parece tener predilección por la amelogenina por sobre la albúmina ⁽²⁾.

Lo anterior alude algún grado de contradicción en la literatura donde la comprensión tradicional de la amelogénesis incluye a la albúmina como un participante normal de este proceso ⁽¹⁾. Mientras que Mangum y colaboradores en 2010 ⁽¹⁵⁾ sugieren que la albúmina es un agente exógeno que podría interrumpir este proceso y participar en la patogénesis del esmalte tizoso. Afortunadamente, estas contradicciones han comenzado a ser aclaradas recientemente ^(2,14).

El año 2020, Pérez y colaboradores ⁽¹⁴⁾ encontraron que las cantidades de albúmina en esmalte tizoso son 100 veces mayores, en algunas zonas de las opacidades demarcadas, en comparación al esmalte normal. Además, la cantidad de albúmina dentro de la opacidad demarcada declina progresivamente desde el esmalte más poroso/tizoso pasando por las zonas de transición llegando a ser indetectable en esmalte normal ⁽¹⁴⁾. Interesantemente, esta reducción gradual de la cantidad de albúmina dentro de la opacidad es inversamente proporcional a la dureza del esmalte afectado ⁽¹⁴⁾. Es decir, el esmalte es más blando en las zonas donde la albúmina es predominante y contrariamente, cuando la albúmina no es detectada el esmalte presenta una estructura y dureza normal ⁽¹⁴⁾. Lo anterior sugiere que la presencia albúmina podría estar implicada en la causa de la reducida dureza característica del esmalte tizoso en la MH.

Diferentes autores han tratado de explicar la presencia de albúmina en las opacidades demarcadas, pues como hemos visto, debería degradarse en la amelogénesis. Lo anterior podría ser producto de una alteración sistémica del ameloblasto durante la etapa de maduración del esmalte ⁽²⁾. Sin embargo, un estímulo sistémico debería generar defectos simétricos que no están en línea con la característica asimétrica de las opacidades demarcadas presentes en la MH ⁽¹⁴⁾.

Por otro lado, es posible que, de alguna forma, un mecanismo extracelular sea el responsable de la presencia de la albúmina en el esmalte tizoso. Recientemente, los resultados de Williams et al (2020) ⁽²⁾, apoyan el mecanismo extracelular, ya que en las opacidades demarcadas se encontraron tanto las isoformas fetales (alfa-fetoproteína) como adultas de la albúmina, las cuales están presentes en el esmalte hipomineralizado aislado de los primeros molares lo que es coherente con la adquisición de estas proteínas durante la primera infancia y no en edades posteriores.

Es así como el trabajo de Pérez et al (2020) ⁽¹⁴⁾ muestra la presencia de amilasa salival en el esmalte tizoso de opacidades demarcadas con quiebre posteruptivo, pero no en las lesiones con superficie intactas. Mientras que la albúmina se encuentra en ambas lesiones, lo que sugiere que esta última ha quedado atrapada antes de la erupción (posiblemente durante la formación del esmalte), uniéndose al esmalte inmaduro e impidiendo por lo tanto el endurecimiento final del esmalte ⁽¹⁴⁾. Paralelamente, la presencia de alfa-1-antitripsina y la antitrombina reportada en el esmalte hipomineralizado podrían inhibir la actividad proteolítica de la KLK4 ^(15,54). Sin embargo, el potencial mecanismo inhibitorio de la KLK4 durante la amelogénesis no ha sido explicado aún.

Adicionalmente, se sabe que la albúmina sufre cambios moleculares con el tiempo, tales como fragmentación, oxidación y agregación, en este contexto, Pérez et al ⁽¹⁴⁾, encontró que el esmalte tizoso contiene agregados entrelazados de albúmina oxidada, lo que sumado a la fragmentación distintiva de la albúmina de esmalte caracterizada por Mangum et al (2010) ⁽¹⁵⁾, concluyó que la fragmentación y agregación de la albúmina pueden ser biomarcadores moleculares de envejecimiento, indicando que esta proteína ha estado atrapada en el esmalte hipomineralizado durante años, apoyando la idea de una adquisición temprana durante la amelogénesis.

La literatura presentada es reducida, sin embargo, nos entrega hipótesis interesantes, suficientes para redirigir la investigación de la etiología de la Hipomineralización Molar hacia la rama molecular, sumando nuevas hipótesis y buscando interacciones que nos permitan pensar en la MH como una condición potencialmente prevenible.

8. DISCUSIÓN

La MH es una condición muy interesante, sus signos clínicos se asocian a opacidades demarcadas que afectan principalmente los PMPs y SMPs, de forma asimétrica ^(2, 14). Además, el esmalte tizoso se vincula a un alto contenido proteico cuya concentración puede variar dependiendo de la integridad de superficie de la opacidad ⁽¹⁴⁾. Esta condición afecta negativamente la calidad de vida a gran parte de la población mundial que la padece. Los estudios para dilucidar la etiopatogenia de la MH, la han asociado a factores tanto genéticos como ambientales, no obstante ninguno es concluyente, por esta razón la investigación molecular se convierte en otra respuesta a esta interrogante, encontrándose posibles mecanismos que podrían desencadenar el desarrollo de esta condición.

La albúmina es una de las proteínas que se cree participa del proceso normal de la amelogénesis, sin embargo, estudios en ratones muestran que esta proteína no es secretada por el ameloblasto durante el desarrollo dentario ⁽⁵⁷⁾. Mientras que diferentes estudios cuestionan esta corriente siendo Magnum et al (2010), Williams et al (2020) y Pérez et al (2020), quienes utilizaron dientes humanos con opacidades demarcadas en su mayoría intactas en sus investigaciones, sugiriendo que la albúmina podría no ser parte normal de la amelogénesis y ser un agente exógeno que participa en la patogénesis de la MH. Esta hipótesis se basa en el hecho que sus estudios muestran altos niveles de albúmina en el esmalte tizoso proveniente de opacidades demarcadas con superficie intacta. Además esta albúmina atrapada en la lesión se encontraba con signos de envejecimiento molecular, lo que sugiere que la albúmina estuvo retenida en la matriz del esmalte por mucho tiempo. Por ende estos autores muestran las bases para proponer la intervención de un agente externo como la albúmina en el proceso de la amelogénesis, no obstante su origen aún no se establece e incluso podrían haber otras proteínas participando en la interrupción de la calcificación del esmalte.

Como los autores han sugerido, la albúmina podría participar en la patogénesis de la MH, sin embargo, aún quedan muchas interrogantes que faltan ser investigadas para determinar el rol de esta en la MH, ya que, si bien la albúmina es una de las proteínas más abundantes tanto en la sangre como el líquido extracelular, aún no se ha determinado cuál es la procedencia de esta, en las lesiones de esmalte o cómo es que queda atrapada dentro de las

opacidades demarcadas. Del mismo modo, el mecanismo por el cual actúa esta en la amelogenesis aún es incierto, pues ha propuesto que la albúmina se adhiere a los cristales de esmalte, lo cual la hace resistente a la KLK4, no obstante podrían estar interviniendo otras proteínas como la antitrombina y la alfa-antitripsina, las cuales también fueron detectadas en las opacidades demarcadas ^(15, 54), con lo anterior, podríamos pensar que la presencia de estas favorecería la persistencia de la albúmina en el esmalte tizoso, pese a tener menores niveles que la albúmina sérica. Ciertamente la hipótesis que estos autores proponen sobre la albúmina es interesante, pero al mismo tiempo surgen muchas interrogantes que podrían cuestionarla, sin embargo es un avance en la investigación que durante muchos años ha tratado de encontrar una respuesta a la etiopatogenia de la MH.

El camino para dilucidar la etiopatogenia de esta condición es largo, sin dejar de lado que la literatura molecular en este aspecto es escasa, pero ciertamente las opacidades demarcadas han demostrado ser una fuente clave para su entendimiento, lo cual puede redirigir la investigación sobre la patogénesis de la MH, sin embargo aún faltan estudios con muestras más representativas de la población, con modelos más plausibles y cuyos resultados puedan ser extrapolables, con el objetivo que aporten mejor evidencia para apoyar esta hipótesis. También sugerimos más investigaciones enfocadas a decodificar las marcas moleculares retenidas en el esmalte tizoso de las opacidades demarcadas. Con esa información, podríamos pensar en la MH como una condición potencialmente prevenible, y de esa manera desarrollar herramientas que nos permitan mejorar el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de esta condición, mejorando directamente el entendimiento de la misma y el cuidado de las personas afectadas por MH.

9. REFERENCIAS

1. Hubbard MJ, Mangum JE, Perez VA, Nervo GJ and Hall RK. Molar Hypomineralisation: A Call to Arms for Enamel Researchers. *Front. Physiol.* 2017 8:546. doi: 10.3389/fphys.2017.00546
2. Williams R, Perez VA, Mangum JE, Hubbard MJ. Pathogenesis of Molar Hypomineralisation: Hypomineralised 6-Year Molars Contain Traces of Fetal Serum Albumin. *Front Physiol.* 2020 Jun 12;11:619. doi: 10.3389/fphys.2020.00619.
3. Crombie F, Manton D, Kilpatrick N. Aetiology of molar-incisor hypomineralization: a critical review. *Int J Paediatr Dent.* 2009 Mar;19(2):73-83. doi: 10.1111/j.1365-263X.2008.00966.x.
4. Koch G, Hallonsten AL, Ludvigsson N, Hansson BO, Holst A, Ullbro C. Epidemiologic study of idiopathic enamel hypomineralization in permanent teeth of Swedish children. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1987 Oct;15(5):279-85. doi: 10.1111/j.1600-0528.1987.tb00538.x.
5. Weerheijm, K. L., Jälevik, B., & Alaluusua, S. Molar–Incisor Hypomineralisation. *Caries Res.* 2001 Sep-Oct; 35(5), 390–391. doi:10.1159/000047479.
6. Hubbard MJ. Molar Hypomineralization: What is the U.S. Experience (Revisited)? *Pediatr Dent.* 2020 Nov 15;42(6):414-416.
7. Wogelius, P., Haubek, D., & Poulsen, S. (2008). Prevalence and distribution of demarcated opacities in permanent 1st molars and incisors in 6 to 8-year-old Danish children. *Acta Odontologica Scandinavica*, 66(1), 58–64. doi:10.1080/00016350801926941
8. Jälevik B, Klingberg GA. Dental treatment, dental fear and behaviour management problems in children with severe enamel hypomineralization of their permanent first molars. *Int J Paediatr Dent.* 2002 Jan;12(1):24-32.
9. Grossi JA, Cabral RN, Leal SC. Caries Experience in Children with and without Molar-Incisor Hypomineralisation: A Case-Control Study. *Caries Res.* 2017;51(4):419-424. doi: 10.1159/000477099.

10. William V, Messer LB, Burrow MF. Molar incisor hypomineralization: review and recommendations for clinical management. *Pediatr Dent*. 2006 May-Jun;28(3):224-32.
11. Orellana-Herrera C, Bascuñan-Yañez K, Gambetta-Tessini K & Pérez-Valdés V. Underdiagnosis of enamel defects in Family Health Centres of Talca City, Chile. *J Oral Res* 2020; 9(3):195-201. doi:10.17126/joralres.2020.036
12. Alaluusua S. Aetiology of Molar-Incisor Hypomineralisation: A systematic review. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2010 Apr;11(2):53-8. doi: 10.1007/BF03262713
13. Babajko S, Jedeon K, Houari S, Loiodice S and Berdal A (2017) Disruption of Steroid Axis, a New Paradigm for Molar Incisor Hypomineralization (MIH). *Front. Physiol*. 8:343. doi: 10.3389/fphys.2017.00343
14. Perez VA, Mangum JE, Hubbard MJ. Pathogenesis of Molar Hypomineralisation: Aged Albumin Demarcates Chalky Regions of Hypomineralised Enamel. *Front Physiol*. 2020 Sep 30;11:579015. doi: 10.3389/fphys.2020.579015.
15. Mangum JE, Crombie FA, Kilpatrick N, Manton DJ, Hubbard MJ. Surface integrity governs the proteome of hypomineralized enamel. *J Dent Res*. 2010 Oct;89(10):1160-5. doi: 10.1177/0022034510375824.
16. Thompson VP. The tooth: An analogue for biomimetic materials design and processing. *Dent Mater*. 2020 Jan;36(1):25-42. doi: 10.1016/j.dental.2019.08.106.
17. Hubbard MJ, Kon JC. Proteomic analysis of dental tissues. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2002 May 5;771(1-2):211-20. doi: 10.1016/s1570-0232(02)00042-9.
18. Simmer JP, Fincham AG. Molecular mechanisms of dental enamel formation. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1995;6(2):84-108. doi: 10.1177/10454411950060020701.
19. Arola DD, Gao S, Zhang H, Masri R. The Tooth: Its Structure and Properties. *Dent Clin North Am*. 2017 Oct;61(4):651-668. doi: 10.1016/j.cden.2017.05.001.
20. La Cruz RS, Habelitz S, Wright JT, Paine ML. Dental enamel formation and implications for oral health and disease. *physiol rev*. 2017 jul 1;97(3):939-993. doi: 10.1152/physrev.00030.2016.

21. Schmitz JE, Teepe JD, Hu Y, Smith CE, Fajardo RJ, Chun YH. Estimating mineral changes in enamel formation by ashing/BSE and microCT. *J Dent Res*. 2014 Mar;93(3):256-62. doi: 10.1177/0022034513520548.
22. Simmer JP, Hu JC. Expression, structure, and function of enamel proteinases. *Connect Tissue Res*. 2002;43(2-3):441-9. doi: 10.1080/03008200290001159.
23. Elhennawy K, Manton DJ, Crombie F, Zaslansky P, Radlanski RJ, Jost-Brinkmann PG, Schwendicke F. Structural, mechanical and chemical evaluation of molar-incisor hypomineralization-affected enamel: A systematic review. *Arch Oral Biol*. 2017 Nov; 83:272-281. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.08.008.
24. Simmer JP, Hu JC. Dental enamel formation and its impact on clinical dentistry. *J Dent Educ*. 2001 Sep;65(9):896-905.
25. Ghanim, A., Silva, M. J., Elfrink, M. E. C., Lygidakis, N. A., Mariño, R. J., Weerheijm, K. L., & Manton, D. J. (2017). Molar incisor hypomineralisation (MIH) training manual for clinical field surveys and practice. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 18(4), 225–242. doi:10.1007/s40368-017-0293-9
26. Negre-Barber A, Montiel-Company JM, Boronat-Catalá M, Catalá-Pizarro M, Almerich-Silla JM. Hypomineralized Second Primary Molars as Predictor of Molar Incisor Hypomineralization. *Sci Rep*. 2016 Aug 25;6:31929. doi: 10.1038/srep31929.
27. Mittal R, Chandak S, Chandwani M, Singh P, Pimpale J. Assessment of association between molar incisor hypomineralization and hypomineralized second primary molar. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2016 Jan-Feb;6(1):34-9. doi: 10.4103/2231-0762.175409.
28. Almuallem Z, Busuttil-Naudi A. Molar incisor hypomineralisation (MIH) - an overview. *Br Dent J*. 2018 Oct 5. doi: 10.1038/sj.bdj.2018.814.
29. Negre-Barber A, Montiel-Company JM, Catalá-Pizarro M, Almerich-Silla JM. Degree of severity of molar incisor hypomineralization and its relation to dental caries. *Sci Rep*. 2018 Jan 19;8(1):1248. doi: 10.1038/s41598-018-19821-0.
30. Schneider PM, Silva M. Endemic Molar Incisor Hypomineralization: a Pandemic Problem That Requires Monitoring by the Entire Health Care Community. *Curr Osteoporos Rep*. 2018 Jun;16(3):283-288. doi: 10.1007/s11914-018-0444-x.

31. Americano GC, Jacobsen PE, Soviero VM, Haubek D. A systematic review on the association between molar incisor hypomineralization and dental caries. *Int J Paediatr Dent*. 2017 Jan;27(1):11-21. doi: 10.1111/ipd.12233.
32. Raposo F, de Carvalho Rodrigues AC, Lia ÉN, Leal SC. Prevalence of Hypersensitivity in Teeth Affected by Molar-Incisor Hypomineralization (MIH). *Caries Res*. 2019;53(4):424-430. doi: 10.1159/000495848.
33. Schwendicke F, Elhennawy K, Reda S, Bekes K, Manton DJ, Krois J. Global burden of molar incisor hypomineralization. *J Dent*. 2018 Jan;68:10-18. doi: 10.1016/j.jdent.2017.12.002.
34. Tagelsir Ahmed A, Hodgson BD, Martinez-Mier EA. Molar-Incisor Hypomineralization Studies. *J Am Dent Assoc*. 2020 Nov;151(11):810-811. doi: 10.1016/j.adaj.2020.09.015.
35. Zhao D, Dong B, Yu D, Ren Q, Sun Y. The prevalence of molar incisor hypomineralization: evidence from 70 studies. *Int J Paediatr Dent*. 2018 Mar;28(2):170-179. doi: 10.1111/ipd.12323.
36. Mejía JD, Restrepo M, González S, Álvarez LG, Santos-Pinto L, Escobar A. Molar Incisor Hypomineralization in Colombia: Prevalence, Severity and Associated Risk Factors. *J Clin Pediatr Dent*. 2019;43(3):185-189. doi: 10.17796/1053-4625-43.3.7.
37. Da Costa-Silva CM, Jeremias F, de Souza JF, Cordeiro Rde C, Santos-Pinto L, Zuanon AC. Molar incisor hypomineralization: prevalence, severity and clinical consequences in Brazilian children. *Int J Paediatr Dent*. 2010 Nov;20(6):426-34. doi: 10.1111/j.1365-263X.2010.01097.x.
38. Gambetta-Tessini K, Mariño R, Ghanim A, Calache H, Manton DJ. The impact of MIH/HSPM on the carious lesion severity of schoolchildren from Talca, Chile. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2019 Oct;20(5):417-423. doi: 10.1007/s40368-019-00416-w.
39. Allazzam, S. M., Alaki, S. M., & El Meligy, O. A. S. (2014). Molar Incisor Hypomineralization, Prevalence, and Etiology. *International Journal of Dentistry*, 2014, 1–8. doi:10.1155/2014/234508
40. Giuca MR, Cappè M, Carli E, Lardani L, Pasini M. Investigation of Clinical Characteristics and Etiological Factors in Children with Molar Incisor

- Hypomineralization. *Int J Dent.* 2018 May 9;2018:7584736. doi: 10.1155/2018/7584736.
41. Fatturi AL, Wambier LM, Chibinski AC, Assunção LRDS, Brancher JA, Reis A, Souza JF. A systematic review and meta-analysis of systemic exposure associated with molar incisor hypomineralization. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2019 Oct;47(5):407-415. doi: 10.1111/cdoe.12467.
 42. Silva, M. J., Scurrah, K. J., Craig, J. M., Manton, D. J., & Kilpatrick, N. (2016). Etiology of molar incisor hypomineralization - A systematic review. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 44(4), 342–353. doi:10.1111/cdoe.12229
 43. Souza JF, Costa-Silva CM, Jeremias F, Santos-Pinto L, Zuanon AC, Cordeiro RC. Molar incisor hypomineralisation: possible aetiological factors in children from urban and rural areas. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2012 Aug;13(4):164-70. doi: 10.1007/BF03262865.
 44. Pitiphat, W., Luangchaichaweng, S., Pungchanchaikul, P., Angwaravong, O., & Chansamak, N. (2014). Factors associated with molar incisor hypomineralization in Thai children. *European Journal of Oral Sciences*, 122(4), 265–270. doi:10.1111/eos.12136
 45. Flexeder, C., Kabary Hassan, L., Standl, M., Schulz, H., & Kühnisch, J. (2019). Is There an Association between Asthma and Dental Caries and Molar Incisor Hypomineralisation? *Caries Research*, 1–9. doi:10.1159/000504382
 46. Hernandez M, Boj J, Espasa E, Planells P, Peretz B. Molar-Incisor Hypomineralization: Positive Correlation with Atopic Dermatitis and Food Allergies. *J Clin Pediatr Dent.* 2018;42(5):344-348. doi: 10.17796/1053-4625-42.5.4.
 47. Kühnisch J, Thiering E, Kratzsch J, Heinrich-Weltzien R, Hickel R, Heinrich J; GINIplus study group; LISApplus study group. Elevated serum 25(OH)-vitamin D levels are negatively correlated with molar-incisor hypomineralization. *J Dent Res.* 2015 Feb;94(2):381-7. doi: 10.1177/0022034514561657.
 48. Serna, C., Vicente, A., Finke, C., & Ortiz, A. J. (2016). Drugs related to the etiology of molar incisor hypomineralization. *The Journal of the American Dental Association*, 147(2), 120–130. doi:10.1016/j.adaj.2015.08.011

49. Jedeon K, Marciano C, Loiodice S, Boudalia S, Canivenc Lavier MC, Berdal A, Babajko S. Enamel hypomineralization due to endocrine disruptors. *Connect Tissue Res.* 2014 Aug;55 Suppl 1:43-7. doi: 10.3109/03008207.2014.923857.
50. Mahoney EK, Morrison DG. The prevalence of Molar-Incisor Hypomineralisation (MIH) in Wainuiomata children. *N Z Dent J.* 2009 Dec;105(4):121-7.
51. Mahoney EK, Morrison DG. Further examination of the prevalence of MIH in the Wellington region. *N Z Dent J.* 2011 Sep;107(3):79-84.
52. Ng JJ, Eu OC, Nair R, Hong CH. Prevalence of molar incisor hypomineralization (MIH) in Singaporean children. *Int J Paediatr Dent.* 2015 Mar;25(2):73-8. doi: 10.1111/ipd.12100.
53. Teixeira RJPB, Andrade NS, Queiroz LCC, Mendes FM, Moura MS, Moura LFAD, Lima MDM. Exploring the association between genetic and environmental factors and molar incisor hypomineralization: evidence from a twin study. *Int J Paediatr Dent.* 2018 Mar;28(2):198-206. doi: 10.1111/ipd.12327.
54. Farah, R. A., Monk, B. C., Swain, M. V., & Drummond, B. K. (2010). Protein content of molar–incisor hypomineralisation enamel. *Journal of Dentistry*, 38(7), 591–596. doi:10.1016/j.jdent.2010.04.012
55. Perez VA, Mangum JE, Hubbard MJ. Direct evidence that KLK4 is a hydroxyapatite-binding protein. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018 Jan 8;495(2):1896-1900. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.12.040.
56. Robinson, C., Brookes, S. J., Kirkham, J., Shore, R. C., & Bonass, W. A. (1994). Uptake and metabolism of albumin by rodent incisor enamel In vivo and postmortem: Implications for control of mineralization by albumin. *Calcified Tissue International*, 55(6), 467–472. doi:10.1007/bf00298561
57. Yuan ZA, McAndrew KS, Collier PM, Koyama E, Chen E, Sandgren EP, Gibson CW. Albumin gene expression during mouse odontogenesis. *Adv Dent Res.* 1996 Nov;10(2):119-24; discussion 125. doi: 10.1177/08959374960100020301.