

## ÍNDICE

| Nº  | CONTENIDOS  | PÁGINA |
|-----|---|--------|
| 1.  | <b>INTRODUCCIÓN</b>   | 8      |
| 2.  | <b>ASPECTOS TEÓRICOS Y FORMULACIÓN GENERAL DEL PROYECTO</b>   | 11     |
| 2.1 | ESMALTE   | 11     |
|     | a. Características del esmalte normal   | 11     |
|     | b. Proceso de formación del esmalte   | 11     |
| 2.2 | AMELOGÉNESIS IMPERFECTA (AI)  | 14     |
|     | a. Definición y diagnóstico   | 14     |
|     | b. Prevalencia  | 15     |
|     | c. Clasificación  | 15     |
|     | d. Breve descripción fenotípica de los principales tipos de AI  | 18     |
| 2.3 | ETIOLOGÍA GENÉTICA DE LAS AMELOGÉNESIS IMPERFECTA   | 19     |
|     | a. AI Hipoplásica   | 22     |
|     | b. AI Hipocalcificada   | 24     |
|     | c. AI Hipomadura  | 25     |
| 2.4 | ROL DE LOS GENES WDR72 (PROTEINA 72 CON REPETIDOS WD), MMP20 (ENAMELISINA) Y KLK4 (CALICREINA 4) EN AI HIPOMADURA | 29     |
|     | a. <i>WDR72</i>   | 29     |
|     | b. <i>MMP20</i>   | 32     |
|     | c. <i>KLK4</i>  | 34     |
| 3.  | <b>HIPÓTESIS</b>  | 37     |
| 4.  | <b>OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS</b>  | 38     |

|           |   |           |
|-----------|---|-----------|
| 4.1       | OBJETIVO GENERAL  | 38        |
| 4.2       | OBJETIVOS ESPECÍFICOS   | 38        |
|           |   |           |
| <b>5.</b> | <b>MATERIAL Y MÉTODO</b>  | <b>40</b> |
|           |   |           |
| 5.1       | ANÁLISIS CLÍNICO RADIOGRÁFICO   | 40        |
|           | a. Sujetos de estudio y muestra   | 40        |
|           | b. Aprobación ética   | 41        |
|           | c. Anamnesis  | 42        |
|           | d. Examen clínico de los pacientes y sujetos controles  | 42        |
|           | e. Análisis de radiografías   | 44        |
|           | f. Análisis fotográfico   | 44        |
|           | g. Diagnóstico y su fundamentación  | 44        |
| 5.2       | ANÁLISIS GENÉTICO MOLECULAR   | 44        |
|           | a. Confección de genealogías  | 44        |
|           | b. Toma de muestra de sangre  | 45        |
|           | c. Purificación de ADN genómico   | 45        |
|           | d. Cuantificación de ADN en las muestras  | 46        |
|           | e. Análisis mutacional de los genes <i>WDR72</i> (proteína con repetidos WD), <i>MMP20</i> (enamelinina) y <i>KLK4</i> (calicreina 4) | 47        |
|           | f. Diseño de partidores   | 48        |
|           | g. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)  | 48        |
|           | h. Electroforesis de ADN  | 52        |
|           | i. Purificación de productos PCR  | 52        |
|           | j. Secuenciación de productos PCR   | 52        |
|           | k. Análisis de secuencias   | 53        |
|           |   |           |
| <b>6.</b> | <b>RESULTADOS</b>   | <b>55</b> |
|           |   |           |
| 6.1       | ANÁLISIS CLÍNICO RADIOGRÁFICO Y GENEALÓGICO   | 55        |
| 6.2       | ANÁLISIS GENÉTICO MOLECULAR   | 70        |
| 6.2.1     | Purificación de ADN de pacientes y grupo control  | 70        |
| 6.2.2     | Amplificación y purificación de fragmentos de los genes enamelinina ( <i>MMP-20</i> ), proteína 72 con repetidos WD                   | 72        |

|           |   |     |
|-----------|---|-----|
|           | ( <i>WDR72</i> ) y calicreina 4 ( <i>KLK-4</i> ) para detección de mutaciones reportadas y secuenciación de genes completos   |     |
| 6.2.3     | Análisis de secuencias  | 80  |
|           | a. Detección de mutaciones reportadas y nuevas variantes de secuencia en los genes enamelisina ( <i>MMP-20</i> ), proteína 72 con repetidos WD ( <i>WDR72</i> ) y calicreina 4 ( <i>KLK-4</i> ) mediante secuenciación directa en pacientes con AI de tipo Hipomadura y sujetos control | 80  |
|           | b. Análisis bioinformático de variantes de secuencia de los genes enamelisina ( <i>MMP-20</i> ) proteína 72 con repetidos WD ( <i>WDR72</i> ) y calicreina 4 ( <i>KLK-4</i> )   | 89  |
|           | c. Análisis de la variante de secuencia g.30561A>T para el gen <i>MMP-20</i> reportada y encontrada en este estudio   | 96  |
| <b>7.</b> | <b>DISCUSIÓN</b>  | 100 |
| 7.1       | ANÁLISIS CLÍNICO, RADIOGRÁFICO Y GENEALÓGICO  | 101 |
| 7.2       | ANÁLISIS GENÉTICO MOLECULAR   | 107 |
| 7.2.1     | Análisis de variantes de secuencia de los genes <i>MMP-20</i> y <i>WDR72</i> encontradas en este estudio.   | 111 |
|           | a. Variantes del gen <i>WDR72</i> encontradas en este estudio.  | 112 |
|           | b. Variantes del gen <i>MMP-20</i> encontradas en este estudio.   | 114 |
| 7.2.2     | Análisis de la variante de secuencia g.30561A>T para el gen <i>MMP-20</i> reportada y encontrada en este estudio.   | 116 |
| <b>8.</b> | <b>CONCLUSIONES</b>   | 124 |
| <b>9.</b> | <b>REFERENCIAS</b>  | 127 |