



**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DEL NIÑO Y ORTOPEdia DENTOMAXILAR**

**“Características clínicas linguales de pacientes con diversos subtipos de EB que cuentan con diagnóstico genético determinado .”**

**José Ignacio Farfán Vargas**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN  
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
CIRUJANO-DENTISTA**

**TUTOR PRINCIPAL**

**Prof. Dra. Susanne Krämer**

**TUTORES ASOCIADOS**

**Prof. Dr. Marcelo Valle**

**Prof. Dr. Gonzalo Rodríguez**

**TUTOR EXPERTO**

**Bq. María Ignacia Fuentes, PhD**

**Adscrito a Proyecto FONDECYT. “Determining the genetic basis of Epidermolysis bullosa symptoms through Genotype-Phenotype associations using Next Generation Sequencing”.**

**N° 11140440**

**Santiago – Chile  
2019**





**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DEL NIÑO Y ORTOPEDIA DENTOMAXILAR**

**“Características clínicas linguales de pacientes con diversos subtipos de EB que cuentan con diagnóstico genético determinado .”**

**José Ignacio Farfán Vargas**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN  
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
CIRUJANO-DENTISTA**

**TUTOR PRINCIPAL**

**Prof. Dra. Susanne Krämer**

**TUTORES ASOCIADOS**

**Prof. Dr. Marcelo Valle**

**Prof. Dr. Gonzalo Rodríguez**

**TUTOR EXPERTO**

**Bq. María Ignacia Fuentes, PhD**

**Adscrito a Proyecto FONDECYT. “Determining the genetic basis of Epidermolysis bullosa symptoms through Genotype-Phenotype associations using Next Generation Sequencing”.**

**N° 11140440**

**Santiago - Chile  
2019**

*Dedicatoria*

Al amor de mi madre.

## *Agradecimientos*

Agradezco a todas las personas que permitieron que mi formación como persona pudiese ser posible. A mi familia y amigos por su apoyo y amor incondicional.

Al equipo de la clínica de cuidados especiales (especialmente a Marcelo, Moni y Susy), por darme la oportunidad de crecer en ese hermoso mundo dentro de la odontología.

A la fundación DEBRA Chile y a los pacientes que permitieron con la mejor disposición, que este estudio pudiese ser llevado a cabo.

# INDICE

<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>1. SIMBIOSIS ESTRUCTURAL; LA PIEL Y LA ZONA DE LA MEMBRANA BASAL (ZMB)</b> .....	<b>2</b>
<b>1.1 La zona de la membrana basal (ZMB)</b> .....	<b>2</b>
<b>1.1.1 Complejos de unión y su relación con la membrana basal</b> .....	<b>3</b>
<b>2. EPIDERMÓLISIS BULLOSA</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1 Clasificación y etiopatogenia</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1.1 Epidermólisis Bullosa Simplex (EBS)</b> .....	<b>7</b>
<b>2.1.1.1 EBS Suprabasal</b> .....	<b>7</b>
<b>2.1.1.1.1 Síndrome de Descamación Cutánea Acral (SDCA)</b> .....	<b>7</b>
<b>2.1.1.1.2 EBS Basal</b> .....	<b>8</b>
<b>2.1.1.1.2.1 Epidermólisis Bullosa Simplex Localizada (EBS-loc)</b> .....	<b>8</b>
<b>2.1.1.1.2.2 Epidermólisis Bullosa Simplex Generalizada Intermedia (EBS-gen intermed)</b> .....	<b>8</b>
<b>2.1.1.1.2.3 Epidermólisis Bullosa Simplex con Distrofia Muscular (EBS-dm)</b> .....	<b>9</b>
<b>2.1.2 Epidermólisis Bullosa Juntural o de la Unión (EBJ)</b> .....	<b>10</b>
<b>2.1.2.1 Epidermólisis Bullosa Juntural o de la Unión generalizada severa. (EBJ-gen sev)</b> .....	<b>10</b>
<b>2.1.2.2 Epidermólisis Bullosa Juntural o de la Unión intermedia (EBJ-intermed)</b> .....	<b>11</b>
<b>2.1.3.1 Epidermólisis Bullosa Distrófica Recesiva generalizada severa (EBDR-gen sev)</b> .....	<b>12</b>
<b>2.1.3.2 Epidermólisis Bullosa Distrófica Recesiva generalizada intermedia (EBDR-gen intermed)</b> .....	<b>13</b>
<b>2.1.3.3 Epidermólisis Bullosa Distrófica Recesiva pretibial (EBDR - pretibial)</b> .....	<b>14</b>
<b>2.1.3.4 Epidermólisis Bullosa Distrófica Dominante generalizada (EBDD - gen)</b> .....	<b>14</b>
<b>2.1.3.5 Epidermólisis Bullosa Distrófica Dominante Acral (EBDD-Acral)</b> .....	<b>14</b>
<b>2.1.4 Síndrome De Kindler (SK)</b> .....	<b>15</b>
<b>2.2 MANIFESTACIONES ORALES DE EB</b> .....	<b>17</b>
<b>2.3 LENGUA</b> .....	<b>18</b>
<b>2.3.1 Constitución externa de la lengua</b> .....	<b>18</b>
<b>2.3.2 Funciones de la lengua</b> .....	<b>21</b>
<b>2.3.3 Anquiloglosia</b> .....	<b>23</b>
<b>2.4 DIAGNÓSTICO EN EB</b> .....	<b>24</b>
<b>2.4.1 Análisis genéticos</b> .....	<b>25</b>
<b>2.4.2 Correlación genotipo - fenotipo</b> .....	<b>26</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>29</b>
<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>30</b>
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>38</b>
<b>1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA</b> .....	<b>38</b>
<b>2. DESCRIPCIÓN DE CARACTERÍSTICAS LINGUALES DE PACIENTE PORTADORES DE DISTINTAS MUTACIONES CAUSALES DE EPIDERMÓLISIS BULLOSA</b> .....	<b>41</b>
<b>VII. DISCUSIÓN</b> .....	<b>63</b>
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>71</b>
<b>X. ANEXOS Y APÉNDICES</b> .....	<b>80</b>
<b>ANEXO 1: CONSENTIMIENTO INFORMADO</b> .....	<b>80</b>
<b>ANEXO 2: ASSENTIMIENTO INFORMADO</b> .....	<b>83</b>
<b>ANEXO 3: ASSENTIMIENTO INFORMADO FAMILIARES</b> .....	<b>86</b>
<b>ANEXO 4: ACTA DE APROBACIÓN DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>89</b>
<b>ANEXO 5: FORMULARIO DE EVALUACIÓN DE LA SALUD BUCODENTAL ADAPTADO PARA PACIENTES CON EB</b> .....	<b>92</b>
<b>ANEXO 6: DESCRIPCIÓN DE MUTACIONES Y LA PROPORCIÓN DE LA CARACTERÍSTICA GRADO DE DEPILACIÓN LINGUAL</b> .....	<b>94</b>

<b>ANEXO 7:</b> DESCRIPCIÓN DE LAS COMBINACIONES DE MUTACIONES RECESIVAS EN EL GEN <i>COL7A1</i> Y LA PROPORCIÓN DE LA CARACTERÍSTICA GRADO DE DEPILACIÓN LINGUAL. ....	96
<b>ANEXO 8:</b> DESCRIPCIÓN DE LAS MUTACIONES Y LA CARACTERÍSTICA GRADO DE ANQUILOGLOSIA. ....	97
<b>ANEXO 9:</b> DESCRIPCIÓN DE LAS COMBINACIONES DE MUTACIONES EN EL GEN <i>COL7A1</i> Y LA CARACTERÍSTICA GRADO DE ANQUILOGLOSIA.....	99
<b>ANEXO 10:</b> ABREVIACIONES UTILIZADAS .....	100

## RESUMEN

**INTRODUCCIÓN** La Epidermólisis Bullosa (EB) agrupa a una serie de trastornos cutáneos generados por mutaciones en los genes que codifican las proteínas que estabilizan la Zona de la Membrana Basal (ZMB).

Dado que el diagnóstico definitivo de la EB requiere de un análisis de ADN, siendo este procedimiento bastante caro, es fundamental buscar nuevas alternativas para disminuir barreras de acceso. En este contexto se desarrolla nuestra investigación, que tiene por objetivo determinar características linguales de paciente portadores de distintas mutaciones causales de EB, para mejorar las herramientas de diagnóstico y/o pronóstico de la enfermedad.

**MATERIAL Y MÉTODO** La muestra se constituyó por 76 pacientes que fueron examinados clínicamente y los datos se registraron en un formulario OMS de evaluación de salud bucal adaptado para pacientes con EB. La información obtenida de los análisis de protrusión lingual y depapilación lingual fue tabulada y analizada junto con las mutaciones que cada paciente porta, en el programa Microsoft Excel para Mac versión 16.25.

**RESULTADOS** Pacientes con mutaciones en el Gen *COL7A1* fueron los únicos que presentaron casos con depapilación lingual; todos los afectados con formas dominantes de EB distrófica (EBD; n=14) no presentaron depapilación lingual. De los 36 pacientes afectados con formas recesivas; el 75% manifestó lengua totalmente depapilada, 11% parcialmente depapilada y 14% papilada.

Pacientes con mutaciones en los genes: *FERMT1*, *EXPH5*, *KRT14*, *PLEC* Y *TGM5* presentaron lengua sin anquiloglosia. Solamente un paciente con mutaciones en el gen *KRT5* y otro con el gen *LAMB3* presentaron anquiloglosia. En relación a pacientes con mutaciones en el gen *COL7A1*, todos los pacientes con formas dominantes presentaron protrusión lingual normal. De los 36 pacientes con formas recesivas, el 72% presentó anquiloglosia.

## CONCLUSIONES

- Solo fue observada depilación lingual en pacientes con presentaciones recesivas de mutaciones del gen *COL7A1*; lengua parcialmente depilada no había sido descrita anteriormente y cuando se presentó fue en pacientes con EBD recesiva generalizada intermedia (EBDR gen intermed).
- Pacientes con mutaciones en el gen *COL7A1* concentraron la mayor cantidad de casos con anquiloglosia; de los 36 pacientes con formas recesivas, el 72% presentó anquiloglosia.

## MARCO TEÓRICO

### INTRODUCCIÓN

La Epidermólisis Bullosa (EB) agrupa a una serie de trastornos cutáneos que tienen en común el presentar una mayor tendencia a generar lesiones tanto en piel como mucosas al exponerse a traumatismos leves, provocando una pérdida de funcionalidad variable y que podría afectar enormemente la calidad de vida de los pacientes que la padecen.

La amplia variabilidad fenotípica de la EB es consecuencia de mutaciones en los genes implicados en la formación de las proteínas que conforman la zona de la membrana basal (ZMB), donde dependiendo de la ubicación y función de la proteína alterada, se verá afectada de modo variable la unión dermoepidérmica, manifestándose a nivel macroestructural mediante las múltiples presentaciones clínicas de la enfermedad.

El origen genético de la EB ha sido una barrera importante en la búsqueda de mejores respuestas en relación a: etiología, diagnóstico, tratamiento y pronóstico de esta patología; esto se debe principalmente al elevado costo económico que significa realizar estudios genéticos para determinar la mutación causal de un subtipo en específico. Esta situación ha comenzado a cambiar durante los últimos años gracias a la disminución de los costos en las tecnologías de secuenciación del ADN, permitiendo que sea más habitual su implementación a nivel de investigación. Sin embargo, el precio de estos análisis aún es elevado para que sean utilizados masivamente en la práctica clínica, pero no por ello dejan de ser necesarios, ya que es la única forma de establecer un diagnóstico definitivo y específico de la EB, por lo tanto es crucial el desarrollo de investigaciones que permitan un diálogo multidisciplinar para encontrar alternativas de diagnóstico más accesibles con el fin último de mejorar la calidad de vida de los pacientes con esta patología.

Dentro de este contexto se desarrolla el tema de este trabajo de investigación, el cual tiene por objetivo determinar características linguales de paciente portadores de distintas mutaciones causales de EB, con el fin de establecer directrices para futuros estudios de correlación genotipo – fenotipo y así lograr optimizar las herramientas para realizar diagnósticos y/o pronósticos de la enfermedad.

## **1. Simbiosis estructural; la piel y la zona de la membrana basal (ZMB).**

La piel es el órgano más grande que posee nuestro cuerpo. Su función más importante, que es la de recubrir todas las estructuras internas, permite que se puedan llevar a cabo una serie de otras funciones necesarias para mantener la homeostasis corporal como, por ejemplo: protección frente a la deshidratación, transmisión de estímulos desde el ambiente hacia el sistema nervioso central, termoregulación y ser reservorio de la inmunidad. Está constituida a su vez por dos capas principales: la epidermis y la dermis. La epidermis (que es la más superficial) está formada por varios tipos de células. Las principales son los queratinocitos, que darán origen a los diferentes estratos que la conforman: basal, espinoso, granuloso, lúcido y córneo. El estrato basal, que es el más interno, tendrá una íntima relación con una supraestructura de alta complejidad molecular que es esencial para que la unión entre la epidermis y la dermis subyacente pueda llevarse a cabo: la zona de la membrana basal (ZMB) (Junqueira y Carreiro, 2015).

### **1.1 La zona de la membrana basal (ZMB)**

La ZMB es una estructura que tiene como principal función mantener íntegra la arquitectura de la piel frente a cargas y así permitir que se lleve a cabo: la remodelación, reparación y comunicación epitelio-mesénquima (Bruckner-Tuderman y Has, 2014).

La membrana basal (MB) a su vez está formada por 2 tipos de láminas: la lámina lúcida y la lámina densa, las cuales se adherirán a las estructuras con las que colindan: la parte inferior de la epidermis a la lámina lúcida y la lámina densa a la dermis papilar superior mediante ensamblajes macromoleculares de origen proteico, llamados complejos de unión (Uitto y cols, 2017).

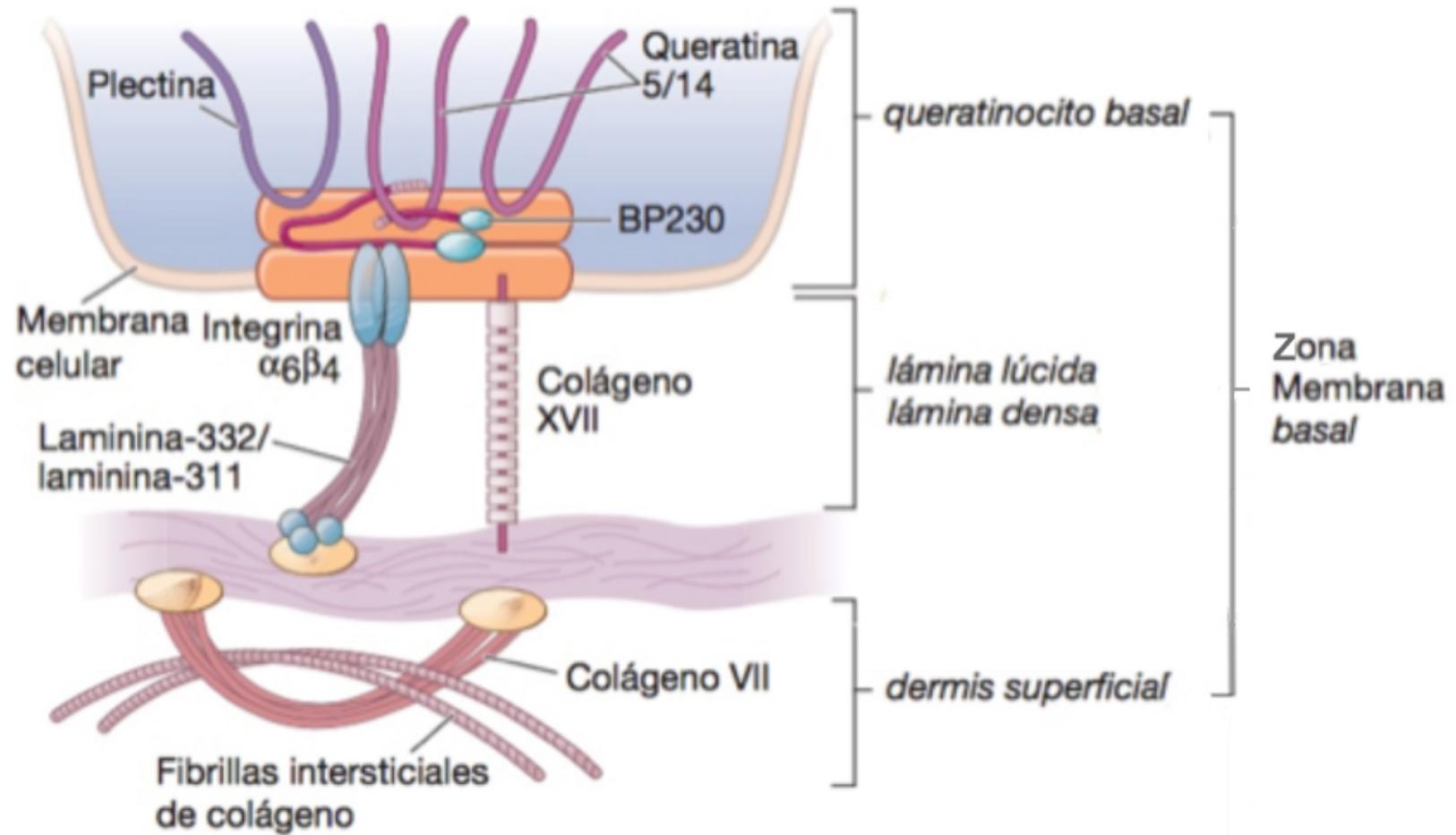
### 1.1.1 Complejos de unión y su relación con la membrana basal

Dentro de los complejos de unión que participan en la cohesión de esta región, el hemidesmosoma (HD) es uno de los más importantes y está formado tanto por proteínas intracelulares como transmembrana. La plectina, que es uno de los constituyentes del HD dentro del queratinocito basal, permite unir los filamentos intermedios (que son las queratinas 5/14) a la integrina  $\alpha 6\beta 4$  y al colágeno tipo XVII, estos 2 últimos son componentes transmembrana del HD que se enfrentan a la MB. Los HD a nivel extracelular se unen a filamentos de anclaje, como la laminina 332 que atraviesa la lámina lúcida para interactuar con el colágeno tipo IV, que es el principal componente de la lámina densa (Uitto y cols, 2017; *Figura 1*).

Además del mecanismo de unión queratinocito - lámina lúcida, nombrado anteriormente, existe otro adicional en donde la proteína Kindilina-1 interactúa con integrina  $\alpha 3\beta 1$  que permite conectar la red de filamentos intracelulares de actina con laminina 311, que se ubica en la MB (Uitto y cols, 2017).

En la parte dérmica, desde la lámina densa de la ZMB hasta la dermis papilar superior, se extienden las fibrillas de anclaje, constituidas principalmente de colágeno tipo VII (Uitto y cols, 2017; *Figura 1*).

Mutaciones en los genes que codifican para estas proteínas de adhesión, generan alteraciones importantes en la unión de los diferentes componentes que constituyen la región de la piel que estamos analizando. Esto tiene como consecuencia una mayor vulnerabilidad estructural frente a algún trauma mecánico, generando separación de las diferentes capas y manifestándose como ampollas y erosiones. Clínicamente estos cuadros se diagnostican como epidermólisis bullosa hereditaria (Uitto y cols, 2017).



**Figura 1** Esquema que muestra los principales componentes de la zona de la membrana basal (ZMB). Podemos ver la íntima relación que existe entre los queratinocitos basales, membrana basal y dermis (Adaptado de Wolf y cols, 2014).

## 2. Epidermólisis Bullosa

La epidermólisis bullosa hereditaria (EB) es un grupo de condiciones mucocutáneas de origen genético que afecta a múltiples tejidos como la piel, mucosas y tejidos duros. A su vez, se caracteriza por presentar múltiples fenotipos que tienen en común la formación de ampollas y erosiones (Uitto y cols, 2016).

Lo común en estos pacientes, independiente del subtipo, es el sentir dolor cutáneo debido a que la enfermedad presenta una actividad constante a lo largo de toda la vida del paciente, pudiendo ser muy grave y altamente invalidante en sus formas más severas (Fine y cols, 2004).

La diversidad de fenotipos presentes en EB responde a múltiples mutaciones que ocurren en los 19 genes (*TGM5, DSP, PKP1, JUP, KRT5, KRT14, EXPH5, PLEC, DST, LAMA3, LAMB3, LAMC2, COL17A1, ITGB4, ITGA6, ITGA3, LAMA3A, COL7A1, FERMT1*) que brindan la información necesaria para formar las proteínas responsables de la estabilidad de la ZMB (Fine y cols, 2014).

Según el Registro Nacional de Epidermólisis Bullosa de EEUU, es una enfermedad que presenta una baja prevalencia en la población, de 11.07 por cada 1 millón de nacidos vivos en un período de 16 años (Fine, 2016), realidad que no dista mucho de la chilena, con 232 casos a nivel nacional, donde el 60% tienen la presentación leve de EB (DEBRA Chile, 2018).

### 2.1 Clasificación y etiopatogenia

EB puede ser clasificada en cuatro grandes grupos según el lugar donde se produzca la escisión de la piel: Simplex (EBS), Juntural o de la Unión (EBJ), Distrófica (EBD) y Síndrome de Kindler (SK) (Fine y cols, 2014; Tabla 1).

Nivel de escisión de la piel	Tipo principal de EB	Subtipo principal de EB	Gen mutado
Intraepidermal	EBS	EBS suprabasal	<i>Transglutaminasa 5 (TGM5); placofilina 1 (PKP1); desmoplaquina (DSP) ; placoglobina (JUP)</i>
		EBS basal	<i>Queratina 5 y 14 (KRT5 y KRT14); plectina 1 (PLEC1); exofilina 5 (EXPH5); Distonina (DST)</i>
Intralamina lúcida	EBJ	EBJ generalizada	<i>Gen para la Subunidad Alfa 3 de la laminina (LAMA3); gen para la subunidad Beta 3 de la laminina (LAMB3); Gen para la subunidad gamma-2 de la laminina (LAMC2).</i>
		EBJ localizada	<i>LAMA3; LAMB3; LAMC2, Gen para la cadena Alfa 1 del colágeno XVII (COL17A1); Gen para la subunidad Alfa 6 de la integrina (ITGA6); Gen para la Subunidad Beta4 de la integrina (ITGB4); Gen para la subunidad Alfa3 de la integrina (ITGA3), Gen para la subunidad Alfa 3 A de la laminina (LAMA3A).</i>
Sublamina densa	EBD	EBD Dominante (EBDD)	<i>Gen para la cadena alfa 1 del Colágeno VII (COL7A1)</i>  <i>COL7A1</i>
		EBD Recessiva (EBDR)	
Mezclado	SK	---	<i>Fermitina 1 (FERMT1)</i>

**Tabla 1.** Los principales tipos y subtipos de EB según el último consenso internacional de esta enfermedad llevado a cabo el año 2014 (Adaptado de Fine y cols,2014).

### 2.1.1 Epidermólisis Bullosa Simplex (EBS)

La EBS involucra a todos los subtipos que tienen fragilidad mecánica y generación de ampollas limitadas a la epidermis. Normalmente el modo de herencia de esta EB es autosómica dominante, siendo el tipo de EB más común, representando entre un 75-85% de todos los casos. Dependiendo del sitio histopatológico donde se produzca la separación en la epidermis se subdivide en Suprabasal y basal (Fine y cols, 2014; Laimer, Prodingen y Bauer, 2015).

#### 2.1.1.1 EBS Suprabasal

Es una presentación menos común de la EBS, con un modo de herencia autosómico recesivo. Se caracteriza porque las proteínas alteradas se encuentran a nivel de los desmosomas o en las proteínas que permiten la diferenciación terminal de la epidermis, hecho que provoca una mayor fragilidad a nivel de la superficie de las ampollas, ya que son más delgadas, haciendo difícil que se observen inalteradas. Los genes que generan este tipo de EBS al estar mutados son: *TGM5*, *DSP*, *PKP1* y *JUP*. Uno de los subtipos que encontramos en la EBS suprabasal es el síndrome de Descamación Cutánea Acral (Fine y cols, 2014; Laimer, Prodingen y Bauer, 2015).

##### 2.1.1.1.1 Síndrome de Descamación Cutánea Acral (SDCA) (Kiritsi y cols, 2010; Kiprono y cols, 2012; Pavlovic y cols, 2012).

- Este síndrome se caracteriza por provocar una descamación focalizada asintomática de la piel a nivel de las superficies dorsales de manos y pies, pudiendo presentar variabilidad fenotípica.
- Se inicia, en la mayor cantidad de los casos, poco después del nacimiento.
- Puede generar eritema residual y agravarse en estaciones más cálidas.

### 2.1.1.2 EBS Basal

Este tipo de EBS se debe principalmente a mutaciones en los genes que codifican para queratina 5 o 14 (*KRT5* y *KRT14*). Dependiendo de la severidad de la mutación y el lugar en que ocurra, se producirá una alteración parcial o total de estas proteínas, por lo que frente a estrés mecánico ocurrirá una alteración estructural del queratinocito que podría provocar su muerte. Los genes que generan los distintos subtipos de la EBS al estar mutados son: *KRT5*, *KRT14*, *EXPH5*, *PLEC* y *DST*. Dentro de los subtipos más comunes de EBS Basal tenemos: epidermólisis bullosa simplex localizada, epidermólisis bullosa simplex generalizada intermedia y epidermólisis bullosa simplex con distrofia muscular (Fine y cols, 2014; Laimer, Prodinge y Bauer, 2015).

**2.1.1.2.1 Epidermólisis Bullosa Simplex Localizada (EBS-loc)** (Pfender y Bruckner, 2016).

- Normalmente las ampollas aparecen durante la infancia (entre los 12 y 18 meses de edad) limitándose a manos y pies, aunque podrían presentarse en otros lugares que tengan exposición a un estímulo traumático constante.
- En muy pocos casos las lesiones comprometen mucosas.
- Ocasionalmente desarrollan hiperqueratosis palmo-plantar.
- Suele haber compromiso ungueal.

**2.1.1.2.2 Epidermólisis Bullosa Simplex Generalizada Intermedia (EBS-gen intermed)** (Pfender y Bruckner, 2016).

- Las ampollas se manifiestan en el nacimiento o durante la infancia, distribuyéndose a lo largo de todo el cuerpo.
- De vez en cuando puede haber compromiso de mucosas, hiperqueratosis palmo-plantar, milia y compromiso ungueal e hiper/hipo pigmentación.

**2.1.1.2.3 Epidermólisis Bullosa Simplex con Distrofia Muscular (EBS–dm)**  
(Chiaverini y cols, 2010).

- Las ampollas pueden aparecer al nacer o poco tiempo después, distribuyéndose en distintos sitios del cuerpo como: extremidades, cara, espalda o en lugares expuestos a constante trauma mecánico.
- Las ampollas tienden a no dejar cicatrices, pero pueden generar una leve atrofia residual en la piel.
- Es común la presencia de oncodistrofia congénita a nivel de manos y pies.
- La debilidad muscular aparece en la última parte de la primera década de vida o en la adolescencia. La atrofia muscular ocurre progresivamente, llevando a una ptosis palpebral y a una muerte prematura del paciente durante la tercera década de vida producto de la debilitación de la musculatura intercostal.

### 2.1.2 Epidermólisis Bullosa Juntural o de la Unión (EBJ) (Fine y cols, 2014).

La EBJ abarca todos los subtipos de EB que presentan el sitio de escisión dentro de la lámina lúcida de la ZMB. El modo de herencia principalmente es autosómico recesivo y los genes que generan este tipo de EB al estar mutados son: *LAMA3*, *LAMB3*, *LAMC2*, *COL17A1*, *ITGB4*, *ITGA6*, *ITGA3*, *LAMA3A*.

Dentro de los subtipos más comunes de EBJ tenemos: Generalizado severo e intermedio.

#### 2.1.2.1 Epidermólisis Bullosa Juntural o de la Unión generalizada severa. (EBJ-gen sev) (Pfundner y Lucky, 2018 b).

- Las ampollas pueden estar presentes al nacer o poco tiempo después, generando abundante tejido de granulación en la piel comprometida. Es común que se desarrollen con mayor probabilidad a nivel de: nariz, boca, orejas, las puntas de los dedos y en general en cualquier lugar sometido a fricción excesiva.
- La facilidad de sangrado del tejido de granulación puede generar una abundante pérdida de fluidos, aumentando la probabilidad de padecer un desequilibrio electrolítico, así como sepsis y/o muerte súbita.
- La cicatrización de estas ampollas puede ocurrir sin dejar cicatrices, exceptuando que se produzca una infección secundaria.
- Puede haber afectación de mucosas a nivel de las vías respiratorias, renales y digestivas. La acumulación de tejido de granulación a nivel subglótico genera un grito débil y ronco, teniendo una evolución poco favorable al obstaculizar las vías respiratorias, poniendo en riesgo la vida del paciente.
- Presentan amelogénesis imperfecta en ambas denticiones.
- A nivel renal es común la presencia tanto de anomalías como complicaciones producto del compromiso epitelial de este órgano.
- Debido al alto compromiso sistémico, la tasa de mortalidad es alta, no llegando más allá de la primera década.

**2.1.2.2 Epidermólisis Bullosa Juntural o de la Unión intermedia (EBJ-intermed)**  
(Pfundner y Lucky, 2018 b).

- Es una forma fenotípica menos grave que la presentación generalizada severa de la EBJ.
- Puede manifestarse con ampollas solo a nivel de extremidades y áreas de flexión o abarcar, además: riñones, uréter, esófago y tronco.
- Algunas personas pueden expresar las ampollas solo durante el nacimiento.
- Es poco frecuente la presencia de excesivo tejido de granulación, así como el compromiso de las vías respiratorias.
- Es común la presencia de: Alopecia, onicodistrofia e hipoplasias a nivel del esmalte dentario.
- Pseudosindactilia y milia son poco comunes.
- Es común observar aplasia cutánea congénita.

### 2.1.3 Epidermólisis Bullosa Distrófica (EBD) (Bruckner-Tuderman, 2010; Laime, Prodinge & Bauer, 2015).

La EBD incluye todos los subtipos en los cuales se desarrollan ampollas a nivel de la dermis superior, es decir, justo debajo de la lámina densa de la ZMB. El modo de herencia que presenta la EBD puede ser autosómico dominante o recesivo.

El gen responsable de este tipo de EB es *COL7A1* que codifica para colágeno tipo VII, este último es un homotrímero de cadenas alfa y constituyente principal de las fibras de anclaje.

Dentro de la de EBD podemos encontrar los siguientes subtipos: EBDR-generalizada severa, EBDR-generalizada intermedia, EBDR – pretibial, EBDD – generalizada y EBDD – Acral.

#### 2.1.3.1 Epidermólisis Bullosa Distrófica Recesiva generalizada severa (EBDR-gen sev) (Pfundner y Lucky, 2018a).

- Pueden presentar aplasia cutánea congénita.
- Las ampollas comienzan en el nacimiento o poco tiempo después, abarcando tanto piel como mucosas de todo el cuerpo. La cicatrización de estas lesiones provoca desfiguraciones y posibles problemas funcionales como, por ejemplo, la pseudosindactilia de los dedos.
- Es común la presencia de heridas crónicas que tienden a no sanar y a sobreinfectarse.
- Suele haber presencia de nevos.
- Existe una alta probabilidad (90%) que desarrollen carcinoma de células escamosas con un alto poder de metástasis y mortalidad.
- A nivel oral, es probable que se genere: una fusión de la lengua al piso de boca (anquiloglosia), disminución del tamaño de la cavidad oral (microstomía). Estos factores sumados a una higiene oral poco prolija podrían generar una disminución de la ingesta de alimentos y, por último, afectar la nutrición.

- Ampollas y erosiones esofágicas podrían generar una disfagia grave, produciendo un déficit nutricional.
- Es común la presencia de estreñimiento severo.
- La malnutrición, que es consecuencia de las múltiples complicaciones a nivel del tracto digestivo y la mayor necesidad de nutrientes para poder hacer frente a la reparación de los tejidos dañados, podría tener repercusiones a nivel del crecimiento de la persona.
- Entre otras complicaciones nutricionales, tenemos: anemia (déficit de hierro), disminución de la capacidad de cicatrización (por déficit de zinc), cardiomiopatía (por déficit de carnitina y selenio), osteopenia y osteoporosis (asociada a déficit de vitamina D).
- Las erosiones corneales podrían generar una pérdida de la visión.
- Las erosiones uretrales y otras complicaciones renales (como estenosis, disfunción vesical y glomerulonefritis) podrían provocar insuficiencia renal.
- La pseudosindactilia de los dedos es común.
- El estrés severo producto de la serie de complicaciones físicas junto al dolor crónico, es común, pudiendo llevar a trastornos psicosociales.

#### **2.1.3.2 Epidermólisis Bullosa Distrófica Recesiva generalizada intermedia (EBDR-gen intermed) (Pfundner y Lucky, 2018 a).**

- Presenta ampollas generalizadas que cicatrizan. También podemos encontrar milia y nevos.
- La pseudosindactilia podría presentarse junto con compromiso oral y ungueal.
- Podría ocurrir un retraso en el crecimiento, pero no tan marcado como en la EBDR gen sev.

**2.1.3.3 Epidermólisis Bullosa Distrófica Recesiva pretibial (EBDR - pretibial)** (Pfundner y Lucky, 2018 a).

Las ampollas se focalizan en la región pretibial y tienden a evolucionar a lesiones hiperqueratósicas que se asemejan a prúrigo.

Es posible encontrar distrofia de las uñas, lesiones en la piel albulopapuloides y cicatrices hipertróficas (que no predominan a nivel pretibial)

**2.1.3.4 Epidermólisis Bullosa Distrófica Dominante generalizada (EBDD - gen)** (Fine y cols, 2014).

- Normalmente las ampollas están presentes al momento del nacimiento, teniendo una distribución generalizada en el cuerpo.
- Es común la presencia de milia, cicatrices atróficas y distrofia o ausencia de uñas.
- Con cierta frecuencia puede haber alteraciones a nivel del cuero cabelludo.
- Lesiones albulopapuloides aparecen de forma variable.
- A nivel de la cavidad oral es común que exista un compromiso a nivel de los tejidos blandos y la probabilidad de desarrollar caries depende de la higiene que tenga el paciente.
- Son poco frecuentes las alteraciones a nivel del crecimiento, al igual que a nivel del tracto genitourinario y la pseudosindactilia.

**2.1.3.5 Epidermólisis Bullosa Distrófica Dominante Acral (EBDD-Acral)** (Fine y cols, 2014).

Es una forma de EBD muy poco común, caracterizada por la presencia de ampollas que se localizan principalmente en manos y pies.

#### 2.1.4 Síndrome De Kindler (SK) (Has y cols, 2011).

Este síndrome presenta características fenotípicas únicas dentro de las EB, como por ejemplo: fotosensibilidad y ampollas en múltiples capas de la piel.

El modo de herencia es autosómico recesivo y el principal gen involucrado es *FERMT1* que codifica para la proteína kindlina-1, que es un componente de los contactos de adhesión en los queratinocitos basales, tejido periodontal y colon. Esto incidirá en el anclaje del citoesqueleto de actina con la matriz extracelular y en la transducción epitelio mesénquima.

Este síndrome se caracteriza por presentar un espectro fenotípico variable que depende de diversos factores, como: la edad de aparición, la severidad y la extensión de las lesiones.

Dentro de los distintos signos que podemos evidenciar, tenemos:

- Ampollas acrales, que durante la infancia son comunes de observar y van disminuyendo a medida que se alcanza la adolescencia.
- Atrofia epitelial, que va evolucionando desde un cuadro muy focalizado (solo a nivel de extremidades) para después generalizarse a todo el cuerpo.
- Poiquilodermia, que es una atrofia cutánea con pigmentación y telangectasias.
- Hiperqueratosis palmoplantar.
- Pseudosindactilia, que se presenta sin cicatrización o milia, a diferencia de otros tipos de EB.
- Las mucosas superficiales presentan una mayor fragilidad, comprometiendo: encías (enfermedad periodontal severa, mucositis hemorrágica, gingivitis y leucoqueratosis labial), esófago, ano, uretra / vagina y conjuntiva ocular (ectropion).
- Hay una mayor probabilidad de desarrollar carcinoma de células escamosas (en la piel de extremidades y en la boca) y carcinoma de células transicionales de la vejiga.
- Xerosis, eccema, dermatitis y distrofia ungueal.

- Hiper movilidad de dedos, rodillas y codos.
- Algunos casos pueden desarrollar distintos grados de fotosensibilidad, que normalmente disminuye a medida que avanza la edad.
- Síntomas gastrointestinales, como el estreñimiento y la colitis severa, también pueden ocurrir

## 2.2 Manifestaciones orales de EB

La frecuencia y severidad de las manifestaciones orales de EB varían con el tipo de enfermedad. La mayoría de las lesiones de la mucosa oral en pacientes con EB comprenden lesiones vesículo bullosas que van desde pequeñas vesículas discretas hasta grandes ampollas. Estas lesiones se pueden distribuir en todas las superficies de la mucosa. Existen diferencias con respecto a la prevalencia y la gravedad de la participación oral entre los diferentes tipos de EB, siendo los pacientes con la forma EBDR-gen los afectados con mayor severidad (Wright, Fine y Johnson, 1991; Wright, Fine y Johnson, 1994; Harris y cols, 2001; Krämer, 2010; Krämer y cols, 2012).

Además de las ampollas, los pacientes con EBD presentan cicatrices significativas y bandas de cicatrices fibrosas en la mucosa bucal y las comisuras, apertura bucal limitada (microstomía), obliteración vestibular, anquiloglosia y lengua depapilada. La depapilación lingual, que es la ausencia total de papilas linguales en la superficie dorsal de la lengua, se puede observar desde el nacimiento en pacientes con el tipo EBDR-gen (Wright, Fine y Johnson, 1994; Krämer y cols, 2012; Kummer y cols, 2013).

## **2.3 Lengua**

La lengua es un órgano móvil ubicado a nivel de la línea media del piso de la boca, fundamental para el desarrollo de la mayor parte de las funciones que ocurren a nivel de esta cavidad. Está constituida principalmente por 2 tipos de tejidos: la musculatura (que le brinda la movilidad necesaria para participar en la masticación, deglución y fonación) y mucosa (permite el desarrollo del gusto) (Rouvière y Delmas, 2005).

### **2.3.1 Constitución externa de la lengua**

Para fines prácticos, la lengua está conformada por: dos caras, dos bordes y un vértice (Rouvière y Delmas, 2005).

#### **2.3.1.1 Dorso de la lengua o cara superior**

El dorso de la lengua está dividido por 2 tipos de surcos: el surco medio (que se extiende anteroposteriormente a lo largo del dorso lingual) y el surco terminal de la lengua (que se encuentra en su tercio posterior y que la divide anatómicamente en una porción anterior y otra posterior). La porción anterior de la lengua se caracteriza por ser una superficie irregular y estar recubierta por una mucosa de alta densidad y especialización que se encuentra muy adherida a la musculatura subyacente. A lo largo de toda su extensión presenta pequeñas elevaciones, denominadas papilas linguales, las que según su forma se clasifican en: filiformes, fungiformes, circunvaladas y foliadas. En el dorso lingual encontramos los 3 primeros tipos (Rouvière y Delmas, 2005; Figura 2.a).

Las papilas circunvaladas normalmente son nueve y se ubican en la zona posterior del dorso y anterior al surco terminal, siguiendo una línea en forma de "V". Las fungiformes están distribuidas a lo largo de los 2/3 anteriores del dorso y las filiformes cubren la totalidad de la porción anterior y también pueden ubicarse en la zona posterior en relación al surco medio (Rouvière y Delmas, 2005; Fuentes y cols, 2010; Figura 2.a).

### **2.3.1.2 Cara inferior**

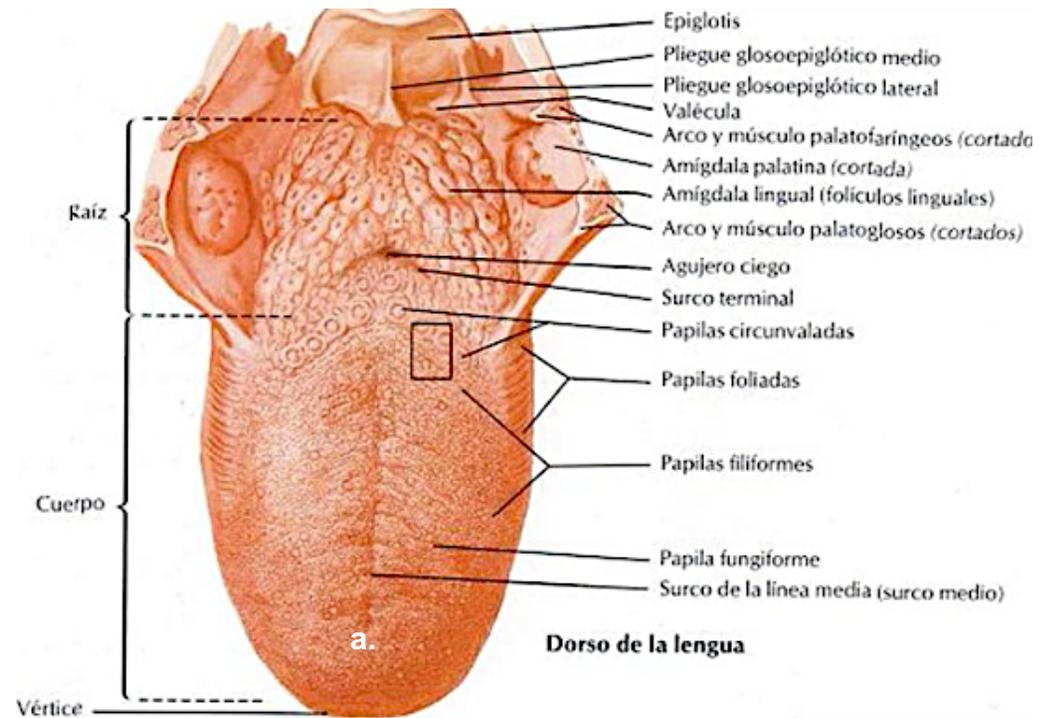
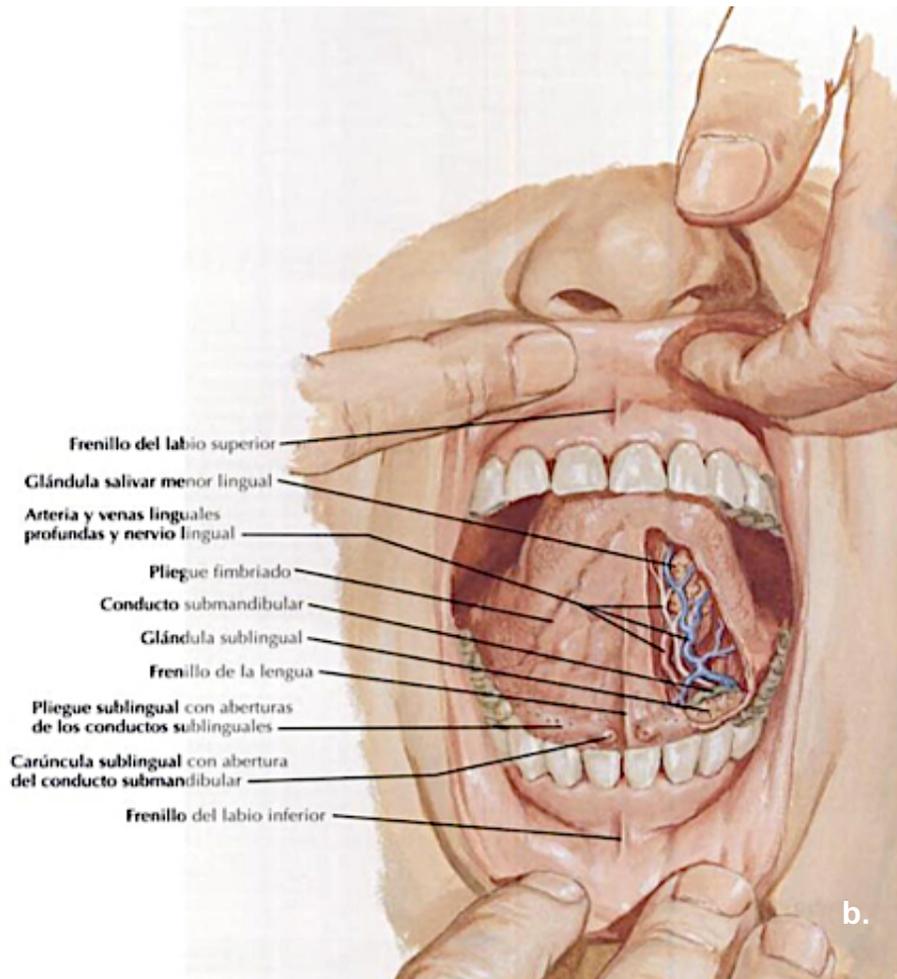
Está recubierta por una mucosa regular, delgada, transparente y laxa. Presenta los siguientes hitos anatómicos: un canal medio, un frenillo lingual (que es un repliegue mucoso que se encuentra a nivel de la línea media), dos rodetes longitudinales (1 a cada lado del canal medio), venas satélites del nervio hipogloso y canales laterales (uno a cada lado, que separan los rodetes musculares longitudinales de los bordes laterales de la lengua) (Rouvière y Delmas, 2005; Figura 2.b).

### **2.3.1.3 Bordes**

Son anchos a nivel posterior y se van adelgazando a medida que se acercan al vértice de la lengua. En la porción posterior encontramos pequeños pliegues verticales denominados papilas foliadas (Rouvière & Delmas, 2005).

### **2.3.1.4 Vértice**

Está demarcado por el surco medio de la lengua que continúa hacia la cara inferior de esta (Rouvière y Delmas, 2005).



**Figura 2** Anatomía de la lengua: cara dorsal (a) y ventral (b) de la lengua (Adaptado de Netter, 2015).

### **2.3.2 Funciones de la lengua**

Desde un punto de vista funcional, la lengua se encuentra involucrada en gran parte de los procesos que ocurren a nivel de la cavidad oral, como son; la ingestión y procesamiento inicial de los alimentos y la fonoarticulación (Guyton y Hall, 2016).

#### **2.3.2.1 *Ingestión y fragmentación de los alimentos***

La ingestión de los alimentos depende tanto del deseo por querer comerlos (lo que denominamos hambre) como de la predilección de una sensación gustativa específica (determinada por el apetito). Son estos mecanismos que permiten que el cuerpo pueda tener un aporte de nutrientes acorde a sus requerimientos funcionales, necesarios para mantener su homeostasis.

La lengua tiene especial relevancia en el aspecto mecánico del procesamiento de los alimentos; específicamente a nivel de la masticación y deglución; además de captar los múltiples estímulos que ocurren durante la formación del bolo alimenticio, mediante la experiencia gustativa (Guyton y Hall, 2016).

##### **2.3.2.1.1 *Masticación***

Para facilitar la digestión de los alimentos, es necesario que sean inicialmente triturados, debido a que las enzimas del sistema digestivo requieren de una íntima relación con cada partícula de alimento para poder realizar su función. De ahí la importancia de la masticación, ya que permite iniciar esta degradación del alimento para obtener el máximo potencial nutricional que este brinda. Hay 3 componentes de la cavidad oral que permiten que este proceso se desarrolle óptimamente, dentro de los cuales tenemos: 1) dientes, que según su anatomía y ubicación intraoral pueden, cortar, triturar o rasgar; 2) lengua, que transporta el alimento a las superficies oclusales de los dientes posteriores y contribuye a la humectación del mismo con saliva y 3) musculatura masticatoria que junto al sistema nervioso generan de una forma automática, la oclusión de los dientes y con ello la fragmentación de los alimentos. La masticación ocurrirá cíclicamente hasta lograr

que el bolo alimenticio tenga una consistencia adecuada para ser deglutido (Guyton y Hall, 2016).

### **2.3.2.1.2 *Gusto***

La experiencia gustativa es consecuencia de la alta especialización de la mucosa del dorso lingual, que es responsabilidad de las yemas o botones gustativos.

La lengua posee cerca de 5.000 botones gustativos; cada uno tiene forma de roseta y está constituido por cerca de 50 células epiteliales (dentro de las cuales hay algunas especializadas en el gusto). Estos botones se encuentran inmersos en el epitelio de cada papila y varían en número y ubicación según el tipo de papila; Las papilas circunvaladas presentan miles en sus paredes laterales, las fungiformes presentan uno o pocos botones en su porción basal y las foliadas presentan cientos de botones en sus paredes laterales.

De esta forma, cada vez que la lengua tiene alguna interacción con sustancias químicas que constituyen los alimentos, generarán la activación de las células neuroepitelias de los botones y de esta forma se iniciará la experiencia del gusto (Rouvière & Delmas, 2005; Fuentes y cols, 2010; Guyton & Hall, 2016).

### **2.3.2.1.2 *Deglución***

Este proceso es de gran complejidad, pues requiere de una coordinación tanto del sistema respiratorio como digestivo para ser llevado a cabo.

Puede ser dividida a su vez en 3 fases: 1) oral voluntaria, que ocurre en la boca y permite iniciar la deglución; 2) faríngea involuntaria, en dónde ocurre el paso de los alimentos desde la faringe hacia el esófago y 3) esofágica involuntaria, que permite el paso de los alimentos desde el esófago hacia el estómago (Guyton y Hall, 2016).

La lengua tiene un rol importante en la primera fase de la deglución, en donde, una vez concluida la formación del bolo alimenticio, ejercerá una presión hacia arriba y hacia atrás contra el paladar, permitiendo desplazar voluntariamente en sentido posterior el bolo hacia la faringe, desencadenando el automatismo de la deglución a lo largo del trayecto del tubo digestivo (Guyton y Hall, 2016).

### **2.3.2.2 Fonoarticulación**

Para poder llevar a cabo el habla, es necesario que el paso del aire sea modulado por dos funciones mecánicas: 1) fonación, que ocurre en la laringe y 2) articulación, que se realiza en la boca.

En la fonación, los pliegues vocales que posee la laringe se juntarán para regular el paso del aire, produciendo una vibración. El tono de la vibración dependerá principalmente del grado de tensión de los pliegues, así como del nivel de proximidad entre los distintos pliegues y de la masa de sus bordes.

Por otro lado, en la articulación tanto labios, lengua como paladar blando, permitirán coordinar la generación de los diferentes fonemas, generando de esta forma el habla (Guyton y Hall, 2016).

### **2.3.2 Surco alvéolo lingual**

Este surco se ubica entre la parte posterior de la arcada gingivodental y la raíz de la lengua, siendo visible únicamente cuando se levanta la lengua y se separa su cara inferior del piso de la boca. En este lugar podemos encontrar los siguientes hitos anatómicos: carúnculas sublinguales, orificio umbilical que se encuentra en cada uno de los vértices de las carúnculas y permiten la excreción de las glándulas submandibulares, conducto sublingual mayor que permite la excreción de las glándulas sublinguales y se encuentra lateral a cada carúncula, pliegue sublingual que son prominencias, una a cada lado de las carúnculas sublinguales y reflejan la presencia de estas glándulas (Rouvière y Delmas, 2005).

### **2.3.3 Anquiloglosia**

Este término se usa indistintamente para referirse a dos situaciones clínicas a nivel lingual. Por un lado, puede aludir a la fusión de la parte ventral de la lengua al piso de la boca y por otro lado, cuando hay una limitación del movimiento de la lengua producto de un frenillo lingual corto y grueso (Suter y Bornstein, 2009).

La etiopatogenia de la anquiloglosia es desconocida, pero se ha presentado como una característica clínica en algunos casos de ciertos síndromes poco comunes,

como por ejemplo: Van der Woude, Paladar Hendido ligado a X, EB y síndrome de Opitz (Suter y Bornstein, 2009).

### **2.3.3.1 Clasificación de anquiloglosia**

A lo largo de los años, han surgido distintas clasificaciones para describir los grados de severidad de esta condición, pero no ha habido un acuerdo generalizado para aceptar una en específico (Suter y Bornstein, 2009).

En el Año 1969, Horton & cols, crearon una clasificación que se basaba en el criterio clínico del examinador para determinar el grado de anquiloglosia que tenía el paciente. Establecieron 3 categorías: 1) media, en donde podía observarse una banda de membrana mucosa cuando el paciente elevaba la lengua; 2) moderada, en la cual el frenillo lingual y el músculo geniogloso están marcadamente fibrosados y 3) completa, donde la lengua está fusionada, por su cara ventral, al piso de la boca, careciendo de movimientos (Horton y cols, 1969).

En el año 1999, Kotlow planteó otra clasificación, que dependía de la medición de la porción libre de la lengua medida desde la inserción del frenillo lingual hasta el vértice de la lengua, estableciendo 5 categorías: 1) normal, >16 mm; 2) medio, de 12 a 16 mm; 3) moderado, de 8 a 11 mm; 4) severo, de 3 a 7 mm, y 5) completo, < 3mm (Kotlow, 1999).

## **2.4 Diagnóstico en EB**

El diagnóstico de la EB es un proceso bastante complejo y que requiere de más elementos que solo la evaluación clínica de las lesiones en la piel para ser resuelto. De ahí que, para hacer más fácil este proceso; el año 2014, un grupo de expertos en EB planteó una nueva forma para diagnosticar a los pacientes, denominado enfoque de piel de cebolla. Este consiste en seguir un protocolo de diagnóstico que sigue el siguiente orden lógico; 1) una evaluación clínica inicial; 2) Mapeo por inmunofluorescencia de la piel (MIF); 3) si es necesario, se complementa con microscopía electrónica de transmisión (MET), lo que permitirá identificar la proteína

defectuosa (que sugiere un gen candidato); y por último la secuenciación del ADN, que permitirá determinar la mutación específica del gen defectuoso. Este enfoque tiene un nivel de éxito de un 85% para diagnosticar a los pacientes con EB (Cepeda-Valdés y cols, 2010; Fine y Cols, 2014).

La MET fue durante muchos años la técnica más importante para esclarecer el diagnóstico de los principales tipos de EB, ya que permite determinar el lugar donde se genera la separación a nivel cutáneo, además de mostrar estructuras específicas que están alteradas como, por ejemplo: filamentos de queratina, desmosomas, hemidesmosomas, placas densas sub-basales, filamentos y fibrillas de anclaje (Fine & cols, 2008).

La MIF consiste en utilizar anticuerpos inmunoreactivos monoclonales específicos para los distintos componentes proteicos de la ZMB, de esta forma se logra identificar, mediante un microscopio de fluorescencia, la ubicación y nivel de expresividad de estas estructuras, lo que nos permitirá conocer tanto el tipo principal de EB como la proteína alterada (Fine y cols 2008; Cepeda-Valdés y cols, 2010).

A pesar de que las técnicas nombradas anteriormente permiten, en gran parte de los casos esclarecer el diagnóstico de EB, hay situaciones en donde se requiere una mayor profundización en la indagación de las causas, debiendo recurrir a análisis genéticos para este fin (Fine y cols, 2008; Schaeffer, 2012).

#### **2.4.1 *Análisis genéticos***

El principal objetivo de estas pruebas consiste en determinar cuál es la mutación específica responsable de la alteración proteica que ocasiona la genodermatosis, gracias a la secuenciación del ADN, proceso descubierto por Sanger en el año 1977 y que ha sido clave para el desarrollo de la investigación genética durante los últimos 40 años. La técnica de Sanger, que es el gold estándar para el diagnóstico molecular de la EB, analiza los genes individualmente y con un número limitado de bases por vez, lo cual conlleva a que sea muy lenta y costosa su realización. Razones que explicarían por qué el proyecto del Genoma Humano fue tan caro y

demoró cerca de 10 años para ser finalizado (Fine y cols, 2008; Behjati y Tarpey, 2013).

Con el advenimiento de nuevas tecnologías de secuenciación, como la secuenciación de siguiente generación (Next Generation Sequencing, NGS), estas limitaciones han comenzado a resolverse, permitiendo que cada vez sea más común la realización de diagnósticos genéticos en estudios científicos y en la práctica clínica (Takeichi y cols, 2013).

Estas mejoras consisten en que, a diferencia de la técnica tradicional de Sanger, la NGS permite hacer una secuenciación de múltiples genes y millones de bases en paralelo y de una forma mucho más rápida y barata (comparado con la técnica Sanger), pudiendo analizar todo el genoma (secuenciación del genoma completo o WGS) o un segmento funcional específico (secuenciación de exomas o WES), dependiendo de las necesidades del caso. Producto de que el 85% de las enfermedades monogénicas (como la EB) residen en segmentos funcionales o codificantes de proteínas, WES ha adquirido gran popularidad para la realización de este tipo de diagnósticos (Rodríguez y Armengol, 2012; Takeichi y cols, 2013).

La realización de análisis genéticos es un procedimiento bastante relevante en enfermedades genéticas, ya que permite: establecer diagnósticos prenatales y preimplantatorios que mejoran el pronóstico respecto a la gravedad y evolución natural de la enfermedad, determinación de portadores de mutaciones en el contexto de consejería genética o para la realización de una terapia génica (Fine y cols, 2008; Schaeffer, 2012).

#### **2.4.2 Correlación genotipo - fenotipo**

Uno de los principales objetivos de la genética es establecer relaciones de causalidad entre mutaciones específicas y características del organismo, lo cual ha permitido descubrir muchos signos de enfermedades genéticas (Botstein y Risch, 2003).

Uno de los principales problemas con los que nos podríamos encontrar al momento de realizar estudios de genotipo-fenotipo es la complejidad para establecer dicha relación; para ello es esencial que los datos fenotípicos utilizados sean de buena

calidad y que la asociación realizada sea independiente del contexto ambiental en el que se desarrolla el individuo (Boyd, 2013).

Este tipo de estudios han sido de gran ayuda para establecer correlaciones entre mutaciones genéticas y signos clínicos en la EB (Pfundner, Sadowski y Uitto, 2005; Varki y cols, 2007; Wright y cols, 2011; Fortuna y Cols, 2013). De hecho el año 2006, a partir de 332 familias que presentaban EBD, se descubrieron 138 mutaciones nuevas y se logró establecer nuevas relaciones genotipo fenotipo, permitiendo mejorar la subclasificación, consejería y diagnóstico prenatal de la enfermedad (Varki y cols, 2007).

La utilización de pruebas genéticas es una forma bastante efectiva para determinar un diagnóstico definitivo de la EB. Pero también es un método bastante caro y complejo de llevar a cabo, por lo que en países con pocos recursos monetarios, este tipo de exámenes no son una opción para establecer un diagnóstico integral, hecho que repercute en que el asesoramiento que brinda el tratante sea incompleto y por ende poco aplicable (Yenamandra y cols, 2017).

A pesar de que en la literatura se han establecido asociaciones entre alteraciones linguales y mutaciones genéticas (Zhu y cols, 2017; Demeer y cols, 2018; Lenormand y cols, 2018), en EB las características linguales solo han sido nombradas como parte de una descripción clínica general de algunos subtipos diagnosticados por MIF y/o MET (Wright, Fine & Johnson, 1991; Wright, Fine & Johnson, 1994), pero no se ha determinado una posible asociación entre las características de este órgano en pacientes con EB y las mutaciones que cada uno porta.

Es en este contexto que se desarrolla el presente estudio, que tiene por objetivo responder la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es la proporción de las características linguales de grado de anquilosia y depapilación lingual en paciente portadores de distintas mutaciones causales de EB?

El principal fin de buscar una respuesta a esta interrogante es generar nueva información que permita aumentar el conocimiento que se tiene de la EB y con ello ayudar a dar nuevas directrices en futuras investigaciones que busquen relaciones de causalidad entre un conjunto de signos clínicos y ciertos tipos de mutaciones genéticas.

Este tipo de estudios puede ser de gran ayuda al momento de crear herramientas que permitan contribuir a derribar barreras de acceso en relación al diagnóstico, con medidas más simples, baratas y precisas, con el fin último de mejorar la calidad de vida de los pacientes que padecen esta enfermedad.

## **OBJETIVOS**

### **1. Objetivo General**

- Determinar características linguales de paciente portadores de distintas mutaciones causales de Epidermólisis Bullosa.

### **2. Objetivos Específicos.**

- Describir la característica clínica intraoral de grado de depilación en los pacientes con EB que asistan a la clínica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.
- Describir la característica clínica intraoral de grado de anquiloglosia en los pacientes con EB que asistan a la clínica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.
- Describir la proporción de la característica clínica intraoral de grado de depilación de estos pacientes y la mutación genética que cada uno porta.
- Describir la proporción de la característica clínica intraoral de grado de anquiloglosia de estos pacientes y la mutación genética que cada uno porta.

## **METODOLOGÍA.**

### **1. Tipo De Estudio**

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

-**Transversal**, puesto que mide la prevalencia de la exposición y el efecto de esta en un solo momento temporal.

-**Descriptivo**, porque se analiza la situación tal cual es.

-**Observacional**, ya que el investigador no interviene las variables del estudio.

### **2. Participantes**

#### **2.1 Universo**

El universo de este estudio se conformó por todos los pacientes con Epidermólisis bullosa diagnosticados en Chile.

#### **2.2 Muestra**

Se construyó una muestra por conveniencia de todos los pacientes con EB que asistieron a atención odontológica en la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile (FOUCH), centro de referencia nacional para la atención odontológica de pacientes con EB, entre los meses de Abril de 2015 y Enero de 2017. En este periodo se reclutaron para el estudio 76 pacientes.

### **2.2.1 Criterios inclusión**

- Pacientes con diagnóstico de EB confirmado por NGS.
- Pacientes con diagnóstico de EB subclasificado según la clasificación del año 2014 (Fine & cols, 2014).
- Pacientes que estén dispuestos a formar parte del estudio mediante una firma de un consentimiento informado (anexo 1) o un asentimiento, pudiendo ser firmado por algún familiar responsable en el caso de que el paciente sea menor de edad (anexo 2 y 3).

### **2.2.2 Criterios exclusión**

- Pacientes que además de la EB tengan otra genopatía diagnosticada.
- Pacientes que no puedan seguir las instrucciones del examen clínico.

## **3. Procedimientos**

El presente estudio corresponde a la sección odontológica del proyecto “Determining the genetic basis of Epidermolysis bullosa symptoms through Genotype-Phenotype associations using Next Generation Sequencing”, FONDECYT N° 11140440.

La evaluación odontológica consistió en un examen clínico de las características bucodentarias y periorales realizado por 3 investigadores calibrados.

### **3.1 Calibración**

Para asegurar la estandarización en la obtención de información en esta investigación, se realizó la calibración de los examinadores realizando el formulario completo de evaluación de la salud bucodental adaptado para pacientes con EB (Anexo 5) en dos pacientes con EBD.

El Kappa intraevaluador fue de: 0.83 (Susanne Kramer); 0,74 ( José Farfán) y 0.85 (Carolina Encina) respectivamente y el Kappa inter evaluadores fue de 0.85 (López de Ullibarri y Pita, 1999).

### **3.2 Examen y registro de los datos**

El examen odontológico realizado a los pacientes de este estudio se llevó a cabo en las dependencias de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, en la clínica de Cuidados Especiales.

El instrumental que se ocupó para realizar dicho examen estaba constituido por: una sonda para examen curva Hu-Friedy, espejo bucal N°4 (22mm diámetro), sonda periodontal U. Carolina del Norte Hu-Friedy y una regla metálica milimetrada.

Se debe tener en consideración que dadas las limitaciones fisiológicas de determinados subtipos (como EBJ y EBDR gen sev) se tuvo especial precaución en no forzar la apertura bucal y con úlceras o bullas que hayan estado presentes al momento del examen. Con el objetivo de no generar nuevas lesiones, se lubricó con vaselina sólida las superficies que entrarían en contacto con el paciente, así como los labios del mismo.

La información de cada examen clínico fue registrada en una ficha construida a partir del formulario OMS de evaluación de salud bucal (*anexo 5*), en la cual se registraban los siguientes datos:

- Información general
- Evaluación extraoral
- Articulación temporomandibular
- Mucosa oral
- Opacidades / hipoplasias del esmalte
- Fluorosis dental
- Estado de la dentición
- Necesidad de tratamiento

- Situación y necesidad de prótesis
- Trastorno que amenaza la vida
- Dolor o infección al momento del examen

Además, se agregaron al formulario los criterios de:

- Microstomía (apertura bucal en mm)
- Profundidad de vestíbulo
- Milímetros de protrusión lingual
- Índice de higiene oral (Green y Vermillon simplificado)
- Función lingual en: reposo, deglución y fonarticulación
- Tipo de respiración
- Tipo de atención requerida

El hallazgo de lengua depapilada se registró en la sección odontológica de la ficha digital de cada paciente examinado de la fundación DEBRA Chile, en conjunto con la pediatra encargada de realizar la evaluación física e historial médico de cada paciente.

### **3.3 Análisis mutacional**

El diagnóstico genético de cada paciente que participó en este estudio fue realizado mediante la técnica NGS (WES), por la fundación DEBRA Chile, bajo el alero del proyecto FONDECYT “Determining the genetic basis of Epidermolysis bullosa symptoms through Genotype-Phenotype associations using Next Generation Sequencing”.Nº 11140440.

### 3.4 Grado de depapilación lingual

Después de estudiar la superficie de la lengua de los pacientes con EB durante 10 años (2005 a 2015), el equipo de investigación ha establecido las siguientes categorías:

#### 3.4.1 Lengua con papilas normales: Lengua papilada.



Los pacientes presentan papilas filiformes y fungiformes en el dorso de la lengua. Como parte de su enfermedad ampollosa, algunos pacientes pueden presentar úlceras o áreas bien definidas de granulación. (Imagen 1.a)

Estas áreas no deben ser confundidas con áreas depapiladas, ya que se relacionan con una lesión específica (ejemplos de lenguas papiladas se ven en las imágenes 1.a y 1.b).

#### 3.4.2 Ausencia parcial de papilas en la lengua: Lengua parcialmente depapilada.

Los pacientes tendrán áreas de la lengua lisas y brillantes, mientras que otras áreas presentan papilas con forma normal. Puede variar desde una lengua principalmente brillante con pequeñas áreas con papila a una lengua principalmente papilada con pocas áreas de depilación (un ejemplo de lengua parcialmente depapilada se ve en la imagen 2).



### 3.4.3 Ausencia completa de papilas de la lengua: Lengua completamente depapilada.



La superficie de la lengua es completamente lisa, sin estructuras elevadas. Puede haber ampollas de diferentes tamaños, llenas de sangre o llenas de líquido; tejido cicatricial o áreas ulceradas. Pero no se observan papilas reconocibles. Al observar una imagen, pequeñas ampollas llenas de sangre podrían confundirse con papilas. El

examen clínico por lo tanto ayuda a reconocer las estructuras tridimensionales (un ejemplo de lengua completamente depapilada se ve en la imagen 3).

## 3.5 Determinación del grado de anquiloglosia

A partir de las clasificaciones mencionadas en el apartado de anquiloglosia del marco teórico y considerando que la fragilidad de las mucosas de algunos pacientes con EB limita la elevación de la lengua; es que decidimos modificar la clasificación de anquiloglosia de Kotlow (Kotlow, 1999) y establecer una nueva referencia para que pueda ser aplicada a pacientes con EB.

### 3.5.1 Clasificación de Kotlow modificada

En el año 1999, Kotlow planteó una clasificación que se basaba en tomar como referencias la porción libre de la lengua medida desde la inserción del frenillo lingual hasta el vértice de la lengua, estableciendo 5 categorías: 1) normal, >16 mm; 2) medio, de 12 a 16 mm; 3) moderado, de 8 a 11 mm; 4) severo, de 3 a 7 mm, y 5) completo, < 3mm (Kotlow, 1999).

Tal como se nombró anteriormente en el marco teórico, los subtipos más severos de la EB tienen una mayor fragilidad de la mucosa frente a cargas mecánicas, por lo que frente a un examen clínico que implique utilizar un elemento metálico sublingualmente, como es la sonda periodontal, para medir el grado de protrusión, podría generar lesiones intraorales en el proceso. Es por esta razón que se decidió modificar una de las referencias utilizadas para medir la protrusión lingual y es así que en vez de tomar como referencia la inserción del frenillo lingual, se utilizó la cara incisal de los dientes incisivos centrales inferiores, manteniendo la referencia del vértice lingual de la clasificación original.

Para compensar la diferencia que se genera producto del cambio de referencias que existe entre la clasificación de Kotlow y la modificada, es que se decidió restar arbitrariamente 3 mm a cada una de las categorías que presenta la clasificación original de Kotlow (Kotlow, 1999), quedando de la siguiente forma:

- Normal: > 13 mm
- Medio: de 9 a 13 mm
- Moderado: de 5 a 8 mm
- Severo: de 0 a 4 mm
- Completo: < 0mm.

### **3.6 Descripción de las mutaciones de cada paciente y algunas características clínicas intraorales**

La información obtenida de los análisis clínicos fue tabulada y analizada junto con las mutaciones que cada paciente porta, en el programa Microsoft Excel para Mac versión 16.25.

#### **4. Consideraciones Éticas**

Este estudio está adscrito al proyecto “Determining the genetic basis of Epidermolysis bullosa symptoms through Genotype-Phenotype associations using Next Generation Sequencing” que fue aprobado por el Comité Ético Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile en la sesión del día 15 de abril del año 2015 (anexo 4), por un plazo de 36 meses, a partir de la fecha anteriormente mencionada.

Previo a la realización del examen se le explicó a los pacientes y/o tutor legal (en el caso de que el paciente fuese menor de edad) en qué consistiría el examen clínico y la finalidad de la realización.

Quienes estuvieron de acuerdo con participar en el estudio, se les solicitó leer y firmar un formulario de consentimiento informado (anexo 1) y un asentimiento informado a la persona y al tutor legal (en el caso de que el paciente fuese menor de edad) (anexo 2 y 3).

Posterior al examen clínico, en el caso de que el paciente tuviese alguna urgencia de carácter odontológico, se resolvió durante la misma sesión. Así como pacientes que no tuviesen un control oral regular y/o con un alto riesgo de caries, fueron agendados para que recibiesen atención odontológica próximamente (en el marco del convenio de atención odontológica establecido entre la FOUCH y la fundación DEBRA Chile).

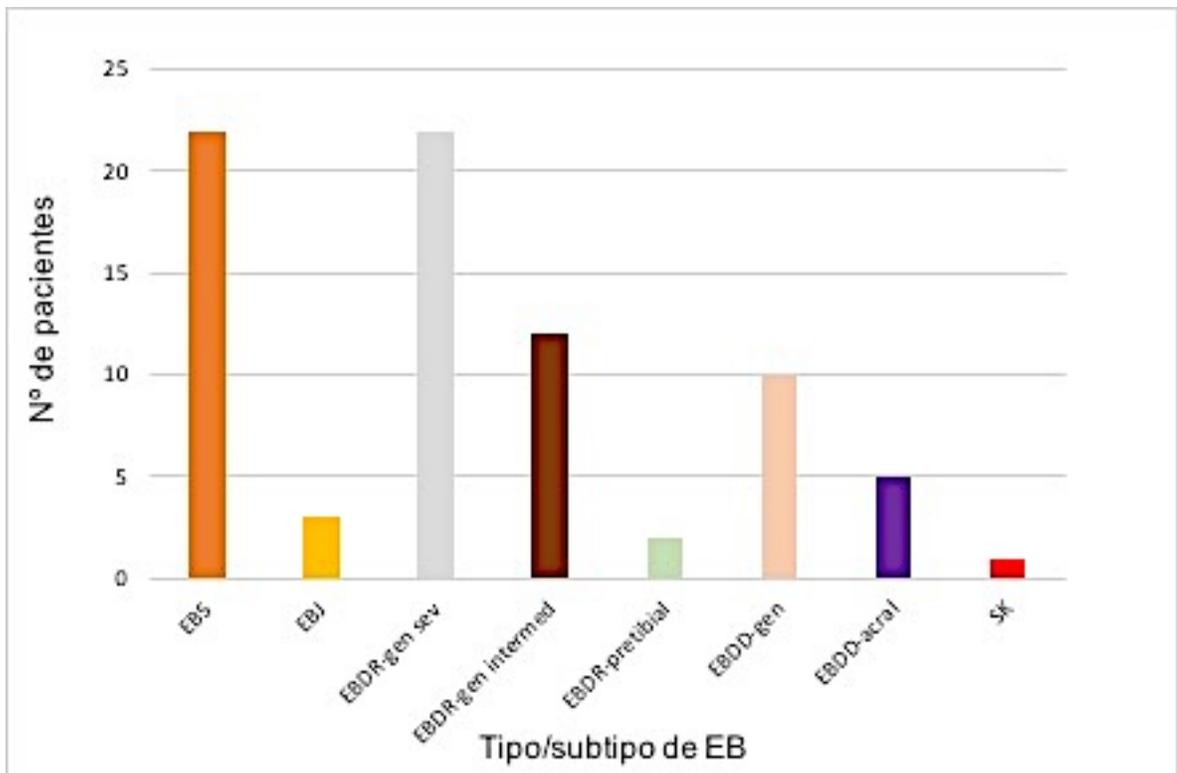
Independiente del estado de salud oral de cada paciente analizado, fueron informados de su estado intraoral y se les hizo un asesoramiento e instrucción de higiene.

## RESULTADOS

### 1. Descripción de la muestra

#### 1.1 Distribución de los grupos según subtipo de EB

La muestra estuvo conformada por 76 pacientes con los siguientes subtipos: 22 personas con EBS, 3 con EBJ, 22 con EBDR gen sev, 12 con EBDR gen intermed, 2 con EBDR-pretibial, 9 con EBDD-gen, 5 con EBDD-acral, y 1 SK (gráfico 1).



**Gráfico 1.** Composición de la muestra total según subtipo de EB.

## 1.2 Distribución de los grupos según género y edad

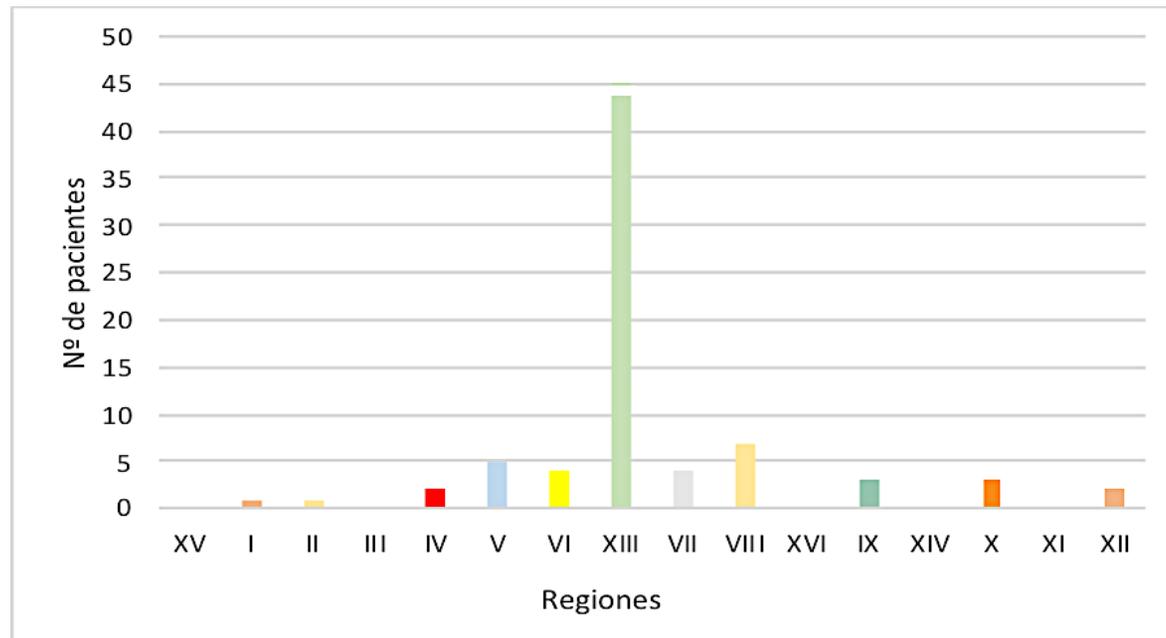
La muestra estuvo constituida por 76 personas, de las cuales 39 (51.3%) correspondían al género masculino y 37 (48.7%) al femenino. El rango de edad para la cohorte fue de 2 meses a 66 años. La media fue de 16, la desviación estándar de 14.4 y la mediana de 13 años (Tabla 2).

Tipo/Subtipo de EB	Media (rango)	Femenino (%)	Masculino(%)	Total pacientes
EBS	16,9 (4 meses-58 años)	10 (45,45%)	12 (54,5%)	22
EBJ	5,6 (4-7 años)	1 (33,3%)	2 (66,6%)	3
EBDR-gen sev	14,22 (2 meses-33 años)	13 (59,1)	9 (40,9%)	22
EBDR-gen intermed	18.5 (10 meses-49 años)	4 (33.3%)	8 (66.6%)	12
EBDR-pretibial	57.5 (49-66 años)	2 (100%)	0	2
EBDD-gen	15,3 (4-35 años)	3 (33,3%)	6 (66,6%)	9
EBDD-acral	3,8 (2-5 años)	3 (60%)	2 (40%)	5
SK	14 (14 años)	1 (100%)	0	1
		37(49.7%)	39 (51.3%)	76(100%)

**Tabla 2.** Distribución de los grupos según género y edad en los tipos/subtipos principales de EB.

### 1.3 Distribución de los pacientes según ubicación geográfica.

De la muestra total de pacientes con EB (76 personas) residentes en el territorio chileno; 1 (1,2%) provenía de la I región, 1 (1,2%) de la II región, 2 (2,3%) de la IV región, 5 (5,8%) de la V región, 4 (4,7%) de la VI región, 44 (57,8%) de la XIII región, 4 (4,7%) de la VII región, 7 (8,1%) de la VIII región, 3 (3,5%) de la IX región, 3 (3,5%) de la X región y 2 (2,3%) de la XII región (gráfico 2).



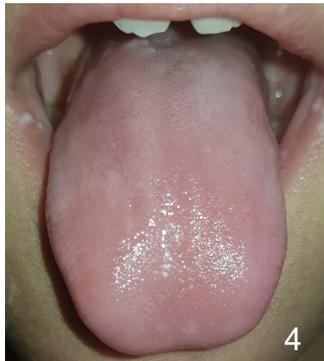
**Gráfico 2.** Distribución geográfica de pacientes con EB por región.

## 2. Descripción de características linguales de paciente portadores de distintas mutaciones causales de Epidermólisis Bullosa.

### 2.1 Grado de depapilación lingual

Al describir el grado de depapilación lingual y la mutación genética que cada paciente porta, se observa que:

1. Todos los pacientes con mutaciones en los genes: *LAMB3* (6 alelos mutados), *FERMT1* (2 alelos mutados), *EXPH5* (2 alelos mutados), *KRT14* (5 alelos mutados), *KRT5* (12 alelos mutados), *PLEC* (1 alelo mutado) Y *TGM5* (10 alelos mutados) presentaron lengua papilada (Anexo 6, gráfico 3; Imagen 4).



**Imagen 4.** Paciente que presenta un fenotipo de lengua papilada, con la mutación heterocigota simple c.1429G>A en el gen *KRT5*.

2. Pacientes con mutaciones en el gen *COL7A1* presentaron los 3 de grados de depapilación lingual: completamente depapilada 62,7% (54 alelos mutados), parcialmente depapilada 9,4% (8 alelos mutados) y papilada 27,9% (24 alelos mutados) (Gráfico 3; Imagen 5, 6 y 7).



**Imagen 5.** Paciente con un fenotipo de lengua completamente depapilada, con la mutación c.6527\_6528insC /c.7708delG en el Gen COL7A1.

**Imagen 6.** Paciente con un fenotipo de lengua parcialmente depapilada, con la combinación de mutaciones c.2005C>T/c.4342-2A>G en el Gen COL7A1.

**Imagen 7.** Paciente con un fenotipo de lengua papilada, con la combinación de mutaciones c.5532+1G>T/c.6527\_6528insC en el Gen COL7A1.



**Gráfico 3.** Porcentaje de alelos mutados según el grado de depilación lingual.

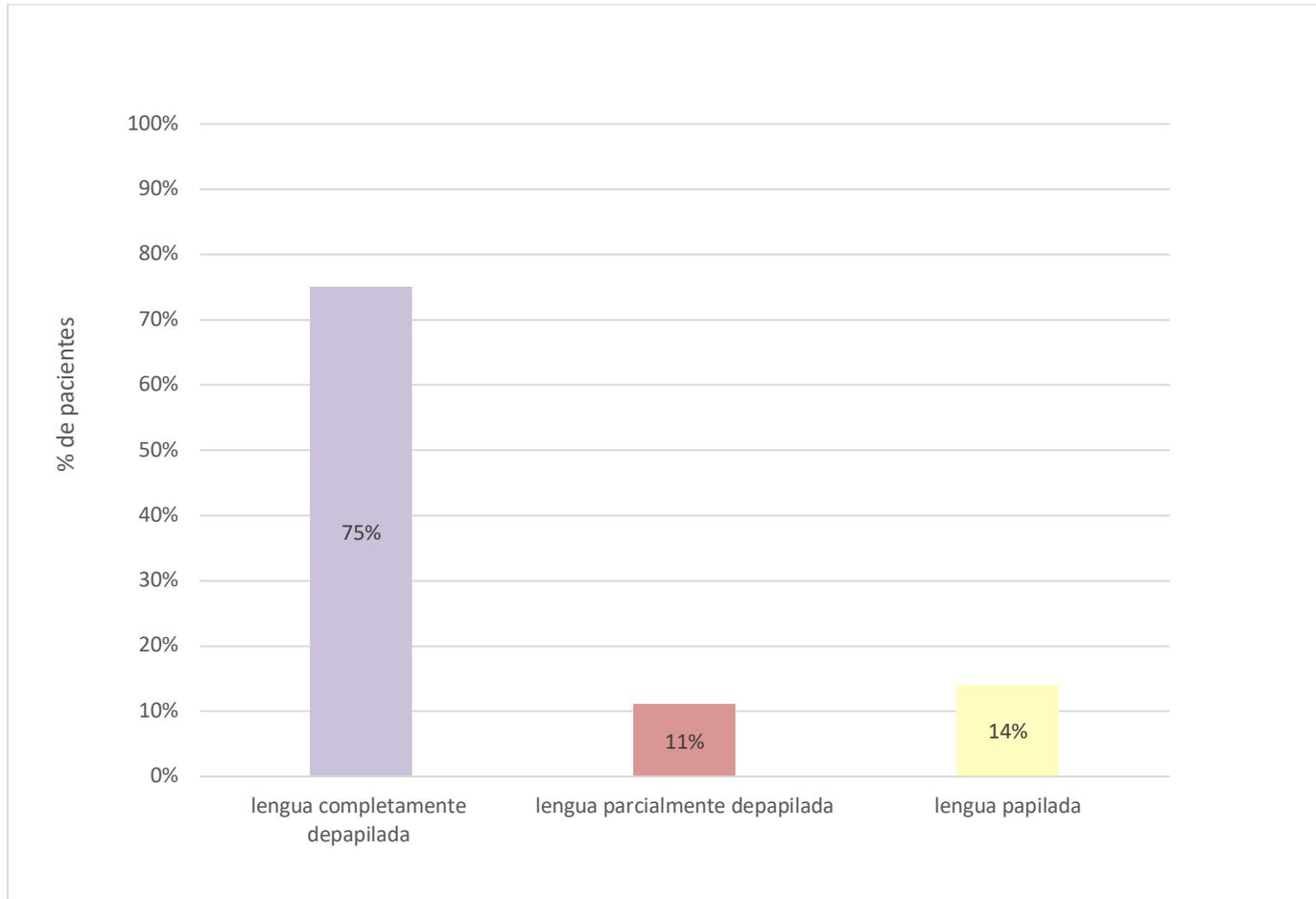
## Descripción de las mutaciones del gen *COL7A1* y el grado de depilación lingual.

De las 20 mutaciones presentes en la cohorte, 6 se expresan clínicamente como una EBDD (*C.4775G>A*, *C.5318G>T*, *C.6026G>A*, *C.6100G>A*, *C.6127G>A* y *c.6082G>A*). Todos los pacientes portadores de estas mutaciones (14 pacientes), presentaron lengua papilada (anexo 6; Imagen 8)



**Imagen 8.** Lengua papilada de paciente con *EBDD-gen* que presenta la mutación heterocigota dominante *c.6026G>A*.

Las 14 mutaciones restantes son recesivas (EBDR), es decir, sólo se expresan clínicamente cuando están en una presentación de heterocigoto compuesto u homocigoto. Estas mutaciones se presentaron en 36 pacientes, en donde; el 75% (27 personas) manifestaron lengua completamente depilada, 11% (4 personas) lengua parcialmente depilada y un 14% (5 personas) lengua papilada (anexo 6; gráfico 4).



**Gráfico 4.** % de pacientes con mutaciones recesivas en el gen *COL7A1* según los distintos grados de depapilación lingual.

De estas 14 mutaciones recesivas, 12 se describen con una proporción absoluta, es decir, en el 100% de los casos se da la misma característica clínica (Tabla 3; Anexo 7).

Lengua papilada	Lengua parcialmente depapilada	Lengua completamente depapilada
<i>c.8393T&gt;G</i> (heterocigoto C.) (n=1)	<i>c.4342-2A&gt;G</i> (heterocigoto C.) (n=2)	<i>c.3970delC</i> (heterocigoto C.) (n=1)
<i>c.185C&gt;T</i> (heterocigoto C.) (n=3)	<i>c.3264_5293</i> (heterocigoto C.) (n=1)	<i>c.5932C&gt;T</i> (homocigoto) (n=2)
		<i>c.6527_6528insC</i> (homocigoto) (n=16)
		<i>c.7708delG</i> (homocigoto) (n=16)
		<i>c.7876-1G&gt;A</i> (heterocigoto C.) (n=1)
		<i>c.8245G&gt;A</i> (heterocigoto C.) (n=1)
		<i>c.8329C&gt;T</i> (heterocigoto C.) (n=1)
		<i>c.5565_5568+8delGAAGGTAAAGTCinsA</i> (heterocigoto C.) (n=1)

**Tabla 3.** Proporción absoluta (100%) entre mutaciones del gen *COL7A1* y los distintos grados de depapilación lingual.

Mientras que las otras 4 mutaciones restantes tienen una proporción relativa, es decir, una misma mutación presenta distintas presentaciones clínicas. Cabe señalar que se repiten dos mutaciones del cuadro anterior, *c.6527\_6528insC* y la *c.7708delG*, pero con la salvedad de que en este caso se habla de sus presentaciones heterocigotas. (tabla 4; anexo 7).

Mutación	presentación clínica
<i>c.2005C&gt;T</i> (heterocigoto C.)	50% (n=1) lengua parcialmente depapilada y 50% (n=1) lengua completamente depapilada.
<i>c.5532+1G&gt;T</i> (heterocigoto C.)	50% (n=2) lengua parcialmente depapilada, 25% (n=1) lengua completamente depapilada y 25% (n=1) lengua papilada.
<i>c.6527_6528insC</i> (heterocigoto C.)	58,3% (n=7) lengua completamente depapilada, 8,3% (n=1) lengua parcialmente depapilada y 33,4% (n= 4) con lengua papilada.
<i>c.7708delG</i> (heterocigoto C.)	75% (n=6) lengua completamente depapilada, 12,5% (n=1) lengua parcialmente depapilada y 12,5% (n=1) lengua papilada.

**Tabla 4.** Proporción relativa entre mutaciones del gen *COL7A1* y los distintos grados de depapilación lingual.

A continuación, se describirán las combinaciones de las mutaciones del gen *COL7A1* y los distintos grados de depapilación lingual que presentaron los pacientes portadores:

### ***Mutación heterocigota c.2005C>T***

De los 2 pacientes portadores de la mutación heterocigota *c.2005C>T*; *el primer* paciente presentó lengua completamente depapilada. En este caso el heterocigoto estaba compuesto con *c.7708delG* y clínicamente se manifestó como EBDR-gen sev. El segundo paciente presentó lengua parcialmente depapilada, es heterocigoto compuesto con *c.4342-2A>G*, y clínicamente se manifestó como EBDR-gen intermed (Tabla 4; anexo 7).

### ***Mutación heterocigota c.5532+1G>T***

De los 4 pacientes portadores de la mutación heterocigota *c.5532+1G>T*; 1 paciente (25% de los casos) presentó lengua completamente depapilada y estaba compuesto con *c.8245G>*, 2 pacientes (50% de los casos) presentaron lengua parcialmente depapilada y estaban combinados con las mutaciones *c.3264\_5293* y *c.7708delG*, y el cuarto paciente (25% de los casos) presentó lengua papilada y es heterocigoto compuesto con *c.6527\_6528insC*. Los cuatro pacientes se manifestaron clínicamente como EBDR gen intermed (Tabla 4; anexo 7).

### ***Combinaciones de la mutación c.6527\_6528insC***

La mutación *c.6527\_6528insC* se presentó en 20 pacientes chilenos; en 8 casos se encontró en su presentación homocigota y en 12 casos como heterocigoto compuesto (anexo 6).

De los 8 pacientes portadores de la mutación homocigota *c.6527\_6528insC*, todas las personas presentaron lengua completamente depapilada, donde 7 personas tenían un diagnóstico clínico de EBDR-gen sev y solo 1 paciente presentaba un diagnóstico de EBDR gen intermed (anexo 6).

De los 12 pacientes portadores de la mutación heterocigota *c.6527\_6528insC*, 7 personas (correspondiente al 58,3% de los casos) presentaron lengua completamente depapilada, mientras que se observó lengua parcialmente depapilada en 1 persona (8,3% de los casos) y lengua papilada en 4 personas (33,4% de los casos) (Tabla 5).

Lengua papilada	Lengua parcialmente depapilada	Lengua completamente depapilada
<i>c.185C&gt;T</i> (EBDR-pretibial / gen intermed) (n=3)	<i>c.4342-2A&gt;G</i> (EBDR gen intermed) (n=1)	<i>c.3970delC</i> (EBDR-gen sev) (n=1)
<i>c.5532+1G&gt;T</i> (EBDR-gen intermed) (n=1)		<i>c.7708delG</i> (EBDR-gen sev) (n=4)
		<i>c.5565_5568+8delGAAGGTAAAGTCinsA</i> (EBDR-gen intermed) (n=1)
		<i>c.8329C&gt;T</i> (EBDR-gen intermed) (n=1)

**Tabla 5.** Descripción de las mutaciones combinadas con *c.6527\_6528insC* y los distintos grados de depapilación lingual.

### **Combinaciones de la mutación *c.7708delG***

La mutación *c.7708delG* se presentó en 16 pacientes chilenos; en 8 casos se encontró en su presentación homocigota y en los 8 casos restantes como heterocigoto compuesto (**anexo 6**).

Los 8 pacientes portadores de la mutación homocigota *c.7708delG* presentaron lengua completamente depapilada con un diagnóstico clínico de EBDR-gen sev (**anexo 6**).

De los 8 pacientes portadores de la mutación heterocigota *c.7708delG*, *6 personas (correspondiente al 75% de los casos)* presentaron lengua completamente depapilada, una persona (12,5% de los casos) presentó lengua parcialmente depapilada y una persona (12,5% de los casos) presentó una lengua papilada (**Tabla 6**).

Lengua papilada	Lengua parcialmente depapilada	Lengua completamente depapilada
<i>c.8393T&gt;G</i> (EBDR-gen intermed) (n=1)	<i>c.5532+1G&gt;T</i> (EBDR-gen intermed) (n=1)	<i>c.2005C&gt;T</i> (EBDR-gen sev) (n=1)
		<i>c.6527_6528insC</i> (EBDR-gen sev) (n=4)
		<i>c.7876-1G&gt;A</i> (EBDR-gen sev) (n=1)

**Tabla 6.** Descripción de las mutaciones combinadas con *c.7708delG* y los distintos grados de depapilación lingual

## 2.2 Grado de anquiloglosia

Al describir el porcentaje de los distintos grados de anquiloglosia y la mutación que cada paciente porta se observa que:

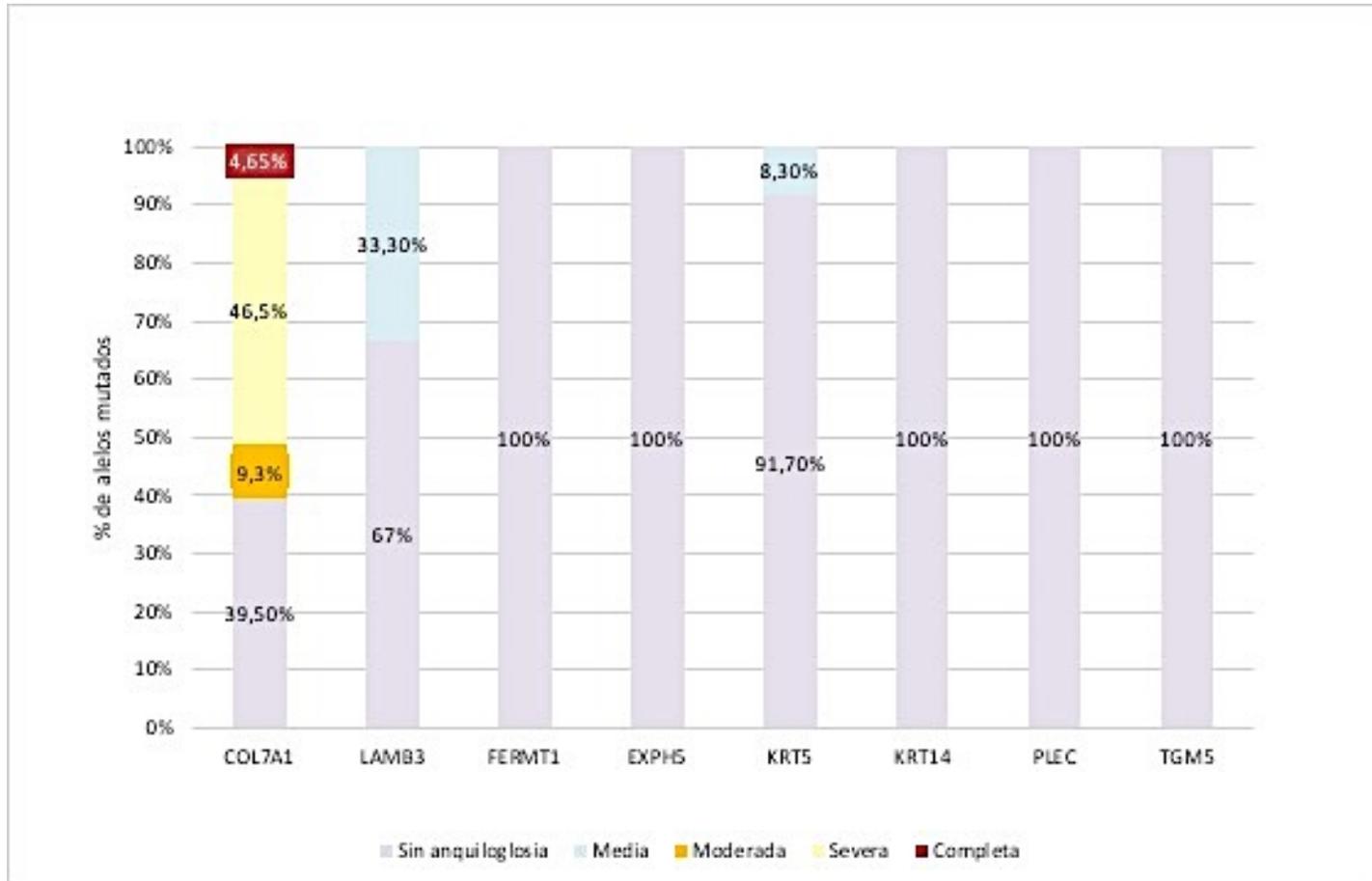
Pacientes con mutaciones en los genes: *FERMT1* (2 alelos mutados), *EXPH5* (2 alelos mutados), *KRT14* (5 alelos mutados), *PLEC* (1 alelo mutado) y *TGM5* (5 alelos mutados) presentaron en un 100% de los casos lengua sin anquiloglosia (gráfico 5; imagen 9).

En cambio, los pacientes con mutaciones en los genes: *LAMB3*, *KRT5* y *COL7A1* presentaron distintos grados de anquiloglosia. (gráfico 5).

Personas con mutaciones en el gen *LAMB3* presentaron un 33,3% (2 de 6 alelos mutados) con anquiloglosia media. Asimismo, pacientes con mutaciones en el gen *KRT5* manifestaron en un 8,3% (1 de 12 alelos mutados) anquiloglosia media. Y, por último, personas con mutaciones en el gen *COL7A1* presentaron en un 9,3% de los casos anquiloglosia moderada, un 46,51% anquiloglosia severa y un 4,65% de los casos con anquiloglosia completa (gráfico 5).



**Imagen 9.** Paciente sin anquiloglosia con la combinación de mutaciones c.337G>T/c.644G>A en el Gen *TGM5* y diagnóstico clínico de *SDCA*.



**Gráfico 5.** Porcentaje de alelos mutados según los distintos grados de anquiloglosia.

### **Descripción de las mutaciones del gen *LAMB3* y grado de anquiloglosia (Anexo 8)**

Este gen presentó 2 mutaciones descritas en la muestra analizada; la *c.3228+1G>* y *c.823-1G>A*.

La presentación homocigota de la mutación *c.3228+1G>* se manifestó en 2 pacientes y se expresó clínicamente como EBJ gen-intermed sin anquiloglosia.

El único paciente (33%) descrito con la presentación heterocigota *c.3228+1G>/c.823-1G>A* presentó un diagnóstico clínico de EBJ gen sev con anquiloglosia media.

### **Descripción de las mutaciones del gen *KRT5* y grado de anquiloglosia (Anexo 8)**

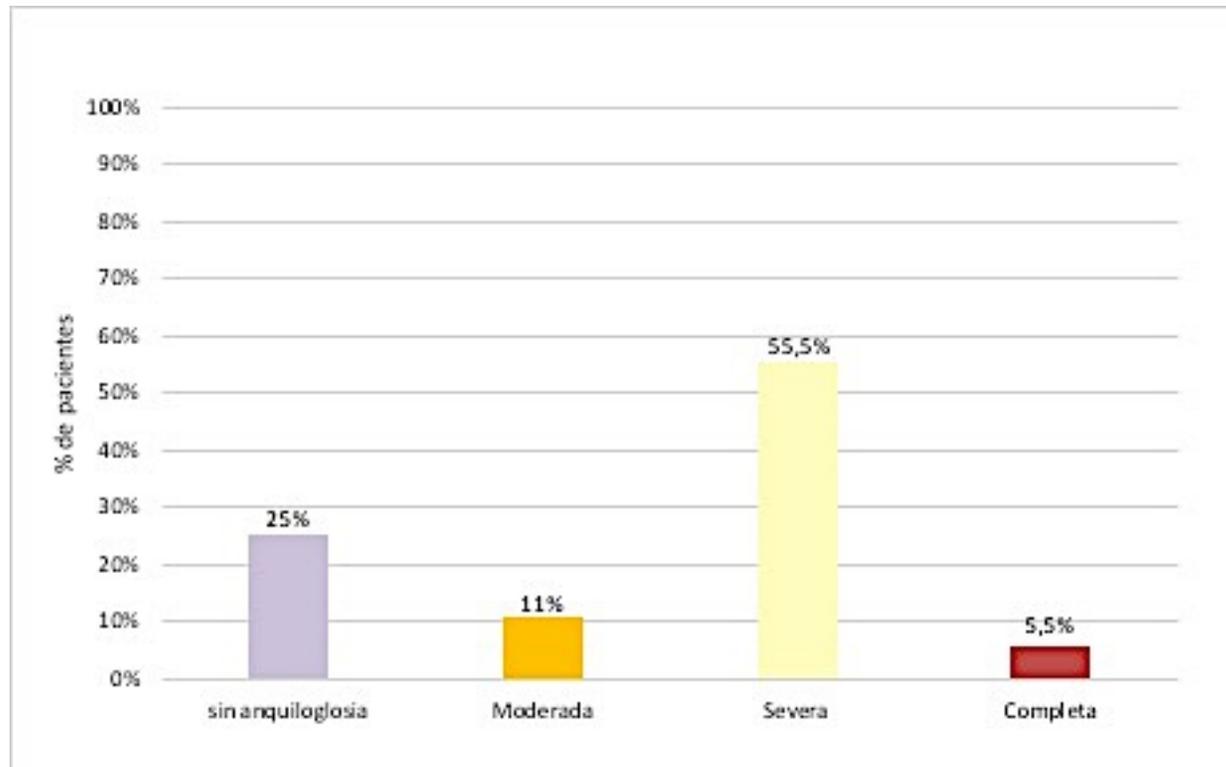
De los 12 pacientes que presentaron mutaciones a nivel del Gen *KRT5*, solo el 8.3% de los casos (1 persona) presentó anquiloglosia media, con la mutación heterocigota simple *c.968T>A* con un diagnóstico clínico de EBS gen intermed.

### **Descripción de las mutaciones del gen *COL7A1* y grado de anquiloglosia (Anexo 8)**

De las 20 mutaciones descritas, 6 se expresan clínicamente como una EBDD (*C.4775G>A*, *C.5318G>T*, *C.6026G>A*, *C.6100G>A*, *C.6127G>A* y *c.6082G>A*).

Todos los pacientes que presentaron este subtipo de EB (14 pacientes) no presentaron anquiloglosia.

Las 14 mutaciones restantes son recesivas (EBDR). Este tipo de EBD se presentó en 36 pacientes, en donde: el 25% (10 personas) no presentaron anquiloglosia, 11% (4 personas) anquiloglosia moderada, 55.5% (20 personas) anquiloglosia severa y un 5.5% (2 personas) anquiloglosia completa (anexo 8; gráfico 6).



**Gráfico 6.** % de pacientes con mutaciones recesivas en el gen *COL7A1* y los distintos grados de anquiloglosia.

De estas 14 mutaciones recesivas, 9 se describen con una proporción absoluta (Tabla 7; Anexo 9).

Sin anquiloglosia	Grado de anquiloglosia		
	<i>Moderada</i>	<i>Severa</i>	<i>Completa</i>
<i>c.8393T&gt;G</i> (heterocigoto C.) (n=1)	<i>c.6527_6528insC</i> (homocigoto) (n=2)	<i>c.3970delC</i> (heterocigoto C.) (n=1)	<i>c.6527_6528insC</i> (homocigoto) (n=2)
<i>c.185C&gt;T</i> (heterocigoto C.) (n=3)		<i>c.5932C&gt;T</i> (homocigoto) (n=2)	
<i>c.3264_5293</i> (heterocigoto C.) (n=1)		<i>c.6527_6528insC</i> (homocigoto) (n=12)	
		<i>c.8245G&gt;A</i> (heterocigoto C.) (n=1)	
		<i>c.8329C&gt;T</i> (heterocigoto C.) (n=1)	
		<i>c.5565_5568+8delGAAGGTAAAGTCinsA</i> (heterocigoto C.) (n=1)	

**Tabla 7.** Proporción absoluta (100%) entre mutaciones del gen *COL7A1* y los distintos grados de anquiloglosia.

Mientras que las otras 5 mutaciones restantes como una proporción relativa (Tabla 8; anexo 9).

<b>Mutación</b>	<b>Presentación clínica</b>
<i>c.2005C&gt;T</i> (heterocigoto)	50 % con anquiloglosia severa (n=1) 50% sin anquiloglosia (n=1).
<i>c.4342-2A&gt;G</i> (heterocigoto)	50% con anquiloglosia moderada (n=1) y 50% sin anquiloglosia (n=1).
<i>c.5532+1G&gt;T</i> (heterocigoto)	25% con anquiloglosia severa (n=1) y 75% sin anquiloglosia (n=3).
<i>c.6527_6528insC</i> (heterocigoto)	16,6% con anquiloglosia moderada (n=2), 41,6% con anquiloglosia severa (n=5) y 41,6% sin anquiloglosia (n=5).
<i>c.7708delG</i> (homocigoto)	75% con anquiloglosia severa (n=12), 12,5% con anquiloglosia moderada (n=2) y 12,5% sin anquiloglosia (n=2).
<i>c.7708delG</i> (heterocigoto)	12,5% con anquiloglosia moderada(n=1), 37,5% con anquiloglosia severa (n=3), 12,5% con anquiloglosia completa (n=1) y 37,5% sin anquiloglosia (n=3).

**Tabla 8.** Proporción relativa entre mutaciones del gen *COL7A1* y los distintos grados de anquiloglosia.

El hecho de que algunas mutaciones presenten proporciones relativas hace necesario el análisis de las combinaciones de mutaciones recesivas y su expresión clínica.

#### **Heterocigota *c.2005C>T***

De los 2 pacientes portadores de la mutación heterocigota *c.2005C>T*; *el primer* paciente presentó anquiloglosia severa. En este caso el heterocigoto estaba compuesto con *c.7708delG* y clínicamente se manifestó como EBDR-gen sev. El segundo paciente presentó lengua sin anquiloglosia, es heterocigoto compuesto con *c.4342-2A>G*, y clínicamente se manifestó como EBDR-gen intermed (Anexo 9).

#### **Heterocigota *c.4342-2A>G***

De los 2 pacientes portadores de la mutación heterocigota *c.4342-2A>G*; un paciente presentó anquiloglosia moderada. En este caso el heterocigoto estaba compuesto con *c.6527\_6528insC* y clínicamente se manifestó como EBDR-gen intermed. El segundo paciente presentó lengua sin anquiloglosia, es heterocigoto compuesto con *c.2005C>T* y clínicamente se manifestó como EBDR-gen intermed (Tabla 8).

### **Combinaciones de la mutación *c.6527\_6528insC***

La mutación *c.6527\_6528insC* se presentó en 20 pacientes chilenos; en 8 casos se encontró en su presentación homocigota y en 12 casos como heterocigoto compuesto (Anexo 9).

De los 8 pacientes portadores de la mutación homocigota *c.6527\_6528insC*; 7 personas, correspondiente a 87,5% de los casos, presentaron un diagnóstico clínico de EBDR-gen sev con distintos grados de anquiloglosia (6 con severa y 1 con completa), también se observó anquiloglosia moderada en 1 paciente (12,5% de los casos) con un diagnóstico de EBDR gen intermed (Anexo 9).

De los 12 pacientes portadores de la mutación heterocigota *c.6527\_6528insC*, 7 personas (58,3% de los casos) presentaron anquiloglosia (Tabla 9).

<b>Sin anquiloglosia</b>	<b>Grado de anquiloglosia</b>	
	<b>Moderada</b>	<b>Severa</b>
<i>c.5532+1G&gt;T</i> (EBDR-gen intermed) (n=1)	<i>c.4342-2A&gt;G</i> (EBDR gen intermed) (n=1)	<i>c.3970delC</i> (EBDR gen sev) (n=1)
<i>c.185C&gt;T</i> (EBDR pretibial/intermed) (n=3)	<i>c.7708delG</i> (EBDR-gen sev) (n=1)	<i>c.5565_5568+8delGAAGGTAAAGTCinsA</i> (EBDR gen intermed) (n=1)
<i>c.7708delG</i> (EBDR-gen sev) (n=1)		<i>c.8329C&gt;T</i> (EBDR gen intermed) (n=1)
		<i>c.7708delG</i> (EBDR-gen sev) (n=2)

**Tabla 9.** Descripción de las combinaciones mutacionales de la forma heterocigota de la mutación *c.6527\_6528insC* y los distintos grados de anquiloglosia.

**Combinaciones de la mutación *c.7708delG***

De los 8 pacientes portadores de la mutación homocigota *c.7708delG*, 7 personas (88% de los casos) presentaron distintos tipos de anquiloglosia manifestando una presentación clínica de EBDR gen sev, de los cuales; 6 pacientes (75% de los casos) presentaron anquiloglosia severa y 1 (12,5% de los casos) anquiloglosia moderada (**Anexo 9**)

De los 8 pacientes portadores de la mutación heterocigota *c.7708delG*, 5 personas presentaron anquiloglosia (62.5% de los casos) (**Tabla 10**).

Sin anquiloglosia	Grado de anquiloglosia		
	Moderada	Severa	Completa
<i>c.6527_6528insC</i> (EBDR gen sev) (n=1)	<i>c.6527_6528insC</i> (EBDR gen sev) (n=1)	<i>c.2005C&gt;T</i> (EBDR gen sev) (n=1)	<i>c.7876-1G&gt;A</i> (EBDR gen sev) (n=1)
<i>c.8393T&gt;G</i> (EBDR gen intermed) (n=1)		<i>c.6527_6528insC</i> (EBDR gen sev) (n=2)	
<i>c.5532+1G&gt;T</i> (EBDR gen intermed) (n=1)			

**Tabla 10.** Descripción de las distintas combinaciones mutacionales de la mutación heterocigota *c.7708delG* y los distintos grados de anquiloglosia.

## **VII. DISCUSIÓN**

El presente estudio logró dar respuesta a la pregunta de investigación planteada: ¿Cuál es la proporción de las características de grado de depapilación lingual y grado de anquiloglosia en paciente portadores de distintas mutaciones causales de EB?.

### **1. Composición del grupo de estudio**

#### **DISTRIBUCIÓN SEGÚN TIPO EB.**

La distribución por lugar de residencia fue representativa del total de pacientes que conforman el universo de personas que son atendidos en Chile, ya que se examinaron personas provenientes de las regiones I, II, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X y XIII.

En la distribución por género los porcentajes se mantuvieron dentro de valores similares entre sexo femenino y masculino. Y respecto a la distribución por edad, se examinaron pacientes de diferentes edades, abarcando un amplio rango etario (2 meses a 66 años).

### **2. Descripción y análisis intraoral**

#### **2.1 Grado de depapilación lingual**

La presencia de lengua depapilada ha sido descrita con anterioridad en la literatura en pacientes con EBDR, principalmente en el subtipo severo generalizado (Wright, Fine & Johnson, 1991; Azrak & cols, 2006; Kramer & cols, 2012; Kummer & cols, 2013). Los hallazgos del presente estudio son consistentes con la literatura, ya que todos los pacientes con mutaciones en los genes causales de EBS, EBJ, EBDD y SK presentaron una lengua papilada.

La presencia de lengua depapilada ha sido un hallazgo común en los subtipos más severos de la enfermedad, como es el caso de la EBDR gen. Wright en el año 1991 hizo un estudio en 216 pacientes con EB, de los cuales 27 presentaban un diagnóstico de EBDR gen (diagnóstico que fue solamente hecho con MET), los que al análisis intraoral tenían lengua depapilada en todos los casos. El autor justificó la presencia de este fenotipo en todos los pacientes, con el constante proceso de ulceración y posterior cicatrización que impediría una correcta regeneración a nivel de las papilas (Wright, Fine & Johnson, 1991).

Serrano & cols en el año 2003 evaluaron en una muestra de 35 pacientes con EBDR gen, la prevalencia de lesiones en diferentes partes de la cavidad oral. Dentro de los resultados; 32 pacientes presentaron anquiloglosia y 34 atrofia lingual (depapilación lingual), no especificando en esta última característica cuál fue el patrón de depapilación y tampoco el por qué de la ausencia de la característica analizada en un solo paciente (Serrano & cols,2003).

Los estudios anteriores dejan en evidencia que se ha tratado de establecer una correlación entre la característica de lengua depapilada y un subtipo de EB específico, como es la EBDR gen. En nuestro estudio, coincidiendo con Wright, encontramos esta característica solamente en pacientes cuyas mutaciones generaron un diagnóstico de EBDR gen, tanto en sus formas severas como intermedias. Todos los pacientes de la muestra que presentaron la forma EBDR gen sev tenían lengua completamente depapilada, presentando las siguientes combinaciones de mutaciones: *c.2005C>T / c.7708delG*, *c.3970delC / c.6527\_6528insC*, *c.6527\_6528insC / c.7708delG*, *c.7708delG / c.7876-1G>A*, *c.5932C>T / c.5932C>T*, *c.7708delG / c.7708delG* y *c.6527\_6528insC / c.6527\_6528insC* (gen COL7A1).

En cambio, los pacientes con EBDR gen intermed presentaron principalmente un fenotipo de lengua parcialmente depapilada y en algunos casos; una depapilación total o una lengua papilada. Las mutaciones que presentaron los pacientes con este fenotipo parcial de lengua depapilada fueron; *c.4342-2A>G / c.6527\_6528insC*, *c.2005C>T / c.4342-2A>G*, *c.5532+1G>T / c.7708delG*, *c.5532+1G>T / c.3264\_5293*, *c.6527\_6528insC / c.6527\_6528insC* (gen COL7A1). Cabe destacar

que la característica de lengua parcialmente depapilada no había sido descrita con anterioridad ni relacionada con este subtipo de EB en específico.

Los pacientes con EBDR gen intermed presentaron distintos grados de depapilación lingual. Una posible explicación que podría justificar esta versatilidad fenotípica podría tener relación con la cantidad de fibras de anclaje que brindan sostén estructural al epitelio plano estratificado no cornificado que recubre a la lengua; en este subtipo de EBD, estas fibras tienden a disminuir en cantidad o estar alteradas en morfología pero no desaparecen completamente o en un número importante, esta alteración responde a mutaciones del tipo missense o splice junction. En cambio, en el subtipo EBDR gen sev, las fibras de anclaje están drásticamente disminuidas o ausentes y son consecuencia de mutaciones nulas o cambio en el marco de lectura (Pfundner & Lucky, 2018 a; Fine y cols, 2014).

Estas variaciones en las concentraciones de fibras de anclaje repercutiría en el nivel de vulnerabilidad que podría presentar el epitelio lingual frente al estrés mecánico al que está expuesto cuando la lengua se encuentra realizando sus funciones fisiológicas, de esta forma podríamos dar una posible explicación a la depapilación parcial que solo presentó casos con el subtipo EBDR gen intermed. En este estudio no evaluamos si es que la depapilación parcial presenta un patrón de distribución en particular, hecho que sería interesante de abordar en futuras investigaciones con el objetivo de dilucidar si es que existe alguna posible asociación entre depapilación parcial con algún tipo de papila lingual en específico.

La presencia de depapilación total de la lengua en los pacientes con EBDR gen intermed fue poco común, presentándose en tan solo tres pacientes. Una de las posibles explicaciones podría ser; las combinaciones mutacionales que presentaron estos pacientes (*c.5532+1G>T / c.8245G>A, c.6527\_6528insC / c.5565\_5568+8delGAAGGTAAAGTCinsA y c.6527\_6528insC / c.8329C>T; gen COL7A1*) podrían provocar una mayor severidad en la alteración del número de fibras de colágeno VII o generar fibras de menor calidad, lo que incidiría en una mayor severidad fenotípica. Estudios más específicos deben ser realizados en estos casos para verificar o desmentir estas conjeturas.

Wu & cols en el año 2014, estudiaron las manifestaciones orales de 75 pacientes con anemia por déficit de hierro (ANH). Dentro de sus resultados establecieron que; los pacientes con ANH presentaban una prevalencia significativamente alta de 5 características orales, dentro de estas encontramos a la atrofia lingual, que había sido vista en 20 pacientes (26,7%) Una posible explicación a este hallazgo radica en que, los niveles reducidos de hemoglobina en pacientes con anemia podrían generar una disminución en el transporte de oxígeno para las células epiteliales de la mucosa oral, pudiendo generar una muerte celular más temprana o una mucosa más inmadura (Wu & cols, 2014).

La anemia es una característica muy común en los pacientes con EBDR gen severa y dependiendo de la severidad de las lesiones, también podría presentarse en pacientes con EBDR gen intermed (Fine & cols 2014). Este factor también podría ser una posible explicación de la presencia del fenotipo de lengua completamente depapilada en determinados casos de pacientes con EBDR gen intermed. Aunque en nuestro estudio no evaluamos la presencia de anemia al momento de examinar al paciente, podría ser una variable a considerar en futuras evaluaciones.

## **2.2 Grado de Anquiloglosia**

Esta característica se presentó en tres de los cuatro tipos de EB, específicamente en: EBS, EBJ y EBD.

De los 22 pacientes que tenían el tipo EBS, en sólo uno encontramos la presencia de anquiloglosia, en su variante media, el cual presentaba el diagnóstico de EBS gen intermed, con una combinación mutacional heterocigoto dominante *c.968T>* (*gen KRT5*).

El compromiso a nivel oral de este subtipo de EB ocurre de modo variable en la población con EB (Fine & cols, 2014), por ende, podría ser una posible consecuencia de las lesiones a nivel intraoral la presencia de anquiloglosia en este subtipo.

De los 3 pacientes que tenían el tipo EBJ, en solo 1 encontramos la presencia de lengua con anquiloglosia (en su variante media), el cual presentaba el diagnóstico de EBJ gen sev, con una combinación mutacional *c.823-1G>A / c.3228+1G>A* (Gen *LAMB3*)

Aunque la presencia de bullas y úlceras a nivel de tejidos blandos intraorales es común en este subtipo de EB, la cicatrización intraoral severa no es usual (Wright, Fine & Johnson, 1991; Wright, Fine & Johnson, 1994; Wright, 2010; Kramer & cols, 2012), pero podría ser la explicación a la anquiloglosia que presentó este paciente en nuestro estudio, ya que este proceso biológico podría alterar la arquitectura normal de la cavidad oral y por ende generar una limitación de la movilidad de la lengua. Por otro lado, la anquiloglosia que registramos en este paciente fue con una protrusión lingual de 10 mm, parámetro que nosotros establecimos arbitrariamente a partir de nuestra modificación de la clasificación de Kotlow, a diferencia de otros estudios; que dejan a criterio del examinador determinar si es que hay una limitación de la movilidad lingual (Wright, Fine & Johnson, 1991) o simplemente no consignan la forma en que se determinó (Wright, Fine & Johnson, 1994). Estos casos dejan de manifiesto en que podría generarse una variabilidad de criterios al momento de establecer la característica de anquiloglosia en los pacientes con EB, por lo que es muy relevante estandarizar la forma en que se diagnostica esta característica oral en este tipo de pacientes, para generar una uniformidad de criterios en investigaciones futuras.

Por último, cabe mencionar que este subtipo de EB presenta una baja prevalencia y un alto nivel de mortalidad en etapas tempranas de la vida (Laimer & cols, 2010); Variables que se ven reflejadas en la poca cantidad de estudios que analizan las características clínicas orales en este tipo de pacientes, de ahí la importancia de evidenciar este tipo de casos, para contribuir con posibles nuevos fenotipos clínicos en este tipo de EB.

Por otro lado, en la forma EBD es donde encontramos la mayor cantidad de personas con anquiloglosia; 26 pacientes, de un total de 50 con este tipo de EB, presentaron la característica.

Todos los pacientes que presentaron mutaciones con el subtipo dominante de la EBD no manifestaron ningún grado de anquiloglosia. A modo general, a pesar de que se ha consignado la presencia de ampollas a nivel intraoral en personas con EBDD, no es común la presencia de cicatrizaciones severas como consecuencia de estas lesiones, coincidiendo con nuestros resultados (Kramer & cols, 2012). Cabe mencionar además que dentro de estos casos, dos pacientes presentaron un diagnóstico de EBDD acral, que es una variante poco común de la EBDD (Fine & cols, 2014), por lo que es muy importante describir en mayor detalle las características fenotípicas de pacientes con este subtipo en futuras investigaciones.

Las mutaciones que generaron subtipos recesivos en la EBD fueron los que presentaron la característica en un mayor porcentaje de pacientes, manifestándose en 2 subtipos específicamente; las EBDR gen sev e intermed.

La forma EBDR gen sev fue el subtipo que presentó la mayor cantidad de pacientes con anquiloglosia, existiendo solo 2 casos en donde no se manifestó la característica estudiada.

Estos hallazgos coinciden con estudios previamente hechos, en los cuales se establece que este subtipo de EBD, es una de la más severa en relación con el compromiso de las estructuras a nivel intraoral; siendo muy probable que, como consecuencia de las cicatrizaciones severas de las úlceras, encontremos la presencia de anquiloglosia (Wright, Fine & Johnson 1991; Serrano & cols, 2003).

Las combinaciones de mutaciones que se correlacionaron con la presencia de anquiloglosia en este subtipo fueron: *c.7708delG / c.7876-1G>A*, *c.7708delG / c.7708delG*, *c.6527\_6528insC / c.7708delG*, *c.5932C>T / c.5932C>T*, *c.3970delC / c.6527\_6528insC*, *c.2005C>T / c.7708delG*, , *c.6527\_6528insC / c.7708delG*, *c.6527\_6528insC / c.6527\_6528insC* y *c.7708delG / c.7708delG* (gen *COL7A1*); siendo estas dos últimas combinaciones las más frecuentes de la muestra estudiada.

El subtipo EBDR gen intermed fue el segundo grupo de pacientes con EBD que presentaron la característica de anquiloglosia en una mayor cantidad de casos.

Las combinaciones de mutaciones que se correlacionaron con la presencia de anquiloglosia en este subtipo fueron: *c.4342-2A>G / c.6527\_6528insC*,

*c.6527\_6528insC / c.5565\_5568+8delGAAGGTAAAGTCinsA*, *c.6527\_6528insC / c.6527\_6528insC*, *c.6527\_6528insC / c.8329C>T*, *c.5532+1G>T / c.8245G>A* (*gen COL7A1*).

### 2.3 Variabilidad fenotípica en combinaciones mutacionales idénticas

Dentro de todos los genes analizados en este estudio, *COL7A1* se caracterizó por estar mutado en el mayor porcentaje de pacientes, generar la mayor cantidad de diagnósticos distintos de la muestra (comparado con los otros genes que se analizaron), presentar la mayor cantidad de mutaciones genéticas y la mayor frecuencia de casos de lengua depapilada en dos mutaciones específicas: la *c.7708delG* y la *c.6527\_6528insC*. Y fue precisamente a nivel de este gen donde se presentaron 2 tipos de combinaciones mutacionales en las que hubo discordancias entre las características fenotípicas de pacientes con la misma combinación mutacional.

La variabilidad fenotípica en combinaciones de mutaciones idénticas del gen *COL7A1* ha sido reportada previamente, el año 2017 Knöpfel y Cols presentaron un reporte de caso de 3 pacientes sin nexos consanguíneos, que tenían la misma combinación de mutaciones heterocigotas en el gen *COL7A1*, pero con diferentes fenotipos de EBD, no obteniendo ninguna respuesta satisfactoria que les permitiese establecer algún nexo entre las mutaciones genéticas y el fenotipo de los pacientes. Esta variabilidad se asoció a factores desconocidos, que probablemente podrían asociarse a un origen genético y/o ambiental, que podrían jugar un rol importante en la patogénesis de la enfermedad (Knöpfel y cols, 2017).

En nuestra muestra también encontramos discordancias entre combinaciones de mutaciones idénticas y sus respectivos fenotipos: la mutación *c.6527\_6528insC* (*gen COL7A1*), que se caracterizó por ser la más común en esta muestra y por ser descrita junto con todo el espectro de posibilidades fenotípicas a nivel lingual, presentó diferentes diagnósticos clínicos en 2 casos de combinaciones mutacionales idénticas; tanto en su presentación homocigota como en una de sus presentaciones heterocigotas.

En su presentación homocigota vimos que, todos los casos analizados presentaron lengua completamente depapilada, pero con distinto diagnóstico clínico; la mayor parte de los pacientes con esta combinación presentaron una lengua completamente depapilada con un diagnóstico de EBDR gen sev, a diferencia de un paciente con la misma combinación homocigota de mutaciones que presentó un diagnóstico de EBDR gen intermed. Todos los pacientes con esta combinación mutacional, independiente del diagnóstico, presentaron anquiloglosia.

A su vez, la combinación heterocigota compuesta por las mutaciones *c.6527\_6528insC* y *c.185C>T* (gen *COL7A1*) manifestó una situación similar; 3 pacientes presentaron esta misma combinación de mutaciones, pero con 2 tipos de diagnósticos diferentes (1 caso con EBDR gen intermed y 2 con EBDR pretibial). Todos los pacientes con esta combinación de mutaciones, independiente del diagnóstico, presentaron un fenotipo lingual completamente papilado y no anquilosado. Es interesante destacar este tipo de variaciones en el diagnóstico con combinaciones mutacionales idénticas para futuras investigaciones.

A pesar de que describimos la proporción entre las características clínicas analizadas y mutaciones genéticas en pacientes con EB, producto del bajo "n" por mutación, se hace necesario realizar nuevas investigaciones que contribuyan a aumentar la cantidad de pacientes analizados para poder realizar una relación de causalidad entre mutaciones genéticas de paciente con EB y determinadas características clínicas.

## CONCLUSIONES

En nuestro estudio se describieron las proporciones de las características linguales de grado de depapilación y anquiloglosia en pacientes portadores de distintas mutaciones causales de EB. A partir de estas observaciones concluimos:

- En el 71% de los portadores de mutaciones en el gen *COL7A1* se observó algún grado de depapilación lingual. En cambio, se observó lengua papilada en todos los pacientes con mutaciones en los genes: *LAMB3*, *FERMT1*, *EXPH5*, *KRT14*, *KRT5*, *PLEC* Y *TGM5*.
- De los 36 pacientes afectados con formas recesivas en el gen *COL7A1*, el 75% fue descrito con lengua completamente depapilada, 11% lengua parcialmente depapilada y 14% con lengua papilada. La presentación de lengua parcialmente depapilada no había sido descrita con anterioridad y cuando se manifestó, fue en pacientes con un diagnóstico de EBDR gen intermed.
- Todos los afectados con formas dominantes de EBD (14) fueron descritos con un fenotipo de lengua papilada.
- No se observó anquiloglosia en pacientes con mutaciones en los genes: *FERMT1*, *EXPH5*, *KRT14*, *PLEC* Y *TGM5*. Solamente un paciente de la cohorte con mutaciones en el gen *KRT5* (8.3%) y un paciente de la cohorte con mutaciones en *LAMB3* (33%) se observó algún grado de anquiloglosia.
- En el caso de las mutaciones en el gen *COL7A1*, todos los pacientes con formas dominantes fueron descritos sin anquiloglosia. De los 36 pacientes con formas recesivas, en el 72% se observó algún grado de anquiloglosia.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Azrak, B., Kaevel, K., Hofmann, L., Gleissner, C., & Willershausen, B. (2006). Dystrophic epidermolysis bullosa: Oral findings and problems. *Special Care in Dentistry*, 26(3), 111–115. <https://doi.org/10.1111/j.1754-4505.2006.tb01433.x>
- Behjati, S., & Tarpey, P. S. (2013). What is next generation sequencing? *Archives of disease in childhood - Education & practice edition*, 98(6), 236–238. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2013-304340>
- Botstein, D., & Risch, N. (2003). Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease. *Nature Genetics*, 33(S3), 228–237. <https://doi.org/10.1038/ng1090>
- Boyd, S. D. (2013). Diagnostic Applications of High-Throughput DNA Sequencing. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 8(1), 381–410. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-020712-164026>
- Bruckner-Tuderman, L. (2010). Dystrophic epidermolysis bullosa: pathogenesis and clinical features. *Dermatol Clin*, 28(1), 107-114. doi:10.1016/j.det.2009.10.020
- Bruckner-Tuderman, L., & Has, C. (2014). Disorders of the cutaneous basement membrane zone--the paradigm of epidermolysis bullosa. *Matrix Biol*, 33, 29-34. doi:10.1016/j.matbio.2013.07.007
- Cepeda-Valdés, R., Pohla-Gubo, G., Borbolla-Escoboza, J. R., Barboza-Quintana, O., Ancer-Rodríguez, J., Hintner, H., & Salas-Alanis, J. C. (2010). [Immunofluorescence mapping for diagnosis of congenital epidermolysis bullosa]. *Actas Dermosifiliogr*, 101(8), 673-682.

- Chiaverini, C., Charlesworth, A., Meneguzzi, G., Lacour, J. P., & Ortonne, J. P. (2010). Epidermolysis bullosa simplex with muscular dystrophy. *Dermatol Clin*, 28(2), 245-255, viii. doi:10.1016/j.det.2010.01.001
- DEBRA Chile (2018, 29 de Junio). Qué es la Epidermolisis Bulosa. Recuperado 20 marzo, 2019, de <https://debrachile.cl/epidermolisis-bulosa/la-epidermolisis-bulosa/>
- Demeer, B., Revencu, N., Helaers, R., Devauchelle, B., François, G., Bayet, B., & Vikkula, M. (2018). Unmasking familial CPX by WES and identification of novel clinical signs. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 176(12), 2661–2667. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.40630>
- Fine, J., Johnson, L. B., Weiner, M., & Suchindran, C. (2004). Assessment of mobility, activities and pain in different subtypes of epidermolysis bullosa. *Clinical and Experimental Dermatology*, 29(2), 122–127. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2230.2004.01428.x>
- Fine, J., Eady, R. A., Bauer, E. A., Bauer, J. W., Bruckner-Tuderman, L., Heagerty, A y cols (2008). The classification of inherited epidermolysis bullosa (EB): Report of the Third International Consensus Meeting on Diagnosis and Classification of EB. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 58(6), 931–950. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2008.02.004>
- Fine, J. D., Bruckner-Tuderman, L., Eady, R. A., Bauer, E. A., Bauer, J. W., Has, C. y cols (2014). Inherited epidermolysis bullosa: updated recommendations on diagnosis and classification. *J Am Acad Dermatol*, 70(6), 1103-1126. doi:10.1016/j.jaad.2014.01.903
- Fine, J. (2016). Epidemiology of Inherited Epidermolysis Bullosa Based on Incidence and Prevalence Estimates From the National Epidermolysis Bullosa Registry. *JAMA Dermatology*, 152(11), 1231. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2016.2473>

- Fortuna, G., Lozada-Nur, F., Pollio, A., Aria, M., Cepeda-Valdes, R., Marinkovich, M. P. y cols (2013). Patterns of oral mucosa lesions in patients with epidermolysis bullosa: comparison and agreement between oral medicine and dermatology. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 42(10), 733–740. <https://doi.org/10.1111/jop.12094>
- Fuentes, A., Fresno, M. J., Santander, H., Valenzuela, S., Gutiérrez, M. F., & Miralles, R. (2010). Sensopercepción Gustativa: una Revisión. *International journal of odontostomatology*, 4(2), 161–168. <https://doi.org/10.4067/s0718-381x2010000200010>
- Guyton, A., & Hall, J. (2016). *Tratado de fisiología Médica* (13ª ed.). Barcelona, España: Elsevier.
- Harris, J. C., Lucas, V. S., Bryan, R. A.E., & Roberts, G. J. (2001). Dental disease and caries related microflora in children with dystrophic epidermolysis bullosa.. *Pediatric Dentistry*, 23(5), 438–443
- Has, C., Castiglia, D., del Rio, M., Diez, M. G., Piccinni, E., Kiritsi, D. y cols (2011). Kindler syndrome: extension of FERMT1 mutational spectrum and natural history. *Hum Mutat*, 32(11), 1204-1212. doi:10.1002/humu.21576
- Horton, C. E., Crawford, H. H., Adamson, J. E., & Ashbell, T. S. (1969). Tongue-tie.. *Cleft Palate Journal*, 6, 8–23.
- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2015). *Histología Básica. Texto y Atlas* (12ª ed.). Madrid, España: Editorial Médica Panamericana.
- Kiprono, S. K., Chaula, B. M., Naafs, B., & Masenga, J. E. (2012). Acral peeling skin syndrome in two East-African siblings: case report. *MBC dermatology*, 12, 2. doi:10.1186/1471-5945-12-2
- Kiritsi, D., Cosgarea, I., Franzke, C. W., Schumann, H., Oji, V., Kohlhase, J w. y cols (2010). Acral peeling skin syndrome ith TGM5 gene mutations may resemble

epidermolysis bullosa simplex in young individuals. *J Invest Dermatol*, 130(6), 1741-1746. doi:10.1038/jid.2010.23

Knöpfel, N., Noguera-Morel, L., Hernández-Martin, A., García-Martin y cols (2017). Identical COL71A1 heterozygous mutations resulting in different dystrophic epidermolysis bullosa phenotypes. *Pediatric Dermatology*, 35(2), 94–98. <https://doi.org/10.1111/pde.13367>

Kotlow, L. A. (1999). Ankyloglossia (tongue-tie): A diagnostic and treatment quandary. *Quintessence International*, 30(4), 259–262.

Krämer, S. M. (2010). Oral Care and Dental Management for Patients with Epidermolysis Bullosa. *Dermatologic Clinics*, 28(2), 303–309. <https://doi.org/10.1016/j.det.2010.02.021>

Krämer, S. M., Serrano, M. C., Zillmann, G., Gálvez, P., Araya, I., Yanine, N. y cols (2012). Oral Health Care for Patients with Epidermolysis Bullosa - Best Clinical Practice Guidelines. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 22, 1–35. <https://doi.org/10.1111/j.1365-263x.2012.01247.x>

Kummer, T. R., Nagano, H. C., Tavares, S. S., Santos, B. Z., & Miranda, C. (2013). Oral manifestations and challenges in dental treatment of epidermolysis bullosa dystrophica.. *Journal of Dentistry for children*, 80(2), 97–100.

Laimer, M., Lanschuetzer, C. M., Diem, A., & Bauer, J. W. (2010). Herlitz Junctional Epidermolysis Bullosa. *Dermatologic Clinics*, 28(1), 55–60. <https://doi.org/10.1016/j.det.2009.10.006>

Laimer, M., Prodingler, C., & Bauer, J. W. (2015). Hereditary epidermolysis bullosa. *J Dtsch Dermatol Ges*, 13(11), 1125-1133. doi:10.1111/ddg.12774

Lenormand, A., Khonsari, R., Corre, P., Perrin, J. P., Boscher, C., Nizon, M., . . . Isidor, B. (2018). Familial autosomal dominant severe ankyloglossia with tooth abnormalities. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 176(7), 1614–1617. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.38690>

- López de Ullibarri, I., & Pita, F. S. (1999, junio). Medidas de concordancia: el índice Kappa. Recuperado 4 septiembre, 2019, de <https://www.fisterra.com/mbe/investiga/kappa/kappa.asp>
- Netter, F. (2015). *Atlas de anatomía humana Frank H. Netter* (6ª ed.). Barcelona, España: Elsevier.
- Pavlovic, S., Kronic, A. L., Bulj, T. K., Medenica, M. M., Fong, K., Arita, K., & McGrath, J. A. (2012). Acral peeling skin syndrome: a clinically and genetically heterogeneous disorder. *Pediatr Dermatol*, 29(3), 258-263. doi:10.1111/j.1525-1470.2011.01563.x
- Pfendner, E. G., & Bruckner, A. L., 7/10/1998 (actualizado el 13/10/2016) . Epidermolysis Bullosa Simplex - GeneReviews® (Internet) - NCBI BooSKhelf. (Visto el 17 abril de 2019 a las 16:30 hrs. de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/booSK/NBK1369/>)
- Pfendner, E. G., Sadowski, S. G., & Uitto, J. (2005). Epidermolysis Bullosa Simplex: Recurrent and De Novo Mutations in the KRT5 and KRT14 Genes, Phenotype/Genotype Correlations, and Implications for Genetic Counseling and Prenatal Diagnosis. *Journal of Investigative Dermatology*, 125(2), 239–243. <https://doi.org/10.1111/j.0022-202x.2005.23818.x>
- Pfendner, E. G., & Lucky, A. W. 21/08/2006 (actualizado 2018 a). Dystrophic Epidermolysis Bullosa - GeneReviews® (Internet) - NCBI BooSKhelf. (Visto el 17 abril de 2019 a las 18:00 hrs de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/booSK/NBK1304/>)
- Pfendner, E. G., & Lucky, A. W. 22/02/2008 (actualizado 2018 b). Junctional Epidermolysis Bullosa - GeneReviews® (Internet) - NCBI BooSKhelf. (Visto el 17 abril de 2019 a las 15:00 hrs de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/booSK/NBK1125/> )

- Rodríguez-Santiago, B., & Armengol, L. (2012). Tecnologías de secuenciación de nueva generación en diagnóstico genético pre- y postnatal. *Diagnóstico Prenatal*, 23(2), 56–66. <https://doi.org/10.1016/j.diapre.2012.02.001>
- Rouviere, H., & Delmas, A. (2005). *Anatomía Humana: descriptiva, topográfica y funcional. Tomo 1. Cabeza y cuello*. (11ª ed.). Barcelona, España: Masson
- Serrano-Martinez, M., Bagan, J., Silvestre, F., & Viguer, M. (2003). Oral lesions in recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Oral Diseases*, 9(5), 264–268. <https://doi.org/10.1034/j.1601-0825.2003.03971.x>
- Schaffer, J. V. (2012). Molecular diagnostics in genodermatoses. *Semin Cutan Med Surg*, 31(4), 211-220. doi:10.1016/j.sder.2012.08.002
- South, A. P., & O'Toole, E. A. (2010). Understanding the pathogenesis of recessive dystrophic epidermolysis bullosa squamous cell carcinoma. *Dermatol Clin*, 28(1), 171-178. doi:10.1016/j.det.2009.10.023
- Suter, V. G., & Bornstein, M. M. (2009, agosto). Ankyloglossia: facts and myths in diagnosis and treatment. - PubMed - NCBI. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubMed/19656020>
- Takeichi, T., Nanda, A., Liu, L., Salam, A., Campbell, P., Fong, K. y cols (2013). Impact of next generation sequencing on diagnostics in a genetic skin disease clinic. *Experimental Dermatology*, 22(12), 825–831. <https://doi.org/10.1111/exd.12276>
- Uitto, J., Has, C., Vahidnezhad, H., Youssefian, L., & Bruckner-Tuderman, L. (2017). Molecular pathology of the basement membrane zone in heritable blistering diseases: The paradigm of epidermolysis bullosa. *Matrix Biol*, 76-85. doi:10.1016/j.matbio.2016.07.009
- Uitto, J., Vahidnezhad, H., & Youssefian, L. (2016). Genotypic Heterogeneity and the Mode of Inheritance in Epidermolysis Bullosa. *JAMA Dermatol*, 152(5), 517-520. doi:10.1001/jamadermatol.2015.5237

- Varki, R., Sadowski, S., Uitto, J., & Pfenner, E. (2007). Epidermolysis bullosa. II. Type VII collagen mutations and phenotype-genotype correlations in the dystrophic subtypes. *Journal of Medical Genetics*, 44(3), 181–192. <https://doi.org/10.1136/jmg.2006.045302>
- Wright, J., Fine, J., & Johnson, L. (1991). Oral soft tissues in hereditary epidermolysis bullosa. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 71(4), 440–446. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(91\)90426-d](https://doi.org/10.1016/0030-4220(91)90426-d)
- Wright, J. T., Fine, J. D., & Johnson, L. (1994). Dental caries risk in hereditary epidermolysis bullosa. *Pediatric Dentistry*, 16(6), 427–432.
- Wright, J. T. (2010). Oral Manifestations in the Epidermolysis Bullosa Spectrum. *Dermatologic Clinics*, 28(1), 159–164. <https://doi.org/10.1016/j.det.2009.10.022>
- Wright, J. T., Torain, M., Long, K., Seow, K., Crawford, P., Aldred, M. J. y cols (2011). Amelogenesis Imperfecta: Genotype-Phenotype Studies in 71 Families. *Cells Tissues Organs*, 194(2-4), 279–283. <https://doi.org/10.1159/000324339>
- Wolff, K., Allen, R., Saavedra, P. (2014). Fitzpatrick, Atlas de dermatología clínica, 7ª edición, ed. Mc Graw-Hill Interamericana. Pág. 95.
- Wu, Y., Wang, Y., Chang, J. Y., Cheng, S., Chen, H., & Sun, A. (2014). Oral manifestations and blood profile in patients with iron deficiency anemia. *Journal of the Formosan Medical Association*, 113(2), 83–87. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2013.11.010>
- Yenamandra, V., Moss, C., Sreenivas, V., Khan, M., Sivasubbu, S., Sharma, V., & Sethuraman, G. (2017). Development of a clinical diagnostic matrix for characterizing inherited epidermolysis bullosa. *British Journal of Dermatology*, 176(6), 1624–1632. <https://doi.org/10.1111/bjd.15221>
- Zhu, X., Yuan, X., Wang, M., Fang, Y., Liu, Y., Zhang, X., . . . Zhang, Z. (2017). A Wnt/Notch/Pax7 signaling network supports tissue integrity in tongue

development. *Journal of Biological Chemistry*, 292(22), 9409–9419.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.m117.789438>

## X. ANEXOS Y APÉNDICES

### Anexo 1: Consentimiento informado

Versión 5.0

15 de Abril 2015



#### CONSENTIMIENTO INFORMADO PACIENTE

Yo soy la Dra. María Ignacia Fuentes, trabajo en el Centro de Genética Humana de la Facultad de Medicina de la UDD y en conjunto con la Fundación DebRA-Chile y la Facultad de Odontología de la U de Chile estamos realizando un estudio denominado **"Determinando las bases genéticas de los síntomas de Epidermolisis bulosa mediante asociaciones de genotipo-fenotipo usando secuenciación masiva"**. Este estudio tiene como objetivo principal determinar el efecto o síntomas provocados por las alteraciones (mutaciones) en el ADN de personas con Epidermolisis Bulosa.

Para desarrollar esta investigación necesitamos su valiosa colaboración, que consistirá en que usted permita que se le tome una muestra de 3 mililitros de sangre venosa (equivale a un tubo pequeño o una cucharadita de té) en el box de atención de DEBRA del Hospital Padre Hurtado. La obtención de esta muestra no implica riesgos, ni molestias adicionales a las que Ud. ha experimentado cuando se le toma una muestra de sangre para realizarle exámenes de laboratorio clínico. A partir de su muestra de sangre, obtendremos el ADN. En éste se analizará la presencia de mutaciones en todos los genes descritos a la fecha que tengan relación con enfermedades a la piel.

Además de la muestra de sangre, requerimos su participación en la evaluación de las manifestaciones clínicas de su condición en cada clínica de especialidades. El objetivo de estas evaluaciones es entender por qué los pacientes con EB desarrollan síntomas tan variados. El equipo médico de DebRA-Chile compuesto por cinco profesionales de la salud altamente especializados en EB (dermatólogo, pediatra, oftalmólogo, otorrinolaringólogo y dentista) procederán a examinarlo detalladamente acorde a su especialidad. Luego de la examinación y apoyados por los datos registrados en su ficha clínica, cada especialista completará un formulario por paciente.

Con los datos obtenidos del ADN de pacientes con EB, de sus familiares y de sujetos sanos en nuestra población podremos determinar si las mutaciones encontradas en los pacientes con EB son causantes o no de su enfermedad. Finalmente, con la información que recolectemos del proyecto, tanto de mutaciones como de manifestaciones clínicas, ayudaremos al médico a: (1) diagnosticar acertadamente la enfermedad, (2) planear un tratamiento que sea efectivo para el paciente y (3) darle consejería genética a pacientes y a sus familiares. Todo lo anterior es fundamental para que en un futuro los pacientes con EB puedan optar a un tratamiento íntegro y personalizado de su enfermedad.

Para garantizar su confidencialidad, todos los datos obtenidos de este estudio serán identificados con un código numérico y nunca usaremos su nombre en los

Iniciales familiar:.....

Iniciales Investigador: ...



1

reportes generados con los datos obtenidos a partir de sus muestras y/o evaluaciones clínicas.

Ante su solicitud y cuando el grupo de profesionales de la Fundación DebRA-Chile lo crea necesario y conveniente, los datos generados en este proyecto serán suministrados a Ud. a través de una Consejería Genética ofrecida por la Fundación DebRA-Chile, quien lo asistirá para una adecuada comprensión de la información.

Si al finalizar el proyecto existiese muestra sobrante, sangre y/o ADN, esta será almacenada en las mismas condiciones de confidencialidad antes mencionadas y bajo la custodia de la Fundación DebRA-Chile. El empleo de dicha muestra remanente en futuros estudios quedará sujeto a su autorización. Por favor marque con un círculo si consiente o no a utilizar su muestra anónima en futuros estudios genéticos relacionados con EB:

SI NO

Su colaboración en este estudio es voluntaria y altruista, ya que no recibirá ningún beneficio económico, ni terapéutico por ello. Si bien es cierto que su participación es fundamental para que realicemos nuestra investigación, comprendemos si Ud. escoge no participar en esta oportunidad. Esta última decisión, no afectará en ninguna forma la atención profesional que Ud. recibe y recibirá.

Si tiene alguna pregunta sobre el estudio o desea hablar de este, por favor contáctese con la Investigadora responsable, la Dra. María Ignacia Fuentes quien estará ubicable de lunes a viernes entre 9:00-18:00 en el teléfono 02-23279931

Este estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética de la investigación Universidad del Desarrollo-Clinica Alemana y por el comité de ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile

Cualquier persona con alguna preocupación sobre el estudio podrá también contactar a:

**Comité de Ética de la Investigación Universidad del Desarrollo-Clinica Alemana**, Presidente: Dr. Marcial Osorio. Universidad del Desarrollo. Teléfono 02-23279157, horario 9:00hrs a 15:00. **Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile**, Presidente: Dra. María Angélica Torres. Teléfono 02-29781703, horario: 9:00 a 17:00.

Muchas gracias por aceptar ser parte de nuestro equipo.

Atentamente,

María Ignacia Fuentes, Ph.D.  
Investigadora responsable

En conjunto con Dr. Francis Palisson, Dra. Gabriela Repetto, Dra. Constanza Fuentes, Dra, María Elena Mc Nab, Dr. Arturo Kantor, Dr. Mario Zanolli, Dr. Felipe Mellado, Dra. Joao Yubero, Dr. José Miguel Contreras y Dra. Susanne Krämer.

Iniciales familiar:.....

Iniciales Investigador: .....



**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: “Determinando las bases genéticas de los síntomas de Epidermolisis bulosa mediante asociaciones de genotipo-fenotipo usando secuenciación masiva”**

**Declaración del paciente o tutor legal a participar en el estudio:**

He sido informado(a) por un profesional de las características e implicancias del procedimiento al cual me someteré. Comprendo la información recibida y he formulado todas las preguntas que he creído oportunas. Tengo conciencia que mi participación es de carácter absolutamente voluntario. Al firmar este consentimiento, acepto participar en este estudio o autorizo a mi familiar.

Nombre del familiar o sujeto sano.....

En la situación que aplique: Nombre de quien aprueba (tutor legal) la participación del familiar en el estudio.....

Relación con el familiar.....

Firma.....

**Declaración del profesional que solicita el consentimiento a participar en el estudio:**

He informado de las características del estudio, las implicancias de su participación en éste y las condiciones.

Nombre del Investigador que toma el CI .....

Firma.....

Nombre del testigo.....

Firma.....

Nombre del representante del centro hospitalario.....

Firma.....

Fecha firma consentimiento

Iniciales familiar:.....

Iniciales Investigador: .



## Anexo 2: Asentimiento informado

Versión 4.0

02 de Abril 2015



### ASENTIMIENTO INFORMADO PACIENTE (participantes entre 12 y 18 años)

Hola, te estamos invitando a participar en un estudio llamado **"Determinando las bases genéticas de los síntomas de Epidermolisis bulosa mediante asociaciones de genotipo-fenotipo usando secuenciación masiva"**. Mi nombre es María Ignacia Fuentes y soy la investigadora responsable de esta investigación. Este trabajo se realizará entre el Centro de Genética Humana de la Facultad de Medicina de la UDD, la Fundación DebRA-Chile y la Facultad de Odontología de la U de Chile.

Ya hemos conversado con tu papá/mamá y él/ella está de acuerdo en que participes en este estudio. Sin embargo, tu también debes estar de acuerdo. Puedes conversarlo con tus padres primero y luego decidir libremente si participar o no. Si durante la conversación o lectura de este asentimiento hay alguna palabra que no entiendas, házmelo saber para explicártelo cuantas veces sea necesario.

Este estudio se está haciendo porque queremos encontrar las alteraciones causantes de los síntomas que tienen los pacientes con EB. Y así en el futuro, el doctor podrá usar los datos de esta investigación para decidir como tratar mejor a un paciente con EB.

Por eso te estamos pidiendo a ti una muestra de sangre. Aunque la toma de la muestra no tiene ningún riesgo para ti, podría producirte un poco de dolor y, a veces, puede dejarte un pequeño moretón. Además de la muestra de sangre, cinco doctores de la Fundación DEBRA te examinarán detalladamente y luego llenaran un cuestionario escrito con los síntomas de tu enfermedad. El objetivo final de estos exámenes es entender porque los pacientes con EB desarrollan síntomas tan variados.

Iniciales familiar:.....

Iniciales Investigador: .....



Versión 4.0

02 de Abril 2015

Quiero explicarte que toda la información que entregues para este estudio es confidencial, es decir, nadie sabrá que estás participando en él. Y además, tu participación es completamente voluntaria, puedes rechazarla o retirarte en cualquier momento sin ningún problema.

Si en el futuro tienes alguna pregunta sobre este estudio, por favor siéntete libre de contactar a la Dra. María Ignacia Fuentes quien estará feliz de responder a tus preguntas. Puedes ubicarla de lunes a viernes entre 9:00-18:00 en el teléfono 02-23279931.

Muchas gracias por aceptar ser parte de este estudio.

Atentamente,

María Ignacia Fuentes, Ph.D.  
Investigadora responsable

En conjunto con Dr. Francis Palisson, Dra. Gabriela Repetto, Dra. Constanza Fuentes, Dra, María Elena Mc Nab, Dr. Arturo Kantor, Dr. Mario Zanolli, Dr. Felipe Mellado, Dra. Joao Yubero, Dr. José Miguel Contreras y dra. Susanne Krämer.

Este estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética de la investigación Universidad del Desarrollo-Clinica Alemana y por el comité de ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile

Cualquier persona con alguna preocupación sobre el estudio podrá también contactar a:

**Comité de Ética de la Investigación Universidad del Desarrollo-Clinica Alemana**, Presidente: Dr. Marcial Osorio. Universidad del Desarrollo. Teléfono 02-23279157, horario 9:00hrs a 15:00. **Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile**, Presidente: Dra. María Angélica Torres. Teléfono 02-29781703, horario: 9:00 a 17:00.

Iniciales familiar:.....

Iniciales Investigador: .....



**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: “Determinando las bases genéticas de los síntomas de Epidemiorlisis bulosa mediante asociaciones de genotipo-fenotipo usando secuenciación masiva”**

**Declaración del paciente que dona la muestra de sangre:**

Yo.....tengo.....años y doy mi autorización para participar en este estudio. Declaro que he leído todas las páginas de este documento y que he sido informado(a) por un médico/enfermera de las características e implicancias de esta investigación. Comprendo la información recibida y sé que mi participación es voluntaria, que nadie me obliga y que puedo salir del estudio cuando quiera.

Firma.....

**Declaración del profesional que solicita el consentimiento para la toma de muestra de sangre:**

He informado al donante las características del estudio, las implicancias de su participación en éste y las condiciones de la toma de muestra.

Nombre del Investigador.....

Firma.....

Nombre del representante del centro hospitalario.....

Firma.....

Fecha firma asentimiento:...../...../.....



Iniciales familiar:.....

Iniciales Investigador: .....

### Anexo 3: Asentimiento informado familiares

Versión 4.0

02 de Abril 2015



#### ASENTIMIENTO INFORMADO FAMILIARES (participantes entre 12 y 18 años)

Hola, te estamos invitando a participar en un estudio llamado **"Determinando las bases genéticas de los síntomas de Epidermolisis bulosa mediante asociaciones de genotipo-fenotipo usando secuenciación masiva"**. Mi nombre es María Ignacia Fuentes y soy la investigadora responsable de esta investigación. Este trabajo se realizará entre el Centro de Genética Humana de la Facultad de Medicina de la UDD, la Fundación DebRA-Chile y la Facultad de Odontología de la U de Chile.

Ya hemos conversado con tu papá/mamá y él/ella está de acuerdo en que participes en este estudio. Sin embargo, tu también debes estar de acuerdo. Puedes conversarlo con tus padres primero y luego decidir libremente si participar o no. Si durante la conversación o lectura de este asentimiento hay alguna palabra que no entiendas, házmelo saber para explicártelo cuantas veces sea necesario.

Este estudio se está haciendo porque queremos encontrar las alteraciones causantes de los síntomas que tienen los pacientes con EB (por ejemplo, tu hermanito/a). Y así en el futuro, el doctor podrá usar los datos de esta investigación para decidir como tratar mejor a un paciente con EB.

Por eso te estamos pidiendo a ti una muestra de sangre. Aunque la toma de la muestra no tiene ningún riesgo para ti, podría producirte un poco de dolor y, a veces, puede dejarte un pequeño moretón.

Quiero explicarte que toda la información que entregues para este estudio es confidencial, es decir, nadie sabrá que estás participando en él. Y además, tu participación es completamente voluntaria, puedes rechazarla o retirarte en cualquier momento sin ningún problema.

Iniciales familiar:.....

Iniciales Investigador: .....



Si en el futuro tienes alguna pregunta sobre este estudio, por favor siéntete libre de contactar a la Dra. María Ignacia Fuentes quien estará feliz de responder a tus preguntas. Puedes ubicarla de lunes a viernes entre 9:00-18:00 en el teléfono 02-23279931.

Muchas gracias por aceptar ser parte de este estudio.

Atentamente,

María Ignacia Fuentes, Ph.D.  
Investigadora responsable

En conjunto con Dr. Francis Palisson, Dra. Gabriela Repetto, Dra. Constanza Fuentes, Dra. María Elena Mc Nab, Dr. Arturo Kantor, Dr. Mario Zanolli, Dr. Felipe Mellado, Dra. Joao Yubero, Dr. José Miguel Contreras y Dra. Susanne Krämer.

Este estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética de la investigación Universidad del Desarrollo-Clinica Alemana y por el comité de ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile

Cualquier persona con alguna preocupación sobre el estudio podrá también contactar a:

**Comité de Ética de la Investigación Universidad del Desarrollo-Clinica Alemana**, Presidente: Dr. Marcial Osorio. Universidad del Desarrollo. Teléfono 02-23279157, horario 9:00hrs a 15:00. **Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile**, Presidente: Dra. María Angélica Torres. Teléfono 02-29781703, horario: 9:00 a 17:00.

Iniciales familiar:.....

Iniciales Investigador: .....



**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: “Determinando las bases genéticas de los síntomas de Epidemiorlisis bulosa mediante asociaciones de genotipo-fenotipo usando secuenciación masiva”**

**Declaración del familiar que dona la muestra de sangre:**

Yo.....tengo.....años y doy mi autorización para participar en este estudio. Declaro que he leído todas las páginas de este documento y que he sido informado(a) por un médico/enfermera de las características e implicancias de esta investigación. Comprendo la información recibida y sé que mi participación es voluntaria, que nadie me obliga y que puedo salir del estudio cuando quiera.

Firma.....

**Declaración del profesional que solicita el consentimiento para la toma de muestra de sangre:**

He informado al donante las características del estudio, las implicancias de su participación en éste y las condiciones de la toma de muestra.

Nombre del Investigador.....

Firma.....

Nombre del representante del centro hospitalario.....

Firma.....

Fecha firma asentimiento:...../...../.....

Iniciales familiar:.....

Iniciales Investigador: ....



**Anexo 4: Acta de aprobación de protocolo de investigación.**



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**  
UNIVERSIDAD DE CHILE

**COMITÉ ÉTICO CIENTÍFICO**

Ed 15/04/2014

**ACTA DE APROBACION DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN**

---

Dra. MA.TorresPote./Dr. E.Rodríguez/Srta. A.Herrera/Dra. B. Urzúa O./Dra. X. Lee M./Srta. K. Lagos B./Sra. I.Cornejo P./Sra. V. Rodríguez D./

ACTA N°: 01

1. **Acta De Aprobación De Protocolo De Estudio N° 2015/02**
2. **Miembros del Comité Ético-Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile participantes en la aprobación del Proyecto:**

**Dra. Mª Angélica Torres V**  
Presidenta CEC

**Srta. Karín Lagos**  
Secretaria CEC

**Dr. Eduardo Rodríguez Y.**  
Miembro permanente del CEC

**Dra. Ximena Lee .**  
Miembro permanente del CEC

**Dra. Blanca Urzúa**  
Miembro permanente del CEC

**Sra. Viviana Rodríguez**  
Miembro permanente del CEC

**Srta. Ma. Isabel Cornejo**  
Miembro permanente del CEC

3. **Fecha d Aprobación:** 15/04/2015
4. **Título completo del proyecto:** FONDECYT Iniciación, titulado "Determining the genetic basis of Epidermolysis bullosa symptoms through Genotype-Phenotype associations using Next Generation Sequencing" Versión 29 Mayo 2014.
5. **Investigador responsable:** Dra. María Ignacia Fuentes Bustos, Bioquímico, PhD genética, del Programa De Genética Humana, Facultad de Medicina Universidad del Desarrollo (Clínica Alemana)
6. **Institución Patrocinante:** Universidad Del Desarrollo / Facultad De Medicina Clínica Alemana Y Programa De Genética Humana. Auspiciado por FONDECYT Iniciación
7. **Documentación Revisada:**
  - Formulario de Protocolo Pre-aprobado Completo de Concurso FONDECYT Iniciación, titulado "Determining the genetic basis of Epidermolysis bullosa symptoms through Genotype-Phenotype associations using Next Generation Sequencing" Versión 29 Mayo 2014.
  - Formulario de Asentimiento informado familiares (participantes entre 12 y 18 años), versión 4.0 del 2de Abril del 2015, del Protocolo "Determining the genetic basis of Epidermolysis bullosa symptoms through Genotype-Phenotype associations using Next Generation Sequencing" Versión 29 Mayo 2014.
  - Asentimiento informado pacientes (participantes entre 12 y 18 años), versión 4.0 del 2de Abril del 2015, del Protocolo "Determining the genetic basis of Epidermolysis bullosa symptoms through Genotype-Phenotype associations using Next Generation Sequencing" Versión 29 Mayo 2014.

Ed 15/04/2014

- Consentimiento informado familiares y sujetos sanos, versión 4.0 del 15 de Abril del 2015, del Protocolo "Determining the genetic basis of Epidermolysis bullosa symptoms through Genotype-Phenotype associations using Next Generation Sequencing" Versión 29 Mayo 2014.
- Consentimiento informado pacientes, versión versión 4.0 del 15 de Abril del 2015, del Protocolo "Determining the genetic basis of Epidermolysis bullosa symptoms through Genotype-Phenotype associations using Next Generation Sequencing" Versión 29 Mayo 2014.
- El currículo Vitae del IP Dra. María Ignacia Fuentes Bustos versión del 22 de Marzo 2015
- El currículo Vitae S. Kramer, co-investigador, versión del 22 de Marzo 2015.
- Nómina de los coinvestigadores y colaboradores directos de la investigación:
  - Dr. Francis Palisson: Dermatólogo, Hospital Padre Hurtado
  - Dra. Gabriela Repetto: Genetista, Centro de Genética y Genómica, Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo
  - Dra. Constanza Fuentes: Pediatra, Hospital Padre Hurtado
  - Dra. María Elena Mc Nab: Médico Cirujano, Hospital Padre Hurtado
  - Dr. Arturo Kantor: Oftalmólogo, Fundación Oftalmológica Los Andes
  - Dr. Mario Zanolli: Oftalmólogo, Hospital Padre Hurtado
  - Dr. Felipe Mellado: Médico Cirujano, Fundación Oftalmológica Los Andes
  - Dra. Joao Yubero: Pediatra, Hospital Padre Hurtado
  - Dr. José Miguel Contreras: Otorrinolaringólogo, Clínica Alemana de Santiago
  - Dra. Susanne Krämer Cirujano Dentista, Clínica Odontológica, Facultad de Odontología U. de Chile.
- Carta de adjudicación del Fondecyt del 29/Nov/2014.
- Carta de aceptación de la Directora de la Clínica Odontológica de las Facultad de Odontología de la U de Chile del 30/03/2015
- Aprobación del CEC-Facultad de Medicina, U. del Desarrollo del 1/09/2014
- Certificado de Bioseguridad de Facultad de Medicina, U. del Desarrollo del 3/10/2014
- Ficha OMS adaptada para EB

**7.- Carácter de la población:** En esta investigación descriptiva analítica, se reclutará un mínimo de 100 participantes y se estima un máximo de 450, esto es pacientes con Epidermolisis Bullosa (EB) de 4 a 77 años, familiares y sujetos sanos. Se espera enrolar a todos los pacientes con EB, que se atienden en la fundación DEBRA-Chile n=200 según epidemiología efectuada por DEBRA Chile en Marzo 2015, sus padres (2x200) y 50 sujetos sanos.

#### **8.- Fundamentación de la aprobación**

La Epidermolisis Bullosa (EB), es un grupo de enfermedades genéticas hereditarias, caracterizadas por la excesiva fragilidad de la piel con formación de ampollas con un mínimo trauma; es la enfermedad más dolorosa en los niños y sus diferentes formas hacen que sea difícil de diagnosticar, sobre todo en recién nacidos donde todos se ven muy similares. Además del gran número de genes implicados, hay miles de diferentes mutaciones y es muy difícil predecir los síntomas que tendrá un paciente EB. Un diagnóstico correcto puede prevenir las complicaciones graves y mejorar su tasa de supervivencia, así la obtención del diagnóstico genético resulta crucial para clasificar la enfermedad y decidir cómo tratar y aconsejar a los pacientes. Este proyecto pretende aportar a la comprensión de cómo el genotipo influye en el fenotipo en EB mediante la secuenciación de todos los genes relacionados con la enfermedad EB descritos hasta la fecha en

Ed 15/04/2014

pacientes seguidos por la Fundación DEBRA en Chile y relacionarlas con las características clínicas detalladas con la ayuda de herramientas estadísticas y de bioinformática.

Este comité ha considerado que esta investigación cumple con los estándares éticos, la actividad científica propuesta se enmarca en los principios de respeto a los derechos humanos, garantizándolos en todos los procedimientos, metodologías y procesos de investigación, así como en el manejo, divulgación y archivo de los datos obtenidos garantizando el derecho a la privacidad y al anonimato de los sujetos de investigación.

La investigación no vulnera la dignidad de los sujetos y se ha tomado en cuenta la autonomía de los participantes mediante la toma de consentimiento informado y asentimientos.

En virtud de las consideraciones anteriores, el Comité Ético Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, otorga la aprobación ética para la realización del Estudio Titulado "Determining the genetic basis of Epidermolysis bullosa symptoms through Genotype-Phenotype associations using Next Generation Sequencing" Versión 29 Mayo 2014, dirigido por la Dra. María Ignacia Fuentes Bustos, en sesión del día 15 de abril del año 2015.

Esta aprobación se extiende por un plazo de 36 meses, a contar de esta fecha.

Se recomienda al investigador responsable conservar los Documentos de CI firmados por los pacientes y verificados con su firma, deberá además tener presente que se debe:

- Enviar para aprobación o toma de conocimiento de nueva documentación relacionada al estudio.
- Informar cambio en los delegados del Director de la Institución o de cualquier enmienda al protocolo.
- Enviar anualmente avances del Proyecto.
- Solicitud de extensión de plazo de aprobación.
- Enviar informe final del Proyecto.

Los ítems mínimos que deben contener los informes anuales y el informe final, son los siguientes:

1. Cumplimiento de los objetivos.
2. Número de Sujetos enrolados.
3. Número y motivo de los sujetos que abandonan o se retiran de la investigación
4. Resumen de eventos adversos serios ya reportados al Comité.
5. Listado de desviaciones al Proyecto.

Este Comité se reserva el derecho de monitorear este proyecto si lo considera necesario y el investigador deberá, bajo mutuo acuerdo, presentar los antecedentes solicitados.

Saluda atentamente a Ud.

  
**Dra. María Angélica Torres V.**  
 PRESIDENTE (A)  
 COMITÉ ETICO CIENTÍFICO  
 FACULTAD DE ODONTOLOGÍA U. DE CHILE



c/c.: Investigador Principal y Secretaría C.E.C.

## Anexo 5: Formulario de evaluación de la salud bucodental adaptado para pacientes con EB.

FORMULARIO OMS DE EVALUACIÓN DE LA SALUD BUCODENTAL										Adaptado para EB	
PAIS											
Dejese en blanco (1)		Año (4)		Mes (5)		Día (8)		Núm de identificación (10)		Examinador (14)	Copia/Original (15)
INFORMACIÓN GENERAL											
Nombre:										Dg EB (29)	Subtipo (30)
Fecha Nacimiento (17)		Año (21)		Mes (22)		Profesión (25)		Emplazamiento geográfico (26)		Contraindicación para el examen. (31)	Motivo: (31)
Edad en Años (21)		Sexo M=1, F=2 (23)		Tipo de emplazamiento (28)		1=urbano, 2=periurb., 3=rural		0: No	1: Si		
EVALUACIÓN CLÍNICA											
EVALUACIÓN EXTRAORAL											
0= Aspecto Extraoral Normal											
1= Úlceras, inflamaciones, erosiones, fisuras (cabeza, cuello, extremidades)											
2= Úlceras, inflamaciones, erosiones, fisuras (nariz, mejilla, barbilla)											
3= Úlceras, inflamaciones, erosiones, fisuras (comisuras)											
4= Úlceras, llagas, inflamaciones, erosiones, fisuras (borde bermellón)											
5= Cáncer Oral											
6= Anomalías de los labios superior e inferior											
7= Ganglios linfáticos abultados (cabeza, cuello)											
8= Otras hinchazones de la cara y mandíbula											
9= No registrado											
EVALUACIÓN DE LA ARTICULACIÓN TEMPOROMANDIBULAR											
SINTOMAS (33)											
0= No											
1= Si											
9= No Registrado											
SIGNOS (34)											
0= No											
1= Si											
9= No Registrado											
Chasquido (34)											
Dolor por Palpación (35)											
Movilidad reducida de la mandíbula (<30mm) (36)											
APERTURA BUCAL (microstomia)											
0= Normal (50-60mm)											
1= Microstomia leve (41-50mm)											
2= Microstomia moderada (31-40mm)											
3= Microstomia severa (menor 30 mm)											
4= mayor a 61mm											
9= No registrado											
MUCOSA ORAL											
0= Ningún estado anormal (37)											
1= Tumor Maligno (cáncer oral) (38)											
2= Leucoplasia (39)											
3= Líquen Plano											
4= Úlcera (aftosa, herpética, traumática)											
5= Gingivitis necrotizante aguda											
6= Candidiasis											
7= Absceso											
8= Otro trastorno (especificarse si es posible)											
9= No registrado											
LOCALIZACIÓN											
0= Borde bermellón											
1= Comisuras											
2= Labios											
3= Surcos											
4= Mucosa bucal											
5= Piso de la boca											
6= Lengua											
7= Paladar duro y/o blando											
8= Bordes alveolares/encías											
9= No registrado											
BULLAS											
0= No presenta											
1= Hemorrágicas											
2= No Hemorrágicas											
Entema Gingival, Bullas											
PROFUNDIDAD DE VESTÍBULO											
Medido en mm con sonda periodontal desde fondo de vestibulo al límite Amelo-cementario o límite superior reborde alveolar											
16/55 13/53 11/51 23/63 26/65											
46/85 43/83 31/71 33/73 36/75											
ANQUILOGLOSIA											
0= Sobrepasa el borde incisal en ..mm											
1= A nivel del borde incisal											
2= No llega al borde incisal											

<p><b>OPACIDADES/HIPOPLASIAS DEL ESMALTE</b></p> <p>0= Normal          1= Opacidad delimitada          2= Opacidad difusa          3= Hipoplasia          4= Otros defectos          5= Opacidad delimitada y difusa          6= Opacidad delimitada e hipoplasia          7= Opacidad difusa e hipoplasia          8= Las tres alteraciones          9= No registrado</p> <p>14 13 12 11 21 22 23 24          (43) [ ] [ ] [ ] [ ] [ ] [ ] [ ] [ ] (50)          (51) [ ] [ ] [ ] [ ] [ ] [ ] [ ] [ ] (52)          46 36</p>	<p><b>FLUOROSIS DENTAL</b></p> <p>0= Normal          1= Discutible          2= Muy ligera          3= Ligera          4= Moderada          5= Intensa          8= Excluida          9= No registrada</p> <p>[ ] (53)</p>	<p><b>FLUJO SALIVAL</b></p> <p>.....mm</p> <hr/> <p><b>CEC (DG con biopsia)</b></p> <p>0= No presente          1= Presente [ ]</p>																																																																																																																																													
<p><b>ESTADO DE LA DENTICIÓN Y NECESIDAD DE TRATAMIENTO</b></p> <table border="0"> <tr> <td>Corona</td> <td>(66)</td> <td>18</td><td>17</td><td>16</td><td>15</td><td>14</td><td>13</td><td>12</td><td>11</td><td>21</td><td>22</td><td>23</td><td>24</td><td>25</td><td>26</td><td>27</td><td>28</td> <td>(81)</td> </tr> <tr> <td>Tratamiento</td> <td>(98)</td> <td>[ ]</td><td>[ ]</td> <td>(113)</td> </tr> </table> <table border="0"> <tr> <td>Corona</td> <td>(114)</td> <td>48</td><td>47</td><td>46</td><td>45</td><td>44</td><td>43</td><td>42</td><td>41</td><td>31</td><td>32</td><td>33</td><td>34</td><td>35</td><td>36</td><td>37</td><td>38</td> <td>(129)</td> </tr> <tr> <td>Tratamiento</td> <td>(146)</td> <td>[ ]</td><td>[ ]</td> <td>(161)</td> </tr> </table> <table border="0"> <tr> <td>pzs.</td> <td>tem</td> <td>per</td> <td>SITUACIÓN</td> <td>TRATAMIENTO</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>0</td> <td></td> <td>Satisfactoria</td> <td>0 Ninguno</td> </tr> <tr> <td>B</td> <td>1</td> <td></td> <td>Cariado</td> <td>P Preventivo</td> </tr> <tr> <td>C</td> <td>2</td> <td></td> <td>Obturado, con caries</td> <td>F Obt. Fisura</td> </tr> <tr> <td>D</td> <td>3</td> <td></td> <td>Obturado, sin caries</td> <td>1 1 obt superf</td> </tr> <tr> <td>E</td> <td>4</td> <td></td> <td>Perd. x caries</td> <td>2 2 o + obt superf</td> </tr> <tr> <td></td> <td>5</td> <td></td> <td>Perd. x otro motivo</td> <td>3 Corona</td> </tr> <tr> <td>F</td> <td>6</td> <td></td> <td>Fisura Obturada</td> <td>4 Revesti% o lámina</td> </tr> <tr> <td>G</td> <td>7</td> <td></td> <td>Soporte puente</td> <td>5 Cuidado pulpa + rest</td> </tr> <tr> <td></td> <td>8</td> <td></td> <td>Diente sin brotar</td> <td>6 Extracción</td> </tr> <tr> <td>T</td> <td>T</td> <td></td> <td>Traumatismo (fractura)</td> <td>7 Otra: .</td> </tr> <tr> <td></td> <td>9</td> <td></td> <td>No registrado</td> <td>8 Otra: .</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>9 No registrado</td> </tr> </table>			Corona	(66)	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28	(81)	Tratamiento	(98)	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	(113)	Corona	(114)	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38	(129)	Tratamiento	(146)	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	(161)	pzs.	tem	per	SITUACIÓN	TRATAMIENTO	A	0		Satisfactoria	0 Ninguno	B	1		Cariado	P Preventivo	C	2		Obturado, con caries	F Obt. Fisura	D	3		Obturado, sin caries	1 1 obt superf	E	4		Perd. x caries	2 2 o + obt superf		5		Perd. x otro motivo	3 Corona	F	6		Fisura Obturada	4 Revesti% o lámina	G	7		Soporte puente	5 Cuidado pulpa + rest		8		Diente sin brotar	6 Extracción	T	T		Traumatismo (fractura)	7 Otra: .		9		No registrado	8 Otra: .					9 No registrado
Corona	(66)	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28	(81)																																																																																																																													
Tratamiento	(98)	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	(113)																																																																																																																													
Corona	(114)	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38	(129)																																																																																																																													
Tratamiento	(146)	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	(161)																																																																																																																													
pzs.	tem	per	SITUACIÓN	TRATAMIENTO																																																																																																																																											
A	0		Satisfactoria	0 Ninguno																																																																																																																																											
B	1		Cariado	P Preventivo																																																																																																																																											
C	2		Obturado, con caries	F Obt. Fisura																																																																																																																																											
D	3		Obturado, sin caries	1 1 obt superf																																																																																																																																											
E	4		Perd. x caries	2 2 o + obt superf																																																																																																																																											
	5		Perd. x otro motivo	3 Corona																																																																																																																																											
F	6		Fisura Obturada	4 Revesti% o lámina																																																																																																																																											
G	7		Soporte puente	5 Cuidado pulpa + rest																																																																																																																																											
	8		Diente sin brotar	6 Extracción																																																																																																																																											
T	T		Traumatismo (fractura)	7 Otra: .																																																																																																																																											
	9		No registrado	8 Otra: .																																																																																																																																											
				9 No registrado																																																																																																																																											
<p><b>INDICE DE HIGIENE ORAL</b></p> <p>0= [ ]          1= [ ]          2= [ ]          3= [ ]</p> <p>16/55 11 26/65          46/85 31 36/75</p>	<p><b>FUNCIÓN LINGUAL</b></p> <p>0= Normal          1= Alterada</p> <p>En reposo [ ]          En deglución [ ]          En fonarticulación [ ]</p>	<p><b>RESPIRACIÓN</b></p> <p>0= Nasal          1= Mixta          2= Bucal</p> <p>[ ]</p>																																																																																																																																													
<p><b>SITUACIÓN DE PRÓTESIS</b></p> <p>0= Ninguna Prótesis          1= Puente          2= Mas de un puente          3= Dentadura postiza parcial          4= Dos puentes y detadura postiza parcial          5= Dentadura completa removible          9= No registrado</p> <p>Superior Inferior          (162) [ ] [ ] (163)</p>	<p><b>NECESIDAD DE PRÓTESIS</b></p> <p>0= Ninguna Prótesis necesaria          1= Necesidad de prótesis unitaria          2= Necesidad de prótesis multiunitaria          3= Necesidad de una combinación de prótesis unitaria y multiunitaria          4= Necesidad de prótesis completa          9= No registrado</p> <p>Superior Inferior          (162) [ ] [ ] (163)</p>																																																																																																																																														
<p><b>NECESIDAD INMEDIATA DE ASISTENCIA Y CONSULTA</b></p> <p>Trastorno que amenaza la vida [ ] (177) 0 = Ausente          Dolor o infección [ ] (178) 1 = Presente          Otro trastorno (especifique) [ ] (179) 9 = No registrado</p>		<p><b>CONSULTA</b></p> <p>0 = Consulta [ ] (180)          1 = Pabellón          9 = No Registrado</p>																																																																																																																																													

**Anexo 6:** Descripción de mutaciones y la proporción de la característica grado de depapilación lingual.

ID Mut.	Mutación	Gen	Tipo-Subtipo DE EB	N pacientes	N total Alelos	N alelos de pacientes con Lengua Completamente Depapilada (%)	N alelos de pacientes con lengua Parcialmente Depapilada (%)	N alelos de pacientes con lengua papilada (%)
1	c.2005C>T (heterocigoto C.)	COL7A1	EBDR gen sev/EBDR gen intermed	2*	2	1 (50%)	1 (50%)	0%
2	c.3970delC (heterocigoto C.)	COL7A1	EBDR gen sev	1*	1	1 (100%)	0%	0%
3	c.4342-2A>G (heterocigoto C.)	COL7A1	EBDR gen intermed	2*	2	0%	2 (100%)	0%
4	c.4775G>A (heterocigoto S.)	COL7A1	EBDD gen	2	2	0%	0%	2 (100%)
5	c.5318G>T (heterocigoto S.)	COL7A1	EBDD acral	2	2	0%	0%	2 (100%)
6	c.5532+1G>T (heterocigoto C.)	COL7A1	EBDR gen intermed	4*	4	1 (25%)	2 (50%)	1 (25%)
7	c.5932C>T (homocigoto )	COL7A1	EBDR gen sev	1	2	2 (100%)	0%	0%
8	c.6026G>A (heterocigoto S.)	COL7A1	EBDD gen	1	1	0%	0%	1 (100%)
9	c.6100G>A (heterocigoto S.)	COL7A1	EBDD acral/EBDD gen	5	5	0%	0%	5 (100%)
10	c.6127G>A (heterocigoto S.)	COL7A1	EBDD gen	3	3	0%	0%	3 (100%)
11	c.6527_6528ins C							
	Homocigoto	COL7A1	EBDR gen sev/EBDR gen intermed	8	16	16 (100%)	0%	0%
	Heterocigoto C.	COL7A1	EBDR gen sev/EBDR gen intermed/EBDR pretibial	12*	12	7 (58,3%)	1(8,3%)	4 (33,3%)
12	c.7708delG							
	Homocigoto	COL7A1	EBDR gen sev	8	16	16 (100%)	0%	0%
	Heterocigoto C.	COL7A1	EBDR gen sev/EBDR gen intermed	8*	8	6 (75%)	1(12,5%)	1 (12,5%)
13	c.7876-1G>A (heterocigoto C.)	COL7A1	EBDR gen sev	1*	1	1(100%)	0%	0%
14	c.8245G>A (heterocigoto C.)	COL7A1	EBDR gen intermed	1*	1	1 (100%)	0%	0%
15	c.8329C>T (heterocigoto C.)	COL7A1	EBDR gen intermed	1*	1	1 (100%)	0%	0%
16	c.8393T>G (heterocigoto C.)	COL7A1	EBDR gen intermed	1*	1	0%	0%	1 (100%)
17	c.185C>T (heterocigoto C.)	COL7A1	EBDR gen intermed/EBDR pretibial	3*	3	0%	0%	3 (100%)
18	c.5565_5568+8delGAAAGGTAAGTCinsA (heterocigoto C.)	COL7A1	EBDR gen intermed	1*	1	1 (100%)	0%	0%
19	c.3264_5293 (heterocigoto C.)	COL7A1	EBDR gen intermed	1*	1	0%	1(100%)	0%

20	c.6082G>A (heterocigoto S.)	COL7A1	EBDD acral	1	1	0%	0%	1 (100%)	
21	c.3228+1G>A	LAMB3	EJB gen intermed	2	4	0%	0%	4 (100%)	
	Homocigoto								
	Heterocigoto C.								
22	c.823-1G>A (heterocigoto C.)	LAMB3	EJB gen sev	1*	1	0%	0%	1 (100%)	
		LAMB3	EJB gen sev	1*	1	0%	0%	1 (100%)	
23	c.467A>G (homocigoto)	FERMT1	SK	1	2	0%	0%	2 (100%)	
24	c.5539C>T (homocigoto)	EXPH5	EBS autosomal recessive EXPH5	1	2	0%	0%	2 (100%)	
25	c.442C>T (homocigoto)	KRT14	EBS autosomal recessive K14	2	4	0%	0%	4 (100%)	
26	c.346A>G (heterocigoto S.)	KRT14	EBS loc	1	1	0%	0%	1 (100%)	
27	c.1429G>A (heterocigoto S.)	KRT5	EBS gen intermed	1	1	0%	0%	1 (100%)	
28	c.1437C>A (heterocigoto S.)	KRT5	EBS gen intermed	2	2	0%	0%	2 (100%)	
29	c.519G>T (heterocigoto S.)	KRT5	EBS gen intermed	1	1	0%	0%	1 (100%)	
30	c.968T>A (heterocigoto S.)	KRT5	EBS gen intermed	5	5	0%	0%	5 (100%)	
31	c.504G>C (heterocigoto S.)	KRT5	EBS loc	1	1	0%	0%	1 (100%)	
32	c.1649delG (heterocigoto S.)	KRT5	EBS loc	2	2	0%	0%	2 (100%)	
33	c.6955C>T (heterocigoto S.)	PLEC	EBS- dm	1	1	0%	0%	1 (100%)	
34	c.1002G>A (heterocigoto C.)	TGM5	SDCA	1*	1	0%	0%	1 (100%)	
35	c.1664_1664del T (heterocigoto C.)	TGM5	SDCA	1*	1	0%	0%	1 (100%)	
36	c.337G>T								
	Homocigoto	TGM5	SDCA	1	2	0%	0%	2 (100%)	
	Heterocigoto C.	TGM5	SDCA	1*	1	0%	0%	1 (100%)	
37	c.644G>A (heterocigoto C.)	TGM5	SDCA	2*	2	0%	0%	2 (100%)	
38	c.817G>A (heterocigoto C.)	TGM5	SDCA	1*	1	0%	0%	1 (100%)	
39	c.928_938delGG AAACCTGAT (homocigoto)	TGM5	SDCA	1	2	0%	0%	2 (100%)	

\* Debido a que se hizo una descripción de cada mutación por separado, en el caso de los heterocigotos compuestos (heterocigotos C.; constituidos por 1 par de mutaciones distintas) se sobrecontó el número de pacientes, por lo que el número real de casos con este tipo de combinación es de 23 y no de 46.

**Anexo 7:** Descripción de las combinaciones de mutaciones recesivas en el gen COL7A1 y la proporción de la característica grado de depapilación lingual.

Mutación Alelo 1	Mutación Alelo 2	N Pacientes	Diagnóstico Clínico	N de pacientes con lengua completamente Depapilada (%)	N de pacientes con lengua parcialmente depapilada (%)	N de pacientes con lengua papilada (%)
c.4342-2A>G	c.6527_6528insC	1	EBDR gen intermed	0%	1 (100%)	0%
c.2005C>T	c.4342-2A>G	1	EBDR gen intermed	0%	1 (100%)	0%
c.2005C>T	c.7708delG	1	EBDR gen sev	1 (100%)	0%	0%
c.3970delC	c.6527_6528insC	1	EBDR gen sev	1 (100%)	0%	0%
c.5532+1G>T	c.6527_6528insC	1	EBDR gen intermed	0%	0%	1(100%)
c.5532+1G>T	c.8245G>A	1	EBDR gen intermed	1 (100%)	0%	0%
c.5532+1G>T	c.7708delG	1	EBDR gen intermed	0%	1 (100%)	0%
c.5532+1G>T	c.3264_5293	1	EBDR gen intermed	0%	1 (100%)	0%
c.6527_6528insC	c.6527_6528insC	7	EBDR gen sev	7 (100%)	0%	0%
c.6527_6528insC	c.6527_6528insC	1	EBDR gen intermed	0%	1 (100%)	0%
c.6527_6528insC	c.7708delG	4	EBDR gen sev	4 (100%)	0%	0%
c.6527_6528insC	c.5565_5568+8delGAAGGTAAAGTCinsA	1	EBDR gen intermed	1 (100%)	0%	0%
c.6527_6528insC	c.185C>T	1	EBDR gen intermed	0%	0%	1 (100%)
c.6527_6528insC	c.8329C>T	1	EBDR gen intermed	1 (100%)	0%	0%
c.6527_6528insC	c.185C>T	2	EBDR pretibial	0%	0%	2 (100%)
c.7708delG	c.7876-1G>A	1	EBDR gen sev	1 (100%)	0%	0%
c.7708delG	c.8393T>G	1	EBDR gen intermed	0%	0%	1 (100%)

**Anexo 8:** Descripción de las mutaciones y la característica grado de anquilosis.

ID Mut.	Mutación	Gen	Tipo-Subtipo De EB	N Pacientes	N total alelos	Nº de alelos según los diferentes grados de anquilosis.				
						sin anquilosis	Media	Modera-da	Severa	Completa
1	<i>c.2005C&gt;T (heterocigoto C.)</i>	COL7A1	EBDR gen sev/EBDR gen intermed	2*	2	1			1	
2	<i>c.3970delC (heterocigoto C.)</i>	COL7A1	EBDR gen sev	1*	1				1	
3	<i>c.4342-2A&gt;G (heterocigoto C.)</i>	COL7A1	EBDR gen intermed	2*	2	1		1		
4	<i>c.4775G&gt;A (heterocigoto S.)</i>	COL7A1	EBDD gen	2	2	2				
5	<i>c.5318G&gt;T (heterocigoto S.)</i>	COL7A1	EBDD acral	2	2	2				
6	<i>c.5532+1G&gt;T (heterocigoto C.)</i>	COL7A1	EBDR gen intermed	4*	4	3			1	
7	<i>c.5932C&gt;T (homocigoto)</i>	COL7A1	EBDR gen sev	1	2				2	
8	<i>c.6026G&gt;A (heterocigoto S.)</i>	COL7A1	EBDD gen	1	1	1				
9	<i>c.6100G&gt;A (heterocigoto S.)</i>	COL7A1	EBDD acral/EBDD gen	5	5	5				
10	<i>c.6127G&gt;A (heterocigoto S.)</i>	COL7A1	EBDD gen	3	3	3				
11	<i>c.6527_6528insC Homocigoto</i>	COL7A1	EBDR gen sev/ EBDR gen intermed	8	16			2	12	2
	<i>Heterocigoto C.</i>	COL7A1	EBDR gen sev/ EBDR gen intermed/ EBDR pretibial	12*	12	5		2	5	
12	<i>c.7708delG Homocigoto</i>	COL7A1	EBDR gen sev	8	16	2		2	12	
	<i>Heterocigoto C.</i>	COL7A1	EBDR gen sev/EBDR gen intermed	8*	8	3		1	3	1
13	<i>c.7876-1G&gt;A (heterocigoto C.)</i>	COL7A1	EBDR gen sev	1*	1					1
14	<i>c.8245G&gt;A (heterocigoto C.)</i>	COL7A1	EBDR gen intermed	1*	1				1	
15	<i>c.8329C&gt;T (heterocigoto C.)</i>	COL7A1	EBDR gen intermed	1*	1				1	
16	<i>c.8393T&gt;G (heterocigoto C.)</i>	COL7A1	EBDR gen intermed	1*	1	1				
17	<i>c.185C&gt;T (heterocigoto C.)</i>	COL7A1	EBDR gen intermed/ EBDR pretibial	3*	3	3				
18	<i>c.5565_5568+8delGAAGGTA AAGTCinsA (heterocigoto C.)</i>	COL7A1	EBDR gen intermed	1*	1				1	
19	<i>c.3264_5293 (heterocigoto C.)</i>	COL7A1	EBDR gen intermed	1*	1	1				
20	<i>c.6082G&gt;A (heterocigoto S.)</i>	COL7A1	EBDD acral	1	1	1				

21	c.3228+1G>A										
	Homocigoto	LAMB3	EJB gen intermed	2	4	4					
	Heterocigoto C.	LAMB3	EJB gen sev	1*	1		1				
22	c.823-1G>A (heterocigoto C.)	LAMB3	EJB gen sev	1*	1		1				
23	c.467A>G (homocigoto)	FERMT1	SK	1	2	2					
24	c.5539C>T (homocigoto)	EXPH5	EBS autosomal recessive EXPH5	1	2	2					
25	c.442C>T (homocigoto)	KRT14	EBS autosomal recessive K14	2	4	4					
26	c.346A>G (heterocigoto S.)	KRT14	EBS loc	1	1	1					
27	c.1429G>A (heterocigoto S.)	KRT5	EBS gen intermed	1	1	1					
28	c.1437C>A (heterocigoto S.)	KRT5	EBS gen intermed	2	2	2					
29	c.519G>T (heterocigoto S.)	KRT5	EBS gen intermed	1	1	1					
30	c.968T>A (heterocigoto S.)	KRT5	EBS gen intermed	5	5	4	1				
31	c.504G>C (heterocigoto S.)	KRT5	EBS loc	1	1	1					
32	c.1649delG (heterocigoto S.)	KRT5	EBS loc	2	2	2					
33	c.6955C>T (heterocigoto S.)	PLEC	EBS - dm	1	1	1					
34	c.1002G>A (heterocigoto C.)	TGM5	SDCA	1*	1	1					
35	c.1664_1664delT (heterocigoto C.)	TGM5	SDCA	1*	1	1					
36	c.337G>T										
	Homocigoto	TGM5	SDCA	1	2	2					
	Heterocigoto C.	TGM5	SDCA	1*	1	1					
37	c.644G>A (heterocigoto C.)	TGM5	SDCA	2*	2	2					
38	c.817G>A (heterocigoto C.)	TGM5	SDCA	1*	1	1					
39	c.928_938delGGAAACCTGAT (homocigoto)	TGM5	SDCA	1	2	2					

\* Debido a que se hizo una descripción de cada mutación por separado, en el caso de los heterocigotos compuestos (heterocigotos C.; constituidos por 1 par de mutaciones distintas) se sobrecontó el número de pacientes, por lo que el número real de casos con este tipo de combinación es de 23 y no de 46.

**Anexo 9:** Descripción de las Combinaciones de Mutaciones en el gen *COL7A1* y la característica grado de anquiloglosia.

Mutación Alelo 1	Mutación Alelo 2	Subtipo de EB	N total pacientes	N pacientes que presentan Anquiloglosia(%)	N paciente sin anquiloglosia (%)
<i>c.4342-2A&gt;G</i>	<i>c.6527_6528insC</i>	EBDR gen intermed	1	1 (100%)	0%
<i>c.2005C&gt;T</i>	<i>c.4342-2A&gt;G</i>	EBDR gen intermed	1	0%	1 (100%)
<i>c.2005C&gt;T</i>	<i>c.7708delG</i>	EBDR gen sev	1	1 (100%)	0%
<i>c.3970delC</i>	<i>c.6527_6528insC</i>	EBDR gen sev	1	1 (100%)	0%
<i>c.5532+1G&gt;T</i>	<i>c.6527_6528insC</i>	EBDR gen intermed	1	0%	1 (100%)
<i>c.5532+1G&gt;T</i>	<i>c.7708delG</i>	EBDR gen intermed	1	0%	1 (100%)
<i>c.5532+1G&gt;T</i>	<i>c.3264_5293</i>	EBDR gen intermed	1	0%	1 (100%)
<i>c.5532+1G&gt;T</i>	<i>c.8245G&gt;A</i>	EBDR gen intermed	1	1 (100%)	0%
<i>c.6527_6528insC</i>	<i>c.6527_6528insC</i>	EBDR gen sev	7	7 (100%)	0%
<i>c.6527_6528insC</i>	<i>c.6527_6528insC</i>	EBDR gen intermed	1	1 (100%)	0%
<i>c.6527_6528insC</i>	<i>c.185C&gt;T</i>	EBDR gen intermed	1	0%	1 (100%)
<i>c.6527_6528insC</i>	<i>c.5565_5568+8delGA AGGTAAAGTCinsA</i>	EBDR gen intermed	1	1 (100%)	0%
<i>c.6527_6528insC</i>	<i>c.7708delG</i>	EBDR gen sev	4	3 (75%)	1 (25%)
<i>c.6527_6528insC</i>	<i>c.185C&gt;T</i>	EBDR pretibial	2	0%	2 (100%)
<i>c.6527_6528insC</i>	<i>c.8329C&gt;T</i>	EBDR gen intermed	1	1 (100%)	0%
<i>c.7708delG</i>	<i>c.7708delG</i>	EBDR gen sev	8	7 (88%)	1 (22%)
<i>c.7708delG</i>	<i>c.8393T&gt;G</i>	EBDR gen intermed	1	0%	1 (100%)
<i>c.7708delG</i>	<i>c.7876-1G&gt;A</i>	EBDR gen sev	1	1 (100%)	0%

**Anexo 10: Abreviaciones utilizadas**

En este trabajo se utilizaron las abreviaciones en cada tipo y subtipo de epidermólisis bullosa:

EB: epidermólisis bullosa

EBD: epidermólisis bullosa distrófica

EBDD: epidermólisis bullosa distrófica dominante

EBDD gen: epidermólisis bullosa distrófica dominante generalizada

EBDR: epidermólisis bullosa distrófica recesiva

EBDR gen sev / intermed: epidermólisis bullosa distrófica recesiva generalizada severa / intermedia.

EBJ: epidermólisis bullosa Juntural

EBJ gen intermed / sev: epidermólisis bullosa Juntural intermedia / severa

SK: Síndrome de Kindler

EBS: epidermólisis bullosa simplex.

EBS loc: epidermólisis bullosa simplex localizada.

EBS gen intermed: epidermólisis bullosa simplex generalizada intermedia.

EBS - dm: epidermólisis bullosa simplex con distrofia muscular

SDCA: Síndrome descamativo cutáneo Acral.

MB: Membrana Basal

ZMB: Zona de la Membrana Basal.

Heterocigoto S.: Heterocigoto simple

Heterocigoto C.: Heterocigoto compuesto