



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

**Espectro fenotípico de la profundidad promedio de vestíbulo oral (PPVO) en
pacientes con Epidermólisis Bullosa que cuentan con diagnóstico genético:
desvelando correlaciones fenotipo-genotipo**

Camila Fernanda Paredes Venegas

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

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dra. Susanne Marie Krämer Strenger

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Blanca Regina Urzúa Orellana (PhD)

Prof. Dr. Mauricio Enrique Baeza Paredes

**Adscrito a Proyecto PRI-ODO 19/007 “Determinación de la asociación Fenotipo-
Genotipo en personas con Epidermólisis Bullosa”
Santiago - Chile
2020.**



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

**Espectro fenotípico de la profundidad promedio de vestíbulo oral (PPVO) en
pacientes con Epidermólisis Bullosa que cuentan con diagnóstico genético:
desvelando correlaciones fenotipo-genotipo**

Camila Fernanda Paredes Venegas

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

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dra. Susanne Marie Krämer Strenger

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Blanca Regina Urzúa Orellana (PhD)

Prof. Dr. Mauricio Enrique Baeza Paredes

**Adscrito a Proyecto PRI-ODO 19/007 “Determinación de la asociación Fenotipo-
Genotipo en personas con Epidermólisis Bullosa”
Santiago - Chile
2020.**

A todas las personas con EB

AGRADECIMIENTOS

Espero que todas las personas que serán referidas a continuación tengan una vida feliz y plena, y que en un rinconcito de su corazón tengan un espacio para mí, que yo siempre los recordaré con mucho cariño y alegría.

Quiero comenzar agradeciendo a los docentes, quienes, de la mano, hicieron realidad este trabajo de investigación. Quiero agradecer al Dr. Mauricio Baeza por su tutela con respecto al vestíbulo oral y su siempre buena disposición. A la profesora Blanca Urzua, por su paciencia y guía en el área de genética. Y un especial agradecimiento a la Dra. Susanne Krämer por recibirme con los brazos abiertos a trabajar junto a ella, por llenarme de energía cada vez que la tenía cerca, por echarme una mano en los tiempos difíciles y por inspirarme a dedicarle amor a cada cosa en que me desempeñe; quiero agradecerle por acompañarme no solo durante el periodo de tesis, si no por los últimos años universitarios, es más, quiero agradecer a todo el equipo de la clínica de cuidados especiales, con quienes siempre me sentí a gusto; personas que las une algo particular, el amor y cariño que entregan a los pacientes y a quienes tienen a su alrededor. Y extendiendo el agradecimiento a cada profesor con quien cree un lazo, quienes me educaron y me hicieron ser un mejor profesional, siempre los llevaré en mi corazón.

Quiero agradecer a mi familia. Mi familia en Concepción, quienes, a pesar de no verlos siempre, sentí su apoyo incondicional en todo el proceso. A mis tíos, quienes me dieron un hogar aquí en Santiago, me hicieron participe de su vida cotidiana y no dejaron que nunca me falte nada; mi tía Vivi, quien llegó a ser mi segunda mamá. Al Seba, mi hermano, quien fue mi roomie, mi ayudante, mi profesor, a quien siempre acudí ante algo que desconocía y que, a pesar de muchas veces no poder darme una respuesta, me daba herramientas para encontrar la solución. Y por supuesto a mis padres, Dafne y Alex, quienes me dieron la oportunidad de venir a estudiar a esta ciudad, en esta maravillosa universidad, quienes a pesar de tenerlos lejos yo los sentía cerca, dándome alientos y todo su amor; siempre fueron mi cable a tierra, sus consejos los llevo conmigo y sus enseñanzas son parte de mí, fueron quienes

escuchaban mis problemas y desenredaban los nudos de mi cabeza, me hacían ver que muchos problemas son simples y tienen solución. La vida junto a todos ellos es hermosa.

Quiero agradecer a Daniel, mi pololo, por ser mi pilar fundamental desde primer año, ser parte de mi familia de Santiago, mi partner, quien me impulsa y me da alas para soñar. Por cada conversación, cada consejo, por cada vez que me escuchaste y brindaste tu cariño, que a veces tan solo estar ahí resolvía todos los males. Que a pesar de que la vida sigue, avanza y construye, extrañaré nuestros años viviendo en Santiago, sin embargo, espero con ansias lo que nos depara el futuro y le abro la puerta a todas las oportunidades que nos aguardan.

Quiero agradecer a mis amigas y amigos, aquellos con los que compartí este hermoso viaje, aquellos que están desde el comienzo y aquellos que se sumaron en el camino. A mis compañeros de grupo, a mis compañeros de estudio, a quienes siempre me resolvieron las dudas, a quienes compartimos cada trabajos comunitarios, a quienes me apañaban para los aniversarios, a quienes compartíamos los viernes (o los miércoles), a quienes me ayudaron en periodo de tesis, a quienes me levantaron cuando más lo necesitaba, muchas gracias. Quiero dar un especial agradecimiento a mi grupo de amigas y mi grupo de amigos, que sin ellos nada hubiese sido posible. Que esta aventura no es para vivirla sola, me tomaron de la mano y evitaron que me desmoronara, quienes me vieron crecer, me alentaron y brindaron su amor y apoyo en cada etapa, año a año. Que nuestras vidas se juntaron y jamás se volverán a separar.

Quiero agradecer a cada profesor, funcionario y estudiante que compartió una sonrisa conmigo, cada sonrisa importa y reconforta cuando uno más lo necesita.

El éxito no es cosa de uno, es la ayuda de todo el grupo y mi grupo son ustedes, muchas gracias.

Índice

CONTENIDO	PÁGINA
1 RESUMEN.....	VIII
2A INTRODUCCIÓN.....	1
2B MARCO TEÓRICO.....	1
2.1 Etiología de la EB.....	1
2.2 Diagnóstico de la enfermedad.....	5
2.3 Clasificación de la enfermedad.....	8
2.4 Descripción de los tipos y subtipos de EB.....	9
2.5 Avances terapéuticos	14
2.6 Características clínicas orales según tipo de EB.....	15
2.7 Obliteración del vestíbulo oral en personas con EBDR.....	17
2.8 Vestíbulo oral	18
2.9 Relevancia del estudio.....	19
3 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	21
3.1 Hipótesis	21
3.2 Objetivos.....	21
4 MATERIALES Y MÉTODOS	22
4.1 Tipo de estudio.....	22
4.2 Participantes.....	22
4.3 Procedimientos clínicos	23
4.4 Obtención de los datos genéticos	25
4.5 Descripción y medición de variables incluidas en la investigación	25

4.6 Análisis estadístico	27
4.7 Consideraciones éticas.....	27
5 RESULTADOS.....	29
5.1 Descripción de la muestra.....	29
5.2 Descripción y análisis de la profundidad promedio de vestíbulo oral.....	35
5.2.1. Pacientes control y pacientes con EB.....	35
5.2.2 Según tipo de EB	37
5.2.3 Según subtipo de EB	37
5.2.4 Según parámetros sociodemográficos género y edad.....	40
5.2.5 Según parámetro clínico.....	45
5.2.6 Según parámetros genéticos.....	49
6 DISCUSIÓN.....	60
6.1 Composición de la muestra.....	60
6.2 Medición de la profundidad promedio de vestíbulo oral.....	62
6.3 Terapias para aumentar la profundidad vestibular.....	88
6.4 Proyecciones a futuro.....	93
7 CONCLUSIONES.....	94
8 GLOSARIO.....	96
9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	99
10 ANEXOS Y APÉNDICES.....	122

1 RESUMEN:

Introducción: Epidermólisis bullosa (EB) es un trastorno genético que causa fragilidad de la piel con la formación de ampollas por fricción o espontáneas. Se clasifica en 4 tipos principales según nivel de escisión de la piel. Los pacientes con EB distrófica recesiva (EBDR) son quienes presentan mayor afección de tejidos, por ejemplo, obliteración vestibular causada por fibrosis. Objetivo principal: Determinar la asociación de la profundidad promedio de vestíbulo oral (PPVO) con dientes perdidos, gen afectado y consecuencia funcional de las variantes genéticas en pacientes con EB.

Materiales y métodos: Se incluyeron 90 personas con EB y 105 personas sanas, a quienes se les midió la PPVO y consignó el COPD. Los datos genéticos fueron obtenidos de la base de datos Debra Chile, y las consecuencias funcionales de las variantes fueron obtenidas con los programas NNSplice y Polyphen-2.0, apoyados con literatura. Las variables PPVO, género, edad, número de dientes perdidos, gen afectado y consecuencia funcional mRNA o proteína, fueron analizadas entre sí.

Resultados: Existe diferencia estadística entre medianas PPVO de pacientes control (9,3mm) y EB (5,7mm); las personas que presentaron diferencia según tipo fueron pacientes EBD (3,6mm); y según subtipo, pacientes EBDR sev (2,1mm) y EBDR int (5,8mm). La obliteración vestibular en pacientes con EB se produce desde el rango 6 a 11 años en adelante. Existe asociación inversa entre PPVO y dientes perdidos, la intensidad depende del grupo estudiado. Se encontraron 24 variantes en *COL7A1*, 5 de ellas nuevas, las más prevalentes fueron c.6527dupC y c.7708delG. Los pacientes que presentan ausencia total de colágeno VII, (codón de terminación prematura (CTP) como consecuencia de variantes en ambos alelos de *COL7A1*), presentaron mayor severidad en la obliteración del vestíbulo.

Conclusiones: Existe diferencia significativa en la PPVO de personas con variantes en *COL7A1*. Se observó asociación entre PPVO y consecuencia funcional del mRNA o de la proteína provocada por la respectiva variante. Pacientes que generan CTP en ambos alelos, presentaron las PPVO más bajas; pacientes que generan CTP en un alelo y proteína no funcional en el otro, presentaron PPVO intermedias; pacientes con un alelo silvestre y otro que genera proteína no funcional, presentaron PPVO normales.

2A INTRODUCCIÓN:

Epidermólisis Bullosa

Los trastornos genéticos con fragilidad de la piel se caracterizan por anomalías estructurales que reducen la resistencia de la piel al estrés mecánico. Dependiendo de la ubicación del defecto molecular y estructural dentro de la piel, las manifestaciones clínicas pueden incluir descamación, ampollas, erosiones, ulceración, heridas o cicatrices mucocutáneas. La Epidermólisis Bullosa (EB) es el grupo principal de estos trastornos genéticos con fragilidad de la piel, caracterizado por la formación de ampollas por traumatismos mecánicos menores con disrupción en la zona de la membrana basal (MB) (Has C. y cols., 2020b). Los signos y síntomas dependen del tipo de EB, los cuales presentan rasgos distintivos. Algunas características clínicas que se podrían encontrar, además de las ya nombradas, son: milias, distrofia o ausencia de uñas, alopecia, tejido de granulación exuberante, ausencia congénita de piel, queratodermia palmoplantar, pigmentación moteada, nevus pigmentado, atrofia cutánea, alteración en la cicatrización y fibrosis de los tejidos mucocutáneos (Lanschuetzer E., 2009; Krämer S. y cols., 2012).

Es una enfermedad muy poco común, pero existe en todo el mundo. Su incidencia es de 19 casos/millón de nacidos vivos y su prevalencia es de 11 casos por millón de habitantes (Fine J. y cols., 2016; Magno J. y cols., 2020), con variaciones que dependen más de la buena calidad de los registros que de diferencias regionales o étnicas; presentándose en personas de todas las razas y afectando por igual a hombres y mujeres (Fine J. y cols., 2010; Nagy N. y cols., 2010; Mutasim D., 2010; Clavería R. y cols., 2015; Debra Chile, n.d). En Chile viven actualmente 232 personas con EB (Debra Chile, n.d.).

2B MARCO TEÓRICO

2.1 ETIOLOGÍA DE LA EB

La epidermólisis bullosa es causada por una variante genética en uno de los 16 genes que codifican proteínas involucradas en la adhesión de la zona de la membrana basal de los queratinocitos epidérmicos (Has C. y cols., 2020b). A

continuación, se describen los factores principales involucrados en la patogénesis de esta enfermedad, las bases genéticas y moleculares.

2.1.1 Bases Genéticas de la EB

Los tipos de variantes que se han reportado en la literatura para EB son:

a) Según efecto en la secuencia de aminoácidos:

- Variantes de sentido erróneo (*missense*): el nuevo nucleótido altera un codón en el ARN mensajero (mRNA), cambiando un aminoácido en la proteína transcrita. Suele encontrarse en las formas leves de EB (Fine J. y cols., 2009; Pincheira J., 2014).
- Variantes sin sentido (*nonsense*): el nuevo nucleótido convierte un codón codificante en un codón de terminación prematura (CTP). Se ha observado en los tipos más graves de EB (Fine J. y cols., 2009; Pincheira J., 2014).

b) Según el tipo de cambio de nucleótidos:

- Sustitución de una sola base: cambio de una base por otra. Cuando una base púrica es sustituida por otra púrica (A o G) o una pirimidica por una pirimidica (C o T) se le denomina “transición”, y cuando una púrica es sustituida por una pirimidica o viceversa, se trata de una “transversión” (Fine J. y cols., 2009; Pincheira J., 2014).
- Variantes por cambio del marco de lectura: Se agregan (inserción) o pierden (delección) nucleótidos en el ADN en un número no múltiplo de 3. En la traducción del ARNm cambia la lectura de los tríos nucleótidos y con ello, la secuencia de codones. Además, puede dar origen a un CTP o pérdida de este (Fine J. y cols., 2009; Pincheira J., 2014).
- Variantes en el sitio de empalme (*splicing*): Cuando una variante afecta un nucleótido del sitio de empalme se altera la señalización para el inicio de reacciones enzimáticas que dan lugar a la escisión, pudiendo dejar de empalmarse exones enteros; o las señales se originarían en sitios de empalme crípticos, causando inserciones o deleciones de ciertas partes de los intrones o exones de la molécula de ARN formada. La traducción altera la secuencia de la proteína resultante y, por lo general, un cambio de marco de lectura da lugar a la aparición de CTP (Fine J. y cols., 2009; Pincheira J., 2014).

Las alteraciones genéticas se describen con la designación numérica del cambio de variante en la secuencia del ADNc del gen en cuestión, el número +1 corresponde a la letra A del codón de iniciación (ATG) de la traducción de la secuencia (Fine J. y cols., 2009; Richards S. y cols., 2015). Los genes que pueden estar afectados se encuentran en el **punto 2.4**.

2.1.2 Bases moleculares de la EB

a) Ultraestructura de la piel

La piel está compuesta por tres capas principales que se interrelacionan entre sí: la epidermis, la dermis e hipodermis. La epidermis es la capa más superficial, compuesta por un epitelio escamoso pluriestratificado y estratos bien definidos: estrato basal, espinoso, granular, lúcido y córneo, **figura 1** (Powell J. y cols., 2006; Buendía F. y cols., 2018). Los

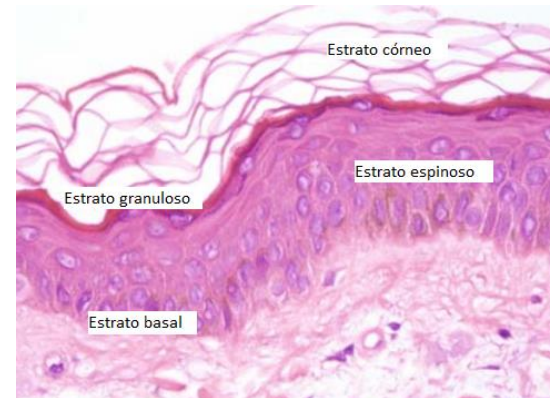


Figura 1. Estratos de la epidermis y cambios morfológicos de los queratinocitos. (Adaptado de Smoller B., Hiatt K.; 2009)

queratinocitos corresponden al 95% de las células totales de la epidermis (Powell J. y cols., 2006), se encuentran en la capa basal formando una hilera, unidos entre sí por desmosomas y unidos a la dermis por hemidesmosomas. (Buendía F. y cols., 2018). Inmediatamente por debajo, y unida por la unión dermoepidérmica, se encuentra la dermis, que alberga en su interior los plexos vasculonerviosos y sirve de sostén a la epidermis y a sus anexos. Sus células constitutivas son principalmente fibroblastos, además se observan mastocitos e histiocitos. Debajo de la dermis se encuentra la hipodermis (Buendía F. y cols., 2018).

b) Unión dermoepidérmica y proteínas afectadas en EB

Comprende un complejo multiproteico continuo, formando un entramado que sustenta y fija los queratinocitos epidérmicos a la dermis subyacente y que regula el intercambio metabólico entre las dos capas. Actúa como soporte para la epidermis, establece la polaridad celular y la dirección del crecimiento, dirige la organización del citoesqueleto en las células basales y proporciona señales de desarrollo (Stepp M. y cols., 1990; Kolarsick P. y cols., 2011). Está constituida por los hemidesmosomas y la membrana basal.

Los **hemidesmosomas** (**figura 2**) se encuentran en la membrana celular de los queratinocitos basales y presentan una estructura tripartita, que consiste en una parte interna, una intermedia y una externa (Shinkuma S. y cols., 2011). La parte interna se encuentra en el citoplasma del queratinocito y está constituida por filamentos intermedios de queratina (queratina 5 y 14); la parte intermedia contiene distonina (también conocido como antígeno mayor del penfigoide ampolloso de 230 Kd, BP230 o BPAg1) y plectina; finalmente la parte externa está formada por componentes transmembrana: integrina $\alpha 6\beta 4$, receptor de laminina 332 y colágeno XVII, también conocido como antígeno menor del penfigoide ampolloso de 180 Kd, BP180 o BPAg2 (Buendía F. y cols., 2018).

La **membrana basal** es sintetizada por las células basales de la epidermis y sus principales constituyentes son el colágeno tipo IV, fibrillas de anclaje y microfibrillas dérmicas (Kolarsick P. y cols., 2011; Buendía F. y cols., 2018). Consta de tres porciones: La primera porción es la **lámina lúcida**, (Shinkuma S. y cols., 2011), es atravesada por unos delgados filamentos de anclaje orientados perpendicularmente, que unen la membrana plasmática a la lámina densa, y que constan de laminina 332 predominantemente (antiguamente llamada laminina 5), laminina 6 y LAD1 (antígeno IgA lineal) (Fine J. y cols., 2014; Buendía F. y cols., 2018). La segunda es la **lámina densa**, red fibrosa estrechamente compacta (Shinkuma S. y cols., 2011), compuesta por colágeno tipo IV, nidógeno, heparán-sulfato, condroitín-sulfato y perlecan (Buendía F. y cols., 2018). La tercera está compuesta por la **lámina fibroreticular**, que se ubica debajo de la lámina densa y consta de fibrillas de anclaje, microfibrillas elásticas y placas de anclaje (Buendía F. y cols., 2018). Las moléculas de colágeno VII forman estructuras de asa semicirculares llamadas fibrillas de anclaje, las cuales se originan y terminan en la lámina densa (Sakai L. y cols., 1986; McMillan J. y cols., 2003; Clavería R. y cols. 2015). En la **figura 2** se puede apreciar 11 de las 13 proteínas que pueden estar afectadas en los distintos tipos de EB, su ubicación topográfica en la zona de la membrana basal y su interacción con otras proteínas.

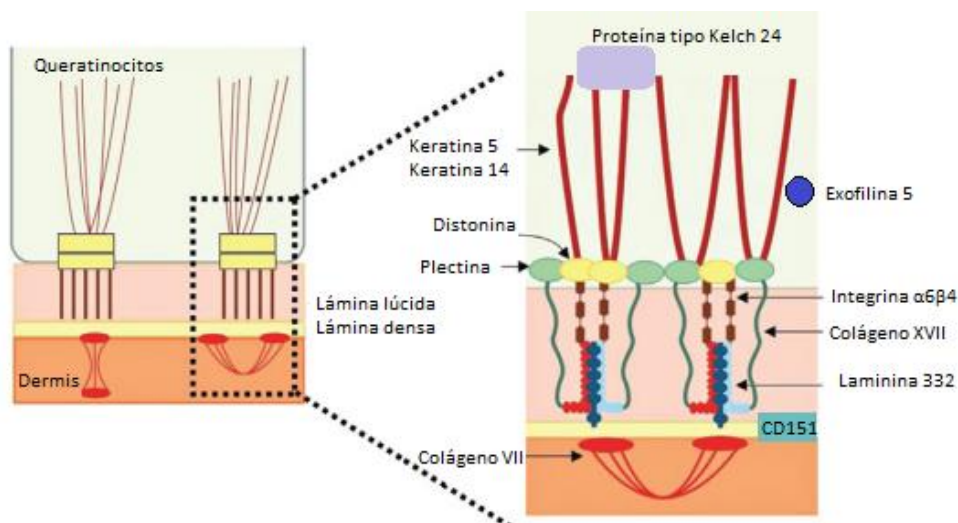


Figura 2. Representación esquemática de la unión dermoepidérmica, que representa complejos de unión críticos para contactos estables entre células y la asociación de la epidermis a la dermis subyacente. Se pueden observar la mayor parte de las proteínas afectadas en los diferentes tipos de EB (Adaptado de Mariath L. y cols., 2020b).

2.2 DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD

El examen físico y la historia clínica pueden sugerir que una persona presenta EB. Dependiendo de las instalaciones y recursos disponibles en el centro diagnóstico, se pueden realizar análisis mutacionales, mapeo por inmunofluorescencia (MIF), o microscopía electrónica de transmisión (MET), en algunos casos, los tres enfoques son necesarios. Las pruebas genéticas darán el diagnóstico definitivo. Se recomienda que en recién nacidos que presenten ampollas o fragilidad de la piel, se realice el MIF en primera instancia para un manejo neonatal adecuado ya que proporciona el diagnóstico en pocas horas, pero siempre se deben realizar posteriormente las pruebas genéticas. Si bien esto indudablemente cambiará en los próximos años, el MIF sigue siendo el primer método de elección (Feinstein J. y cols., 2019; Has C. y cols. 2020a). Si un paciente ha desarrollado manifestaciones típicas de un subtipo de EB, puede derivarse directamente a un centro de diagnóstico para pruebas genéticas, pero idealmente, se deberían realizar tanto pruebas genéticas como un MIF para permitir una caracterización molecular completa de la EB, tanto a nivel de ADN como de proteína (Has C. y cols., 2020a)

2.2.1 Análisis mutacional

Proporciona la forma más precisa de determinar el modo de transmisión. (Fine J. y cols., 2014). Se extrae el ADN genómico aislado de leucocitos de sangre periférica, saliva o frotis bucal del paciente y de sus padres (para determinar el patrón de herencia) (Debra international, 2019). Estas pruebas pueden ser:

a) Secuenciación de Sanger (SS) (**figura 3**) de un gen específico: fue el primer método diagnóstico para identificar las variantes patogénicas en EB. Los

productos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se generan utilizando pares de cebadores específicos de genes que cubren las regiones codificantes y los límites exón-intrón. Posteriormente, estos son examinados por SS. La SS directa es un método rápido y rentable para (i) pruebas genéticas de genes candidatos conocidos; (ii) identificación del portador cuando se conozca la variante patógena de la familia; (iii) cribado prevalente de la variante fundadora o patógena étnica; (iv) confirmar variantes patogénicas identificadas usando otras técnicas genéticas (Has C. y cols., 2020 a)

b) Secuenciación de próxima generación (SPG): técnica utilizada para analizar varios genes y una gran cantidad de muestras de ADN en paralelo. Se puede aplicar para secuenciar solo ADN objetivos definidos (p. Ej., Paneles de genes dirigidos) o para secuenciar exomas completos (secuenciación del exoma completo, SEC), genomas (secuenciación del genoma completo) o transcriptomas (RNA-Seq), seguido de una prueba posterior de filtración. Se utiliza principalmente cuando (i) los pacientes presentan heterogeneidad genética; (ii) en casos sin un gen candidato claro; (iii) en los que se han descartado genes candidatos; (iv) o en los casos en que la SS fue el primer método elegido y no identificó la variante patogénica. En padres clínicamente no afectados, el mosaicismo puede ser

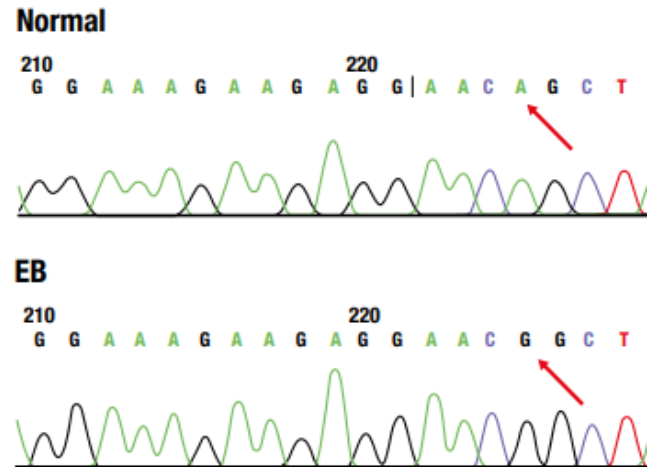


Figura 3. Secuenciación de Sanger. El panel superior muestra una secuencia de ADN normal y el panel inferior la secuencia de ADN de una persona con EB. Las flechas rojas indican la "A" normal y la "G" aberrante, variante que causa la enfermedad (Debra international, 2019).

detectado por SPG. La técnica SEC es efectiva para encontrar nuevos genes, así como variantes multigénicas (Has C. y cols., 2020 a).

2.2.2 Mapeo por inmunofluorescencia (MIF)

El método inmunohistoquímico para determinar la expresión de antígenos con MIF (**figura 4**), se realiza a partir de una biopsia cutánea, que involucre una ampolla reciente (<12 hrs) y piel circundante sin lesión (Has C. y cols., 2020 a). Se utiliza una serie de cortes delgados de 4 a 6 μm de la piel del paciente y muestras de piel humana sana. Se utiliza el colágeno tipo IV como marcador proteico para determinar el plano de escisión (colágeno IV no se ve

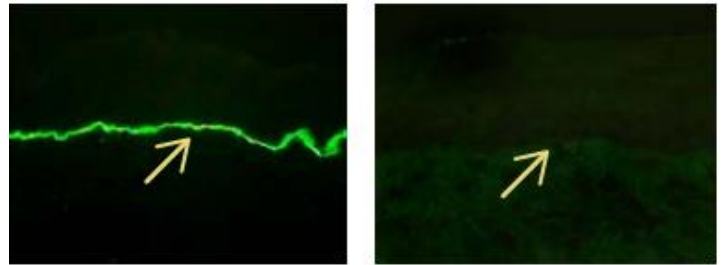


Figura 4. Mapeo por inmunofluorescencia. Izquierda: muestra de piel sana teñida con LH:7.2, anticuerpo que reconoce colágeno VII (línea verde). Derecha: muestra de piel de una persona con EBDR, ausencia total de colágeno VII (Debra international, 2019).

afectado en EB), permitiendo el diagnóstico del tipo principal de EB: la tinción en el fondo de la ampolla es indicativa de una lesión intraepidérmica (EB simplex) o de la unión (EB de la unión); la tinción en el techo define una ampolla dérmica (EB distrófica); si es variable o en múltiples niveles, el tipo de EB será de Kindler (Has C. y cols., 2020 a). Además, permite evaluar la presencia, ausencia, expresión reducida o alterada de proteínas asociadas con EB mediante reactivos específicos (anticuerpos de origen animal) que se unen a las proteínas estructurales que se desean estudiar. Esto sirve como pronóstico de la evolución y desenlace clínico de la enfermedad, debido a que la ausencia total de las proteínas específicas se asocian con fenotipos graves, mientras que la expresión disminuida se asocia con un fenotipo clínico más leve (Has C. y Bruckner-Tuderman L., 2014; Debra international, 2019; Has C. y cols., 2020a). La falta de formación de ampollas y / o la expresión normal de los anticuerpos pueden no ser concluyentes e impedir un diagnóstico del tipo o subtipo de EB. En tales casos, los hallazgos de la MET, pueden ser útiles para la evaluación y se deben realizar pruebas genéticas.

2.2.3 Microscopia electrónica de transmisión (MET)

Técnica que se utiliza para examinar la ultraestructura de la piel. Rara vez se utiliza en el diagnóstico estándar, pero puede ser útil para casos difíciles de resolver. Permite que las muestras se amplíen hasta 10 millones de veces y se realiza a partir de una biopsia (misma técnica anterior) (Debra international, 2019). Es un método caro, laborioso y necesita más tiempo que el MIF, requiere de un trabajo técnico altamente calificado para el procesamiento, preparación de las muestras, observación e interpretación y se realiza en un número limitado de centros. Además, en varios subtipos de EB no hay hallazgos ultraestructurales específicos para su identificación (Has C. y cols., 2020 a).

2.3 CLASIFICACIÓN DE LA ENFERMEDAD

La clasificación de EB es compleja: variantes en el mismo gen pueden ser heredadas de manera autosómica dominante o recesiva y pueden generar fenotipos clínicos distintos; fenotipos similares pueden ser dominantes o recesivos, o pueden ser causadas por variantes en genes diferentes (Has C. y cols., 2020b).

En febrero de 2020, se realizó la reclasificación consensuada de EB hereditaria, se decidió modificar los nombres de los subtipos, pero se mantuvo los principios generales propuestos por Fine J. y cols. en 2014 que se describen a continuación:

- 1.- Clasificar según tipo de EB principal basado en el nivel de escisión de la piel: (i) EB Simplex (EBS) intraepidérmico; (ii) EB de la unión o juntural (EBJ) dentro de la MB; (iii) EB distrófica (EBD) debajo de la MB; (iv) EB de Kindler (EBK) patrón mixto.
- 2.- Clasificar según características clínicas específicas: como la distribución (localizada o generalizada), gravedad de la afectación cutánea/extracutánea y presencia de hallazgos clínicos útiles para el diagnóstico como tejido de granulación exuberante, pigmentación moteada, pseudosindactilia, entre otros.
- 3.- Clasificar según características moleculares, según el patrón de herencia y el gen específico involucrado (Fine J. y cols., 2014; Has C. y cols 2020 b).

Otros trastornos con fragilidad de la piel, donde las ampollas son solo una parte menor del cuadro clínico o presentan escisión de la piel muy superficial, se clasifican en categorías separadas. Se debe tener en cuenta que existen otros trastornos con fragilidad de la piel para el diagnóstico diferencial, entre ellos:

enfermedad de descamación de la piel acral, trastornos erosivos con acantólisis debido a defectos desmosomales e ictiosis (Has C. y cols., 2020b). Los trastornos de fragilidad de la piel sindrómicos son aquellos que se caracterizan por manifestaciones primarias de otros órganos o sistemas (Has C. y cols., 2020b).

2.4 DESCRIPCIÓN DE LOS TIPOS Y SUBTIPOS DE EB

2.4.1 Epidermólisis bullosa simplex (EBS)

En personas con EBS, las ampollas se generan a nivel de la epidermis. Los subtipos más prevalentes son causados por variantes monoalélicas dentro de los genes que codifican queratina 5 o 14, y comprenden los subtipos: **localizado** (antes conocido como Weber-Cockayne), **intermedio** (intermedio generalizado o Köbner) y **severo** (generalizado severo o Dowling-Meara). Existe un amplio espectro de severidad clínica (**figura 5**) que varía desde ampollas menores en los pies, hasta subtipos con compromiso extracutáneo y alta letalidad (Has C. y cols., 2020b). El desarrollo del pelo, dientes y uñas suele ser normal (Vara J. y cols., 2012). Las ampollas aparecen durante el primer año de vida y a veces al nacer (Clavería R. y cols., 2015). Los subtipos menos comunes pueden ser autosómicos dominantes o recesivos, algunos causados por variantes con consecuencias moleculares que no se comprenden completamente, son clínicamente heterogéneos e incluyen varios trastornos sindrómicos (Has C. y cols., 2020b). Los subtipos clínicos de EBS, gen y proteína afectada se ilustran en la **tabla 1**.

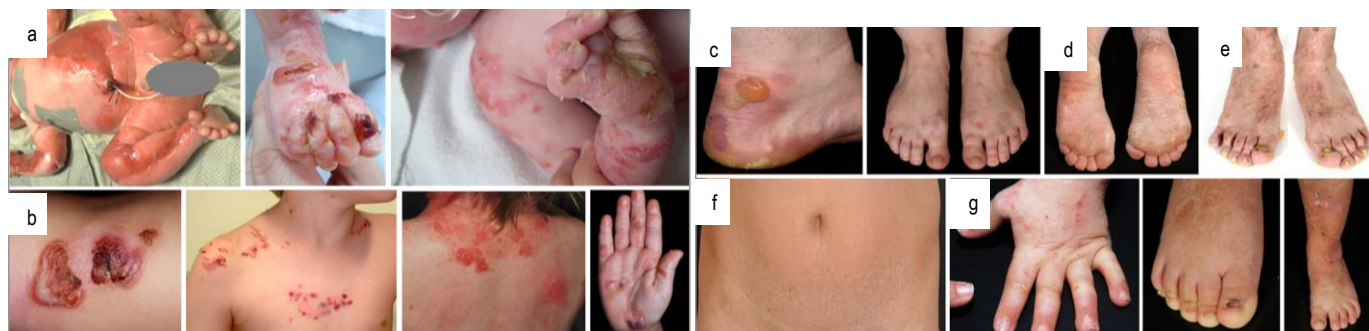


Figura 5. Características clínicas de pacientes con EBS. (a) EBS neonatal severa con ampollas, úlceras y costras generalizadas en la piel. (b) EBS severa: ampollas herpetiformes y formación de costras con base inflamatoria (típico en este subtipo). (c) EBS localizada: Ampollas tensas y erosiones que afectan los sitios de fricción. (d) EBS severa: queratodermia plantar, se encuentra en los tres subtipos comunes de EBS. (e) EBS severa: uñas gruesas y distróficas. (f) EBS con pigmentación moteada: Hipo e hiperpigmentación moteada en la parte inferior del abdomen. (g) EBS con miocardiopatía: Costras superficiales, erosiones y cicatrices (Adaptado de Has C. y cols., 2020b).

Tabla 1. Subtipos clínicos de EBS, gen y proteína afectada (Adaptado de Has C. y cols., 2020b).

Subtipos clínicos de EBS	Gen Mutado	Proteínas Afectadas
<i>EBS autosómica dominante</i>		
Localizada	KRT5, KRT14	Queratina 5, queratina 14
Intermedia	KRT5, KRT14	Queratina 5, queratina 14
Severa	KRT5, KRT14	Queratina 5, queratina 14
Con pigmentación moteada	KRT5	Queratina 5
Eritema circinado migratorio	KRT5	Queratina 5
Intermedia	PLEC	Plectina
Intermedia con miocardiopatía	KLHL24	"Kelch-like member" 24
<i>EBS autosómica recesiva</i>		
Intermedia o severa	KRT14, KRT5	Queratina 14, queratina 5
Intermedia	PLEC	Plectina
Localizada o intermedia con deficiencia de BP230	DST	Antígeno penfigoide ampolloso 230 (BP230) (sin. BPAG1e) (distonina)
Localizada o intermedia con deficiencia de exofilina-5	EXPH5	Exophilina-5 (sin. Slac2-b)
Intermedia con distrofia muscular	PLEC	Plectina
Severa con atresia pilórica	PLEC	Plectina
Localizada con nefropatía	CD151	CD151 (antígeno CD151)

Los subtipos "intermedio con miocardiopatía", "intermedio con distrofia muscular", "grave con atresia pilórica" y "localizado con nefropatía", son subtipos sindrómicos de EBS.

2.4.2 Epidermólisis bullosa de la unión o juntural (EBJ)

Se caracteriza por presentar herencia autosómica recesiva y la formación de ampollas dentro de la lámina lúcida, atribuible principalmente a variantes en laminina 332 y colágeno XVII (Pipa M. y cols., 2010). Pueden estar afectadas las mucosas oculares y orales, vías urinarias, esófago, faringe y uñas. La gravedad varía considerablemente entre los dos subtipos principales: **intermedio** (generalizado intermedio, no-Herlitz), que pueden disminuir la gravedad con el tiempo, y **severo** (generalizado severo, Herlitz) con alta tasa de letalidad en los primeros 6 a 24 meses de vida (**figura 6**) (Clavería R. y cols., 2015; Has C. y cols., 2020b). En EBJ severa hay ausencia completa de laminina 332 y se caracteriza por una separación epidérmica generalizada, por ausencia completa de placas densas sub-basales, reducción en el tamaño, número de hemidesmosomas o una combinación de estas (Pulkkinen L. y cols., 1994; McGrath J. y cols., 1995; Ashton G. y cols., 1997; McMillan J. y cols., 1998; Shinkuma S. y cols., 2011). Pacientes

con EBJ intermedia pueden presentar hemidesmosomas normales, reducidos en tamaño o número (McGrath J. y cols., 1995; McMillan J. y cols., 1998; Shinkuma S. y cols., 2011), presentan alteración de las mucosas al igual que las uñas (Clavería R. y cols., 2015). Los subtipos clínicos en EBJ, con sus respectivo gen y proteína afectada se ilustran en la **tabla 2**.



Figura 6. Características clínicas de pacientes con EBJ. EBJ severa (a) Piel neonatal con ampollas y costras generalizadas. Tejido de granulación de dedos distales, cara y orejas son comunes. EBJ intermedia (b) Heridas crónicas sobregranuladas, (c)(d)(e)(f) Uñas distróficas y pérdida de alguna de ellas, ampollas, costras y cicatrices, en la piel, (g) Alopecia cicatricial y no cicatrizante con cabello irregularmente escaso, (h) Defectos del esmalte dental y lesiones de caries (Adaptado de Has C. y cols., 2020b).

Tabla 2. Subtipos clínicos de EBJ, gen y proteína afectada (Adaptado de Has C. y cols. 2020b).

Subtipos clínicos EBJ	Gen Mutado	Proteínas Afectadas
Severa	LAMA3, LAMB3, LAMC2	Laminina 332
Intermedia	LAMA3, LAMB3, LAMC2	Laminina 332
Intermedia	COL17A1	Colágeno tipo XVII
Con atresia pilórica	ITGB4, ITGA6	Integrina $\alpha6\beta4$
Localizada	LAMA3, LAMB3, LAMC2, COL17A1, ITGB4	Laminina 332, colágeno tipo XVII, integrina $\alpha6\beta4$, subunidad de integrina $\alpha3$
Inversa	LAMA3, LAMB3, LAMC2	Laminina 332
Inicio tardío	COL17A1	Colágeno tipo XVII
Síndrome LOC	LAMA3A	Laminina $\alpha3A$
Con enfermedad pulmonar intersticial y síndrome nefrótico.	ITGA3	Subunidad de integrina $\alpha3$

Los subtipos “con atresia pilórica” y “con enfermedad pulmonar intersticial y síndrome nefrótico”, son subtipos sindrómicos de EBJ.

2.4.3 Epidermólisis bullosa distrófica (EBD)

Se caracteriza por presentar ampollas justo debajo de la lámina densa, en la porción más superficial de la dermis, por alteración en la cantidad o calidad de las fibrillas de anclaje, refleja la patología molecular subyacente a variantes en el gen *COL7A1* (codificador de colágeno VII, principal componente de las fibrillas) (Has C. y cols., 2020b). Puede heredarse por patrón dominante (EBDD) que presentan manifestaciones más leves, o recesivo (EBDR), que, por lo general, tienen complicaciones cutáneas y extracutáneas. La característica clínica distintiva de EBDR es la cicatrización fibrótica después de la formación de ampollas, tanto en la piel como en mucosas, que generan retracción de la piel palmar en las manos y pies (fenómeno llamado pseudosindactilia) y otras malformaciones musculoesqueléticas, además de la formación de milias sobre lesiones cicatrizadas (**figura 7**) (McGrath J. y cols., 1995; Shinkuma S. y cols., 2011; Clavería R. y cols., 2015; Has C. y cols., 2020b). Los subtipos principales de EBD incluyen **EBDD localizada** (incluye los subtipos EBDD solo uñas, EBDD pretibial y acral), **EBDD intermedia** (antes conocida como EBDD generalizada), **EBDR intermedia** (antes conocida como EBDR generalizada intermedia, EBDR no Hallopeau-Siemens) y **EBDR severa** (antes EBDR generalizada severa, Hallopeau – Siemens), **tabla 3** (Has C. y cols., 2020b).



Figura 7. Características clínicas pacientes con EBD. (a) Fragilidad y ulceración cutánea generalizada en neonatos. (b) (c) Ampollas y heridas extensas que conducen a cicatrices y contracturas articulares. (d)(e) Pérdida de dedos distales, fusión digital y contracturas de flexión aumentan con la edad. (f) El carcinoma de células escamosas es común, especialmente en los sitios acrales y extremidades inferiores (Adaptado de Has C. y cols., 2020b).

Tabla 3. Subtipos clínicos de epidermólisis bullosa distrófica (EBD), gen y proteína afectada. En negrita los subtipos más frecuentes (Adaptado de Has C. y cols., 2020b).

Subtipos EBD	Gen Mutado	Proteína Afectada
<i>EBD autosómica dominante (EBDD)</i>		
Intermedia Localizada Pruriginosa <i>Self-Improving</i>	COL7A1	Colágeno tipo VII
<i>EBD autosómica recesiva (EBDR)</i>		
Severa Intermedia Inversa Localizada Pruriginosa <i>Self-Improving</i>	COL7A1	Colágeno tipo VII
<i>Dominante y recesivo (heterocigosidad compuesta)</i>		
EBD severa	COL7A1	Colágeno tipo VII

2.4.4 Epidermólisis Bullosa de Kindler (EBK)

Se han reportado alrededor de 250 individuos desde la primera descripción en 1954, es más común en poblaciones aisladas o consanguíneas (Kindler T., 1954; Penagos H., y cols 2004; Youssefian L. y cols., 2015; Has C. y cols., 2020b). Se transmite en forma autosómica recesiva y la fragilidad de piel y mucosas disminuyen con la edad (Torres C. y cols., 2011; Clavería R. y cols., 2015). Se produce por variantes en el gen que codifica kindlin-1 (*FERMT1*) (Fine J. y cols., 2014), proteína intracelular de adherencias focales (Has C. y cols., 2020b). Las características clínicas (**figura 8**) de esta condición son: piel delgada y arrugada, llamada “papel de cigarrillo”; fotosensibilidad, que conlleva eritema y ardor después de la exposición al sol; poiquilodermia, caracterizada por telangiectasia reticular, hipopigmentación e hiperpigmentación moteadas de la piel palmo-plantar con fisuración observada en aproximadamente el 65% de los individuos afectados; también se puede presentar pseudosindactilia y afectación de las mucosas: ojos, boca y periodonto, tracto gastrointestinal, vagina, uretra (Youssefian L. y cols., 2015).

2.5 AVANCES TERAPÉUTICOS



Figura 8. Características clínicas pacientes con EBK. Atrofia de la piel y poiquilodermia en las manos y el cuello. (Adaptado de Has C. y cols., 2020b)

Si bien aún no se ha encontrado una cura para la EB, el progreso tecnológico ha incrementado las oportunidades para hallarla y/o para desarrollar un tratamiento que atenúe los síntomas propios de cada condición. Los estudios se han concentrado principalmente en los tipos de EB más severos (Nyström A. y cols., 2018; Bruckner-Tuderman L., 2019). Los diferentes enfoques terapéuticos con sus respectivos resultados son resumidos en la **tabla 4** a continuación:

Tabla 4. Enfoques terapéuticos en EB y resultado general (efectividad) de estudios preclínicos y clínicos. Se indica la proteína o tipo de EB que se estudió; si se ha presentado algún efecto adverso en al menos uno de los estudios; referencia donde se ha descrito el tratamiento.

	Estudios preclínicos			Estudios clínicos			
	Proteína	Efectividad	Referencias	Tipo de EB	Efectividad	Efectos adversos	Referencias
Trasplante de médula ósea	Colágeno VII	Sí	Chino T. y cols. 2008; Tolar J. y cols., 2009; Iinuma S. y cols., 2015	EBDR	Sí	Sí	Wagner J. y cols., 2010
	Laminina 332	-	-	EBJ	No	No	Hammersen J. y cols., 2016
Células estromales mesenquimales	Colágeno VII	Sí	Alexeev V. y cols., 2011; Liao Y. y cols., 2014; Kühl T. y cols., 2015; Liao Y. y cols., 2015; Webber B. y cols., 2017	EBDR	Sí	No	Conget P. y cols., 2010; Ju Lee S. y cols., 2020; Martínez-Santamaría L. y cols., 2020
Terapia de fibroblastos	Colágeno VII	Sí	Fritsch A. y cols., 2008	EBDR	Sí	No	Wong T. y cols., 2008; Lwin S. 2020; Marinkovich M. y cols., 2020; Spellman M., 2020
Terapia génica no viral	Colágeno VII	Sí	Zhou D. y cols., 2016; Sumeray M., 2020b	-	-	-	-
Terapia de empalme trans	Colágeno VII	Sí	Peking P. y cols., 2017	-	-	-	-
Terapia de edición génica	Laminina 332	Sí	Melo S. y cols., 2014	EBJ	Sí	No	Mavilio F. y cols., 2006
	Colágeno VII	Sí	Sebastiano V. y cols., 2014	EBDR	Sí	No	Gorell E. y cols., 2020
Terapia con oligonucleótidos antisentido	Colágeno VII	Parcial	Goto M. y cols., 2006; Bremer J. y cols., 2016; Turczynski S. y cols., 2016	EBJ	Sí	No	van den Akker P., y cols., 2020
Terapia de reemplazo de proteínas	Laminina 332	Sí	Igoucheva O. y cols., 2008	-	-	-	-
	Colágeno VII	Sí	Woodley D. y cols., 2004	-	-	-	-
Compuestos inductores de lectura de CTP	Colágeno VII	Sí	Cogan J. y cols., 2014; Atanasova V. y cols., 2017	EBDR	Sí	No	Woodley D. y cols., 2020
Modulación de la autofagia	-	-	-	EBDR	Sí	Sí	del-Río, E., 1993; El-Darouti M. y cols., 2013; Kaushik, A. y cols., 2020
Antifibróticos	TGFβ	Sí	Nyström A. y cols., 2015	EBDR	Sí	No	Inamadar A. y cols., 2020; Kiritsi D., 2020
Antiinflamatorios y antiproteolíticos	-	-	-	EBS, EBJ, EBD	Sí	No	Spellman M., 2020, Sumeray M., 2020a

2.6 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS ORALES SEGÚN TIPO DE EB

La frecuencia y gravedad de las manifestaciones orales en EB varían según tipo clínico; sin embargo, comprenden lesiones vesiculares-bullosas que varían desde vesículas pequeñas, hasta ampollas extensas y confluentes que causan fibrosis progresiva y que pueden distribuirse en todas las superficies mucosas. (Krämer S. y cols., 2020). La literatura que describe las características orales a menudo precede a los esquemas de clasificación actuales, en muchos reportes no especifican el subtipo clínico, existe una superposición de descripciones clínicas, falta información sobre pruebas de diagnóstico de laboratorio y faltan formularios estandarizados para evaluar características clínicas orales en EB, por lo tanto, las cifras que se darán a continuación deben ser analizadas con precaución (Krämer S. y cols., 2020).

2.6.1 EBS: La presencia de úlceras en mucosa oral en pacientes con EBS varía según autor, describiéndose desde un 2% a un 40,3% de los casos (Krämer S. y cols., 2020). Se presenta en el 58,6% de los pacientes con EBS intermedia y entre 0% a 34,7% en pacientes con EBS localizada (Wright J. y cols., 1991). Son más comunes alrededor de la edad perinatal (Krämer S. y cols., 2020).

2.6.2 EBJ: Gran porcentaje de los pacientes presenta úlceras intraorales o áreas de tejido de granulación (**figura 9**) (83.3% en subtipo severo y 91,6% en otros subtipos), algunas lesiones tardan semanas, meses o incluso años en sanar (Sedano H. y cols., 1989; Krämer S. y cols., 2020). Rara vez presentan obliteración vestibular o microstomía (Crawford E. y cols., 1976; Wright J. y cols., 1991). Se han reportado 40 informes de pacientes que presentan hipoplasia del esmalte (Krämer S. y cols., 2020), Wright J. y cols., reportan que el 100% de las personas con EBJ presentaron esta característica (Wright J. y cols., 1993c). Sin embargo, la gravedad de los defectos del esmalte varía entre dientes e individuos (Brain E. y



Figura 9. Características clínicas orales de pacientes con EBJ. Se observa tejido de granulación perioral, hipoplasia en el esmalte y destrucción coronaria generalizada (Tomado de Krämer S. y cols., 2020)

cols., 1968; Crawford E. y cols., 1976; Wright J. y cols., 1994; Krämer S. y cols., 2020).

2.6.3 EBD: No hay acuerdo sobre el alcance del compromiso de la mucosa oral en EBDD. Hay informes que reportan un 20% de los pacientes con ampollas, otros entre un 71.1 a 89.6% de los pacientes. Las contracturas de la mucosa, obliteración de vestíbulo y anquiloglosia, no parecen ser complicaciones a largo plazo (Krämer S. y cols., 2020).

Por otro lado, casi todos los pacientes con EBDR severa (**figura 10**) e intermedia, presentan úlceras intraorales, microstomía progresiva, obliteración vestibular, anquiloglosia, lengua depapilada y grandes depósitos de placa, se han reportados casos de carcinoma de células escamosas y anomalías oclusales (Crawford E. y cols., 1976; Wright J. y cols., 1991; Wright J. y cols. 1994; Serrano J. y cols., 2001; De Benedittis M. y cols., 2004; Azrak B. y cols., 2006; Penarrocha M. y cols., 2007; Siqueira M. y cols., 2008; Krämer S. y cols., 2020). Existe un incremento en gingivitis (78,2%) (Harris J. y cols., 2001), mas no parece haber un incremento en periodontitis en comparación a población sana (Kaslick R. y cols., 1961; Harel-Raviv M. y cols., 1995; Krämer S. y cols., 2020). Hay un aumento de lesiones de caries (**Figura 10 g**), debido a que, a pesar de tener secreción salival normal y no presentar alteración estructural en los dientes, los factores de riesgo prevalecen: la dieta blanda, alteraciones en la inmunoglobulina A presente en el surco gingival (Goldschneider K. y cols., 2010), microstomía, anquiloglosia, obliteración del vestíbulo oral y pseudosindactilia (que dificultan una adecuada higiene oral), generan un riesgo extremadamente alto de nuevas lesiones de caries, en particular en las caras linguales de los dientes (Krämer S. y cols., 2020).

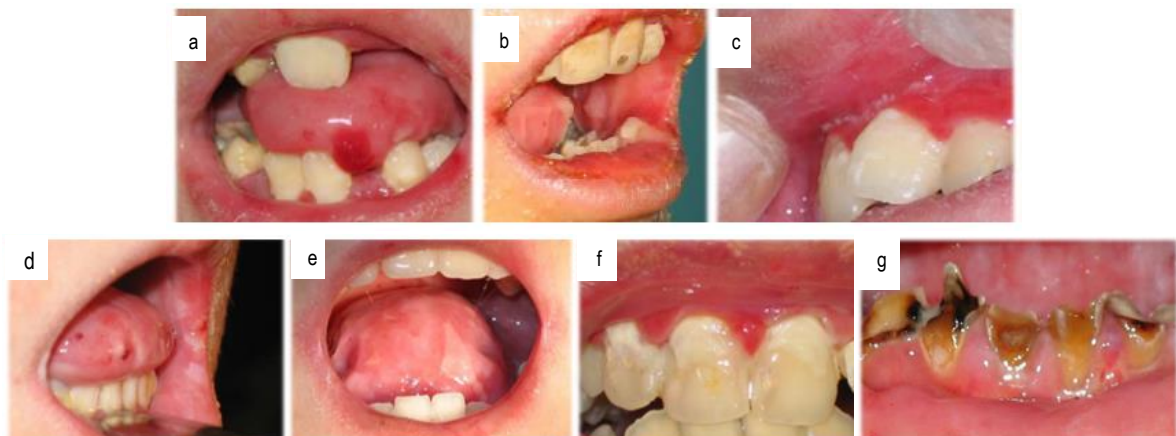


Figura 10. Características clínicas orales de pacientes con EBDR. a) ulcera lingual, b) microstomía, c) obliteración vestibular, d) anquiloglosia, e) depapilación lingual, f) depósitos de placa y gingivitis g) aumento de lesiones de caries (Adaptado de Krämer S. y cols., 2020).

Los pacientes con EBDR inversa presentan gran presencia de ampollas en la mucosa sobre todo en la región sublingual, anquiloglosia, depapilación lingual, ausencia de rugas palatinas, obliteración vestibular, microstomía y aumento de lesiones de caries. (Krämer S. y cols., 2020).

2.6.4 EBK: pueden presentar mucosa frágil, microstomía, obliteración parcial del vestíbulo (**figura 11**), enfermedad periodontal (72%) con inicio temprano y progresión rápida. Se ha descrito predisposición a carcinoma de células escamosas con 7 reportes de casos (Krämer S. y cols., 2020).



Figura 11. Características clínicas orales de pacientes con EBK. a) microstomía, b) obliteración vestibular (Tomado de Krämer S. y cols., 2020).

2.7 OBLITERACIÓN DE VESTÍBULO EN PERSONAS CON EBDR

En personas con EBDR, las ampollas y áreas ulceradas tienden a sanar con cicatrices y fibrosis en los tejidos: ocurre la acumulación desproporcionada de colágeno en la matriz (principalmente I y III), que impiden la restauración de la arquitectura y función normal del tejido (Coelho N. y cols., 2016; Nyström A. y Bruckner-Tuderman L., 2018). La fibrosis en mucosa oral se produce por varios



Figura 12. Obliteración severa del vestíbulo oral en pacientes con EBDR (Tomado de Krämer S., 2006).

factores que incluyen hipoxia, un aumento de la respuesta inflamatoria, angiogénesis anormal y la persistencia de miofibroblastos en el entorno de la herida (Häkkinen L. y cols., 2011) y causa microstomía, anquiloglosia y obliteración vestibular que puede generar la pérdida de movilidad de los labios (Boyer H. y cols., 1961; Buduneli E. y cols., 2003; Torres C. y cols., 2011). La obliteración severa del vestíbulo (**figura 12**) ha sido reportada principalmente en personas con EBDR severa, lo cual conlleva dificultades para comer, realizar la higiene oral (provocando un aumento de lesiones de caries), proporcionar tratamiento dental, restricción

del habla, masticación y deglución (Buduneli E. y cols., 2003; Krämer S. y cols., 2020). En casos extremos, la pérdida de vestíbulo puede ser total, generando continuidad de las mejillas y labios con las coronas de los dientes (Wright J. y cols., 2010), la encía libre vestibular de la región anterior puede moverse con movimientos menores de los labios (Buduneli E. y cols., 2003). La vestibuloplastía y la cirugía plástica periodontal para profundizar el vestíbulo o restaurar la altura de la cresta alveolar, se han reportado en dos pacientes con EBDD (Brain J. y cols., 1999; Buduneli E. y cols., 2003) y se recomienda cuando la obliteración afecta la calidad de vida o la función oral del paciente; a pesar de que la vestibuloplastía en pacientes con EBDR sev ha sido reportada solo una vez por Baeza M. y cols., 2019, parece una técnica prometedora para esta condición (Krämer S. y cols., 2020). Para estudiar la disminución del vestíbulo oral en pacientes con EB, se debe entender este parámetro clínico en salud.

2.8 VESTÍBULO ORAL

El vestíbulo (**figura 13**) comprende la porción externa de la cavidad oral, y determina un espacio en forma de herradura que marca la reflexión de la membrana mucosa desde los labios y las mejillas hasta la encía. Los límites del vestíbulo incluyen



Figura 13. Vestíbulo oral. Se indica con línea azul la extensión del vestíbulo.

tejidos blandos de los labios en anterior, lateralmente por las mejillas, el rafe pterigomandibular por posterior y los arcos dentales como límite interno (Laine F. y Smoker W., 1995; von Arx T. y cols., 2017).

2.8.2 Mucosa vestibular: El vestíbulo se encuentra recubierto por mucosa oral: a) Mucosa masticatoria: está presente desde el margen gingival hasta el límite mucogingival, corresponde al 25% de la mucosa total de la boca e incluye la encía libre, adherida e interdental. Está firmemente unida por fibras de colágeno al cemento y periostio alveolar, posee una superficie queratinizada para resistir la carga y fuerzas abrasivas asociadas con la masticación. La mucosa gingival, está

formada por epitelio grueso ortoqueratinizado o paraqueratinizado, una lámina propia con papilas largas y estrechas, tejido conectivo colaginoso denso y asas capilares largas con numerosas anastomosis. (Cruchley A. y Bergmeier L., 2018).

b) Mucosa de revestimiento: está presente desde el límite mucogingival hasta el límite mucocutáneo, cubre aproximadamente el 60% de la mucosa oral, una de sus características principales es que es libre y móvil. Existe una reducción de resistencia al daño producto del menor número de tonofilamentos presentes y su distribución aleatoria, hay menor presencia de desmosomas y una disminución de su tamaño, sin embargo, permite que la mucosa cumpla su función de revestimiento. La mucosa labial y bucal presenta epitelio escamoso estratificado no queratinizado grueso, lamina propia con papilas largas y delgadas; tejido conectivo fibroso denso con colágeno y fibras elásticas. En la submucosa, la mucosa se encuentra firmemente unida al músculo subyacente por colágeno y elastina y presenta tejido conectivo colaginoso denso con glándulas salivales y a veces sebáceas (Cruchley A. y Bergmeier L., 2018).

2.8.1 Variabilidad del vestíbulo oral: El vestíbulo es muy dinámico y cambia constantemente de tamaño y forma durante los movimientos de la mandíbula, la masticación y la activación de los músculos periorales (von Arx T. y cols., 2017). El ancho y profundidad vestibular varía entre diferentes individuos (Ward V., 1976; Chen J. y cols., 2014) y cambia con la edad, en niños el vestíbulo es poco profundo y aumenta con la erupción de los dientes permanentes (von Arx T. y cols., 2017). Algunos parámetros clínicos que se han asociado a la profundidad vestibular son (i) la inserción muscular, (ii) la altura del labio, (iii) altura del hueso alveolar (Padmini H. y cols., 2018). Después de una exodoncia, el hueso alveolar sufre una reabsorción vertical-horizontal y en consecuencia disminuye de tamaño (Schropp T. y cols., 2003; Covani U. y col., 2011; Tan W. y cols., 2012; Pietrokovski J., 2013; von Arx T. y cols., 2017), se exagera con el tiempo y ocurre en mayor medida en mandíbula y lado vestibular (Stoppenbrink, D. y cols., 2019). Existe una asociación negativa débil significativa entre la profundidad de vestíbulo y la recesión gingival mandibular, pero no significativo en maxilar (Padmini H. y cols., 2018). Por otro lado, no existe correlación entre la profundidad de vestíbulo y

el ancho de la encía adherida ($p>0.05$), ni entre la profundidad de vestíbulo y la inflamación gingival o higiene oral (Padmini H. y cols., 2018).

2.8.3 Profundidad Vestibular: Al revisar la literatura, no existe definición del término "profundidad vestibular", aunque éste es ampliamente utilizado y aceptado. Además, es un parámetro clínico muy poco estudiado y la escasa literatura se enfoca principalmente en pacientes desdentados. Uno de los límites del vestíbulo puede definirse como el punto de mayor concavidad del pliegue mucobucal. Sin embargo, el otro límite del vestíbulo es más difícil de establecer, ya que puede tomarse como: (a) cresta del labio, (b) borde incisal del diente, (c) margen gingival, (d) unión mucogingival, por lo cual se hace difícil la comparación de resultados entre diferentes estudios (Ward V., 1976).

2.9 RELEVANCIA DEL ESTUDIO

La calidad de vida de las personas con EBDR se ve fuertemente afectada por el dolor constante que genera la formación de las úlceras y la alteración funcional a consecuencia de las complicaciones que produce la fibrosis de múltiples tejidos, como lo es la obliteración vestibular bucal. Se sabe también, que personas con el mismo subtipo de EB pueden presentar diferencias en el fenotipo clínico. Así, la información pronóstica que otorga el diagnóstico del subtipo de EB de una persona no permite determinar si presenta o presentará obliteración vestibular. Evaluar la asociación entre la consecuencia funcional de las variantes genéticas y la manifestación clínica de obliteración vestibular, podría ayudar a determinar y prever información pronóstica temprana para los pacientes con EBDR. En paralelo, no existe literatura que establezca si existe asociación entre la pérdida de dientes y la profundidad de vestíbulo oral en pacientes con EB y sus distintos tipos y subtipos. Tampoco está claro desde que edad se produce la obliteración vestibular en estos pacientes. Todos estos parámetros serán abordados en el presente estudio.

3 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS:

3.1 HIPÓTESIS:

En personas con Epidermólisis Bullosa, la profundidad promedio del vestíbulo oral se asocia con el número de dientes perdidos, gen afectado y con la consecuencia funcional del RNA mensajero o de la proteína provocada por la respectiva variante.

3.2 OBJETIVOS:

3.2.1 Objetivo general

Determinar la asociación de la profundidad promedio de vestíbulo oral con el número de dientes perdidos, gen afectado y consecuencia funcional del mRNA o de la proteína predicha en pacientes con EB, comparados con pacientes sanos.

3.2.2 Objetivos específicos

- Clasificar la cohorte de pacientes con EB y relacionando las variables entre sí según tipo, subtipo, gen afectado, género, edad y distribución geográfica.
- Determinar la profundidad promedio de vestíbulo oral y número de dientes perdidos en la cohorte de pacientes con EB y pacientes sanos.
- Recopilar los datos genéticos en relación a las variantes observadas en dicho gen (genotipo), en la cohorte de pacientes con EB.
- Evaluar, bioinformáticamente y con apoyo de literatura científica, la consecuencia funcional que causa la variante gen-específica sobre el RNA mensajero y la proteína.
- Determinar si existe asociación entre la profundidad promedio de vestíbulo oral (PPVO) con parámetros demográficos (género y edad), otro parámetro clínico (número de dientes perdidos), y genéticos (gen afectado, consecuencia funcional del mRNA o proteína).

4. MATERIALES Y MÉTODOS:

4.1 TIPO DE ESTUDIO

Investigación de tipo observacional, descriptiva y transversal.

4.2 PARTICIPANTES

4.2.1 Universo: Personas con Epidermólisis Bullosa que viven en Chile y personas sanas que viven en Santiago de Chile.

4.2.2 Muestra: Noventa pacientes bajo el cuidado de Debra-Chile que asistieron a la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile (FOUCh), en el periodo comprendido entre agosto de 2005 a julio de 2006 y abril de 2015 a enero de 2017 (32 meses). Ciento cinco pacientes sanos que consultaron en la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile en el mismo periodo.

4.2.3 Criterios de Inclusión:

- ❖ Personas que hayan sido diagnosticadas con EB hereditaria, confirmado por análisis genético.
- ❖ Personas que presentaron un subtipo diagnosticado de acuerdo con la clasificación de Has C. y cols., 2020.

4.2.4 Criterios de Exclusión:

- ❖ Personas cuyo diagnóstico no fue confirmado a través de análisis genético.
- ❖ Pacientes con al menos 1 variante genética no encontrada.
- ❖ Pacientes que hayan sido sometidos a vestibuloplastía o cirugía plástica vestibular previo a la evaluación.
- ❖ Pacientes que además de EB tenían otra genopatía diagnosticada.

4.2.5 Reclutamiento de pacientes: Los pacientes fueron reclutados en el periodo señalado en el punto 4.2.2. En Chile, las personas que presentan signos y síntomas de ampollas en la piel, lo que sugiere EB, son referidos a Debra Chile. Esta institución llega a Chile en 2007, a partir de la Fundación Debra International, red mundial de grupos nacionales que trabajan en nombre de los afectados por

EB. Su objetivo es garantizar que las personas que viven con EB tengan acceso a la atención médica y soporte de la mejor calidad, al tiempo que impulsa el desarrollo de tratamientos y curas eficaces para la EB. La FOUCh, posterior a firmar el convenio (1/07/2013) con fundación Debra Chile, es la institución encargada de brindar atención odontológica a todos los afiliados que presentan la condición dentro del territorio nacional (Debra Chile, n.d; Debra international, n.d.).

4.3 PROCEDIMIENTOS CLÍNICOS

4.3.1 Calibración. El examen clínico y registro de los datos fue realizado por tres investigadores que previamente se calibraron inter e intraoperador para estandarizar la obtención de los datos. Ésta constó en un examen clínico oral utilizando el formulario de evaluación de la salud bucodental adaptado para pacientes con EB (**anexo 1**) en dos pacientes con la condición y se repitió el procedimiento a los mismos pacientes, con un intervalo de 2 semanas. Una vez completada la calibración, a cada investigador se les asignó un número identificador.

4.3.2 Información a pacientes, tutores y/o apoderados. A los pacientes con EB que asistieron a la FOUCh se les invitó a ser parte del proyecto. Antes de iniciar el examen oral se procedió a explicar a los pacientes, tutores y/o apoderados, el procedimiento a realizar, en qué consiste el estudio y cuál es el fin de realizar dicho procedimiento. A los pacientes que estuvieron dispuestos a participar se les solicitó firmar el formulario de consentimiento/asentimiento informado según correspondía (**anexos 2, 3 y 4**).

4.3.3 Entorno y ubicación. El examen oral fue realizado en una unidad dental, utilizando luz del sillón dental, espejo bucal N°4 (22mm diámetro) y sonda periodontal Universidad Carolina del Norte Hu-Friedy, ambos envaselinados para no generar ampollas en los tejidos orales. La evaluación de salud oral se realizó en la unidad de Cuidados Especiales de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile y la información fue registrada en un formulario de evaluación de salud bucodental adaptado para pacientes con EB (**anexo 1**).

4.3.4 Examen clínico intraoral,

permitió medir la profundidad de vestíbulo de los pacientes a examinar. El método utilizado para la medición de vestíbulo oral fue el de Krämer S., 2006, el cual se relata brevemente a continuación:

La PPVO se midió en milímetros (mm) con una sonda periodontal (Carolina del Norte) desde el fondo del vestíbulo (zona de reflexión de los tejidos) hasta la papila de la pieza correspondiente o hasta el límite superior del reborde alveolar en caso de tratarse de una zona edéntula (**figura 14**). Se hicieron mediciones en relación a dientes índices:

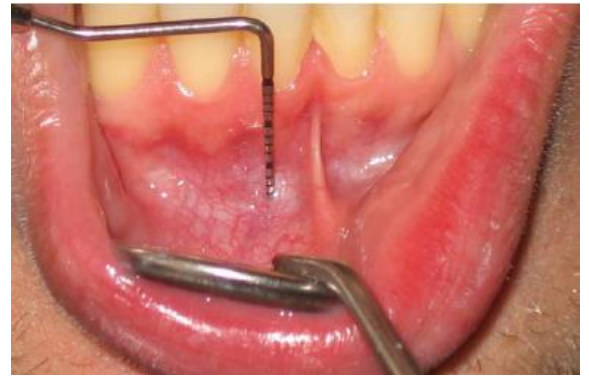


Figura 14. Método de medición de PPVO (Tomado de Krämer S., 2006).

- Los primeros molares permanentes, o en caso de no haber erupcionado aún, se midió en relación a los segundos molares temporales; superiores e inferiores, derechos e izquierdos.
- Caninos superiores e inferiores, derechos e izquierdos.
- Incisivo central superior derecho
- Incisivo central inferior izquierdo

4.3.5 Registro de los datos. Después de realizar el examen oral completo, de acuerdo con el protocolo del Proyecto FONDECYT N°11140440, la información de cada examen clínico fue registrada en una ficha construida a partir del formulario OMS de evaluación de salud bucal (**anexo 1**). A cada paciente se le asignó un número identificador para el manejo de los datos. Posterior a la medición de profundidad de vestíbulo, se tabularon los datos obtenidos y calculó la PPVO, además, se tabularon los datos genéticos de cada paciente, edad, género, localización geográfica e índices COPD/ceod para obtener la cantidad de dientes perdidos en ambas denticiones.

4.4 OBTENCIÓN DE DATOS GENÉTICOS.

4.4.1 Variantes en genes causales o relacionados con EB: Los datos genéticos correspondientes a la(s) variante(es) específica(s) en un determinado gen, que portan los pacientes de la cohorte afectada por EB, fueron obtenidos de la base de datos de la fundación Debra Chile. Los diagnósticos genéticos fueron obtenidos por la secuenciación masiva y dirigida del DNA genómico de los pacientes usando un panel de genes relacionados con EB, que además de las secuencias exónicas de cada gen, incluye 25 bases de secuencia intrónica en ambos extremos flanquantes al exón, para abarcar la detección de variantes de procesamiento. Estos genes son: *KRT5*, *KRT14*, *PLEC*, *ITGA6*, *ITGB4*, *COL17A1*, *LAMA3*, *LAMB3*, *LAMC2*, *FERMT1*, *COL7A1*, *PKP1*, *JUP*, *DSP*, *DST*, *TGM5*, *ITGA3*, *EXPH5*, *DSG1*, *DSG2*, *DSG3*, *DSG4*, *COL4A2*, *COL4A6*, *PKP2*, *CSTA*, *CHST8*, *CDSN*, *GRIP1*, *NID1*, *CD151*, *MMP1*, *PRKG1*, *KIT*, *KRT6A*, *KRT6B*, *KRT6R*.

4.4.2 Consecuencia funcional predicha del RNA mensajero (mRNA) o de la proteína: Con los datos de las variantes gen-específicas que porta cada paciente, expresados a nivel del cDNA (c.), se realizaron análisis bioinformáticos, usando herramientas de predicción *in silico*, para determinar el efecto de la(s) variante(es) sobre el mRNA (variantes de procesamiento) y sobre el potencial codificante de la proteína predicha (variantes en sentido erróneo). Para el análisis de variantes de procesamiento se usó el programa NNSplice y para cambios en las zonas codificantes se usó el programa Polyphen-2.0, programas que se encuentran disponibles on-line (Richards S. y cols., 2015). Adicionalmente, este trabajo estuvo siempre apoyado por análisis de literatura donde se haya reportado previamente las diferentes variantes.

4.5 DESCRIPCIÓN Y MEDICIÓN DE VARIABLES INCLUIDAS EN LA INVESTIGACIÓN

Las variables que se consignaron o midieron en este estudio fueron:

4.5.1 Variables Cuantitativas (Numéricas).

a) Edad. Variable cuantitativa discreta. Se les preguntó a los pacientes la fecha de nacimiento y edad al momento del examen odontológico. Según la edad registrada de cada paciente, se clasificaron en rangos etarios: de 0 a 5 años 11 meses, de 6 a 11 años 11 meses, de 12 a 17 años 11 meses y de 18 años o más. Se estudió si existe diferencia en la PPVO de los distintos rangos etarios, y si existe diferencia en la PPVO de personas con EB y personas sanas pertenecientes al mismo rango etario.

b) Profundidad promedio del vestíbulo oral (PPVO). Esta variable continua se midió en milímetros. Las mediciones se realizaron usando una sonda periodontal (Carolina del Norte) tal como se indica en el punto 4.3.4 de esta sección. Los resultados obtenidos de los 10 diente índices (por persona), se promediaron. Corresponde a la variable de interés principal.

c) Número de dientes perdidos. Esta variable continua discreta se expresó como números de 1 a 20 en dentición temporal y de 1 a 28 en dentición permanente (sin contar terceros molares). Para medir esta variable se utilizó como variable proxy el índice COPD y ceod. Para referirnos a los dientes perdidos, a partir de este índice se utilizó la variante “P” para dientes permanentes y la variante “e” para dientes temporales. En pacientes con dentición mixta se sumaron las variante “P” y “e”. Se midió de forma visual y táctil siguiendo los criterios de la OMS (WHO, 2013). Se estudió si existe una asociación entre el número de dientes perdidos y la PPVO en pacientes con EB, comparados con pacientes control.

4.5.2 Variables cualitativas (No numéricas).

a) Género. Variable cualitativa nominal, los pacientes fueron clasificados en hombre (1) o mujer (0). Se buscó comparar la profundidad promedio de vestíbulo oral entre hombres y mujeres con EB y pacientes sanos, para evaluar si el género afecta la obliteración de los vestíbulos.

b) Gen afectado por variante(es). La información sobre el gen que se encuentra afectado en cada paciente con EB fue obtenida de la base de datos de la fundación Debra Chile, información señalada en el punto 4.4.1 de la sección de materiales y métodos. Este dato quedó consignado en la planilla de datos creada y se usó el símbolo del gen de acuerdo a la nomenclatura de la Sociedad de

Variación del Genoma Humano (HGVS). Se pretendió relacionar esta información genética con la PPVO.

c) Consecuencia funcional predicha del RNA mensajero (mRNA) o de la proteína, provocada por la variante gen-específica. Los datos relacionados con la(s) variante(s) que porta cada paciente con EB se obtuvieron de la base de datos de la fundación Debra Chile. Las variantes fueron registradas y nombradas a nivel de c.DNA, siguiendo la nomenclatura de la Sociedad de Variación del Genoma Humano (HGVS). Cada cambio fue analizado bioinformáticamente y apoyado con la literatura como se describe en el punto 4.4.2 de la sección de materiales y métodos. Similar a lo anterior, se analizó la asociación de estos datos con la PPVO.

4.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Toda la información obtenida, posterior al análisis clínico y genético, fue recopilada en planillas del programa Microsoft Office: Microsoft Excel. La estadística se realizó usando los programas Stata/IC 15.1 ® y SPSS Statistics®. Se determinó el tipo de distribución de los datos a través de la prueba de Shapiro-Wilk. Se llevó a cabo la estadística descriptiva y se expresó en términos de mediana y rango para variables con distribución no normal. Para comparar las medianas entre estos grupos, se usó la prueba de Wilcoxon Mann-Whitney si se presentaban dos variables y la prueba de Kruskal Wallis en los casos que presentaban más de dos variables. Se utilizó la prueba de Chi-cuadrado de Spearman (para distribución no normal) para determinar la asociación entre las distintas variables. El valor $p < 0,05$ fue considerado como límite de significación.

4.7. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El estudio fue adscrito al proyecto PRI-ODO 19/007: “Determinación de la asociación Fenotipo-Genotipo en personas con Epidermólisis Bullosa”, extensión del proyecto FONDECYT “Determining the genetic basis of Epidermolysis bullosa symptoms through Genotype-Phenotype associations using Next Generation Sequencing”, al cual se le otorgó la aprobación ética para la realización del

presente estudio por el Comité Ético Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, en sesión del día 15 de abril del año 2015 (**anexo 5**). Como se mencionó anteriormente, previo a la evaluación de PPVO, se aplicó el formulario de consentimiento informado a los tutores en caso de ser menores de edad, donde se le explicó al paciente, de manera escrita y verbal, los procedimientos a realizar y la finalidad del estudio (**anexo 2**). A pacientes que tenían entre 12 y 17 años, se les solicitó completar y firmar el formulario de asentimiento informado para pacientes (**anexo 3**) y el formulario de asentimiento para tutores y/o apoderados (**anexo 4**).

5 RESULTADOS

5.1 DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA.

5.1.1 Muestra total de pacientes con EB y pacientes sanos.

En el periodo de evaluación, que abarcó desde agosto de 2005 a julio de 2006 y abril de 2015 a enero de 2017, se evaluó un total de 195 pacientes. De ellos, 90 formaron parte del grupo afectado con EB y 105 fueron controles sanos.

5.1.2 Análisis de la muestra de estudio según tipo, subtipo de EB y gen afectado.

El detalle del tipo y subtipo de EB de la muestra se puede observar en la **tabla 5**. La muestra del grupo de estudio representó un 40.9% de las personas con EB vivas en Chile. De los 14 subtipos de EBS descritos a nivel mundial, en Chile hay personas diagnosticadas con 6 de estos subtipos y 4 de ellos se incluyeron en este estudio, lo que corresponde a un 16.5% del total de individuos con la condición. El subtipo EBS con más personas afectadas en Chile es EBS localizada con 49 personas, sin embargo, sólo 3 de ellas participaron en este estudio; con EBS intermedia hay 30 personas afectadas y se incluyeron 11. Los demás subtipos de EBS tienen una prevalencia mucho más baja. En Chile, sólo 7 personas presentan EBJ, quienes tienen los dos subtipos principales de EBJ, de los 9 reconocidos por la clasificación de Has C. y cols. 2020. De estas 7 personas, se incluyeron 4 y ambos subtipos. El tipo de EB con mayores registros en Chile es epidermólisis bullosa distrófica, que incluye personas que presentan 6 subtipos diferentes de los 11 reconocidos a la fecha, en este estudio se incluyeron pacientes con 5 subtipos distintos, lo que corresponde a un 63% del total de personas con EBD en Chile. Los subtipos más prevalentes son: EBDR severa, con 40 individuos y EBDR intermedia con 27, de los cuales 36 (90%) y 14 individuos (51.9%) formaron parte del estudio, respectivamente. La prevalencia de EBK en Chile es muy baja, sólo 2 personas la presentan y 1 de ellos fue parte de esta investigación.

En el presente estudio, el 18.9% de los pacientes con EB presentó EBS (n = 17), 4.4% tenía EBJ (n = 4), 75.6% presentó EBD (n = 68) y 1.1% EBK (n = 1).

Tabla 5: Personas con EB registradas en la base de datos Debra Chile, ordenadas por tipo y subtipo de EB. Se indica el número y porcentaje de pacientes que participaron en el estudio.

Tipo EB	Subtipo EB	Personas registradas en Chile	Personas incluidas en el estudio	Porcentaje de personas incluidas en el estudio en relación a las registradas en Chile
EBS (Simplex)	6 subtipos EBS registrados en Chile (de 14 subtipos reconocidos en la clasificación Has C. y cols., 2020)	103	17	16,5%
	EBS localizada (EBS loc)	49	3	6,1%
	EBS intermedia (EBS int)	30	11	36,7%
	EBS con pigmentación moteada (EBS pm)	2	0	0%
	EBS autosómica recesiva intermedia (EBS AR int)	2	2	100%
	EBS Intermedia con deficiencia de exofilina 5 (EBS int def E5)	1	1	100%
	EBS con distrofia muscular (EBS dm)	4	0	0%
	Sin subtipo diagnosticado	15	0	0%
EBJ (Unión)	2 subtipos EBJ registrados en Chile (de 9 subtipos reconocidos en la clasificación Has C. y cols., 2020)	7	4	57,1%
	EBJ severa (EBJ sev)	4	1	25%
	EBJ intermedia (EBJ int)	3	3	100%
EBD (Distrófica)	6 subtipos EBD registrados en Chile (de 11 subtipos reconocidos en la clasificación Has C. y cols., 2020)	108	68	63%
	EBDD intermedia (EBDD int)	19	10	52,6%
	EBDD localizada (EBDD loc)	11	5	45,5%
	EBDD pruriginosa (EBDD pg)	5	0	0%
	EBDR severa (EBDR sev)	40	36	90%
	EBDR intermedia (EBDR int)	27	14	51,9%
	EBDR localizada (EBDR loc)	2	3	100%
	Sin subtipo diagnosticado	4	0	0%
EBK (Kindler)		2	1	50%
TOTAL	14 subtipos distintos registrados en Chile (de los 34 subtipos reconocidos en la clasificación de Has C. y cols., 2020)	220	90	40,9%

Los datos representados en la **figura 15** muestran la frecuencia de pacientes afectados con EB de acuerdo al gen estudiado. Se encontró que 68 pacientes presentaron variantes en el gen *COL7A1*, 11 tenían alteraciones en el gen *KRT5*, 5 en *KRT14*, 4 pacientes presentaron variantes en *LAMB3* y 2 mostraron alteraciones en los genes *EXPH5* y *FERMT1*, respectivamente.

5.1.3 Análisis de la muestra según género, edad y distribución geográfica de residencia.

En la **tabla 6** se observa la distribución por género de cada grupo. La proporción de hombres y mujeres en el grupo con EB fue de 0.96 y en el grupo control de 0.91. Al analizar los subgrupos de forma individual la proporción de géneros varía dado el n reducido de éstos (EBS loc, EBS AR int, EBS int def exofilina 5, EBJ y sus subtipos, EBDR loc y EBK).

El rango de edad de los pacientes sanos fue de 0,5 a 66 años, con una mediana de 13 años y el de la muestra de pacientes con EB fue de 0,2 a 66 años, con una mediana de 14 años. Los pacientes con EBS y EBD presentaron un amplio rango de edades, desde bebés hasta adultos y en el caso de EBD, se incluyó un adulto mayor. En cambio, los pacientes con EBJ presentaron un rango de edades más acotado, de 4 a 22 años. Las medianas de las edades de los diferentes tipos de EB fueron: para EBS = 17 años, EBJ = 6,5 años, EBD = 14 años y EBK= 14 años.

Las edades medianas de los pacientes a nivel de subtipos de EB fueron calculadas con datos de niños, adolescentes y adultos jóvenes, exceptuando los pacientes con EBDR loc, cuya edad mediana fue de 54 años. Los pacientes con subtipos de EB que mostraron tendencia a presentar menores edades medianas fueron: EBS AR, EBJ int, EBJ sev y EBDD loc.

La distribución geográfica del grupo de pacientes con EB, mostrada en la **figura 16**, abarca gran parte del territorio nacional. El 48,9% reside en la región metropolitana, mientras que el 51,1% restante proviene de todas las demás regiones del país, exceptuando la región de Arica y Parinacota, Atacama y Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo.

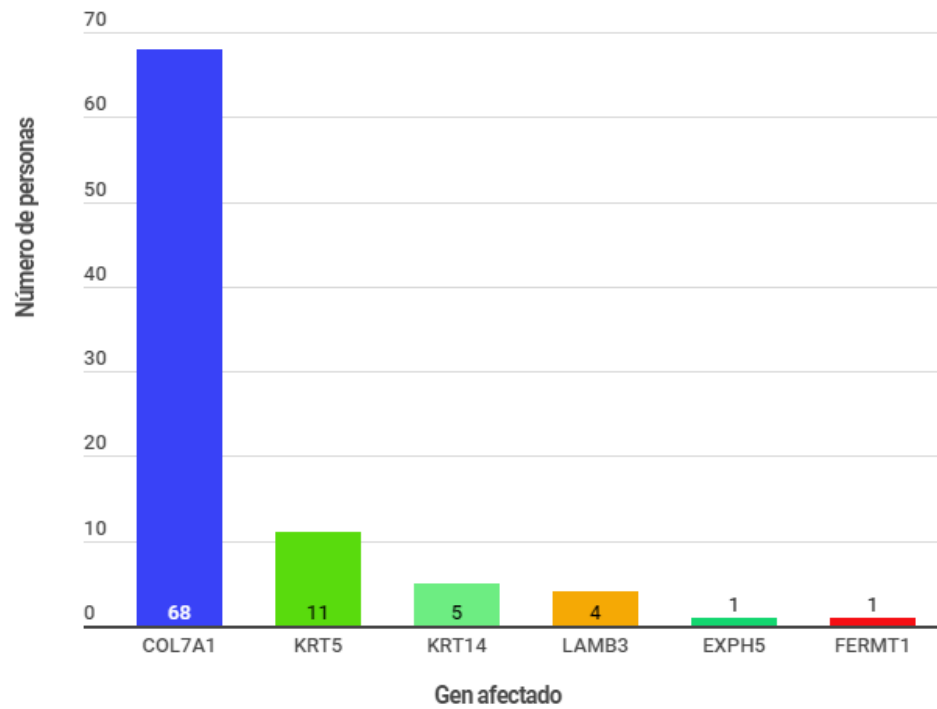


Figura 15: Gráfico de barras que muestra el número de personas con EB según el gen que presentan alterado, en uno o dos alelos.

Tabla 6.- Análisis de la muestra según condición, tipo y subtipo de EB. Se presentan el número y porcentaje de hombres y mujeres por grupo; las medianas y rangos de edad por grupo; distribución geográfica de los pacientes, clasificándose según su residencia en: región metropolitana y en otras regiones, se indica el número de individuos y su porcentaje en función al total del grupo.

Grupo de estudio (n)	Tipo de EB (n)	Subtipo de EB (n)	Género n° hombres (%) / n° mujeres (%)	Edad Mediana (rango)	Distribución Geográfica RM (%) / No RM (%)
Control (105)			50 (48%) / 55 (52%)	13 (0.5-66)	105 (100%) / 0 (0%)
EB (90)			44 (49%) / 46 (51%)	14 (0.2-66)	44 (48.9%) / 46 (51.1%)
	EBS (17)		9 (53%) / 8 (47%)	17 (0.4-58)	11 (64.7%) / 6 (35.3%)
		EBS int (11)	5 (45.5%) / 6 (54.5%)	20 (4-58)	7 (63.6%) / 4 (36.4%)
		EBS loc (3)	2 (67%) / 1 (33%)	17 (8-30)	3 (100%) / 0 (0%)
		EBS ARint (2)	1 (50%) / 1 (50%)	2.7 (0.4-5)	0 (0%) / 2 (100%)
		EBS int def exofilina 5 (1)	1 (100%) / 0 (0%)	9	1 (100%) / 0 (0%)
	EBJ (4)		2 (50%) / 2 (50%)	6.5 (4-22)	2 (50%) / 2 (50%)
		EBJ int (3)	2 (67%) / 1 (33%)	6 (4-22)	2 (67%) / 1 (33%)
		EBJ sev (1)	0 (0%) / 1 (100%)	7	0 (0%) / 1 (100%)
	EBD (68)		33 (48.5%) / 35 (51.5%)	14 (0.2-66)	31(45.6%) / 37(54.4%)
		EBDD int (10)	6 (60%) / 4 (40%)	11.5 (0.4-35)	8 (80%) / 2 (20%)
		EBDD loc (5)	2 (40%) / 3 (60%)	4 (2-5)	5 (100%) / 0 (0%)
		EBDR sev (36)	15 (42%) / 21 (58%)	14 (0.2-33)	7 (19.4%) / 29 (80.6)
		EBDR int (14)	9 (54%) / 5 (36%)	20 (7-49)	8 (57.1%) / 6 (42.9%)
		EBDR loc (3)	1 (33%) / 2 (67%)	54 (40-66)	3 (100%) / 0 (0%)
	EBK (1)		0 (0%) / 1 (100%)	14	0 (0%) / 1 (100%)

RM: Personas que residen en la región metropolitana

No RM: Personas que residen en todas las demás regiones (no metropolitana), exceptuando las regiones de Arica y Parinacota, Atacama y Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo.

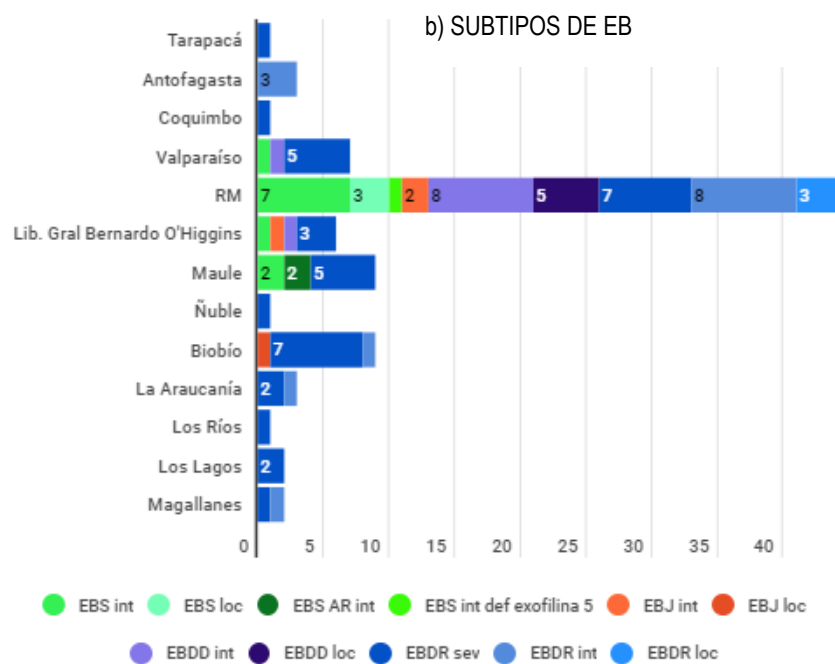
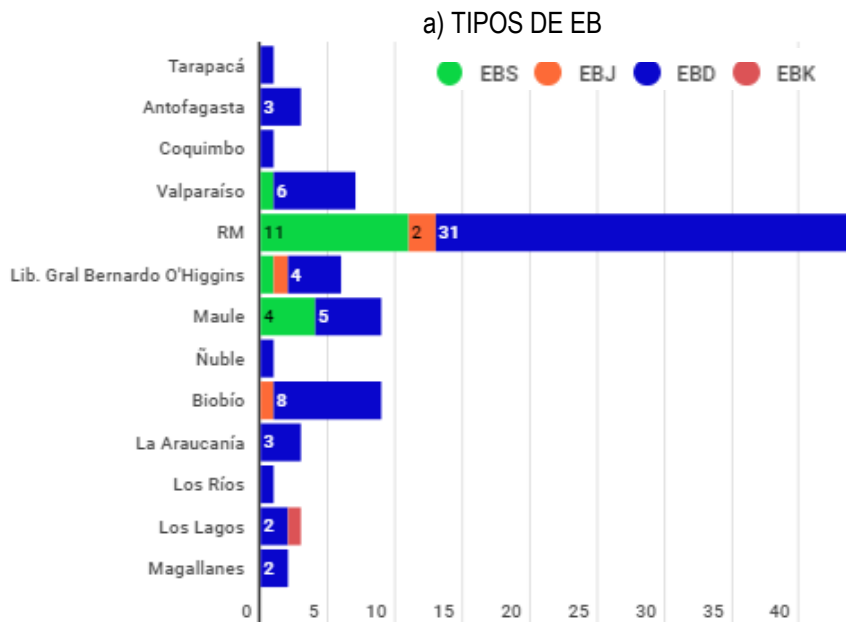
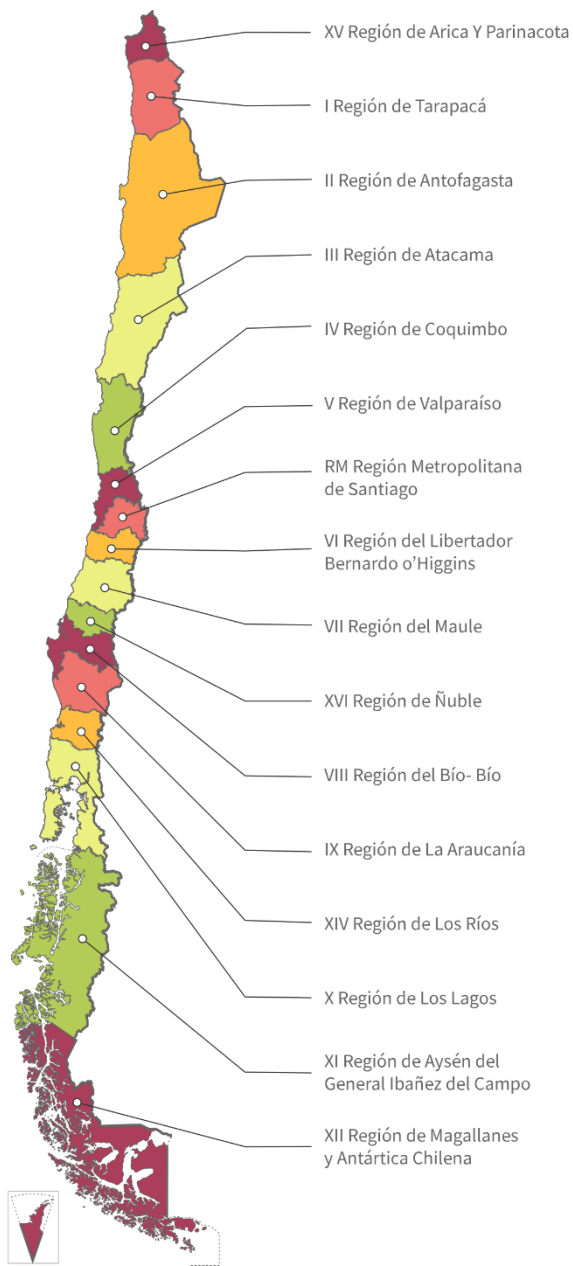


Figura 16. Gráficos de barras apiladas. a) Distribución geográfica de la muestra de pacientes según tipo de EB. b) Distribución geográfica de la muestra según subtipo de EB.

Los pacientes con EBS se concentran en las regiones de la zona centro del país. Dos de los pacientes que presentan EBJ viven en la región metropolitana, 1 en la región libertador general Bernardo O'Higgins y 1 en la región del Bío-Bío. En cuanto a los pacientes con EBD, se distribuyen a lo largo de todo el país, sin embargo, se concentran principalmente en la región metropolitana, seguida por la región del Biobío, Valparaíso y el Maule. El paciente con EBK reside en la región de Los Lagos.

Los pacientes con EBDD se concentran en la zona centro del país, en las regiones de Valparaíso, Metropolitana y de O'Higgins. Por otro lado, en todas las regiones del país vive al menos una persona que presenta EBDR sev de este estudio (exceptuando la región de Antofagasta y la regiones donde no viven personas con EB, nombradas anteriormente). Los pacientes con EBDR int también residen en el norte, centro y sur del país a pesar de que el n sea más bajo que el grupo anterior.

5.2. DESCRIPCIÓN Y ANÁLISIS DE LA PROFUNDIDAD PROMEDIO DE VESTIBULO ORAL.

La profundidad de vestíbulo oral se midió en 10 dientes índice y se obtuvo un promedio de los valores por persona. Se estudió la PPVO en cada grupo de estudio y se relacionó con el tipo y subtipo clínico de EB, con parámetros sociodemográficos, con otro parámetro clínico y parámetros genéticos. Los datos del grupo de estudio, tipo y subtipo de EB se pueden observar en la **tabla 7**.

5.2.1. Descripción y análisis de la profundidad promedio de vestíbulo oral en pacientes control y pacientes con EB.

Los valores de PPVO de personas sanas chilenas van desde 3,0 a 14,7 mm, con una mediana de 9,3 mm, sin embargo, tanto el valor mínimo como el valor máximo se consideran valores atípicos. El 50% de las personas sanas presentaron valores de PPVO, entre 8,2 y 10,2 mm. Por otro lado, los pacientes con EB presentaron valores de PPVO entre 0 a 13,7 mm, con una mediana de 5,7mm.

Tabla 7. Distribución de la variable profundidad promedio de vestíbulo oral (PPVO) en pacientes control y pacientes con EB. Se indican las medianas y rangos según condición (control y EB), según los diferentes tipos y subtipos de EB.

Grupo de estudio (n)	Tipo de EB (n)	Subtipo de EB (n)	Profundidad promedio de vestíbulo oral (mm) Mediana (rango)
Pacientes Control (105)			9,3 (3,0-14,7)^a
Pacientes con EB (90)			5,7 (0 – 13,7)^a
	EBS (17)	--	10,5 (4,1-13,7)^b
		EBS int (11)	11,4 (6,2-13,7)
		EBS loc (3)	8,1 (6,7-11,4)
		EBS AR int (2)	5,0 (4,1-5,8)
		EBS int def exofilina 5 (1)	11,5*
	EBJ (4)	--	9,6 (7,5-10,1)^c
		EBJ int (3)	10,0 (9,2-10,1)
		EBJ sev (1)	7,5*
	EBD (68)	--	3,6 (0,0-11,2)^{b, c}
		EBDD int (10)	8,7 (3,0-10,5)
		EBDD loc (5)	9,5 (7,8-9,9)
		EBDR sev (36)	2,1 (0,0-8,6)
		EBDR int (14)	<u>5,8 (0,6-11,2)</u>
		EBDR loc (3)	8,3 (6,0-9,8)
	EBK (1)	--	4,3*

^a: diferencias significativas entre las medianas de los valores de PPVO entre pacientes con EB y pacientes control (test Wilcoxon-Mann-Whitney p=0,0001)

^b: diferencias significativas entre las medianas de los valores de PPVO entre pacientes con EBD y pacientes con EBS (test Wilcoxon Mann-Whitney p= 0,000).

^c: diferencias significativas entre las medianas de los valores de PPVO entre pacientes con EBD y pacientes con EBJ (test Wilcoxon Mann-Whitney p= 0,011)

*: solo se indica mediana de PPVO, por ser un grupo con n=1

Como se observa en la **tabla 7**, existen diferencias significativas en las medianas de PPVO entre los pacientes sanos y grupo de estudio con EB (Test Wilcoxon-Mann-Whitney $p = 0,0001$).

5.2.2 Descripción y análisis de los valores de PPVO según tipo de EB, de acuerdo a la clasificación de Has C. y cols., 2020.

Las personas con EBS presentaron las mayores profundidades promedio de vestíbulo oral, asemejándose a los pacientes control, en cambio, los pacientes con EBD presentaron los menores valores, diferenciándose en forma significativa de los pacientes control, EBS y EBJ (**tabla 7** y **figura 17**). La prueba de Kruskal Wallis indica que hay diferencia estadísticamente significativas entre las medianas de la PPVO promedio de pacientes con diferentes tipos de EB ($p=0,0001$). La matriz de comparaciones múltiples nos permite determinar que:

1) Existen diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de PPVO del grupo control y pacientes con EBD, siendo estas medidas menores que las del grupo control, 3,6 mm versus 9,3 mm (test Wilcoxon Mann Whitney $p= 0,000$) (**tabla 7** y **figura 17**).

2) También se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de PPVO de los pacientes con EBD y EBS, y entre los pacientes con EBD y EBJ. La mediana de PPVO fue menor en pacientes con EBD (3,6 mm) comparada con las medianas de PPVO en pacientes con EBS (10,5 mm) (test Wilcoxon Mann Whitney $p= 0,000$) y EBJ (9,6 mm) (test Wilcoxon Mann Whitney $p= 0,011$) (**tabla 7** y **figura 17**).

5.2.3 Descripción y análisis de los valores de PPVO según subtipo de EB, de acuerdo a la clasificación de Has C. y cols., 2020.

Al observar los datos, destaca que los pacientes con EBDR se presentaron los menores valores registrados en todos los subtipos, con una mediana de 2,1 mm y fue el único grupo en presentar pacientes con vestíbulo de 0,0 mm, **tabla 7** y **figura 18**.

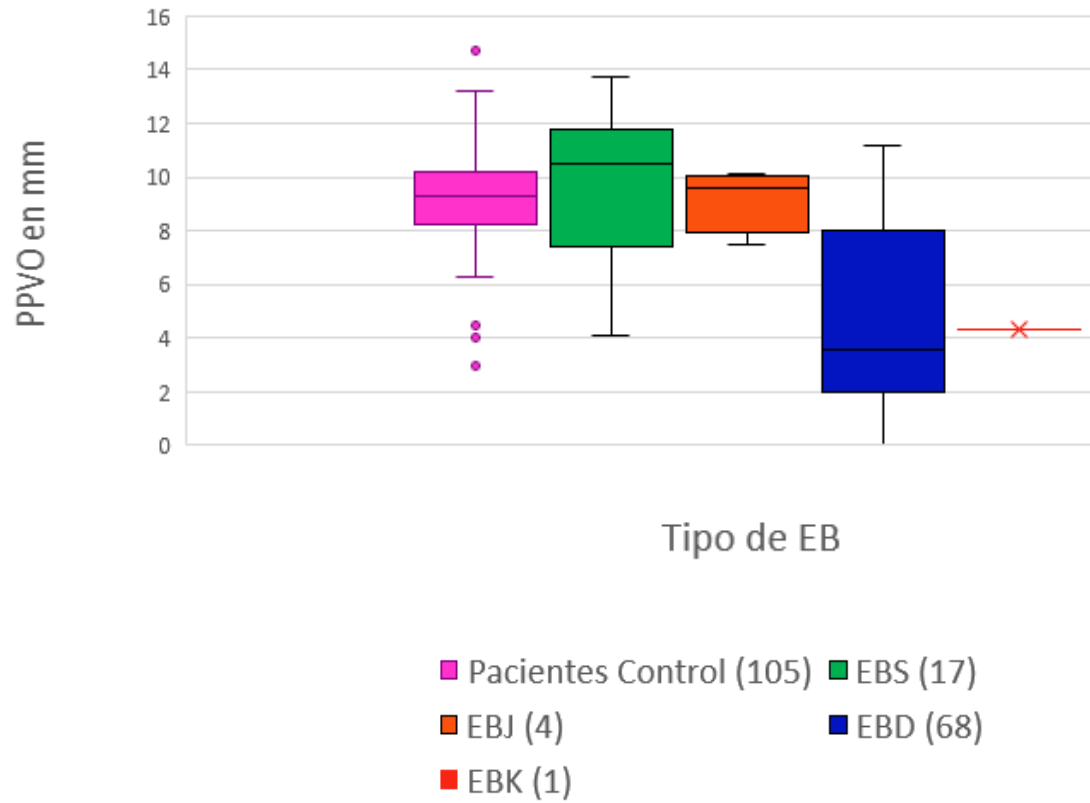


Figura 17.- Diagrama de caja y bigote que muestra la distribución de la profundidad promedio de vestíbulo oral (en milímetros) de los diversos tipos de EB estudiados.

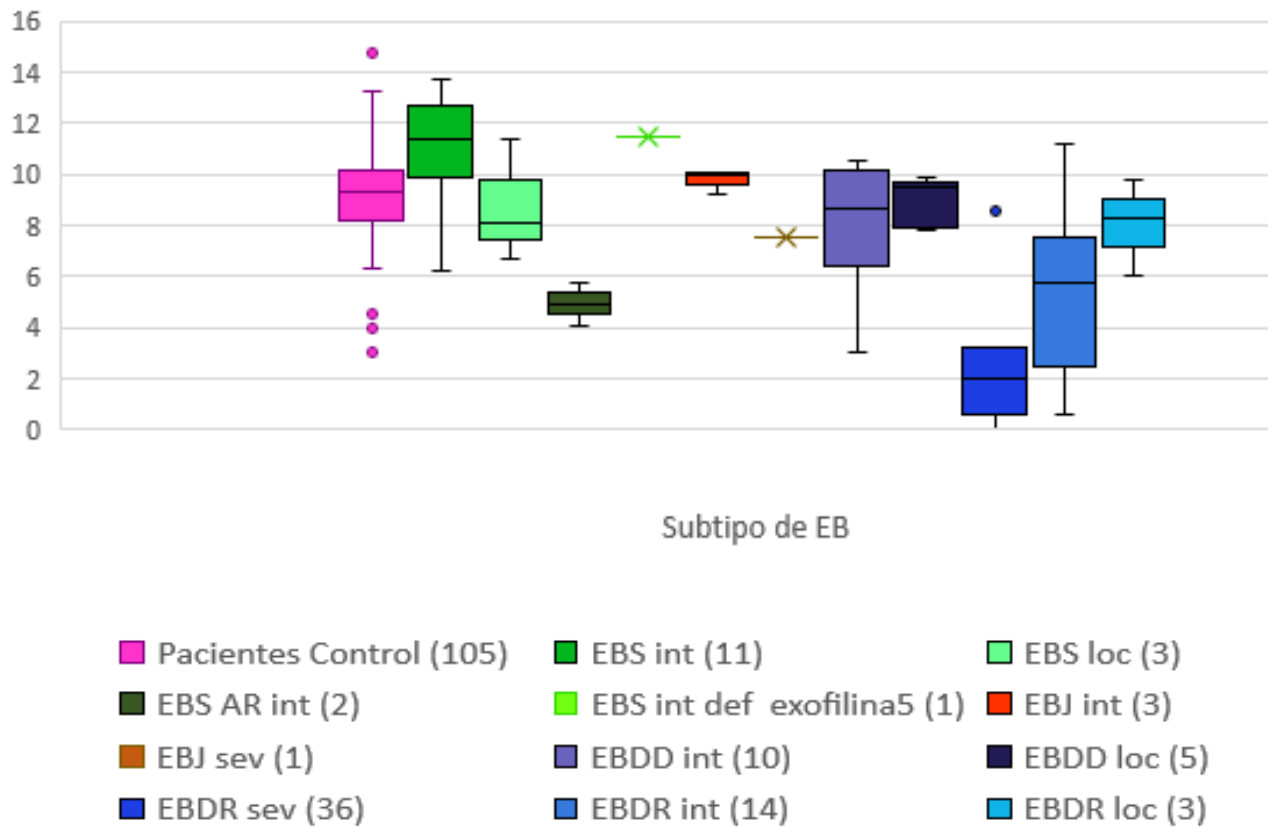


Figura 18. Diagrama de caja y bigote que muestra la distribución de la profundidad promedio de vestíbulo oral (mm) en los diversos subtipos de EB estudiados.

En la **figura 19** se observa el vestíbulo obliterado de un adulto con EBDR severa. En las **figuras 20 y 21**, se observa el vestíbulo normal de una adolescente con EBS localizada y un niño con EBJ intermedia, respectivamente.

Se realizó la prueba de Kruskal Wallis, la cual indicó que hay diferencia estadísticamente significativa entre medidas de PPVO de pacientes con diferentes subtipos de EB ($p=0,0001$). Para determinar entre cuáles están las diferencias, se realizó una matriz de comparaciones múltiples (los resultados de estas pruebas estadísticas pueden observarse en la **tabla 8**) y se determinó que:

- 1.- Los pacientes con EBS int presentaron una mayor mediana de PPVO, estadísticamente significativa comparada con las medianas de pacientes con EBS AR int, EBDD int, EBDD loc, EBDR sev, EBDR int y EBDR loc y control.
- 2.- Los pacientes con EBDR sev presentaron una mediana de PPVO significativamente menor al compararla con la mediana de pacientes con EBS int, EBS loc, EBJ int, EBDD int, EBDD loc, EBDR int, EBDR loc y control.
- 3.- Los pacientes con EBDR int presentaron una mediana de PPVO significativamente más profunda que EBDR sev y significativamente menos profunda que las personas con los subtipos EBS int, EBJ int, EBDD int, EBDD loc y el grupo control.

5.2.4 Descripción y análisis de la profundidad promedio de vestíbulo oral según parámetros sociodemográficos: género y edad.

a) Género

Al comparar las medianas de profundidad promedio de vestíbulo oral entre ambos géneros, descriptivamente se observa una profundidad levemente mayor en hombres que en mujeres. Sin embargo, al aplicar las pruebas estadísticas, la diferencia observada no resulta significativa.

b) Edad

En pacientes control, las medianas de PPVO aumentan progresivamente con la edad desde el rango etario de 0 a 5 años hasta el rango de 12 a 17 años, estabilizándose en esta edad con valores similares al rango 18 años o más.



Figura 19. Vestíbulo oral de paciente con EBDR severa.



Figura 20. Vestíbulo oral de paciente con EBS localizada.



Figura 21. Vestíbulo oral de paciente con EBJ intermedia.

Tabla 8. Matriz de comparaciones múltiples de resultados estadísticos, de medianas de PPVO según subtipo de EB.

Subtipo EB	EBS int	EBS loc	EBS AR int	EBS int def exof 5	EBJ int	EBJ sev	EBDD int	EBDD loc	EBDR sev	EBDR int	EBDR loc	Control
EBS int		0,160	0,030	0,885	0,311	0,192	0,012	0,035	0,000	0,000	0,035	0,006
EBS loc			0,083	0,180	0,513	0,655	0,933	0,763	0,006	0,088	0,827	0,562
EBS AR int				0,221	0,083	0,221	0,133	0,051	0,062	0,750	0,083	0,023
EBS int def exof 5					0,180	0,317	0,114	0,138	0,092	0,105	0,180	0,141
EBJ int						0,180	0,271	0,177	0,004	0,023	0,127	0,427
EBJ sev							0,527	0,138	0,111	0,354	0,655	0,175
EBDD int								0,806	0,000	0,028	0,800	0,232
EBDD loc									0,001	0,016	0,653	0,566
EBDR sev										0,001	0,006	0,000
EBDR int											0,165	0,000
EBDR loc												0,304
Control												

Resultado estadístico aplicando test de Wilcoxon Mann Whitney.

Al realizar la prueba de Kruskal Wallis, se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas de PPVO de los diferentes rangos etarios en los pacientes control ($p=0,000$), los resultados significativos se encuentran en la **tabla 9**. La PPVO de pacientes control por rango etario se puede observar en la **tabla 9** y representadas en las cajas de tonos rosados de la **figura 22**.

En los grupos de pacientes con EB, EBD y EBDR sev, en contraste, los pacientes que pertenecen al rango de menor edad son aquellos que presentaron mayores profundidades promedio de vestíbulo en comparación a los demás rangos etarios. Esto se puede observar en el ejemplo de los pacientes con EBDR sev en las cajas de tonos azules de la **figura 22**. A diferencia de los pacientes control, no existe diferencia significativa entre las medianas de profundidad promedio de vestíbulo oral de los diferentes rangos etarios en los pacientes con EB (Kruskal Wallis $p= 0,363$).

Se comparó las medianas de profundidad promedio de vestíbulo según cada rango etario entre pacientes control y pacientes con EB, EBD, EBDR sev y EBDR int. Se establece que:

- Control vs EB: a la edad de 0 a 5 años, las medianas de PPVO son iguales entre ambos grupos ($p=0,868$) y a partir de los 6 a 11 años, los pacientes con EB presentan una mediana de PPVO menor con una diferencia estadísticamente significativa con los pacientes control (6 a 11 años $p=0,001$; 12 a 17 años $p=0,001$; 18 años o más $p= 0,000$).
- Control vs EBD: En el rango etario de 0 a 5 años, los pacientes con EBD presentaron una mediana mayor a la de pacientes control. Sin embargo, en los demás rangos etarios hay un declive importante en las medianas de los pacientes con EBD, con una diferencia estadísticamente significativa ($p= 0,000$ en los tres rangos etarios). Desde los 6 a 11 años, el valor mínimo de PPVO fue 0.0 mm.
- Control vs EBDR sev: Los pacientes con EBDR severa presentaron valores muy inferiores en comparación al grupo control con una diferencia significativa de las medianas en todos los rangos etarios (0 a 5 años $p=0,013$, 6 a 11 años $p= 0,000$, 12 a 17 años $p= 0,000$, 18 años o más $p= 0,000$), **figura 22**.

Tabla 9. Mediana y rangos de PPVO según grupo etario de pacientes control, pacientes con EB, EBD, EBDR sev y EBDR int.

Muestra	Profundidad promedio de vestíbulo oral en mm							
	Mediana (rango)							
	0-5 años 11 meses	n	6 – 11 años 11 meses	n	12 – 17 años 11 meses	n	18 años o más	n
Pacientes Control	7,95 (3,0 -9,8) ^{a,b}	24	8,25 (7,4 - 10,5) ^{c,d}	26	10,25 (7,9 - 12,4) ^{a,c}	20	10 (7,8 - 14,7) ^{b,d}	35
Pacientes con EB	7,95 (2,0-10,5)	16	4,35 (0,0 - 11,5)	18	5,35 (0,0 - 13,6)	20	5,9 (0,0 - 13,7)	36
Pacientes con EBD	8,1 (2,0-10,5)	11	2,7 (0,0-10,1)	14	2,8 (0,0 - 11,2)	15	3,1 (0,0 -10,2)	28
Pacientes con EBDR sev	2,7 (2,0-5,0)	3	2,2 (0,0 – 5,5)	10	2,6 (0,0 – 5,4)	9	0,8 (0,0 – 8,6)	14
Pacientes con EBDR int		0	3,85 (2,5 – 5,2)	2	6,5 (2,4 – 11,2)	4	5,95 (0,6 – 8,7)	8

^a: diferencias significativas entre las medianas de los valores de PPVO entre pacientes control de 0 a 5 años 11 meses y pacientes con 12 a 17 años 11 meses del mismo grupo (test Wilcoxon-Mann-Whitney $p=0,000$)

^b: diferencias significativas entre las medianas de los valores de PPVO entre pacientes control de 0 a 5 años 11 meses y pacientes con 18 años o más del mismo grupo (test Wilcoxon Mann-Whitney $p= 0,000$).

^c: diferencias significativas entre las medianas de los valores de PPVO entre pacientes control de 6 a 11 años 11 meses y pacientes con 12 a 17 años 11 meses del mismo grupo (test Wilcoxon Mann-Whitney $p= 0,000$)

^d: diferencias significativas entre las medianas de los valores de PPVO entre los pacientes control de 6 a 11 años 11 meses y pacientes con 18 años o más (Wilcoxon Mann-Whitney $p= 0,000$)

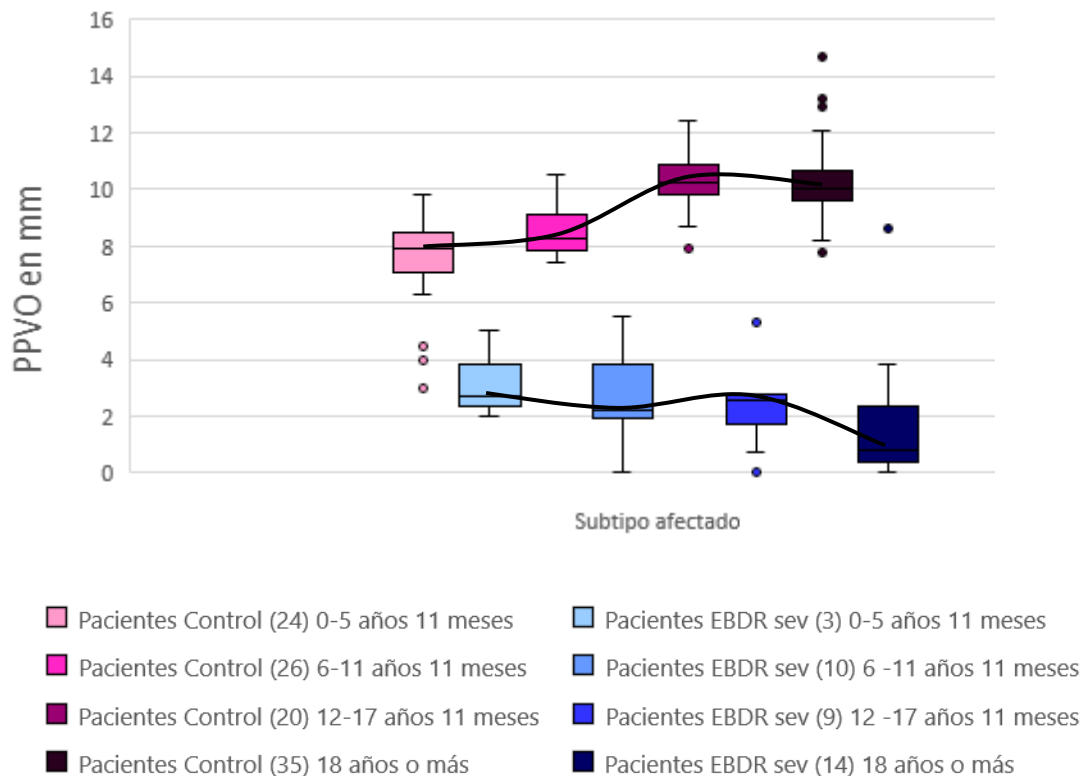


Figura 22. Diagrama de cajas y bigotes que muestra la distribución de la profundidad promedio de vestíbulo oral (mm) por edad, de pacientes con EBDR sev comparados con grupo control. Se trazó una línea que une las medianas de cada edad.

Hubo un paciente en el rango de 18 años o más que presentó un valor muy superior al resto de pacientes (8.6 mm), el cual fue considerado como valor atípico.

- Control vs EBDR int: No hubo pacientes menores de 6 años. La diferencia de la mediana de PPVO con los pacientes control fue significativa en los rangos etarios de 6 a 11 años ($p= 0,020$) y en el de 18 años o más ($p= 0,000$). En el rango de 12 a 17 años no fue significativa ($p= 0,068$). La PPVO en los distintos rangos etarios se describe en la **tabla 9**.

5.2.5 Descripción y análisis de la profundidad promedio de vestíbulo oral según parámetro clínico.

a) Número de dientes perdidos: La relación entre la PPVO y el número de dientes perdidos es lineal negativa (inversa) y significativa para todas las muestras menos para EBDR sev. La intensidad de correlación por grupo es la siguiente (**tabla 10**):

- Pacientes control: débil
- Pacientes con EB: moderada
- Pacientes con EBD: moderada
- Pacientes con EBDR int: fuerte

En las **figuras 23, 24 y 25** se observa la relación entre la PPVO y el número de dientes perdidos, en la **figura 23** la comparación entre grupo EB y grupo control; en el **figura 24**, entre los pacientes con EBD y el grupo control; y, por último, en el **figura 25**, entre los grupos EBDR int y el grupo control.

b) Número de dientes perdidos por edad: Se evaluó si existe asociación entre la profundidad promedio de vestíbulo y el número de dientes perdidos según rango etario. La correlación no fue significativa en los rangos etarios de 0 a 5 años y 6 a 11 años en ninguna de las muestras. En el rango etario de 12 a 17 años la correlación fue significativa solo en el grupo de personas con EB, con una correlación fuerte (**figura 26**). En el rango de 18 años o más, la correlación fue significativa en los pacientes con EB (moderada), EBD (fuerte), EBDR sev (fuerte) y EBDR int (fuerte) (**figura 27, 28, 29**, respectivamente, **tabla 11**). En todas las muestras la correlación fue lineal inversa.

Tabla 10. Medianas y rangos de números de dientes perdidos y PPVO de pacientes control, pacientes con EB, EBD y EBDR int. Valores del coeficiente de correlación de Spearman y su significado estadístico.

Muestra (n)	Número de dientes perdidos mediana (rango)	PPVO mediana (rango)	Coefficiente de correlación de Spearman	Significación estadística (pvalor)
Pacientes control (105)	0 (0 - 13)	9,3 (3,0-14,7)	-0,207	0,034
Pacientes EB (90)	0 (0-28)	5,7 (0,0 – 13,7)	-0,390	0,000
Pacientes con EBD (68)	0 (0-28)	3,6 (0,0-11,2)	-0,489	0,000
Pacientes con EBDR int (14)	0 (0 – 26)	5,8 (0,6-11,2)	-0,724	0,003

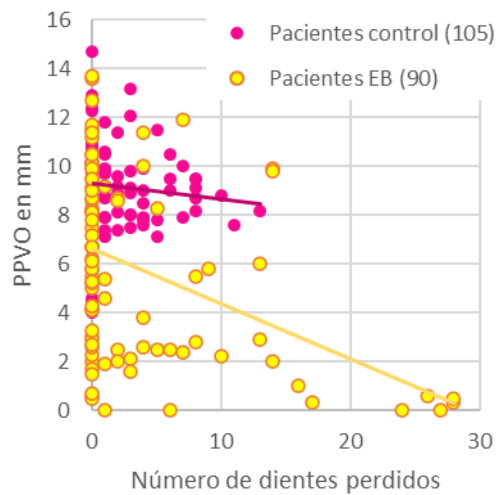


Figura 23. Diagrama de dispersión muestra la relación entre PPVO y dientes perdidos en EB y grupo control (GC). Se indica la línea de tendencia.

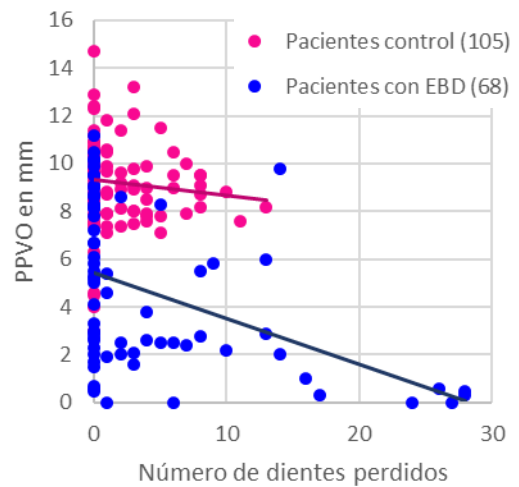


Figura 24. Diagrama de dispersión muestra la relación entre PPVO y dientes perdidos en EBD y GC.

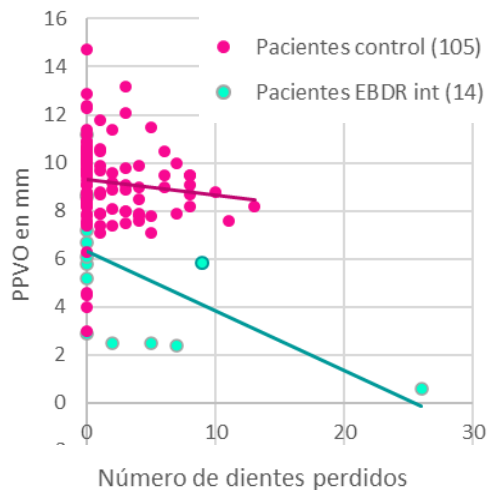


Figura 25. Diagrama de dispersión muestra la relación entre PPVO y dientes perdidos en EBDR int y GC.

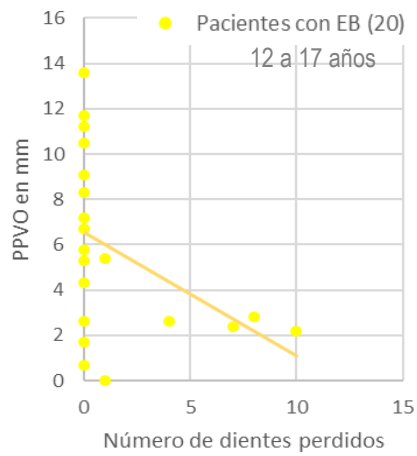


Figura 26. Diagrama de dispersión muestra relación entre PPVO y dientes perdidos en jóvenes con EB De 12 a 17 años.

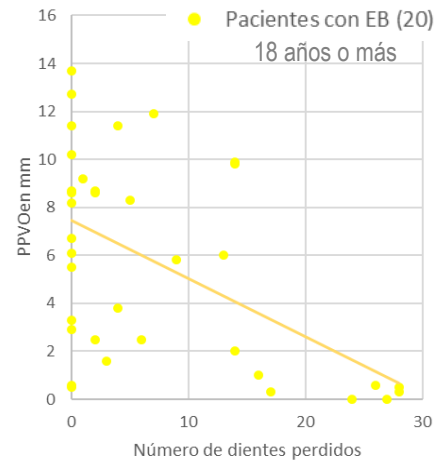


Figura 27. Diagrama de dispersión muestra relación entre PPVO y dientes perdidos en adultos con EB de 18 años o más

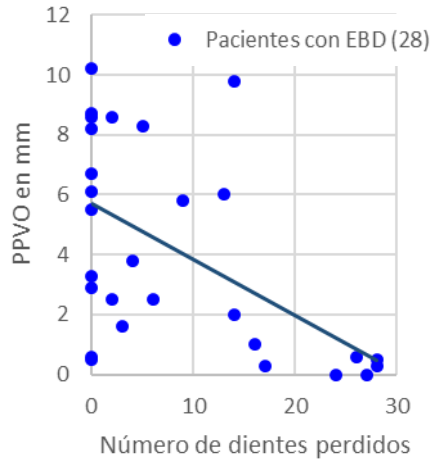


Figura 28. Diagrama de dispersión muestra relación entre PPVO y dientes perdidos en adultos con EBD de 18 años o más.

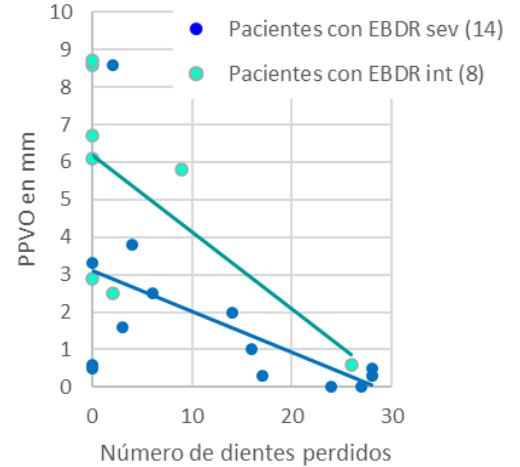


Figura 29. Diagrama de dispersión muestra relación entre PPVO y número de dientes perdidos de adultos con EBDR sev y EBDR int, de 18 años y más.

Tabla 11. Medianas y rangos de número de dientes perdidos y PPVO de pacientes con EB de 12 a 17 años, y de pacientes con EB, EBD, EBDR sev y EBDR int, de 18 años o más. Valores del coeficiente de correlación de Spearman y su significado estadístico.

Rango etario	Grupo de estudio (n)	Número de dientes perdidos mediana (rango)	PPVO mediana (rango)	Coefficiente de correlación de Spearman	Significancia
12 a 17 años	EB (20)	0 (0-10)	5,35 (0,0 - 13,6)	-0,515	0,020
18 años o más	EB (36)	2,5 (0-28)	5,9 (0,0 - 13,7)	-0,471	0,004
	EBD (28)	3,5 (0 – 28)	3,1 (0,0 -10,2)	-0,570	0,002
	EBDR sev (14)	10 (0 – 28)	0,8 (0,0 – 8,6)	-0,619	0,018
	EBDR int (8)	0 (0 – 26)	5,95 (0,6 – 8,7)	-0,736	0,037

5.2.6 Descripción y análisis de la profundidad promedio de vestíbulo oral según parámetros genéticos.

a) Gen afectado: Los valores de profundidad promedio de vestíbulo oral fueron comparados según gen afectado. Los pacientes con alteraciones en el gen *KRT5* presentaron mayor PPVO (con una mediana de 11,4 mm) en comparación con los valores de pacientes que presentaban alteraciones en los demás genes de la muestra. En cambio, el grupo con alteraciones en el gen *COL7A1* presentó los menores valores de PPVO, con una mínima de 0,0 mm y mediana de 3,6 mm. Estos valores se detallan en la **tabla 12**.

Se realizó la prueba de Kruskal Wallis, la cual indicó que hay diferencia estadísticamente significativa entre medianas de PPVO de pacientes con diferentes genes alterados ($p=0,000$). Con la matriz de comparaciones múltiples, se determinó que la diferencia estadística es entre las medianas de PPVO de pacientes con alteración en *COL7A1* y pacientes control, además de pacientes con alteración en otros genes (*KRT5*, *KRT14*, *LAMB3*). Como hallazgo, se encontró que pacientes con alteración en el gen *KRT5* presentaron una mayor mediana de PPVO que pacientes control y la diferencia fue significativa, **tabla 12**.

b) Consecuencia funcional del mRNA o de la proteína predicha: Los 68 pacientes con alteración en el gen *COL7A1* presentaron 24 variantes diferentes, 6 dominantes y 18 recesivas, y la combinación de estas dieron a lugar 28 genotipos distintos. Cinco variantes fueron nuevas, 19 habían sido reportadas anteriormente en la literatura o bases de datos; 13 corresponden a variación de un solo nucleótido (4 sin sentido, 8 en sentido erróneo, 1 regulatoria), 6 de desplazamiento del marco de lectura (1 inserción, 4 deleciones, 1 inserción-delección), 5 de corte y empalme.

En la **tabla 13** se describen las variantes en *COL7A1* que portan las personas con EBD del estudio, incluye: tipo de variante, localización de la variante, frecuencia de la variante, cambio a nivel de la proteína, dominio afectado en la proteína, significado clínico, predicción de patogenicidad, predicción del efecto de procesamiento, consecuencia funcional y referencia donde ha sido reportada.

Tabla 12. Medianas y rangos de los valores de profundidad promedio de vestíbulo oral de los pacientes con los diversos genes afectados estudiados.

Gen afectado	Profundidad promedio de vestíbulo oral en mm Mediana (rango)
Control (105)	9,3 (3,0-14,7) ^a
<i>KRT5</i> (11)	11,4 (6,2-13,7) ^b
<i>KRT14</i> (5)	6,7 (4,1-11,9) ^c
<i>EXPH5</i> (1)	11,5
<i>LAMB3</i> (4)	9,6 (7,5-10,1) ^d
<i>COL7A1</i> (68)	3,6 (0,0-11,2) ^{a,b,c,d}
<i>FERMT1</i> (1)	4,3

^a: diferencias significativas entre las medianas de los valores PPVO entre pacientes con alteración en *COL7A1* y pacientes control (test Wilcoxon-Mann-Whitney $p=0,000$)

^b: diferencias significativas entre las medianas de los valores PPVO entre pacientes con alteración en *COL7A1* y pacientes con alteración en *KRT5* (test Wilcoxon Mann-Whitney $p= 0,000$).

^c: diferencias significativas entre las medianas de los valores PPVO entre pacientes con alteración en *COL7A1* y pacientes con alteración en *KRT14* (test Wilcoxon Mann-Whitney $p= 0,045$)

^d: diferencias significativas entre las medianas de los valores PPVO entre pacientes con alteración en *COL7A1* y pacientes con alteración en *LAMB3*

Tabla 13. Alteraciones en COL7A1 de este estudio y su descripción. Numeraciones del cDNA y proteína del gen COL7A1 (3p21.1) están basadas en la secuencia de referencia NM_000094.3 y P_000085 en GenBank, respectivamente.

Nº	Cambio a nivel de cDNA (COL7A1)	Tipo de Variante	Localización	Frecuencia*(base datos)/estudio&	Cambio a nivel de proteína Colágeno tipo VII	Dominio afectado	Predicción Patogenicidad POLYPHEN 2.0	Predicción efectos en procesamiento NNSPLICE v.0.9	Consecuencia funcional	Referencia
1	c.-185C>T	Regulatoria (5' UTR)	Promotor ?	No reportada/2.94	No aplica	No aplica	No Aplica	No Aplica	No Determinado	Este estudio
2	c.2005C>T	Sin sentido	Exón 15	A=0.000017(ExAC)/1.47	p.Arg669Ter (p.R669*)	FN3	No Aplica	No Aplica	CTP, proteína de 669 aa's	Cserhalmi-Friedman PB. (1998) Lab Invest 78:1483-92.
3	c.2992+2T >G	Corte y empalme	Intrón 22	No reportada/0.74	-----	FN3	No Aplica	(a) Nuevo SDC 77 pb AArr--> CTP FM en p.989 (b) Omite Ex 22--> EM	a) CTP, proteína de 989 aa's b) Delección de 44 aa's en FN3	Rodríguez FA. (2012) <i>J Dermatol Sci</i> 65:149
4	c.3264_529 3del (2.029 pb)	Delección gruesa	Exón 24-60	No reportada/0.74	p.P1087_P1765del	DAFWW, C/P, CTH	No Aplica	No Aplica	proteína de 2268 aa's sin DAFvW, C/P y CTH	Este estudio
5	c.3760+2T >G	Corte y empalme	Intrón 28	No reportada/2.94	-----	C/P	No Aplica	(a) Nuevo SDC 19 pb AArr--> EM+ (b) Omite Ex 28--> EM	a) Inserción de GRVPHRE b) Delección 12 aa's entre C/P y CTH	Rodríguez FA. (2012) <i>J Dermatol Sci</i> 65:149
6	c.3970delC	Delección pequeña	Exón 32	No reportada/0.74	p.Leu1324*	CTH	No Aplica	No Aplica	CTP, proteína de 1324 aa's	Rodríguez FA (2012) <i>J Dermatol Sci</i> 65:149
7	c.4317delC	Delección pequeña	Exón 39	No reportada/0.74	p.Pro1441Leufs1810*	CTH	No Aplica	No Aplica	CTP, proteína de 1810 aa's	Whitlock NV. (1999) <i>J Invest Dermatol</i> 113:673
8	c.4342-2A>G	Corte y empalme	Intrón 39	No reportada/1.47	-----	CTH	No Aplica	(a) Nuevo SAC 34 pb AAb --> CTP FM en p.1698 (b) Omite Ex 40 --> EM	a) CTP, proteína de 1698 aa's interrumpida en CTH b) Delección de 20 aa's en CTH	Rodríguez FA. (2012) <i>J Dermatol Sci</i> 65:149

9	c.4775G>A	Sentido erróneo	Exón 49	No reportada/1.47	p.Gly1592Glu (p.G1592E)	CTH	Probablemente dañina (1.0)	No Aplica	Proteína no funcional	Este estudio
10	c.5318G>T	Sentido erróneo	Exón 61	No reportada/1.47	p.Gly1773Val (p.G1773V)	CTH	Probablemente dañina (1.0)	No Aplica	Proteína no funcional	Wertheim-Tysarowska K. (2012) <i>Eur J Dermatol</i> 22:23
11	c.5532+1G>T	Corte y empalme	Intrón 64	No reportada/3.67	-----	CTH	No Aplica	(a) Nuevo SDC 714 pb AAb--> CTP FM en p.1872 (b) Nuevo SDC 1274 pb AAb--> CTP FM en p.1872 (c) Omite Ex 64--> EM	a) y b) CTP, proteína de 1872 aa's b) Delección de 15 aa's en CTH	Rodríguez FA. (2012) <i>J Dermatol Sci</i> 65:149
12	c.5565_5568+8 delGAAGGTA AAGTCinsA	No determinado	Exón 65	No reportada/0.74	No determinado	CTH	No Aplica	No Aplica	No determinado	Este estudio
13	c.5932C>T	Sin sentido	Exón 72	A=0.000008 (TOPMED)/1.47	p.Arg1978Ter (p.R1978*)	Región de bisagra	No Aplica	No Aplica	CTP, proteína de 1978 aa's. Delección de CTH y Módulo Kunitz.	Whitlock NV. (1999) <i>J Invest Dermatol</i> 113:673
14	c.6026G>A	Sentido erróneo	Exón 73	0.000004 (gnomAD-exomes)/0.74	p.Gly2009Glu (p.G2009E)	CTH	Probablemente dañina (1.0)	No Aplica	Proteína no funcional	Este estudio
15	c.6082G>A	Sentido erróneo	Exón 73	0.000009 (ExAC)/0.74	p.Gly2028Arg (p.G2028R)	CTH	Probablemente dañina (1.0)	No Aplica	Proteína no funcional	Lee J Y-Y. (2000) <i>Arch Dermatol Res</i> 292:159
16	c.6100G>A	Sentido erróneo	Exón 73	T=0.000004 (gnomAD-Exomes)/4.41	p.Gly2034Arg (p.G2034R)	CTH	Probablemente dañina (1.0)	No Aplica	Proteína no funcional	Kon A.(1997) <i>J Invest Dermatol</i> 109:684
17	c.6127G>A	Sentido erróneo	Exón 73	No reportada/2.20	p.Gly2043Arg (p.G2043R)	CTH	Probablemente dañina (1.0)	No Aplica	Proteína no funcional	Christiano AM. (1995) <i>J Invest Dermatol</i> 104:438

18	c.6527dupC	Cambio de marco	Exón 80	dupG=0.000068 (gnomAD-Exomes)/32.34	p.Gly2177Trpfs2289*	CTH	No Aplica	No Aplica	CTP, proteína de 2289 aa's en CTH	Hovnanian A, (1997). <i>Am J Hum Genet</i> 1997;61:599-610.
19	c.7234C>T	Sin sentido	Exón 94	A=0.000016 (TOPMED)/0.74	p.Arg2412Ter (p.R2412*)	CTH	No Aplica	No Aplica	CTP, proteína de 2412 aa's en CTH	Rodríguez FA. (2012) <i>J Dermatol Sci</i> 65:149
20	c.7708delG	Cambio de marco	Exón 103	No reportada/23.53	p.Asp2570Thrfs2630*	CTH	No Aplica	No Aplica	CTP, proteína de 2630 aa's en CTH	Rodríguez FA. (2012) <i>J Dermatol Sci</i> 65:149
21	c.7876-1G>A	Corte y empalme	Intrón 105	No reportada/0.74	-----	CTH	No Aplica	(a) Nuevo SAC 1pb AAb--> CTP FM en p.2630 (b) Nuevo SAC 160 pb AArr--> CTP FM en p.2640 (c) Omite Ex 106 --> EM	a) CTP, proteína de 2630 aa's b) CTP, proteína de 2640 aa's c) Deleción de 19 aa's en CTH	Rodríguez FA. (2012) <i>J Dermatol Sci</i> 65:149
22	c.8245G>A	Sentido erróneo	Exón 111	A=0.0002 (1000G)/1.47	p.Gly2749Arg (p.G2749R)	CTH	Probablemente dañina (1.0)	No Aplica	Proteína no funcional	Christiano AM. (1996a) <i>Am J Hum Genet</i> 58:671
23	c.8329C>T	Sin sentido	Exón 112	A=0.000016 (TOPMED)/0.74	p.Arg2777Ter (p.R2777*)	CTH	No Aplica	No Aplica	CTP, proteína de 2777 aa's en CTH	Kern JS. (2009a) <i>Br J Dermatol</i> 161:1089
24	c.8393T>G	Sentido erróneo	Exón 113	No reportada/0.74	Met2798Arg (p.M2798R)	Acídico	Probablemente dañina (0.998)	No Aplica	Proteína no funcional	Rodríguez FA. (2012) <i>J Dermatol Sci</i> 65:149

* Se anotó la frecuencia calculada en la población de mayor N; FN3=Dominio tipo fibronectina 3; DAFvW=dominio A del factor von Willebrand; C/P=Región rica en Cisteína y prolina; CTH= Dominio Colágeno Triple Helicoidal; SDC=Sitio dador críptico; SAC=Sitio aceptor críptico; AArr=aguas arriba; AAb= aguas abajo; pb= pares de bases; CTP=Codón de terminación prematura; FM= fuera de marco; EM= en marco; += Inserción de heptapéptido (GRVPHRE); Ex= exón; In= Intrón; aa's= aminoácidos; &= Frecuencia calculada en este estudio con N de 68 pacientes con EB.

Las variantes más prevalentes fueron:

- c.6527dupC: 32 personas la portaron (recesiva)
- c.7708delG: 23 personas la portaron (recesiva)
- c.6100G>A: 6 personas la portaron (dominante)
- c.5532+1G>T: 5 personas la portaron (recesiva)

Diez de las variantes fueron catalogadas como patogénicas en la base de datos Clinvar, las demás no habían sido reportadas. Con el programa POLYPHEN 2.0 se predijo que 8 son probablemente dañinas. Con el programa NNSPLICEv v.0.9, se predijo el efecto de procesamiento de las 5 variantes de corte y empalme, este programa entrega más de una posibilidad de consecuencia funcional por variante, indicado en la **tabla 13** como: (a) para la consecuencia número 1, (b) consecuencia 2, (c) consecuencia 3 (en caso de estar presente).

En 8 variantes, el efecto funcional generó un codón de terminación prematura que derivó a la desintegración del mRNA y por consecuencia, ausencia de la proteína; 8 variantes, generaron proteínas no funcionales (7 de ellas producto de una sustitución de glicina); 5 variantes fueron de procesamiento, pudiendo generar dos consecuencias funcionales (4 de las variantes pueden generar un CTP o proteína con delección de aminoácidos y 1 de las variantes puede generar una proteína con inserción GRVPHRE o proteína con delección de aminoácidos); 1 variante puede generar una proteína con delección de aminoácidos y en 2 variantes no se logró determinar la consecuencia funcional.

Las variantes que portaron las personas de este estudio que afectaron al colágeno VII, se distribuyeron a lo largo de toda la proteína y todos los dominios (exceptuando el dominio proteína de la matriz del cartílago (PMC) y el módulo de Kunitz), concentrándose principalmente en el dominio colágeno triple helicoidal, lo cual puede observarse en el **figura 30**. Cinco de las variantes se ubicaron en dominio globular amino terminal (NC1), 18 se ubicaron en el dominio colágeno y 1 en el dominio globular carboxi-terminal (NC-2). Cinco de las variantes dieron a lugar a 2 subtipos diferentes, una de ellas a 3 subtipos diferentes y el resto de las variantes solo a 1. No se encontró ninguna variante que haya generado EBDD y EBDR (**figura 30**).

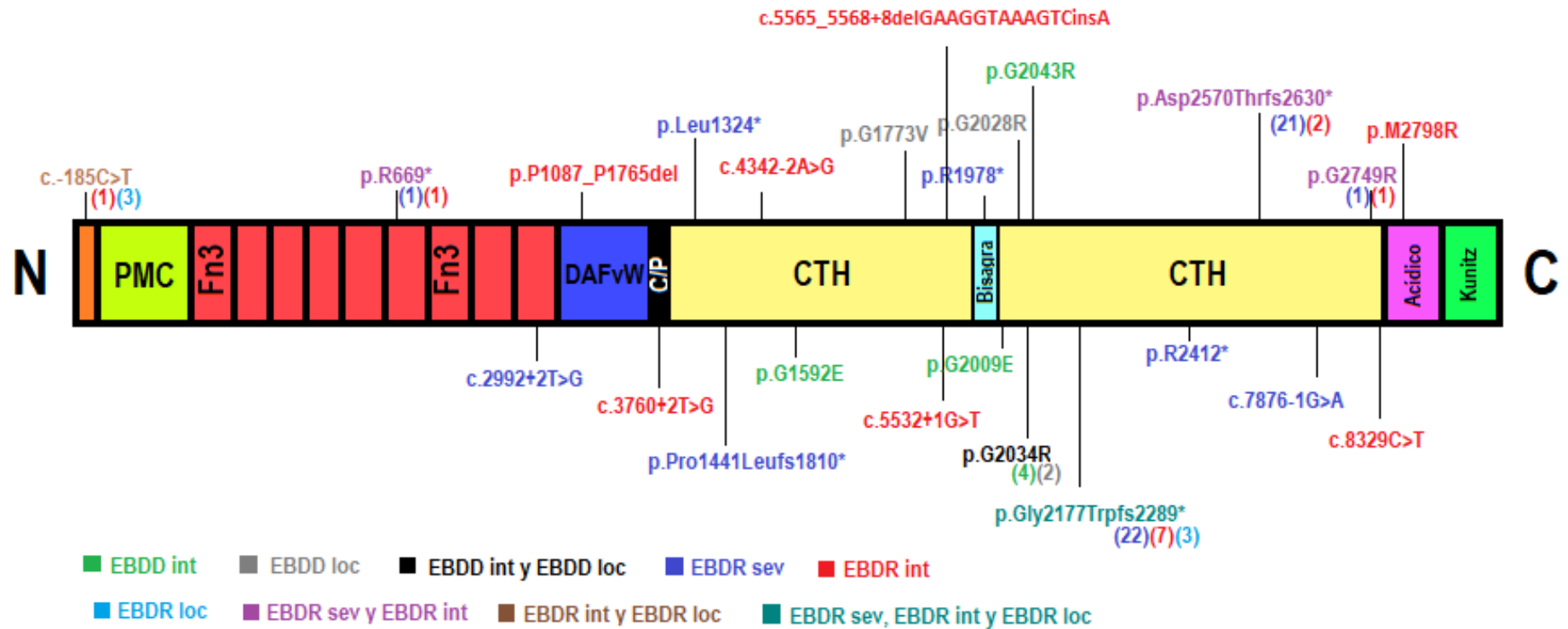


Figura 30. Representación gráfica del colágeno VII y la ubicación de las variantes de este estudio. Se representó cada dominio de la proteína. El color de cada variante representa el subtipo de EB de los pacientes que portan dicha variante en este estudio. Las variantes que se identificaron en más de un subtipo presentan un número en paréntesis que indica el número de individuos identificados con cada subtipo (color).

Todas las variantes de los pacientes con EBDD fueron variantes de sentido erróneo, mientras que en los pacientes con EBDR sev e int, presentaron mayor variabilidad de tipos de variantes. En el caso de los pacientes con EBDR sev, las variantes fueron principalmente de cambio de marco y en los pacientes con EBD int de cambio de marco y de procesamiento, el detalle se encuentra en la **tabla 14**.

Tomando como base la predicción de patogenicidad y así la consecuencia funcional de la proteína predicha, se clasificó a los pacientes en las siguientes categorías:

- a) Ausencia de proteína como consecuencia funcional de cada una de las dos variantes patogénicas portadas por el paciente.
- b) Ausencia de la proteína como consecuencia funcional de un alelo y proteína no funcional como consecuencia del otro alelo
- c) Proteína no funcional derivada de un alelo con variante patogénica y alelo silvestre en el otro.

El 100% de los pacientes con EBDD presentaron proteína no funcional en el alelo afectado. Casi el 100% de los pacientes con EBDR sev presentaron ausencia de la proteína como consecuencia de ambos alelos, por otro lado, en los pacientes con EBDR int hubo mayor variabilidad de consecuencias funcionales y en los tres pacientes con EBDR loc, no se pudo determinar la consecuencia final. Esto se puede observar en la **tabla 15**.

La consecuencia funcional se relacionó con la PPVO, lo cual se puede observar en el **figura 31**. Se encontró que los pacientes que presentaron como consecuencia ausencia de la proteína en ambos alelos, presentaron los menores valores de PPVO (**figura 32**); los pacientes que presentaron un alelo silvestre y un alelo que provocaba una proteína no funcional, presentaron los mayores valores de PPVO entre los pacientes con alteración en *COL7A1*; los pacientes con un alelo que generó ausencia de la proteína y en el otro proteína no funcional, presentaron valores de PPVO intermedios en comparación a los dos anteriores, sin embargo hay que destacar el n bajo = 2.

La asociación solo fue posible en 52 de los pacientes, no se consideró a los pacientes que portaban la variante regulatoria c.-185C>T y la variante

Tabla 14. Tipo de variante y número de alelos por cada subtipo de EBD estudiados en esta investigación.

Subtipo de EB	Tipo de variante	n° de alelos
EBDD int	sentido erróneo	10
EBDD loc	sentido erróneo	5
EBDR sev	cambio de marco	65
	corte y empalme	2
	sentido erróneo	1
	sin sentido	4
EBDR int	cambio de marco	11
	corte y empalme	11
	sin sentido	3
	no determinado	1
	regulatoria	1
	sentido erróneo	1
EBDR loc	cambio de marco	3
	regulatoria	3

Se indican los subtipos en colores según la **figura 30**.

Tabla 15. Consecuencia funcional y número de personas por subtipo de EBD estudiados en esta investigación.

Subtipo de EB	Consecuencia funcional	n° de personas
EBDD int (10)	+/Proteína no funcional	10
EBDD loc (5)	+/Proteína no funcional	5
EBDR sev (36)	Ausencia de la proteína/ Ausencia de la proteína	35
	Ausencia de la proteína/Proteína no funcional	1
EBDR int (14)	Mas de una consecuencia funcional (variantes de procesamiento)	9
	Ausencia de la proteína/ Proteína no funcional	2
	Ausencia de la proteína/No determinado	2
	Ausencia de la proteína/Ausencia de la proteína	1
EBDR loc (3)	Ausencia de la proteína/ No determinado	3

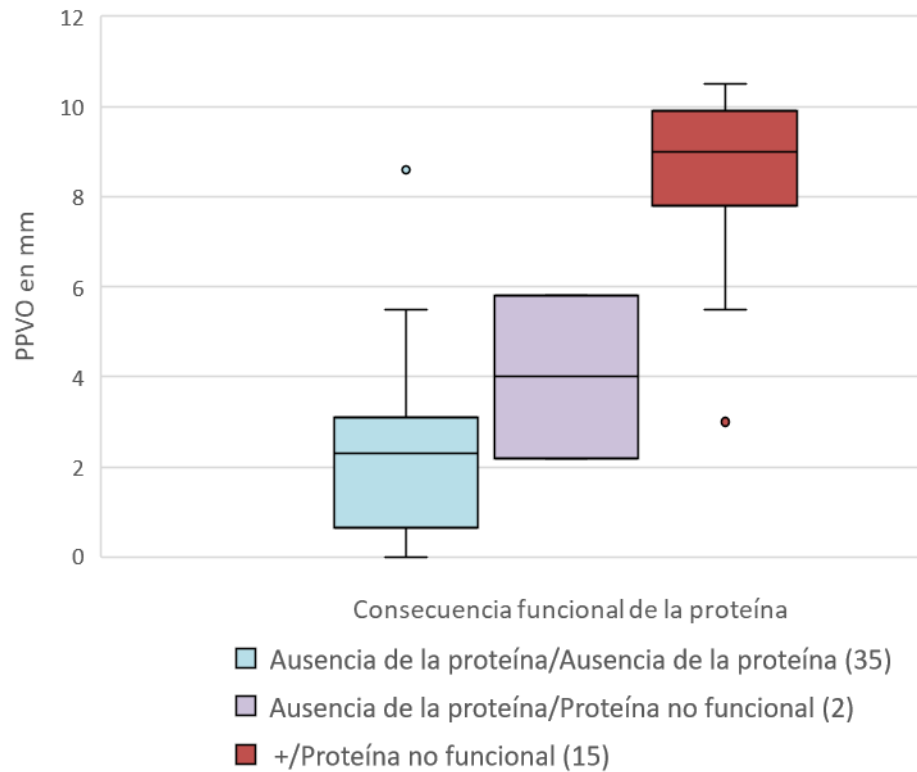


Figura 31. Diagrama de cajas y bigotes muestra la distribución de PPVO de los pacientes con EBD, según consecuencia funcional de la proteína producto de las distintas variantes en COL7A1.



Figura 32: Profundidad del vestíbulo de 0 mm en relación a incisivos centrales inferiores de un paciente con EBDR sev. El genotipo de este paciente es c.6527dupC/c.7708delG, que genera un codón de terminación prematura en ambos alelos y, por consecuencia, ausencia total de colágeno VII.

c.5565_5568+8delGAAGGTAAAGTCinsA debido a que no se pudo determinar su consecuencia funcional. Tampoco se consideraron los pacientes que portaron variantes de procesamiento ya que el programa bioinformático indica más de una posibilidad de consecuencia funcional y se desconoce cuál de ellas se generó en cada paciente en particular.

No se realizó análisis estadístico puesto que las consecuencias funcionales de las variantes de este estudio son predichas por programas bioinformáticos, no por ensayos funcionales y por lo cual no se puede asegurar el efecto real de la proteína en cada paciente. Además, los resultados de la mayor parte de los artículos científicos que describen las consecuencias funcionales de estas variantes también fueron determinados por programas bioinformáticos.

6 DISCUSIÓN

Los resultados sobre la asociación de la profundidad promedio de vestíbulo con el número de dientes perdidos y gen afectado mostraron diferencias estadísticamente significativas, respaldando la hipótesis de este estudio. Por su parte, se encontró asociación entre PPVO y consecuencia funcional del mRNA o proteína predicha sin embargo no se puede establecer una diferencia estadística por la falta de ensayos funcionales de las variantes genéticas.

6.1 COMPOSICIÓN DE LA MUESTRA.

Como se mencionó en la sección de materiales y métodos, la obtención de datos clínicos de este estudio fue realizada entre los años 2005-2006 y 2015-2017. Dentro de este periodo se realizó examen de salud oral a 108 personas con EB, sin embargo 5 de ellas fueron retiradas por no presentar diagnóstico genético completo a la fecha; 5 personas por presentar enfermedad de descamación de la piel acral, condición que fue descartada como epidermólisis bullosa hereditaria en la nueva clasificación de Has C. y cols 2020; y 8 personas que no se logró registrar la PPVO por poca colaboración, los cuales fueron niños entre 0,1 y 5 años.

Reunir un gran n de personas con esta condición siempre será difícil ya que es una enfermedad poco común y pocas personas en Chile la presentan; además la alta heterogeneidad genética de la cohorte obliga a dividir la muestra de pacientes con EB en grupos cada vez más pequeños, algunos con n muy bajos (Bauer J. 2020). Es por ello que se quiso determinar el alcance de nuestro trabajo en función al universo con la condición, para determinar si algunos subtipos son menos prevalentes en Chile y por ello se encuentra una baja cantidad en el estudio o, en cambio, hay un alto número de pacientes y pocos acceden a la atención dental en la facultad de odontología de la Universidad de Chile. Se realizó una búsqueda exhaustiva en la base de datos Debra Chile de todos los pacientes vivos con EB en el país y se clasificaron según tipo y subtipo. Se excluyeron todos los pacientes que se encontraban en observación de alguno de los tipos de EB y todos aquellos que no contaban con diagnóstico definitivo. Con la tabla, se logró observar que:

- Un gran número de personas presenta EBS localizada, pero pocos de ellos accedieron a la atención dental en la facultad en los periodos establecidos. Esto se puede explicar ya que las personas con este subtipo presentan poca formación de lesiones orales, por lo cual, no perciben la necesidad de atención especializada en EB y acuden a otras instalaciones (Krämer S., 2006). Por el contrario, un gran porcentaje de pacientes con EBDR sev se incluyeron en el estudio, debido a la severidad de sus lesiones orales y necesidad de tratamiento de especialidad.
- Cabe destacar que muchas personas están consignadas como sospecha de EBS, pero al pasar los años, no se han realizado diagnóstico genético. Incluso hay personas que no saben que la presentan. Es por esto que, el número de personas con este tipo de EB Chile podría ser mayor a lo registrado en esta tabla.
- Algunos de los subtipos presentan baja prevalencia a nivel nacional y por consecuencia, en este estudio.

6.1.1 Genes afectados: De los 16 genes reconocidos como causantes de EB hereditaria (Has C. y cols. 2020b), 6 fueron registrados en este estudio. *COL7A1* es el gen más prevalente en la presente investigación, ya que es el gen causal de todos los subtipos de EBD.

6.1.2 Género: La cantidad de hombres y mujeres en las dos muestras principales fueron equitativas y de manera aleatoria, lo que permitió comparar de mejor manera esta variable.

6.1.3 Edad: Ambas muestras principales presentaron edades similares. En los subtipos más severos hubo edades más bajas como por ejemplo los subtipos de EBJ o EBDR sev, que presentan una expectativa de vida más baja y en particular los pacientes con EBJ sev que presentan una alta mortalidad infantil (Has C. y cols., 2020b).

6.1.4 Distribución geográfica: Las personas con EB se encuentran ampliamente distribuidas en todo el territorio nacional, concentradas principalmente en la región metropolitana y grandes ciudades del país, lo cual era de esperar al tener una mayor densidad poblacional, sin embargo, un gran porcentaje de las personas viven en pueblos o ciudades más pequeñas alejadas de grandes urbes, viéndose afectado el acceso a atención odontológica especializada de esta enfermedad. No se pudo comparar este parámetro con los pacientes control, ya que solo se registraron pacientes de la región metropolitana, pacientes que acudieron a atención odontología en la facultad de odontología de la Universidad de Chile. Incluir pacientes de casi todas las regiones del país aumenta la posibilidad de una mayor variabilidad de variantes al estudio. Las personas con EBS se concentran en la zona centro del país muy probablemente porque tienen un mejor acceso a las instalaciones de la clínica FOUC en comparación a personas con EBS de regiones mas alejadas de la capital.

6.2 MEDICIÓN DE LA PROFUNDIDAD PROMEDIO DE VESTIBULO ORAL.

6.2.1 Método de medición: Si bien es una zona de la boca que todas las personas presentan, la literatura sobre medición de profundidad de vestíbulo es muy limitada y no está bien caracterizada en la población en general. Esto forzó agregar un grupo control como línea base para poder determinar los cambios que se producen en EB. Algunos autores hablan de profundidad de vestíbulo, pero no especifican el método o parámetros utilizados para la medición, ni los milímetros perdidos, por lo cual no nos permite usarlos como referencia (Furtak A. y cols., 2018, Barakat K. y Ali A., 2014; Fortuna G. y cols., 2014; Nammour S. y cols.,2014; poner más autores). Solo se encontraron 5 autores que han descrito técnicas de medición de profundidad de vestíbulo en población dentada y publicado sus valores:

- Ward V. en 1976 fue el primer autor en registrar valores de profundidad de vestíbulo. Utiliza los mismos parámetros, sin embargo, los resultados no son comparables con los de este estudio ya que utilizan otra técnica de medición. Se descartó esta técnica porque es imposible de realizar en pacientes con EB, utiliza una placa de plomo que se introduce en el surco gingival

para posteriormente realizar un examen imagenológico, método muy riesgoso de utilizar en pacientes con obliteración vestibular, donde se dificulta la manipulación de los implementos y los bordes filosos del material pueden dañar aún más los tejidos. Sumado a esto, sus resultados se limitan solo a la zona anterior.

- Padmini H. y cols., 2018 utiliza el mismo método y parámetros de medición en pacientes sanos malasio.
- Krämer S., 2006 y Encina C., 2019; quienes utilizan el mismo método y parámetros clínicos de medición de PPVO que el nuestro, estudian la obliteración de vestíbulo por tipo y subtipo de EB. Krämer S., 2006 además, utiliza como grupo control personas sanas chilenas cuyo resultado si es comparable, sin embargo, no describe la PPVO de personas sanas por género ni edad y utiliza “promedio” como medida de tendencia central, a diferencia de este estudio que se utilizó “mediana”.

6.2.2 Profundidad promedio de vestíbulo oral según pacientes control y pacientes con EB.

a) Pacientes control: Se describió de manera detallada la profundidad promedio de vestíbulo de la población chilena y por primera vez se estudió según género y edad. Los valores se concentraron en un rango acotado, lo que nos indica que es un parámetro clínico bien conservado en la población en general. Sería interesante realizar un estudio de medición de PPVO con este mismo método a una muestra mayor (en esta investigación se intentó igualar el grupo control con el grupo de estudio), de distintas regiones del país e incluir diferentes etnias.

Padmini H. y cols., en 2018, utilizaron la misma técnica de medición del vestíbulo en población malasia y obtuvo como media general $9,21 \pm 1,02$ mm (n= 230) similar a mediana de población control de 9,3 mm de este estudio. Considerando que el 50% de los pacientes control presentaron PPVO entre 8,2 y 10,2 mm, también concuerda con los datos obtenidos por Krämer S., 2006, que obtuvo como promedio 8,86 mm de PPVO en población sana chilena (n= 41).

b) Pacientes con EB: Se encontró una disminución de la mediana y un amplio rango de valores, ya que está constituido por personas con diferentes tipos y subtipos de EB, algunos que desarrollan obliteración del vestíbulo y otras que no (Krämer S. y cols., 2020). Es por esto por lo que se fue desglosando esta muestra según tipo y subtipo de EB, y así analizar completamente este grupo.

6.2.3 Profundidad promedio de vestíbulo oral según tipo y subtipo de EB (clasificación Has C. y cols., 2020).

a) Tipo de EB: Se comenzó a desglosar el grupo de estudio realizando un análisis según tipo de EB. Se encontró que los pacientes con EBD presentan un vestíbulo disminuido en comparación con los pacientes control (3,6 mm v/s 9,3 mm) y pacientes con otros tipos de EB (EBS= 10,5 mm, EBJ= 9,6 mm y EBK = 4,3 mm), que es estadísticamente significativo. Al comparar los resultados con los de Krämer S., 2006 se encontró que:

- Los pacientes con EBS de nuestro estudio presentaron mayor PPVO que los del artículo (mediana de 10,5 mm v/s promedio de 6,48 mm)
- Se obtuvo una PPVO similar en los pacientes con EBJ (mediana de 9,6 mm v/s promedio de 9,5 mm), al igual que los pacientes con EBD (mediana de 3,6 mm v/s promedio de 3,3 mm)
- No registraron pacientes con EBK.

Un total de 15 reportes de casos indican que los pacientes con epidermólisis bullosa de Kindler también pueden presentar una obliteración parcial del vestíbulo (Krämer S. y cols., 2020). En esta investigación, la paciente con EBK presentó un promedio de vestíbulo de 4,3 mm, coincidiendo con la literatura, sin embargo, al ser un n muy bajo, no es considerado estadísticamente significativo. Solo hay dos personas con esta condición en Chile por lo cual, aunque se quisiera estudiar todo el universo de la condición, seguiría siendo un n extremadamente bajo.

b) Subtipo de EB: Según una reciente revisión sistemática de la literatura (Krämer S. y cols., 2020), se ha reportado obliteración de vestíbulo oral en pacientes con EBDR en 27 artículos científicos. Lamentablemente muchos de

estos papers son antiguos y más de la mitad no reportan el subtipo específico; de los 27 artículos:

- En 9 reportes, los pacientes tenían el subtipo EBDR severa.
- En 5 reportes, los pacientes tenían el subtipo EBDR inversa.
- En 1 reporte, el paciente tenía el subtipo EBDR intermedia (Puliyel D. y cols., 2014).
- En 12 artículos no se precisa el subtipo de EB del paciente afectado.

Los 27 artículos reportan obliteración vestibular, pero ninguno establece un método de medición de vestíbulo, parámetros o valores que obtuvieron para ser comparadas con el presente estudio.

Acorde a lo registrado en la literatura, se obtuvo dos subtipos de EBDR que presentaron una disminución abrupta de la PPVO con diferencia significativa: los pacientes con EBDR sev y los pacientes con EBDR int. Krämer S., 2006, encontró que las personas afectadas con estos dos subtipos fueron las únicas con úlceras en el vestíbulo al momento de la evaluación, correspondiendo este lugar al 30% de todas las úlceras orales en los pacientes con EBDR sev y un 15 % en las personas con EBDR int. Al comparar los resultados (medianas) con los promedios obtenidos por Krämer S., 2006:

- En pacientes con EBDR severa, el promedio obtenido por Krämer S., 2006 fue de 1,50 mm, que se diferencia a la mediana de este estudio en 0,6 mm (mediana= 2,1 mm)
- En pacientes con EBDR intermedia, el promedio de Krämer S., 2006. fue de 5,12 mm, muy similar a la mediana del grupo con el mismo subtipo de este estudio (5,8 mm).

Al comparar los resultados de este estudio con el trabajo de Encina C., 2019, quien evaluó la profundidad promedio de vestíbulo oral de pacientes con EB posterior a 10 años de programa de atención odontológica en la clínica de cuidados especiales de la universidad de Chile, se obtuvo que:

- Los pacientes con EBDR severa promediaron una PPVO de 2,7 mm, superior a la mediana de este estudio en 0,65 mm
- Los pacientes con EBDR intermedia promediaron 5,8 mm, mismo valor que este estudio

- Otros subtipos que evaluaron fueron: EBDR localizada, promedio de 9,8 mm, vs 8,3 mm de este estudio; en pacientes con EBDD intermedia un promedio de 8 mm, 0,65 mm menor la mediana de este estudio (8,7 mm); EBDD localizada con un promedio de 8,9 mm contra 9,5 mm en este estudio.

Además, obtuvo que posterior a los 10 años de atención, los valores de PPVO de todos los subtipos aumentaron, los cuales fueron proporcionalmente un:

- 80% en los pacientes con EBDR sev
- 63% en pacientes con EBDD int
- 57% en pacientes con EBDR int
- 51% en pacientes con EBDR loc

evidenciando que el acceso a atención odontológica especializada puede aminorar la obliteración del vestíbulo progresiva (Encina C., 2019).

Hubo un paciente con una PPVO de 8,6 mm, valor muy superior al resto de valores de PPVO de este grupo, su análisis se encuentra en la **sección 6.2.6 b iv) correlación fenotipo-genotipo.**

A pesar de que en la literatura se reporta que los pacientes con EBDR inversa también presentan obliteración vestibular, lamentablemente no se evaluó personas con esta condición (no hay personas con este subtipo de EB en Chile), pero sería interesante poder incluirlas.

6.2.4 Profundidad promedio de vestíbulo oral según parámetros sociodemográficos.

a) Género: Solo se encontró un artículo científico que estudia la profundidad vestibular como tal según género, Padmini H. y cols., 2018, siendo muy similares sus resultados a los de este estudio en ambos géneros:

- PPVO hombres: $9,80 \pm 1,12$ para maxilar y $8,69 \pm 1,35$ para mandíbula
- PPVO mujeres: $9,58 \pm 1,12$ para maxilar y $8,78 \pm 1,35$ para mandíbula.

Los resultados de este estudio indican que no existe asociación entre la PPVO y el género, además, la obliteración del vestíbulo oral ocurre en ambos géneros por igual.

b) Edad: No hay estudios que establezcan la profundidad de vestíbulo por edades, solo un artículo, de Von Arx T. y cols., 2017, menciona el aumento de profundidad de vestíbulo con la edad, pero no especifican valores.

Recordando, el vestíbulo está conformado por una primera porción desde el margen gingival hasta el límite mucogingival y una segunda porción desde este límite hasta la zona de reflexión de los tejidos. Se estableció que el límite mucogingival se mantiene estable con la edad en relación con los puntos de referencia esqueléticos fijos (Ainamo J. y Talari A. 1976), En 1967, Piertokowski J. y Massler M. proponen que la unión mucogingival es la línea fronteriza entre el hueso basal genéticamente determinado y los procesos alveolares. El tamaño de los procesos alveolares es inducido por los dientes en desarrollo o la ausencia de ellos, siendo este el sector del vestíbulo que va a crecer o disminuir (Tencate A. y Mills C., 1974). Es por ello que en el estudio se dividió las edades de los pacientes desde 0-5 años 11 meses, edades con dentición primaria, que se esperaba encontrar un vestíbulo más pequeño que en las demás edades; de 6 años a 11 años y 11 meses, marcado por la erupción de los primeros molares permanentes, donde según esta hipótesis, se debía encontrar un aumento en el vestíbulo en relación al rango etario anterior; de 12 años a 17 años y 11 meses, donde erupcionan los segundos molares permanentes que corresponde al tercer y último levante fisiológico y por lo cual, se esperaba encontrar nuevamente un aumento en las profundidades; finalmente, se creó la categoría de 18 años o más, edades donde ya que no ocurren aumentos en la oclusión, e incluso se esperaba encontrar menores valores de vestíbulo debido a que con la edad aumenta el número de dientes perdidos, lo cual se discutirá en la sección **6.2.5**. No se consideró al paciente de 66 años en una categoría diferente como “adulto mayor” ya que no era un paciente ampliamente desdentado, por ende, no habría diferencias por ejemplo con el paciente de 58 años y al ser un n muy bajo (1), no sería representativo.

Los resultados concuerdan con lo esperado para los pacientes sanos, el vestíbulo crece en función a la edad, sin embargo, es un cambio gradual por lo que no se encontró diferencia significativa entre los dos primeros rangos etarios, pero sí entre el primer y tercer/cuarto rango. Este crecimiento aumenta hasta el

rango de 12 a 17 años y disminuye levemente en la población adulta. Se puede establecer que los valores de profundidad promedio de vestíbulo de las personas chilenas se concentran en los siguientes rangos según edad:

- 0 a 5 años 11 meses, PPVO entre 7,1 a 8,5 mm
- 6 a 11 años 11 meses, PPVO entre 7,8 y 9,1 mm
- 12 a 17 años 11 meses, PPVO entre 9,8 y 11,1 mm
- 18 años o más, PPVO entre 9,6 y 10,6 mm.

Para un análisis con mayor profundidad, se debería estudiar la PPVO en una muestra más grande de población sana.

Al analizar los pacientes control que presentaron una PPVO considerada como “valor atípico” dentro de la muestra, se observó que todos los pacientes eran niños menores de 5 años:

- 4,6 mm de PPVO = 5 meses de edad
- 4,5 mm de PPVO = 5 meses de edad
- 4,0 mm de PPVO = 1 año de edad
- 3,0 mm de PPVO = 10 meses de edad

Por lo tanto, se debe tener en consideración que en personas con EB que tengan hasta aproximadamente un año y que presenten vestíbulos poco profundos, no necesariamente tienen obliteración vestibular, puesto que presentan vestíbulos fisiológicamente más pequeños. Un ejemplo de esto es el de 3 pacientes con EB del presente estudio:

- 5,0 mm de PPVO = 2 meses de edad (EBDR sev)
- 4,1 mm de PPVO = 4 meses de edad (EBS AR sev o int)
- 3,0 mm de PPVO = 4 meses de edad (EBDD int)

En los pacientes con EB, a diferencia de los controles, la profundidad promedio de vestíbulo disminuye con la edad, sin embargo, esta diferencia no es estadísticamente significativa ya que la obliteración vestibular se presenta desde edades tempranas.

Debido a que la obliteración del vestíbulo se produce a partir de la cicatrización fibrótica de las úlceras orales (Has C. y cols., 2020; Krämer S. y cols., 2020), será dependiente del número de veces en que ocurra este proceso y es

acumulativo en el tiempo, por lo tanto, en el rango etario de 0 a 5 años, las medianas de PPVO de los grupos de pacientes con EB y EBD fueron similares a los de pacientes control ya que el acúmulo de daño no es suficiente para que sea significativo, mientras que al aumentar la edad, la fibrosis de los tejidos va incrementando y la PPVO disminuye. Lo mismo ocurre en pacientes con EBDR sev, donde se encontró que el rango de menor edad es el que presenta mayores medidas de PPVO en comparación a los demás rangos etarios. El único artículo sobre PPVO en pacientes con EBDR que involucra edad, es el de Wright J. y cols., 1993b, quienes no encuentran obliteración vestibular en niños menores de 3 años y medio, sin embargo, el subtipo estudiado fue EBDR inversa, subtipo que en este estudio no se evaluó. En los pacientes con EBDR intermedia, los resultados deben ser evaluados con cuidado ya que el número de participantes es bajo y hay gran variabilidad entre los valores, por ejemplo: en el rango 12 a 17 años, el n es de 4 personas y se encontró un paciente con una obliteración severa vestíbulo (2,4 mm) y, por otro lado, un paciente con un valor comparable a un paciente control (11,2 mm); fue el único rango etario que no presentó diferencia estadística, no se descarta de que exista, por lo cual, se propone evaluar en una muestra mayor de pacientes. Otro ejemplo es en el rango de 18 años o más, el n es 8 y se encontró un paciente con obliteración severa de 0,6 mm y, al contrario, un paciente con vestíbulo similar a los controles, de 8,7 mm.

Se esperaba encontrar una disminución más marcada en la PPVO de personas con EBDR sev y EBDR int en el rango etario de 12 a 17 años, debido a que entre los 10 y 20 años, la progresión de la severidad de las lesiones es más rápida por el incremento en la inflamación crónica en estos pacientes (Martinez A. y cols., 2020), sin embargo se establece que la obliteración del vestíbulo severa se observa desde edades muy tempranas, se mantiene severa durante toda la vida y se exacerba aún más en pacientes adultos, que en el caso de los pacientes con EBDR sev la pérdida de vestíbulo puede ser total y debe ser uno de los enfoques a prevenir y tratar tempranamente.

6.2.5 Profundidad promedio de vestíbulo oral según parámetro clínico.

a) Número de dientes perdidos: Ha sido ampliamente documentado que la pérdida de dientes produce la reabsorción del hueso alveolar y por consecuencia una disminución de la profundidad de vestíbulo al no tener hueso que lo subyace (Garth Lowe L., 2004; Hashemi y cols., 2012; Pietrokovski J., 2013; von Arx T. y cols., 2017). Algunos de los autores que estudian estos parámetros y consignaron valores se describen a continuación:

- Bosker L. y Wardle M., 1999 no estudian la profundidad de vestíbulo en sí, si no que miden la pérdida del reborde alveolar en pacientes desdentados. Reportan 5 pacientes desdentados totales que han perdido entre 16 y 33 mm de altura ósea en la sínfisis mandibular producto a la reabsorción del hueso alveolar.
- Sikkerimath B. y cols., 2012 reportan un promedio de 3,3 mm de PPVO en 10 pacientes desdentados totales, sin embargo, es poco específica la técnica de medición: no la describe y solo muestran imágenes realizando las mediciones clínicas con un calibrador dental de punta recta y medición con regla en un modelo de yeso.
- Chen J. y cols., 2014, midieron la PPVO en personas desdentadas taiwanesas en tres zonas de la boca, anterior (1 mm posterior al frenillo bucal), media (en el centro de la longitud anterior-posterior) y posterior (1 mm anterior a la muesca hamular), desde la cresta del reborde alveolar residual, hasta el fornix del vestíbulo bucal. Obtuvieron como resultados $7,5\text{mm} \pm 2,0$ en anterior, $8,6\text{mm} \pm 2,1$ medio y $10,3\text{ mm} \pm 2,0$ en posterior.
- Sohaib M. y cols., 2019 utilizaron los mismos parámetros que Chen J. y cols., 2014 e hicieron mediciones en dos sitios, el primero 1 mm posterior al frenillo labial anterior y el segundo 1 mm anterior al surco hamular, encontrando una diferencia de 10,6 mm en la zona anterior y 7,4 mm en la zona posterior.
- Crawford E. y cols., 1976 reportan que posterior a 1 o 2 meses después de la exodoncia de algunos dientes en pacientes con EBDR, la pérdida de vestíbulo oral fue total, e incluso indican que el paladar y el piso de la boca se volvieron contiguos al vestíbulo.

- Se sabe que uno de los factores es la reabsorción ósea, sin embargo, Korolenkova M., 2015 reporta formación de cicatrices vestibulares producto del procedimiento al realizar exodoncias múltiples, que contribuyeron aún más a la formación de fibrosis.

Los resultados concuerdan con la literatura, que, a mayor número de dientes perdidos, la profundidad promedio de vestíbulo disminuye. A pesar de esto, en pacientes control, la asociación entre ambas variables es débil, que se puede explicar por la metodología de recopilación de datos. La medición de PPVO se realizó en 10 dientes índices, sin embargo, la medición de dientes perdidos fue en toda la boca, no especificando si en el sitio de medición de PPVO estaba presente o ausente ese diente. Al no evaluarse la PPVO en cada sitio edéntulo, hace imposible comparar los resultados con los de la literatura, a pesar de esto, se dejan consignados los valores encontrados en la literatura para próximos estudios. Se propone que, a futuro, la medición de dientes perdidos sea solo en relación a los 10 dientes índice o, en cambio, se mida la PPVO en cada sitio edéntulo.

En los pacientes con EB, EBD y EBDR int fue mayor la fuerza de relación, lo cual puede deberse a que presentan un mayor porcentaje de desdentamiento y hay más posibilidades que en el sitio de medición de PPVO, se encuentre ausente ese diente. Finalmente, se encontró que en pacientes con EBDR sev no hubo una correlación significativa, lo cual se cree que se debe a que un gran número de pacientes a pesar de tener 0 dientes perdidos, presentaron una obliteración severa del vestíbulo debido a la fibrosis. Es por ello la urgente necesidad de prevención/promoción en salud oral y la regular atención dental, para evitar al máximo las extracciones dentales (sobre todo las exodoncias múltiples) y evitar acelerar la obliteración producida por la fibrosis.

b) Número de dientes perdidos por edad: Considerando el número de dientes perdidos por edad en la población chilena (los niños de 6 años presentan en promedio 0 dientes perdidos; a los 12 años, 0,1 dientes perdidos en promedio (Subsecretaría de Salud Pública, 2010); entre los 35 y 44 años, 5,9 dientes perdidos; entre los 65 y 74 años un promedio de 17,5 dientes perdidos (Urzua, I. y cols., 2012)), no se esperaba encontrar asociación entre el número de dientes

perdidos con la disminución de la PPVO en los tres primeros rangos etarios, solo se esperaba encontrar asociación en el último rango etario.

Los resultados concuerdan con lo esperado. En personas con EB pertenecientes al último rango etario se observó correlación significativa entre el número de dientes perdidos y la PPVO, debido a que hay un incremento en la pérdida de dientes, a diferencia de las personas pertenecientes a rangos etarios más jóvenes donde la pérdida de dientes fue menor y debido a la metodología (explicado en la sección 6.2.5 a), la correlación fue más significativa en pacientes con mayor pérdida de dientes, por mayor probabilidad de que el diente índice se encuentre ausente. Por otro lado, la correlación del número de dientes perdidos y PPVO en pacientes del grupo control pertenecientes al último rango etario no fue significativa, probablemente también por la metodología y el bajo número de dientes perdidos de este grupo, que difiere de lo encontrado en a nivel nacional: la mediana de número de dientes perdidos fue de 0 dientes, con un rango de 0 a 13 dientes (incluyendo al paciente de 66 años), esto se puede explicar por dos razones: 1.- que la realidad nacional haya cambiado, los registros son antiguos, sin embargo no existen estudios a nivel nacional validados más actualizados o, 2.- porque son pacientes en tratamiento en la facultad de odontología de la universidad de Chile, destacada por su enfoque mínimamente invasivo, por lo cual se intenta evitar efectuar exodoncias y se intenta mantener el diente.

La correlación es más fuerte a medida que los grupos son más homogéneos (EB<EBD<EBDR sev/int).

6.2.6 Profundidad promedio de vestíbulo oral según parámetros genéticos.

a) Gen afectado: Los pacientes con alteración en *KRT5* presentaron una mediana mayor de PPVO y estadísticamente significativa en comparación a pacientes control, sin embargo, no hay literatura que avale que se produzcan cambios a nivel molecular para que se genere este resultado. Al indagar sobre las edades de los pacientes con alteración en *KRT5*, se encontró que solo hubo diferencia en el rango etario de 12 a 17 años, por lo cual se cree que los pacientes con alteración en *KRT5* presentan valores de PPVO iguales a los de los pacientes control. Que la mediana haya sido superior a la de los pacientes control, se podría

explicar por el bajo número de participantes (n=11) en comparación al grupo control (n=105), que fue más representativo. Se reitera la dificultad de obtener un mayor n de pacientes con este gen alterado, ya que gran parte de estos pacientes no acuden a las atenciones brindadas por Debra.

Los pacientes con alteración en el vestíbulo fueron los pacientes con variantes en el gen *COL7A1* que codifica la proteína colágeno VII, colágeno de cadena larga (Sakai L. y cols., 1986; Has C. y cols., 2018). A continuación, se encuentra la descripción de *COL7A1* y el proceso de conformación de fibrillas de anclaje, necesario para desarrollar los puntos **6.2.6 a ii)** y **6.2.6 b)**.

i) Descripción de *COL7A1*.

Este gen consiste en 118 exones separados por intrones relativamente pequeños, en total comprende ~ 32 kb en el brazo corto del cromosoma 3 humano, región 3p.21 (Christiano A. y cols., 1994c; Chung H. y Uitto J., 2010). El mRNA de *COL7A1*, tiene aproximadamente 9 kb de tamaño, codifica un polipéptido pro α 1 (VII) de 2944 aminoácidos (350 kDa) (Christiano A. y cols., 1994a; Has C. y cols., 2018), que está constituido por tres partes principales. La primera consiste en un dominio globular amino terminal (NC1) no colagenoso grande, de aproximadamente 145 kDa, consta de submódulos con homología con proteínas adhesivas conocidas, incluida la proteína de la matriz del cartílago (Burgeson R., 1993), nueve fibronectinas tipo III consecutivas (FN- III), un segmento con homología con el dominio A de factor von Willebrand y una región corta rica en cisteína y prolina (Christiano A. y cols., 1992; Has C. y cols., 2018). La porción central de la molécula consiste en el dominio colágeno de 1,530 aminoácidos (Christiano A. y cols., 1994a; Christiano A. y cols., 1994c), con una secuencia de repetición Gly – X – Y (X e Y denotan aminoácidos distintos de la glicina (Nakamura H. y cols., 2004), encargada de que se pliegue en la conformación helicoidal triple colágena característica; se ve interrumpida por pequeñas deleciones o inserciones de uno o varios aminoácidos en 19 ocasiones para proporcionar flexibilidad a la proteína, incluida una inserción no colágena de 39 aminoácidos en el medio del dominio del colágeno (“región de bisagra”) (Christiano A. y cols., 1996a). La tercera parte está formada por un dominio

globular carboxi-terminal (NC-2) de aproximadamente 30 kDa, más pequeño, tiene una región ácida y segmento con homología con el inhibidor de la proteasa Kunitz, pero su funcionalidad no se ha establecido. (Greenspan D., 1993; Christiano A. y cols., 1994a; Varki R. y cols., 2007; Has C. y cols., 2018; Mariath L. y cols., 2019).

Al finalizar la traducción de las cadenas individuales pro- α 1 (VII), tres polipéptidos se asocian a través de sus extremos carboxi terminales para formar una molécula homotrimérica que en su dominio de colágeno se pliega en triple hélice (Varki R. y cols., 2007; Chung H. y Uitto J., 2010; Has C. y cols., 2018). Después de la secreción, las moléculas de colágeno VII forman dímeros antiparalelos con la superposición de los extremos NC-2, quedando los extremos amino presentes en ambos extremos de la molécula (Sakai L. y cols., 1986). El ensamblaje del dímero se acompaña de la eliminación de una porción del terminal carboxi por metaloproteasas similares a astacina, seguido de la estabilización de la asociación intermolecular con enlaces disulfuro (Colombo M. y cols., 2003). Finalmente, varias moléculas de dímero de colágeno tipo VII se ensamblan lateralmente en fibrillas de anclaje (Varki R. y cols., 2007; Chung H. Y Uitto J., 2010; Has C. y cols., 2018).

Los extremos amino terminales en ambos lados de las fibrillas de anclaje se unen a las macromoléculas de la zona de la membrana basal, como la laminina 332 y el colágeno tipo IV dentro de la lámina densa, utilizando la misma región para unir ambas macromoléculas y es de alta afinidad (Chen M. y cols., 1997; Brittingham R. y cols., 2006). Además, forman estructuras en forma de U que atrapan las fibras de colágeno intersticiales que consisten principalmente en tipo I, III y V, unión relativamente débil. (Chen M. y cols., 1997; Shimizu H. y cols., 1997; Brittingham R. y cols., 2006; Varki R. y cols., 2007; Villone D. y cols., 2008; Chung H. y Uitto J., 2010; Uitto J. y cols., 2017).

ii) Mecanismos de acción de fibrosis tisular en pacientes con variantes en *COL7A1* en ambos alelos.

Dos alteraciones en *COL7A1* que provocan ausencia de colágeno VII, desencadenarán distintas alteraciones a nivel molecular, celular y tisular que causarán la disminución de PPVO en estos pacientes. El análisis del proteoma reveló que los fibroblastos de cada variante EBDR particular tiene su propia firma proteómica (Malta M., 2020), sin embargo, en los artículos científicos se habla de EBDR y de ausencia total de colágeno VII, no especificando implícitamente el subtipo específico (al referirse a ausencia total de la proteína, se espera que sea EBDR sev).

A continuación, se describirán los mecanismos de acción de la fibrosis en pacientes con ausencia total de colágeno VII: una arquitectura anormal de la membrana basal y matriz extracelular (MEC); disminución de la deposición de proteínas de la membrana basal, mayor abundancia de proteínas de la MEC y modificaciones postraduccionales alteradas (Fritsch A. y cols., 2008; Kuttner V. y cols., 2013; Kuttner V. y cols., 2014). Se producen alteraciones a nivel celular como disminución de adhesión celular, aumento en el transporte vesicular, capacidad autofágica reducida en los fibroblastos y aumentada en los queratinocitos. Por último, todas las fases en la reparación tisular se verán afectadas: inflamación excesiva, retraso en la reepitelización por una migración celular alterada (Nyström A. y cols., 2013b) y aumento de la contracción de los tejidos por los miofibroblastos en la etapa de remodelación, provocando cicatrización patológica y finalmente fibrosis de los tejidos (Nyström A. y Bruckner-Tuderman L., 2018), lo cual fue comprobado por Ng Y.Z. y cols., en 2012, donde al reestablecer la expresión de *COL7A1*, el perfil pro-fibrótico se atenuó.

- Arquitectura anormal

Disminución de la deposición de proteínas de la membrana basal: Las proteínas de la membrana basal son significativamente menos abundantes en personas con EBDR, en particular, las cadenas de laminina $\alpha 4$, $\beta 1$, $\beta 2$ y $\gamma 1$, nidógeno 1, fibulina 1, colágeno IV e integrinas $\alpha 2$ y $\beta 1$, que debilitan la infraestructura de la membrana basal y amplifica la fragilidad de la piel causada por la falta de fibrillas de anclaje funcionales (Kuttner V. y cols., 2013; Kuttner V. y

cols., 2014). La desestabilización general de la zona de la MB induce a la liberación de factores de crecimiento por las células inflamatorias, incluidos el factor de crecimiento transformante β (TGF- β) que estimulan directamente la activación de fibroblastos dérmicos y la producción de MEC (Bhogal R. y Bona C., 2008).

Mayor abundancia de proteínas de la MEC: La señalización de TGF- β estimula la expresión de las enzimas involucradas en el procesamiento postraduccional de colágenos como las proteinasas BMP-1/mTolloid y lisil oxidasas (Lee S. y cols., 1997; Uzel M. y cols., 2001; Nyström A. y cols., 2015), además, produce inhibición de transcripción de miR-29 (al unirse a SMAD3 en su región promotora (Qin W. y cols., 2011; Zhou L. y cols., 2012), disminuye sus niveles y promueve el aumento de las proteínas de la MEC. (Zhou L. y cols., 2012; Oever M.V. y cols., 2016). El aumento de proteínas de unión al colágeno inhibe las vías de remodelación de la matriz y evitan que las enzimas proteolíticas accedan a sus sitios de interacción en el colágeno intersticial, retrasando la remodelación fisiológica de la matriz, los colágenos intersticiales I, III, V y VI aumentan (Kuttner V. y cols., 2013; Kuttner V. y cols., 2014). El aumento en los colágenos intersticiales, sumado a su fuerte reticulación por los fibroblastos alterados, y las contribuciones resultantes a la señalización de la matriz, pueden dar lugar a un aumento de la rigidez de la MEC que induce la señalización de TGF- β , comenzando nuevamente el ciclo y convirtiéndose en un circuito de retroalimentación positiva perjudicial (Nyström A. y cols., 2015; Coelho N. y cols., 2016).

- Funciones celulares alteradas

Reducción de la adhesión celular: La reducción de proteínas de adhesión tales como la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), laminina $\alpha 4$ y $\beta 2$ podría explicar la adhesión reducida de las células de personas con EBDR (Kuttner V. y cols., 2013; Kuttner V. y cols., 2014).

Aumento en el transporte vesicular celular: Los portadores vesiculares, COPI y COPII, que facilitan el transporte de proteínas sintetizadas entre el retículo endoplasmático y el aparato de Golgi de manera retrógrada y anterógrada,

respectivamente, son más abundantes en fibroblastos de personas con EBDR (Kuttner V. y cols., 2014).

Capacidad autofágica reducida en fibroblastos y aumentada en los queratinocitos: La capacidad autofágica reducida en los fibroblastos de personas con EBDR indica un nivel de estrés elevado en las células. Existe mayor abundancia de autofagosomas, sin embargo, se ha demostrado que la ausencia de colágeno VII produce una disminución de transglutaminasa-2 (TGM-2), compañero de interacción estable del colágeno VII, que tiene capacidad reguladora de la autofagia (Nurminskaya M. y Belkin A., 2012; Wang Z. y Griffin M., 2012). Además, cumple otras funciones como participación en la adhesión celular (Telci D. y Griffin M., 2006), la estabilización de estructuras extracelulares como las microfibrillas dérmicas (Jensen S. y cols., 2012), el complejo de membrana basal laminina-nidógeno (Aeschlimann D. y Paulsson M., 1991), y anclaje de fibrillas (Raghunath M. y cols., 1996). La falta completa de la proteína o su actividad transamidante bloquea la autofagia mediante la inhibición de la fusión de autofagosomas y lisosomas, explicando la capacidad autofágica reducida de estas células (Kuttner V. y cols., 2014). Esta proteína es restaurada al haber, incluso, niveles reducidos de colágeno VII, por lo cual solo se ve disminuida en los casos de EBDR severos donde se produce mayor obliteración vestibular (Kern J. y cols., 2009b; Kuttner V. y cols., 2014)

En los queratinocitos, las proteasas lisosomales catepsina Z y catepsina B aumentan significativamente aumentando su capacidad autofágica. Además, el inhibidor de la catepsina B, cistatina A se encuentra significativamente reducido en el MEC de estos pacientes. Thriene K. y cols., 2018 dilucidaron el papel de catepsina B, como un mediador tanto de la inflamación como de la activación de actividades proteolíticas desestabilizadoras de tejidos. La catepsina B es inducida por el aumento de la señalización de TGF- β (Jiang, Y. y cols., 2016) y, a la vez, activa la señalización de este factor de crecimiento (Gogineni, V. y cols., 2012; Moles, A. y cols., 2012; Akkari, L. y cols., 2014; Bengsch, F. y cols., 2014), es decir existe un circuito de retroalimentación positiva perjudicial: la pérdida de colágeno VII conduce a un aumento de la señalización de TGF- β , aumentando los niveles de catepsina B, que a su vez pueden potenciar las señales de TGF- β . La

cathepsina B también podría contribuir a la regulación postranscripcional de las proteínas de la MEC, como la disminución de las lamininas beta-1 y gamma-1 (Thriene K. y cols., 2018).

- Reparación tisular alterada

Fase inflamatoria - Inflamación excesiva: Las explosiones de actividad de TGF- β después de una lesión tisular en pacientes con EBDR, incrementan los niveles de citocinas proinflamatorias (como interleuquina 6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)) y de la proteína quimio atrayente de monocitos (MCP-1), que promueven la transición de fibroblastos a miofibroblastos y el reclutamiento de monocitos e inflamación en el estroma estimulando la curación dérmica (Eickelberg, O. y cols., 1999 T; Jang Y. y cols., 2000; Kim J. y cols., 2006; Seong, G.J. y cols., 2009; Zhang, F. y cols., 2009; Odorisio T. y cols., 2014; Nyström A. y cols., 2015). La citocina proinflamatoria (IL-6) induce la expresión de vitronectina (Seiffert D. y cols., 1996), glucoproteína vinculada al tejido inflamado lesionado, estimulando la curación dérmica durante la formación de cicatrices (Seiffert D., 1997; Jang Y. y cols., 2000; Tsuruta Y. y cols., 2007; Nyström A. y cols., 2015).

Los macrófagos tipo 2 causan un aumento en la señalización interleuquina 4-13 que, a la vez, estimulan los fibroblastos dérmicos para sintetizar lisil hidroxilasa 2, promoviendo la reticulación del colágeno intersticial que se mencionó anteriormente (Knipper J. y cols., 2015; Nyström A. y cols., 2018). La actividad inflamatoria sostenida en el tiempo exacerba aún más la liberación de TGF- β y la desestabilización de la arquitectura del tejido aumentando la fibrosis (Wynn T. y Ramalingam T., 2012, Wynn T. y Vannella K., 2016). Es por esto por lo que los fenotipos con inflamación menos exacerbada son fenotipos más leves (Odorisio T. y cols 2014; Nyström A. y cols., 2015; Nyström A. y Bruckner-Tuderman L., 2018).

Las proteínas S100A8 y S100A9 muestran un marcado aumento en el MEC de queratinocitos, mientras que hay una regulación mínima en el nivel de mRNA, indicando que se controlan por mecanismos postranscripcionales (Schwanhausser B. y cols., 2011; Vogel C. y Marcotte E. M., 2012; Thriene K. y cols., 2018). Son

heterodímeros que se unen al calcio y toman el nombre de calprotectina y se ha utilizado como biomarcador para la inflamación aguda y crónica de diversas índoles (Burri, E. y Beglinger, C., 2012; Herrera, O. y cols., 2016). Estas proteínas podrían ser objetivos farmacológicos interesantes para interferir con la inflamación persistente de la piel en personas con EBDR. Se ha demostrado que los inhibidores sintéticos llamados péptidos (proteínas de fusión péptido-Fc) dirigidos contra S100A8 y S100A9 interfieren con su actividad en ratones (Qin, H. y cols., 2014). Sin embargo, no hay estudios en humanos (Thriene K. y cols., 2018).

Fase proliferativa - Retraso en la reepitelización: Las células inflamatorias y las células del sitio de lesión inducen: metaloproteinasa 2 (MMP2) encargada de degradar el colágeno I, II, III y IV (Cascales M. y cols., 2010), metaloproteinasa 3 (MMP3) tiene control indirecto de la migración celular (Cascales M. y cols., 2010), metaloproteinasa 14 (MMP14) proteína transmembrana de la MB que interviene en procesos de angiogénesis, adipogénesis y crecimiento celular (Pereira V. y cols., 2016), que además de sus funciones particulares, todas están ligadas a la migración celular (Wolf K. y Friedl P., 2009), que, a pesar de estar aumentadas en las personas con EBDR, su actividad se encuentra significativamente reducida debido al aumento del inhibidor de metaloproteinasa 3 (TIMP3) que inhibe MMP2 y MMP3 y la eliminación del ectodominio de MMP14, lo que hace que el muñón unido a la membrana esté inactivo (Kuttner V. y cols., 2013).

Además, la pérdida de colágeno VII conduce a una desorganización de la laminina-332 por los queratinocitos epidérmicos, con depósitos densos alternando con regiones dispersas de esta glucoproteína y expresión supra basal desorganizada de integrina $\alpha 6\beta 4$ (Nyström A. y cols., 2013b) que se controlan principalmente por mecanismos postranscripcionales, como la tasa de traducción y la degradación de proteínas (Vogel, C. y Marcotte, E. M., 2012; Schwanhausser, B. y cols., 2011; Thriene K. y cols., 2018), y que finalmente, causan un retraso en la reepitelización al alterar la migración de queratinocitos (Nyström A. y cols., 2013b). Esta migración retardada provoca la presencia prolongada de células inflamatorias (que desencadena los problemas mencionados en el punto anterior), localización anormal de miofibroblastos, y prolongando el tiempo en que el de

tejido de granulación está presente en la herida (será analizado a continuación) (Nyström A. y cols., 2013b).

Fase de remodelación - Aumento en la contracción del tejido por miofibroblastos: La tercera y más larga fase de curación de heridas incluye la maduración y remodelación del nuevo tejido. En esta fase, los miofibroblastos y los capilares excesivos desaparecen, y la fuerza del tejido mejora con el recambio y la remodelación de la matriz extracelular provisional (Schäfer M y Werner S., 2008; Nyström A. y cols., 2013b). En la dermis, el coágulo de fibrina se reemplaza por un tejido de granulación rico en vasos y colágeno, en el que los fibroblastos se diferencian en miofibroblastos que contraen la herida. Estos miofibroblastos son uno de los tipos de células más importantes para la deposición de colágeno intersticial y generador de fibrosis (Schäfer M y Werner S., 2008; Nyström A. y cols., 2013b; Coelho N. y cols., 2016).

En personas con EBDR, hay mayor señalización de TGF- β por las células inflamatorias que induce mayores concentraciones de ARNm de alfa actina del músculo liso (α -SMA / ACTA2) y del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1 / Serpin) (Leask A. y Abraham D.J., 2004; Nagamine, Y. y cols., 2005; Odorisio T. y cols., 2014); sumado al aumento de la rigidez del tejido y presencia prologada de tejido de granulación, impulsan la diferenciación de miofibroblastos (Wipff P.J. y cols., 2007; Fritsch A. y cols., 2008; Wells R. y Discher D., 2008; Hinz B., 2010; Nyström A. y cols., 2013b; van Putten S. y cols., 2016). La presencia de α -SMA en fibras de estrés confiere una actividad contráctil significativamente más fuerte a los miofibroblastos diferenciados que a los fibroblastos control. De hecho, la α -SMA puede considerarse como una proteína mecano-sensorial, porque su expresión e incorporación en las fibras de estrés de actina preexistentes en los miofibroblastos aumenta cuando el microambiente genera un mayor estrés, generando un círculo vicioso perjudicial: mayor diferenciación de miofibroblastos \rightarrow mayor contractilidad \rightarrow aumento en la síntesis de matriz por miofibroblastos \rightarrow rigidez progresiva \rightarrow mayor estrés, comenzando nuevamente el ciclo (Hinz, B., 2007; Fritsch A. y cols., 2008).

Este es el análisis de pacientes con ausencia completa de colágeno VII, sin embargo, no todos los pacientes con variantes en el gen *COL7A1* la presentan,

por lo cual se continuará este tema en el punto **6.2.6 b**, posterior al análisis de las consecuencias funcionales del mRNA o de la proteína.

b) Consecuencia funcional del mRNA o proteína afectada: Se buscó determinar si el efecto funcional en el RNA mensajero o proteína afectada está asociada a la profundidad promedio de vestíbulo oral. Para ello, se evaluó todas las variantes que portaban las personas con EBD, y así establecer por qué hay diferencias en las PPVO en los distintos subtipos a pesar de que esté afectado el mismo gen (que fue el único grupo de personas que presentaron diferencias significativas de PPVO). Fortuna G. y cols., 2014 compara la profundidad de vestíbulo oral de pacientes mexicanos con EBD con diferentes variantes (n=5), reportaron valores de profundidad de vestíbulo entre 0,0 a 0,5 mm, sin embargo, ninguna de las variantes reportadas en el estudio está presentes en el nuestro, impidiendo hacer una comparación, además de que no describen el método de medición.

Hasta la fecha, se han reportado 878 variantes en el gen *COL7A1* (Human gene mutation database profesional, v.2020):

- 463 variaciones de un solo nucleótido (52,7%)
- 247 de desplazamiento del marco de lectura (66 inserciones (7,51%), 166 deleciones (18,92%), 15 de inserción-delección (1,71%))
- 165 de procesamiento (18,8%)
- 2 regulatorias (0,23%)
- 1 compleja (0,11%)

de las cuales 19 se encuentran en este estudio y, además, 5 están siendo reportadas por primera vez.

Hubo dos variantes considerablemente más prevalentes: c.6527dupC, variante que la portaron 32 de las 68 personas, es decir un 47% de las personas con EBD y c.7708delG, que la portaron 23 de las 68 personas, un 33.8%. Ambas variantes son consideradas variantes con un ancestro común (Rodríguez F. y cols., 2012), por un lado, se demostró el efecto fundador de c.6527dupC proveniente de España (Cuadrado-Corrales N. y cols., 2010), si bien no se puede

concluir que el progenitor ancestral de la variante chilena provenga de España, se puede sugerir (Rodríguez F. y cols., 2012); por otro lado, no se ha determinado el lugar de procedencia del ancestro común de c.7708delG.

Cuatro de las variantes de este estudio fueron sustituciones de C por T, todas fueron parte de di nucleótidos CpG. Los dinucleótidos CpG son propensos a mutar como resultado de una hiper-mutabilidad de la 5-metil-citosina a timina (Campbell C. y Eichler E., 2013; Nishie W. y cols., 2014). No se consideró en estas 4 variantes a c.-185C>T debido a que no se tiene información con respecto a si es parte de un di nucleótido CpG. A pesar de no haber predicho su efecto funcional, se recabó información de ella por primera vez ya que nunca había sido descrita: los 4 pacientes que la portaron presentaron valores de PPVO normales, 3 de ellos presentaron EBDR loc y 1 EBDR int, por lo cual esta variante no genera un fenotipo severo.

Se ha determinado que las variantes dentro del dominio NC-1 pueden interferir con las interacciones del colágeno VII con el colágeno IV y laminina 332 (Chen M. y cols., 1999; Brittingham R. y col., 2006; Vahidnezhad H. y cols., 2017). En este estudio, 5 variantes se ubicaron en NC-1.

i) Pacientes con EBDR sev: En el estudio y coincidiendo con la literatura, se ha demostrado que la mayoría de las variantes que portan los pacientes con EBDR sev son de tipo sin sentido o de cambio de marco (Eichstadt S. y cols., 2019), **que generan codones de terminación prematura en ambos alelos** (Uitto J. y cols., 1995; Christiano A. y cols., 1994b; Dang N. y Murrell D., 2008; Eichstadt S. y cols., 2019; Mariath L. y cols., 2020a; Mariath L. y cols., 2020b) correspondiendo al 97% de los pacientes con EBDR sev de este estudio. Los mRNA que generaron un codón de terminación prematura, son detectados por el mecanismo “*nonsense-mediated decay*” (NMD), son degradados y como consecuencia, no se producirá el colágeno VII; o se forman polipéptidos truncados que no son capaces de asociarse para el ensamblaje de fibrillas de anclaje debido a que carecen del dominio NC2 y la región C-terminal requerida para la unión disulfuro intermolecular durante la formación del dímero antiparalelo (Dang N. y

Murrell D., 2008; Saito M. y cols., 2008; Eichstadt S. y cols., 2019; Mariath L. y cols., 2020b). Los mecanismos alterados en estos pacientes, para la generación de la fibrosis tisular, fueron descritos en la sección **6.2.6 a ii)**; la ausencia completa de colágeno VII genera un fenotipo más severo, demostrándose al presentar las menores PPVO en este estudio. A pesar de esto, algunos de los pacientes con EBDR sev presentan en un alelo una variante que genera ausencia de la proteína y alteración funcional de la proteína en el otro, en estos casos, no existe literatura que describa la proteómica de estas personas.

ii) Pacientes con EBDR int: La gran variabilidad de tipo de variantes y por ende consecuencias funcionales en las proteínas provocan las diferencias de severidad clínica en los pacientes con EBDR int (Christiano A. y cols., 1996b; Shimizu H y cols., 1996), algunos pacientes con obliteración vestibular severa y otros con vestíbulos normales. Los resultados de este estudio coinciden con lo descrito en la literatura, la mayor parte de los pacientes con EBDR int son heterocigotos compuestos, en un alelo presentan una variante sin sentido, de cambio de marco o de corte y empalme (más de la mitad de estos pacientes en este estudio), y en el segundo, una variante que genera un codón de terminación prematura (Varki R. y cols., 2007 ; Saeidian A. y cols., 2018; Eichstadt S. y cols., 2019), sin embargo otros tipos de variantes, en diferentes combinaciones, también se han asociado con este subtipo (Mariath L. y cols., 2020b). Al menos una de estas variantes permite cierta producción de colágeno VII, en algunos casos permite el ensamblaje parcial de las fibrillas de anclaje, pero presentan una baja estabilidad al agregarse lateralmente entre sí, explicando el fenotipo más atenuado en relación con los pacientes con el subtipo severo y las profundidades promedio de vestíbulo mayores. Los cambios genéticos asociados con este subtipo pueden afectar la asociación de polipéptidos, la formación y estabilidad de la triple hélice, o provocar alguna modificación conformacional en la proteína (Varki R. y cols., 2007; Dang N. y Murrell D., 2008; Mariath L. y cols., 2020b).

Los pacientes con variantes de corte y empalme que presentaron una opción de consecuencia funcional un codón de terminación prematura aguas arriba (c.2992+2T>G, c.3760+2T>G, c.7876-1G>A), presentaron una profundidad

promedio de vestíbulo menor en comparación a los que presentaron solo aguas abajo (c.4342-2A>G, c.5532+1G>T), debido a que en general estos presentan fenotipos más severos (Tamai K. y cols., 1999; Dang N. y Murrell D., 2008), sin embargo el n de pacientes es bajo (n=9) para determinar una asociación.

Los mecanismos descritos en la sección **6.2.6 a ii)** para la generación de fibrosis, es en personas con ausencia total de colágeno VII, sin embargo, se reitera que no hay literatura que analice la proteómica de pacientes que presentan variantes en *COL7A1* que generan ausencia de la proteína en un alelo y proteína no funcional en el otro, o la generación de una proteína con delección de aminoácidos por alguno de los alelos, como lo es en algunos de los casos de personas con EBDR int. Además, se debe tener en consideración la gran variabilidad genética en los pacientes con EBDR int, por lo cual, la descripción de la proteómica debiese ser realizada en una gran muestra de pacientes que abarque genotipos distintos y consecuencias funcionales diferentes.

iii) Pacientes con EBDD int y EBDD loc: Semejante a lo relatado en la literatura, todas las variantes de los pacientes con EBDD fueron sustituciones heterocigóticas de uno de los residuos importantes de glicina de las repeticiones Gly-X-Y y todas se ubicaron en el dominio colágeno triple helicoidal (Whitlock N. y cols., 1999; Varki R. y cols., 2007; Dang N. y Murrell D., 2008; van den Akker P. y cols., 2011; Mariath L. y cols., 2020a; Mariath L. y cols., 2020b). Estas variantes afectan a los aminoácidos que son esenciales para el plegamiento de la triple hélice, pero generan un polipéptido pro α 1 (VII) de longitud completa que contiene NC2, logrando ensamblarse con polipéptidos de tipo salvaje (Varki R. y cols., 2007). El plegamiento incorrecto aumenta la sensibilidad de la proteína a la digestión por tripsina y, por tanto, se asocian a la disminución de la estabilidad de todo el complejo de fibrillas de anclaje (Varki R. y cols., 2007; Dang N. y Murrell D. 2008; Nyström A. y cols., 2013a; Mariath L. y cols., 2020b).

Suponiendo una expresión igual de alelos de tipo salvaje y mutantes, siete octavos de las moléculas triméricas contienen al menos una cadena pro α 1 mutante y solo un octavo consiste únicamente en polipéptidos normales (Hammami-Hauasli N. y cols., 1998; Dang N. y Murrell D., 2008). Las moléculas de

colágeno VII homocigotas que contienen solo cadenas α pro α 1 (VII) mutadas son menos estables que las moléculas de colágeno VII compuestas por cadenas α mutantes y de tipo salvaje, efecto conocido como dosificación genética de la variante, pudiendo generar subtipos dominantes y recesivos (Nyström A. y cols., 2013a). No hubo variantes que se presentaran tanto en pacientes con EBDR, como en pacientes con EBDD en este estudio, sin embargo, se deja constancia de que puede ocurrir (Almaani N. y cols., 2011; Uitto J., 2011). Se cree que las sustituciones recesivas de glicina en *COL7A1* alteran la síntesis de proteínas, el transporte o secreción de proteínas intracelulares y extracelulares, el ensamblaje en fibrillas de anclaje o una combinación de ellos (Uitto J., 2011). La variante c.8245G>A fue la única sustitución de glicina que generó un subtipo recesivo en vez de uno dominante y en la literatura también ha sido reportado solo para subtipo recesivo (Christiano A. y cols., 1996a). En particular, se demostró que la consecuencia de la variante c.8245G>A causa un plegamiento incompleto del colágeno VII, por ende, una disminución del nivel de la proteína estable *in vivo*, y una marcada reducción del número de fibrillas de anclaje en pacientes con EBDR (Woodley D. y cols., 2008).

El dominio colágeno triple helicoidal es responsable de la actividad de promoción del colágeno VII para la migración de queratinocitos humanos (Woodley D. y cols., 2008). La ubicación específica de la sustitución de glicina dentro del CTH es crítica para determinar su impacto en la estabilidad general de las fibrillas de anclaje (Christiano A. y cols., 1996a; Dang N. y Murrell D., 2008), algunos aminoácidos son más importantes para la estructura del colágeno VII, afectando de una manera más significativa que otras (Mariath L. y cols., 2020b). Las variantes cercanas a las interrupciones no colágenas del CTH conducirían a la formación de una proteína menos estable que en los segmentos colágenos largos e ininterrumpidos o cerca de los extremos N- o C-terminales (Hammami-Hauasli N. y cols., 1998; Dang N. y Murrell D., 2008; Chiaverini C. y cols., 2010; Chiaverini C. y cols., 2014; Mariath L. y cols., 2020a). Se ha reportado una mayor prevalencia de variaciones en los exones 73-75, como parte de un tramo de 35 tripletes de Gly-XY, que coincide ser justo después de la región de bisagra, en el CTH (Hovnanian A. y cols., 1997; Dang N. y Murrell D., 2008; Wertheim-Tysarowska K.

y cols., 2011), se estima que los aminoácidos en esta región contienen un dominio crítico para la adhesión de fibroblastos dérmicos (Woodley D. y cols., 2008) y en particular, se estima que el exón 73 puede contener residuos de aminoácidos críticos para la función de promoción de la motilidad de la proteína (Woodley D. y cols., 2008). En esta región, la mayoría de las variantes que se generan son dominantes, mientras que, en otras regiones de la triple hélice pueden causar una interferencia negativa menos dominante, cuando se heredan en trans con un alelo *COL7A1* de tipo salvaje, estas variantes son típicamente silenciosas (Christiano A. y cols., 1996a) y solo dar lugar a una enfermedad clínica recesiva cuando se encuentre en estado homocigoto o combinado con una variante que genere un codón de terminación prematura (Christiano A. y cols., 1996a ; Dunnill M. y cols., 1996; Shimizu H. y cols., 1996; Varki R. y cols., 2007; Dang N. y Murrell D., 2008). Cuatro de las veinticuatro variantes de este estudio se ubicaron entre los exones 73-75, dos de ellas son c.6100G>A y c.6127G>A que se ha demostrado que causa la interferencia de plegamiento de proteínas de una manera negativa dominante causando la acumulación intracitoplasmática de pro α 1 (VII) (Hammami-Hauasli N. y cols., 1998; Chen M. y cols., 2002 T; Woodley D. y cols., 2008; Nishie W. y cols., 2014).

Cuando se ve afectada la región de bisagra en una proteína con delección de aminoácidos o una proteína no funcional, la proteína es probablemente menos flexible que las moléculas normales y no puede interactuar espacialmente con estabilizadores de la piel como su contraparte normal (Chmel N. y cols., 2018).

No hay artículos científicos que describan la proteómica de pacientes que generen proteína no funcional en uno de los alelos y presenten el otro alelo silvestre, solo se cuenta con la información de que estos pacientes no generan fibrosis y se demuestra en el presente estudio, al presentar valores de PPVO similares a control.

iv) Correlación fenotipo-genotipo: En EBD se ha demostrado una correlación razonable fenotipo-genotipo, que señala la importancia de la naturaleza y la posición de las variantes patogénicas en *COL7A1*, así como las consecuencias a nivel de mRNA o de la proteína, en las manifestaciones clínicas

(Mariath L. y cols., 2019), lo cual se respalda en el presente estudio al encontrar una asociación entre el genotipo y el subtipo de EB que presentan las personas con EBD (prueba de χ^2 $p=0,000$). Sin embargo las correlaciones genotípicas establecidas no son válidas para todos los pacientes, hay algunos casos que escapan de la norma por ejemplo en este estudio: en general, los pacientes que presentaron mismas variantes genéticas, presentaron similares PPVO, sin embargo hubo algunos casos presentando mismas alteraciones y perteneciendo al mismo rango etario, que presentaron PPVO muy diferentes, por ejemplo una paciente con EBDR sev, genotipo c.7708delG /c.7708delG (que genera ausencia total de la proteína), que presentó una PPVO de 8,6 mm, valor muy superior a los demás valores de pacientes con EBDR sev que presentaban su mismo genotipo. Otro caso donde se evidenció fue el de 2 hermanos homocigotos para c.3760+2T>G con PPVO= 2,9mm v/s 8,7mm, respaldando el efecto modificadores genéticos, epigenéticos y de factores externos en la severidad de la condición (Hovnanian A. y cols., 1997; Kern J. y cols., 2009a; Mariath L. y cols., 2019) y se desarrollarán a continuación.

Modificadores genéticos: Un tipo de modificador genético está representado por variantes en *cis* que pueden cambiar la expresión del alelo correspondiente, lo que da como resultado, por ejemplo, una omisión en el marco del exón que contiene la variante que causa la enfermedad (Schwieger-Briel A. y cols., 2015; Has C. y cols., 2020b). Un segundo tipo de modificador genético es el mosaicismo, ya sea como mosaicismo postcigótico para una variante que causa la enfermedad (Shipman A. y cols., 2014; van den Akker P. y cols., 2015; Vázquez-Osorio I. y cols., 2017) o como mosaicismo revertido *COL7A1* (Pasmooij A. y cols., 2010). El mosaicismo postcigótico para variantes dominantes puede explicar un fenotipo aparentemente leve en un padre y una enfermedad más grave en la descendencia (Has C. y cols., 2020b). Se ha informado mosaicismo revertido en todos los tipos de EB y explica las áreas de la piel con una estabilidad mecánica mejorada debido a la reparación espontánea de la variante que causa la enfermedad (Jonkman M. y Pasmooij A., 2009; Has C. y cols., 2020b). Un tercer tipo de mecanismo modificador genético está representado por variantes en genes que no están directamente asociados con la EB, pero sus productos pueden modular o influir en

las proteínas asociadas a la EB. Un ejemplo de este tipo es metaloproteinasa 1 (MMP1), se informó que una variante genética funcional frecuente en el promotor MMP1 se asociaba con una mayor gravedad de la enfermedad en EBDR debido a al desequilibrio entre la síntesis y degradación del colágeno VII (Titeux M. y cols., 2008; Has C. y cols., 2020b).

Los factores epigenéticos: son aquellos que modulan la expresión génica, incluyen componentes de heterocromatina, proteínas polycomb, ARN no codificante y metilación del ADN (Cavalli G. y Heard E., 2019); sin embargo, no se han demostrado en pacientes con EB.

Finalmente, se encuentran los factores externos: los factores individuales (por ejemplo, personalidad, contexto familiar), socioeconómicos (por ejemplo, acceso a la atención médica y condiciones higiénicas) y ambientales (por ejemplo, el clima) (Has C. y cols., 2020b).

En resumen, la diferencia en la profundidad de vestíbulo de personas con EBD dependería principalmente de la naturaleza y/o posición de la sustitución de aminoácidos, modificadores genéticos, epigenéticos, y los factores externos (Hovnanian A. y cols., 1997; Has C. y cols., 2020b).

6.3 TERAPIAS PARA AUMENTAR LA PROFUNDIDAD DE VESTÍBULO ORAL

Tras nuestros resultados, se encontró que en pacientes con EBD mayores a 6 años, 14 personas presentaron PPVO entre 4 y 6,5 mm, y 32 personas valores de PPVO entre 0 y 3,9 mm, a diferencia de los pacientes control, que el 100% de las personas de esta edad presentaron una PPVO sobre los 7 mm. Por lo tanto, teniendo en consideración que el 80,7% de las personas con EBD mayores de 6 años presentaron una disminución en la profundidad promedio de vestíbulo oral, demuestra la alta prevalencia de esta condición y hace necesario la búsqueda de posibles tratamientos para intentar mejorar su calidad de vida.

6.3.1 Terapias farmacológicas: Hasta ahora, la mayoría de los esfuerzos en el desarrollo de una terapia para personas con EBDR, se han concentrado en reintroducir colágeno VII en la piel utilizando estrategias de terapia basadas en genes, células o proteínas (Hsu C. y cols., 2014). Sin embargo, dados una serie

de desafíos con tales enfoques, es probable que la implementación clínica esté a años de distancia. Por lo tanto, se plantea un enfoque alternativo dirigido a mejorar los síntomas, en este caso todas las afecciones producidas por la fibrosis de tejidos orales como la obliteración del vestíbulo, microstomía, anquiloglosia y de otras partes del cuerpo como la pseudosindactilia (Nyström A. y cols., 2015).

Como se dijo anteriormente, TGF- β es uno de los principales participantes en la generación de fibrosis en pacientes con EBDR, causando alteraciones en la proliferación y diferenciación celular, producción de MEC y modulación de la respuesta inmune (Kiritsi D. y Nyström A., 2018). Se ha descrito que la reducción de la actividad de TGF- β puede reducir la fibrosis, retrasar el desarrollo de contracturas articulares y deformidades en las manos, y potencialmente limitar el carcinoma de células escamosas (Fritsch A. y cols., 2008; Dietz H., 2010; Nyström A. y cols., 2013b; Nyström A. y cols., 2015). Varias moléculas pueden inhibir la acción de TGF- β in vitro, pero muchas de ellas tienen limitaciones para la terapia humana (Akhurst R y Hata A., 2012). Algunos medicamentos que se están estudiando actualmente y que parecen prometedores son raloxifeno, el antioxidante N-acetilcisteína (Aguado T. y cols., 2020), TXA127 (Nyström A. y cols., 2017) losartán (Kiritsi D. y cols., 2020) y el fármaco peptídico proteína 1 del grupo de alta movilidad (HGMB1) (Tamai K., 2020). A continuación, se explicarán los principales resultados obtenidos con losartán y el fármaco peptídico HGMB1, ya que son los más documentados y con estudios clínicos más avanzados.

a) Losartán: Es un antagonista del receptor de angiotensina II tipo 1 de molécula pequeña utilizado para tratar la hipertensión, reduce la expresión de TGF- β (Lim D. y cols., 2001), es un medicamento aprobado por la administración de alimentos y medicamentos de Estados Unidos (FDA) y agencia europea de medicamentos (EMA) para otras indicaciones y, por lo tanto, es interesante para un enfoque de "fármaco reposicionado" para reducir la fibrosis (Albregues J. y cols., 2014; Nyström A. y cols., 2015; Uitto J. y cols., 2017). En 2012, se contrarrestó la señalización de TGF- β con este medicamento, de manera específica al contexto y a la enfermedad en un paciente con EBS (Ramirez F. y Rifkin D., 2012). Posteriormente, Nyström A. y cols. hacen en 2015 uno de los más

importantes descubrimientos en el tratamiento de la fibrosis en pacientes con EBDR, reportó que los ratones tratados con losartán exhibieron significativamente menor fusión general de los dedos, producto de que el fármaco limita las cicatrices excesivas posteriores a las heridas. Exhibieron marcadamente menos infiltrados inflamatorios (se reducen incluso con tratamientos a corto plazo), fibras elásticas mejor organizadas, una tendencia a una dermis más delgada y por consecuencia menor fibrosis de los tejidos, en comparación a los ratones hipomórficos (colágeno VII) no tratados. En resumen, el losartán disminuye la inflamación, la acumulación excesiva de MEC y la rigidez de los tejidos, mejorando notablemente el fenotipo a uno más leve de EBDR, a nivel tisular, celular y molecular (Nyström A. y cols., 2015). Losartán actúa a través de múltiples mecanismos. Al inhibir la señalización del receptor de angiotensina II tipo 1, reduce la expresión de activadores de TGF- β latente, como trombospondina 1 (Tsp1) (Murphy-Ullrich J. y Poczatek M., 2000), la expresión de ligandos y receptores de TGF- β (Loeys B., 2015) y la remodelación de la MEC (Nyström A. y cols., 2015). Con el tratamiento se ve una disminución de la concentración de tenasina C, fibronectina, vitronectina, serpina f2, IL-6, alpha-2-glicoproteína rica en leucina 1 (Lrg1), TNF- α , galectina-3 (Lgals3) y el grosor de las fibras de colágeno I, evitando el endurecimiento progresivo del tejido. Además, hay limitación de la conversión de fibroblasto a miofibroblasto. Estos cambios también son a nivel transcripcionales. Losartán reduce Cd11b (marcadores de inflamación en la piel RDEB), indicando que el fármaco alivia la inflamación, incluso al poco tiempo de administrarlo (Nyström A. y cols., 2015). En personas normotensas tiene poco o ningún efecto sobre la presión arterial a menos que la persona tenga una deficiencia notable de sal (Burnier M. y cols., 1995), no se han documentado efectos metabólicos adversos y la función renal no se ve alterada (Goa K. y Wagstaff A., 1996; Inamadar A. y cols., 2020).

En 2019, losartán recibió la designación de medicamento huérfano para tratamiento de la EB por la FDA y de EMA, esto proporciona reducciones de las tarifas y apoyo de las agencias reguladoras a lo largo del proceso de aprobación y desarrollo (Kiritsi D. y cols., 2020). Inamadar A. y cols., 2020, utilizan el fármaco como terapia moduladora de la formación de ampollas en un paciente de 6 años

con EBDR, reportan una reducción en el número de ampollas con una cicatrización favorable a las 2 semanas del tratamiento y tras el seguimiento de 7 meses, las ampollas habían disminuido considerablemente; el paciente reporta mejoría en su calidad de vida, reducción en la sialorrea (por reducción en las ampollas orales) y mejor estado nutricional. En este caso en particular, el losartán se disolvió en ciproheptadina, la cual ayudó a reducir la picazón asociada a la EB y a reducir las ampollas. Esto podría explicar la reducción del número de ampollas encontrado en este artículo, propiedad no encontrada por Nyström A. y cols., 2015 y sería interesante un estudio que compare ambos tratamientos. Como desarrollo clínico, un ensayo en fase I/II (REFLECT), financiado por Debra Internacional (2017-2021), explora la seguridad y la tolerabilidad de losartán en niños con EBDR de 3 a 16 años. El ensayo también recopila la primera información sobre la eficacia potencial del losartán para mejorar los síntomas clínicos específicos y la calidad de vida (Uitto J. y cols., 2017; Bruckner-Tuderman L. y cols., 2019). En el primer congreso internacional de EB en 2020, Kiritsi D. y cols., realizan un análisis intermedio después de que 18 pacientes completaran el ensayo, indicando que hubo reducción de la inflamación y la fibrosis sin presentar complicaciones, por lo tanto, el losartán es seguro y tolerable para los pacientes con EBDR. Actualmente se está planificando el ensayo de fase II / III, con el fin de diseñar una formulación pediátrica de losartán (Kiritsi D., 2020), esto da esperanzas de reducir la severidad de las manifestaciones de pacientes con EBDR.

b) Fármaco peptídico HMGB1: En condiciones fisiológicas y patológicas, HMGB1 tiene una serie de funciones diferentes (Tamai K. y cols., 2011; Bruckner-Tuderman L. y cols., 2019), es una proteína nuclear sin histona que regula la remodelación de la estructura de la cromatina como una chaperona molecular en el complejo de ADN-proteína de la cromatina (Osmanov, T. y cols., 2013). En tejidos lesionados, es secretado activamente por los macrófagos y las células dendríticas (Tang, D. y cols., 2007; Dumitriu, I. y cols., 2005) o se libera pasivamente de las células necróticas (Scaffidi P. y cols., 2002; Aikawa E. y cols., 2015). HMGB1 induce la remodelación del tejido mediante la activación de reacciones inflamatorias, es decir, infiltraciones de macrófagos y neutrófilos,

mediante ligadura a Toll- como receptores y / o el receptor para el producto final de glicación avanzada en sus superficies (Park, J. y cols., 2006; Yanai, H. y cols., 2012; Aikawa E. y cols., 2015) En el contexto de la EB, aumenta una población específica de células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea que migra a la piel dañada y suprime la inflamación. Secretan la proteína del gen 6 (TSG-6) estimulada por TNF- α , que atenúa la activación de los macrófagos residentes (Choi, H. y cols., 2011). También se ha demostrado que las células madre mesenquimales activan la producción de interleuquina-10 (IL-10) a partir de macrófagos M2, que suprime las reacciones inflamatorias al inhibir tanto la infiltración de neutrófilos como las respuestas de las células T (Nemeth, K. y cols., 2009; Qu X. y cols., 2012; Aikawa E. y cols., 2015). A nivel preclínico, en el modelo de ratón EBD, el péptido derivado de HMGB1 fue eficaz contra la fibrosis de la piel y las estenosis gastrointestinales (Shimbo T. y cols., 2018; Bruckner-Tuderman L. y cols., 2019). Actualmente Tamai K. y cols., están realizando un ensayo clínico de fase II para evaluar la eficacia y seguridad del fármaco peptídico HMGB1, en 9 pacientes con EBDR (Tamai K., 2020)

6.3.2 Terapias quirúrgicas: Como se dijo anteriormente, la vestibuloplastía y cirugía plástica periodontal son los tratamientos quirúrgicos utilizados para aumentar la profundidad de vestíbulo. En pacientes sanos, estos tratamientos son habitualmente realizados en pacientes edéntulos que presentan reabsorción ósea severa (Barakat K. y Ali A. 2014; Nammour S. y cols., 2014; Lim H. y cols., 2018; Markose G. y cols., 2019; Preidl R. y cols., 2019; Meitner S. y cols., 2020; Tarasenko S. y cols., 2020). En pacientes con EB solo ha sido reportado en la literatura en tres ocasiones. Brain K. y cols., 1999 fueron los primeros en realizar vestibuloplastía exitosa en un paciente con EB, quienes describen colocar un stent para impedir la fusión de las capas de tejido conectivo y otorgando tiempo para la migración del epitelio. Buduneli E. y cols., 2003 observaron una ganancia significativa en las dimensiones de la encía adherida 9 meses después de la cirugía periodontal. Finalmente, Baeza M. y cols., 2019 realizan por primera vez la liberación de las bandas cicatriciales fibrosas de la mucosa bucal en un paciente con EBDR sev en Chile, con un resultado exitoso.

6.4 PROYECCIONES A FUTURO

Los nuevos conocimientos generados en el presente estudio plantean nuevas líneas de investigación interesantes a tratar que serán mencionadas a continuación:

- Realizar ensayos funcionales de las **variante** genéticas de pacientes con EBD, para así determinar la significancia de la asociación entre la PPVO y consecuencia funcional del mRNA y proteína, que puede beneficiar, además, muchas otras líneas de investigación en personas con EB.

- Realizar una investigación sobre la caracterización de la proteómica de cada subtipo de EB, incluyéndose personas con distintos genotipos en cada uno, que generen diferentes consecuencias funcionales del mRNA y proteína.

- Realizar un estudio prospectivo con el objetivo de evaluar la efectividad del losartán en la disminución de la obliteración vestibular en pacientes con EBDR con distintas variantes genéticas.

- Finalmente, se propone continuar con el estudio realizado en esta investigación para aumentar el tamaño muestral, intentando incluir pacientes que presenten variantes en *COL7A1* no registradas en este estudio. La variable “número de dientes perdidos” debe ser reemplazada por “ausencia o presencia del diente índice”.

7 CONCLUSIONES

En personas con epidermólisis bullosa, la profundidad promedio del vestíbulo oral se asocia con el gen afectado y el número de dientes perdidos. Se observó asociación entre la PPVO y la consecuencia funcional de RNA mensajero o de la proteína provocada por la respectiva variante.

La mediana de PPVO de personas con EB fue de 5,7 mm y en personas sanas fue de 9,3 mm. El rango de número de dientes perdidos en personas con EB fue de 0 a 28 dientes, mientras que en personas sanas fue de 0 a 13 dientes.

De la muestra de personas con EB, los pacientes que presentan disminución significativa del vestíbulo oral son las personas con el tipo EBD (mediana PPVO 3,6 mm), específicamente las personas con el subtipo EBDR sev (mediana PPVO 2,1 mm) y EBDR int (mediana PPVO 5,8 mm). En personas con EB, no existe asociación entre la PPVO y género, ni PPVO con la edad, sin embargo, se determinó que en pacientes con EBDR sev y EBDR int, la disminución de la PPVO es significativa desde el grupo de 6 a 11 años en adelante. En personas con EB, EBD y EBDR int, la asociación entre la PPVO y el número de dientes perdidos es significativa, inversa y la fuerza de asociación depende del grupo estudiado. Los pacientes que presentan disminución significativa en la PPVO son las personas con alteración en COL7A1, de ellos, se observó que las personas que presentan ausencia total de la proteína como consecuencia funcional de las variantes patogénicas, presentaron las PPVO más bajas.

Las personas con EBD presentaron 24 variantes diferentes en el gen COL7A1, de las cuales 5 fueron nuevas y 19 habían sido reportadas en la literatura. Hubo dos variantes considerablemente más prevalentes, c.6527dupC y c.7708delG.

En 8 variantes, la consecuencia funcional genera ausencia de la proteína; 8 variantes generan proteínas no funcionales; 5 variantes fueron de procesamiento, pudiendo generar dos consecuencias funcionales; 1 variante puede generar una proteína con delección de aminoácidos; no se logró determinar la consecuencia funcional de 2 variantes. Los pacientes que presentaron ausencia de la proteína como consecuencia funcional de ambos alelos presentaron las PPVO más bajas (mediana PPVO 2,9 mm); los pacientes que presentaron un alelo silvestre y un alelo que generó proteína no funcional, presentaron valores iguales a pacientes control (mediana PPVO 9 mm); los pacientes que presentaron ausencia de la proteína como consecuencia funcional de un alelo patogénico y proteína no funcional en el otro, presentaron valores de PPVO intermedios (mediana de PPVO 4 mm).

Las diferencias en la PPVO de personas con EBD dependen principalmente de la naturaleza y/o posición de la sustitución de aminoácidos.

8 GLOSARIO

- **aa's:** aminoácidos
- **AAb:** Aguas abajo
- **AArr:** Aguas arriba
- **C/P:** Región rica en cisteína y prolina
- **CTH:** Dominio colágeno triple helicoidal
- **CTP:** Codón de terminación prematura
- **DAFvW:** Dominio A del factor von Willebrand
- **EB:** Epidermólisis Bullosa
- **EBD:** Epidermólisis bullosa distrófica
- **EBDD:** Epidermólisis bullosa distrófica dominante
- **EBDD int:** Epidermólisis bullosa distrófica dominante intermedia
- **EBDD loc:** Epidermólisis bullosa distrófica dominante localizada
- **EBDD pg:** Epidermólisis bullosa distrófica dominante pruriginosa
- **EBDR:** Epidermólisis bullosa distrófica recesiva
- **EBDR int:** Epidermólisis bullosa distrófica recesiva intermedia
- **EBDR loc:** Epidermólisis bullosa distrófica recesiva localizada
- **EBDR sev:** Epidermólisis bullosa distrófica recesiva severa
- **EBJ:** Epidermólisis bullosa de la unión o juntural
- **EBJ int:** Epidermólisis bullosa de la unión o juntural intermedia
- **EBJ sev:** Epidermólisis bullosa de la unión o juntural severa
- **EBK:** Epidermólisis bullosa de Kindler
- **EBS:** Epidermólisis bullosa simplex
- **EBS AR int:** Epidermólisis bullosa simplex autosómica recesiva intermedia
- **EBS dm:** Epidermólisis bullosa simplex con distrofia muscular
- **EBS int def E5:** Epidermólisis bullosa simplex intermedia con deficiencia de exofilina 5
- **EBS int:** Epidermólisis bullosa simplex intermedia
- **EBS loc:** Epidermólisis bullosa simplex localizada
- **EBS pm:** Epidermólisis bullosa simplex con pigmentación moteada
- **EM:** En marco

- **EMA:** Agencia europea de medicamentos
- **Ex=** Exón
- **FDA:** Administración de alimentos y medicamentos de Estados Unidos
- **FM:** Fuera de marco
- **FN3:** Dominio tipo fibronectina 3
- **FOUCh:** Facultad de Odontología de la Universidad de Chile
- **GC:** Grupo control
- **HGMB1:** Proteína 1 del grupo de alta movilidad
- **HGVS:** Sociedad de Variación del Genoma Humano
- **ICAM-1:** Molécula de adhesión intercelular 1
- **IL-10:** Interleuquina 10
- **IL-6:** Interleuquina 6
- **In=** Intrón
- **Lgals3:** Galectina-3
- **Lrg1:** Alpha-2-glicoproteína rica en leucina 1
- **MB:** Membrana basal
- **MCP-1:** Proteína quimio atrayente de monocitos 1
- **MEC:** Matriz extracelular
- **MET:** Microscopía electrónica de transmisión
- **MIF:** Mapeo por inmunofluorescencia
- **mm:** milímetros
- **MMP1:** Metaloproteínasa 1
- **MMP14:** Metaloproteínasa 14
- **MMP2:** Metaloproteínasa 2
- **MMP3:** Metaloproteínasa 3
- **mRNA:** RNA mensajero
- **NC-1:** Dominio globular amino terminal
- **NC-2:** Dominio globular carboxi-terminal
- **NMD:** *nonsense-mediated decay*
- **No RM:** Personas que residen en todas las demás regiones (no metropolitana)
- **PAI-1:** Inhibidor del activador del plasminógeno-1

- **pb:** pares de bases
- **PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa
- **PMC:** Dominio proteína de la matriz del cartílago
- **PPVO:** Profundidad promedio de vestíbulo oral
- **RM:** Personas que residen en región metropolitana
- **SAC:** Sitio aceptor críptico
- **SDC:** Sitio dador críptico
- **SEC:** Secuenciación del exoma completo
- **SPG:** Secuenciación de próxima generación
- **SS:** Secuenciación de Sanger
- **TGF- β :** Factor de crecimiento transformante β
- **TGM-2:** Transglutaminasa-2
- **TIMP3:** Inhibidor de metaloproteinasa 3
- **TNF- α :** Factor de necrosis tumoral alfa
- **TSG-6:** Proteína del gen 6
- **Tsp1:** Trombospondina 1
- **α -SMA:** Alfa actina

9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aeschlimann, D., & Paulsson, M. (1991). Cross-linking of laminin-nidogen complexes by tissue transglutaminase: A novel mechanism for basement membrane stabilization. *Journal of Biological Chemistry*, 266(23), 15308–15317. <https://europepmc.org/article/med/1678389>
- Aguado, T., García, M., García, A., Ferrer-Mayorga, G., Martínez-Santamaría, L. y cols. (2020). Raloxifene and n-Acetylcysteine Ameliorate TGF-Signalling in Fibroblasts from Patients with Recessive Dominant Epidermolysis Bullosa. *Cells*, 9(9), 2108. <https://doi.org/10.3390/cells9092108>
- Aikawa, E., Fujita, R., Kikuchi, Y., Kaneda, Y., & Tamai, K. (2015). Systemic high-mobility group box 1 administration suppresses skin inflammation by inducing an accumulation of PDGFR α + mesenchymal cells from bone marrow. *Scientific Reports*, 5. <https://doi.org/10.1038/srep11008>
- Ainamo, J., & Talari, A. (1976). The increase with age of the width of attached gingiva. *Journal of Periodontal Research*, 11(4), 182–188. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1976.tb00069.x>
- Akhurst, R. J., & Hata, A. (2012, October). Targeting the TGF β signalling pathway in disease. *Nature Reviews Drug Discovery*, Vol. 11, pp. 790–811. <https://doi.org/10.1038/nrd3810>
- Akkari, L., Gocheva, V., Kester, J. C., Hunter, K. E., Quick, M. L. y cols. (2014). Distinct functions of macrophage-derived and cancer cell-derived cathepsin Z combine to promote tumor malignancy via interactions with the extracellular matrix. *Genes and Development*, 28(19), 2134–2150. <https://doi.org/10.1101/gad.249599.114>
- Albregues, J., Bourget, I., Pons, C., Butet, V., Hofman, P. y cols. (2014). LIF mediates proinvasive activation of stromal fibroblasts in cancer. *Cell Reports*, 7(5), 1664–1678. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.04.036>
- Alexeev, V., Uitto, J., & Igoucheva, O. (2011). Gene expression signatures of mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the cutaneous environment and therapeutic implications for blistering skin disorder. *Cytotherapy*, 13(1), 30–45. <https://doi.org/10.3109/14653249.2010.518609>
- Almaani, N., Liu, L., Dopping-Hepenstal, P. J. C., Lai-Cheong, J. E., Wong, A. y cols. (2011). Identical glycine substitution mutations in type VII collagen may underlie both dominant and recessive forms of dystrophic epidermolysis bullosa. *Acta Dermato-Venereologica*, 91(3), 262–266. <https://doi.org/10.2340/00015555-1053>
- Ashton, G. H., Mellerio, J. E., Dunnill, M. G., Pulkkinen, L., Christiano, A. M., y cols. (1997). A recurrent laminin 5 mutation in British patients with lethal (Herlitz) junctional epidermolysis bullosa: evidence for a mutational hotspot rather than propagation of an ancestral allele. *The British Journal of Dermatology*, 136(5), 674–677. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9205497>
- Atanasova, V. S., Jiang, Q., Prisco, M., Gruber, C., Piñón Hofbauer, J., y cols. (2017). Amlexanox Enhances Premature Termination Codon Read-Through in COL7A1 and Expression of Full Length Type VII Collagen: Potential Therapy for Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa. *Journal of Investigative Dermatology*, 137(9), 1842–1849. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2017.05.011>

- 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>
- Baeza M., Valle M., & Barrientos P. (2019). Fibrosis release surgery to improve microstomia in a child with severe generalized recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 29, 140–151. <https://doi.org/10.1111/ipd.12534>
- Bauer J. (2020). Introduction to clinical trial design. *Acta Derm Venereol* 100 Suppl 220 website: <https://www.eb-researchnetwork.org/research/news/eb-2020-first-global-congress-on-eb/>
- Barakat, K., & Ali, A. (2014). Thermoplastic vestibuloplasty: A novel technique for treatment of lip and cheek adhesion. *Craniomaxillofacial Trauma and Reconstruction*, 7(4), 258–262. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1375171>
- Bengsch, F., Buck, A., Günther, S. C., Seiz, J. R., Tacke, M. y cols. (2014). Cell type-dependent pathogenic functions of overexpressed human cathepsin B in murine breast cancer progression. *Oncogene*, 33(36), 4474–4484. <https://doi.org/10.1038/onc.2013.395>
- Bhogal, R. K., & Bona, C. A. (2008). Regulatory effect of extracellular signal-regulated kinases (ERK) on type I collagen synthesis in human dermal fibroblasts stimulated by IL-4 and IL-13. *International Reviews of Immunology*, 27(6), 472–496. <https://doi.org/10.1080/08830180802430974>
- Bosker, H., & Wardle, M. L. (1999). Muscular reconstruction to improve the deterioration of facial appearance and speech caused by mandibular atrophy: Technique and case reports. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 37(4), 277–284. <https://doi.org/10.1054/bjom.1999.0126>
- Boyer, H. E., & Owens, R. H. (1961). Epidermolysis bullosa: A rare disease of dental interest. Review of the literature and report of a case. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 14(10), 1170–1177. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(61\)90205-5](https://doi.org/10.1016/0030-4220(61)90205-5)
- Brain, E. B., & Wigglesworth, J. S. (1968). Developing teeth in epidermolysis bullosa hereditaria letalis. A histological study. *British Dental Journal*, 124(6), 255–260. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5238701>
- Brain, J. H., Paul, B. F., & Assad, D. A. (1999a). Periodontal Plastic Surgery in a Dystrophic Epidermolysis Bullosa Patient: Review and Case Report. *Journal of Periodontology*, 70(11), 1392–1396. <https://doi.org/10.1902/jop.1999.70.11.1392>
- Brain, J. H., Paul, B. F., & Assad, D. A. (1999b). Periodontal Plastic Surgery in a Dystrophic Epidermolysis Bullosa Patient: Review and Case Report. *Journal of Periodontology*, 70(11), 1392–1396. <https://doi.org/10.1902/jop.1999.70.11.1392>
- Bremer, J., Bornert, O., Nyström, A., Gostynski, A., Jonkman, M. y cols. (2016). Antisense Oligonucleotide-mediated Exon Skipping as a Systemic Therapeutic Approach for Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 5, e379. <https://doi.org/10.1038/mtna.2016.87>
- Brittingham, R., Uitto, J., & Fertala, A. (2006). High-affinity binding of the NC1 domain of collagen VII to laminin 5 and collagen IV. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 343(3), 692–699.

- <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.03.034>
- Bruckner-Tuderman, L. (2019). Newer treatment modalities in epidermolysis bullosa. *Indian Dermatology Online Journal*, 10(3), 244. https://doi.org/10.4103/idoj.idoj_287_18
- Buendía A., Mazuecos J., Camacho F. (2018). *Manual de dermatología*. Aula Médica. 1, pp 2-27.
- Burgeson, R. E. (1993). Type VII collagen, anchoring fibrils, and epidermolysis bullosa. *Journal of Investigative Dermatology*, 101(3), 252–255. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12365129>
- Burnier, M., Waeber, B., & Brunner, H. R. (1995). Clinical pharmacology of the angiotensin II receptor antagonist losartan potassium in healthy subjects. *Journal of Hypertension, Supplement*, 13(1). <https://doi.org/10.1097/00004872-199507001-00003>
- Burri, E., & Beglinger, C. (2012, April). Faecal calprotectin - A useful tool in the management of inflammatory bowel disease. *Swiss Medical Weekly*, Vol. 142. <https://doi.org/10.4414/smw.2012.13557>
- Campbell, C. D., & Eichler, E. E. (2013, October 1). Properties and rates of germline mutations in humans. *Trends in Genetics*, Vol. 29, pp. 575–584. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2013.04.005>
- Cascales M., & Álvarez-Gómez, J. Á. (2010). Metaloproteinasas, matriz extracelular y cáncer. *An. R. Acad. Farm*, 59–84.
- Cavalli, G., & Heard, E. (2019, July 25). Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease. *Nature*, Vol. 571, pp. 489–499. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1411-0>
- Chen, J. H., Lee, H. E., Chen, J. H., Chuang, F. H., Chen, H. y cols. (2014). Investigating the maxillary buccal vestibule. *Journal of Dental Sciences*, 9(2), 125–129. <https://doi.org/10.1016/j.jds.2013.02.006>
- Chen, M., Kasahara, N., Keene, D. R., Chan, L., Hoeffler, W. K., y cols. (2002). Restoration of type VII collagen expression and function in dystrophic epidermolysis bullosa. *Nature Genetics*, 32(4), 670–675. <https://doi.org/10.1038/ng1041>
- Chen, M., Marinkovich, M. P., Jones, J. C. R., O'Toole, E. A., Li, Y. Y., y cols. (1999). NC1 domain of type VII collagen binds to the $\beta 3$ chain of laminin 5 via a unique subdomain within the fibronectin-like repeats. *Journal of Investigative Dermatology*, 112(2), 177–183. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.1999.00491.x>
- Chen, M., Marinkovich, M. P., Veis, A., Cai, X., Rao, C. N., y cols. (1997). Interactions of the amino-terminal noncollagenous (NC1) domain of type VII collagen with extracellular matrix components. *Journal of Biological Chemistry*, 272(23), 14516–14522. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.23.14516>
- Chiaverini, C., Charlesworth, A., Fernandez, A., Barbarot, S., Bessis, D. y cols. (2014). Aplasia cutis congenita with dystrophic epidermolysis bullosa: Clinical and mutational study. *British Journal of Dermatology*, 170(4), 901–906. <https://doi.org/10.1111/bjd.12741>
- Chiaverini, C., Charlesworth, A. V., Youssef, M., Cuny, J. F., Rabia, S. H. y cols. (2010). Inversa dystrophic epidermolysis bullosa is caused by missense mutations at specific positions of the collagenic domain of collagen type VII.

- Journal of Investigative Dermatology*, Vol. 130, pp. 2508–2511.
<https://doi.org/10.1038/jid.2010.159>
- Chino, T., Tamai, K., Yamazaki, T., Otsuru, S., Kikuchi, Y. y cols. (2008). Bone marrow cell transfer into fetal circulation can ameliorate genetic skin diseases by providing fibroblasts to the skin and inducing immune tolerance. *American Journal of Pathology*, 173(3), 803–814.
<https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.070977>
- Chmel, N., Bornert, O., Hausser, I., Grüninger, G., Borozkin, W. y cols. (2018). Large Deletions Targeting the Triple-Helical Domain of Collagen VII Lead to Mild Acral Dominant Dystrophic Epidermolysis Bullosa. *Journal of Investigative Dermatology*, 138(4), 987–991. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2017.11.014>
- Christiano, A., Greenspan, D., Lee, S., & Uitto, J. (1994a). Cloning of human type VII collagen. Complete primary sequence of the alpha 1(VII) chain and identification of intragenic polymorphisms. *J Biol Chem*, 269 (32): 20256-62.
- Christiano, A M, McGrath, J. A., Tan, K. C., & Uitto, J. (1996a). Glycine substitutions in the triple-helical region of type VII collagen result in a spectrum of dystrophic epidermolysis bullosa phenotypes and patterns of inheritance. *American Journal of Human Genetics*, 58(4), 671–681.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8644729>
- Christiano, Angela M., Anhalt, G., Gibbons, S., Bauer, E. A. y cols. (1994b). Premature termination codons in the type vii collagen gene (col7a1) underlie severe, mutilating recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Genomics*, 21(1), 160–168. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1238>
- Christiano, Angela M., Hoffman, G. G., Chung-Honet, L. C., Lee, S. y cols. (1994c). Structural organization of the human type vii collagen gene (col7a1), composed of more exons than any previously characterized gene. *Genomics*, 21(1), 169–179. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1239>
- Christiano, Angela M., McGrath, J. A., & Uitto, J. (1996b). Influence of the second COL7A1 mutation in determining the phenotypic severity of recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Journal of Investigative Dermatology*, 106(4), 766–770. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12345814>
- Christiano, Angela M., Rosenbaum, L. M., Chung-honet, L. C., Parente, M. G. y cols. (1992). The large non-collagenous domain (NC-1) of type VII collagen is amino-terminal and chimeric. Homology to cartilage matrix protein, the type III domains of fibronectin and the a domains of von willebrand factor. *Human Molecular Genetics*, 1(7), 475–481. <https://doi.org/10.1093/hmg/1.7.475>
- Chung, H. J. & Uitto, J. (2010, January). Type VII Collagen: The Anchoring Fibril Protein at Fault in Dystrophic Epidermolysis Bullosa. *Dermatologic Clinics*, Vol. 28, pp. 93–105. <https://doi.org/10.1016/j.det.2009.10.011>
- Clavería R., Rodríguez K. & Peña M. (2015). Características clínicas, genéticas y epidemiológicas de la epidermólisis bullosa y su repercusión en la cavidad bucal. *MEDISAN* (19):8 website:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192015000800010
- Coelho, N. M., & McCulloch, C. A. (2016, September 1). Contribution of collagen adhesion receptors to tissue fibrosis. *Cell and Tissue Research*, Vol. 365, pp. 521–538. <https://doi.org/10.1007/s00441-016-2440-8>

- Cogan, J., Weinstein, J., Wang, X., Hou, Y., Martin, S. y cols. (2014). Aminoglycosides restore full-length type VII collagen by overcoming premature termination codons: Therapeutic implications for dystrophic epidermolysis bullosa. *Molecular Therapy*, 22(10), 1741–1752. <https://doi.org/10.1038/mt.2014.140>
- Colombo, M., Brittingham, R. J., Klement, J. F., Majsterek, I., Birk, D. E. y cols. (2003). Procollagen VII self-assembly depends on site-specific interactions and is promoted by cleavage of the NC2 domain with procollagen C-proteinase. *Biochemistry*, 42(39), 11434–11442. <https://doi.org/10.1021/bi034925d>
- Conget, P., Rodriguez, F., Krämer, S., Allers, C., Simon, V. y cols. (2010). Replenishment of type VII collagen and re-epithelialization of chronically ulcerated skin after intradermal administration of allogeneic mesenchymal stromal cells in two patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Cytotherapy*, 12(3), 429–431. <https://doi.org/10.3109/14653241003587637>
- Covani, U., Ricci, M., Bozzolo, G., Mangano, F., Zini, A. y cols. (2011). Analysis of the pattern of the alveolar ridge remodelling following single tooth extraction. *Clinical Oral Implants Research*, 22(8), 820–825. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2010.02060.x>
- Crawford, E. G., Burkes, E. J., & Briggaman, R. A. (1976). Hereditary epidermolysis bullosa: Oral manifestations and dental therapy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 42(4), 490–500. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(76\)90296-6](https://doi.org/10.1016/0030-4220(76)90296-6)
- Cruchley, A. T., & Bergmeier, L. A. (2018). Structure and functions of the oral mucosa. In *Oral Mucosa in Health and Disease: A Concise Handbook* (pp. 1–18). https://doi.org/10.1007/978-3-319-56065-6_1
- Cuadrado-Corrales, N., Sánchez-Jimeno, C., García, M., Escámez, M. J., Illera, N. y cols. (2010). A prevalent mutation with founder effect in Spanish Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa families. *BMC Medical Genetics*, 11(1), 139. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-11-139>
- Dang, N., & Murrell, D. F. (2008, July). Mutation analysis and characterization of COL7A1 mutations in dystrophic epidermolysis bullosa. *Experimental Dermatology*, Vol. 17, pp. 533–568. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0625.2008.00723.x>
- De Benedittis, M., Petrucci, M., Favia, G., & Serpico, R. (2004, March). Oro-dental manifestations in Hallopeau-Siemens-type recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Clinical and Experimental Dermatology*, Vol. 29, pp. 128–132. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2230.2004.01485.x>
- Debra Chile. (n.d.). Qué es la Epidermolisis Bullosa - Debra Chile. <https://debrachile.cl/epidermolisis-bulosa/la-epidermolisis-bulosa/> (Ingresado en noviembre 28, 2019)
- Debra International. (n.d.). About Debra. <http://www.debra-international.org/about-debra.html> (ingresado en noviembre 28, 2019)
- Debra International. (2019). Laboratory diagnosis for people living with EB. <https://www.debra-international.org/ebpg-ld-en> (ingresado en marzo 10, 2020)
- del-Río, E. (1993). Prevention of blisters in dystrophic recessive epidermolysis bullosa with cyclosporine. *Journal of the American Academy of Dermatology*,

- 29(6), 1038–1039. [https://doi.org/10.1016/S0190-9622\(08\)82040-3](https://doi.org/10.1016/S0190-9622(08)82040-3)
- Dietz, H. C. (2010, February 1). TGF- β in the pathogenesis and prevention of disease: A matter of aneurysmic proportions. *Journal of Clinical Investigation*, Vol. 120, pp. 403–407. <https://doi.org/10.1172/JCI42014>
- Dumitriu, I. E., Baruah, P., Valentinis, B., Voll, R. E., Herrmann, M. y cols. (2005). Release of High Mobility Group Box 1 by Dendritic Cells Controls T Cell Activation via the Receptor for Advanced Glycation End Products. *The Journal of Immunology*, 174(12), 7506–7515. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.12.7506>
- Dunnill, M. G. S., McGrath, J. A., Richards, A. J., Christiano, A. M., Uitto, J. y cols. (1996). Clinicopathological correlations of compound heterozygous COL7A1 mutations in recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Journal of Investigative Dermatology*, 107(2), 171–177. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12329570>
- Eichstadt, S., Tang, J. Y., Solis, D. C., Siprashvili, Z., Marinkovich, M. P., y cols. (2019). From clinical phenotype to genotypic modelling: Incidence and prevalence of recessive dystrophic epidermolysis bullosa (RDEB). *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 12, 933–942. <https://doi.org/10.2147/CCID.S232547>
- Eickelberg, O., Pansky, A., Mussmann, R., Bihl, M., Tamm, M. y cols. (1999). Transforming growth factor- β 1 induces interleukin-6 expression via activating protein-1 consisting of JunD homodimers in primary human lung fibroblasts. *Journal of Biological Chemistry*, 274(18), 12933–12938. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.18.12933>
- El-Darouti, M. A., Fawzy, M. M., Amin, I. M., Abdel Hay, R. M., Hegazy, R. A. y cols. (2013). Mycophenolate mofetil: A novel immunosuppressant in the treatment of dystrophic epidermolysis bullosa, a randomized controlled trial. *Journal of Dermatological Treatment*, 24(6), 422–426. <https://doi.org/10.3109/09546634.2013.768327>
- Encina, C. (2019). Análisis comparativo de las características bucodentarias de personas con Epidermólisis Bullosa antes y después de diez años de programa de atención odontológica en la Clínica de Cuidados Especiales de la Universidad de Chile. Universidad de Chile, Facultad de Odontología. Trabajo de investigación requisito para optar al título de cirujano-dentista. Repositorio académico Universidad de Chile. <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/173205>
- Feinstein, J. A., Jambal, P., Peoples, K., Lucky, A. W., Khuu, P. y cols. (2019). Assessment of the Timing of Milestone Clinical Events in Patients with Epidermolysis Bullosa from North America. *JAMA Dermatology*, 155(2), 196–203. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2018.4673>
- Fine, J. D. (2010, August). Inherited epidermolysis bullosa: Recent basic and clinical advances. *Current Opinion in Pediatrics*, Vol. 22, pp. 453–458. <https://doi.org/10.1097/MOP.0b013e32833bb74f>
- Fine, J. D. (2016). Epidemiology of inherited epidermolysis bullosa based on incidence and prevalence estimates from the national epidermolysis Bullosa registry. *JAMA Dermatology*, 152(11), 1231–1238. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2016.2473>

- Fine, J. D., Bruckner-Tuderman, L., Eady, R. A. J., Bauer, E. A., Bauer, J. W. y cols. (2014). Inherited epidermolysis bullosa: Updated recommendations on diagnosis and classification. *Journal of the American Academy of Dermatology*, Vol. 70, pp. 1103–1126. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2014.01.903>
- Fine, J.D., & Hintner, H.. (2009). Life with Epidermolysis Bullosa (EB): Etiology, Diagnosis, Multidisciplinary Care and Therapy. Springer Vienna. DOI:10.1007/978-3-211-79271-1.
- Fortuna, G., Pollio, A., Aria, M., Moreno-Trevino, M. G., Marasca, F. y cols. (2014). Genotype-oropharyngeal phenotype correlation in Mexican patients with dystrophic epidermolysis bullosa. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 43(4), 491–497. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2013.10.004>
- Fritsch, A., Loeckermann, S., Kern, J. S., Braun, A., Bösl, M. R. y cols. (2008). A hypomorphic mouse model of dystrophic epidermolysis bullosa reveals mechanisms of disease and response to fibroblast therapy. *Journal of Clinical Investigation*, 118(5), 1669–1679. <https://doi.org/10.1172/JCI34292>
- Furtak, A., Leszczyńska, E., Sender-Janeczek, A., & Bednarz, W. (2018). The repeatability and reproducibility of gingival thickness measurement with an ultrasonic device. *Dental and Medical Problems*, 55(3), 281–288. <https://doi.org/10.17219/DMP/95111>
- Garth Lowe, L. (2004). Flexible denture flanges for patients exhibiting undercut tuberosities and reduced width of the buccal vestibule: A clinical report. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 92(2), 128–131. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2004.04.026>
- Goa, K. L., & Wagstaff, A. J. (1996). Losartan Potassium: A Review of its Pharmacology, Clinical Efficacy and Tolerability in the Management of Hypertension. *Drugs*, Vol. 51, pp. 820–845. <https://doi.org/10.2165/00003495-199651050-00008>
- Gogineni, V. R., Gupta, R., Nalla, A. K., Velpula, K. K., & Rao, J. S. (2012). UPAR and cathepsin B shRNA impedes TGF- β 1-driven proliferation and invasion of meningioma cells in a XIAP-dependent pathway. *Cell Death and Disease*, 3(12), e439–e439. <https://doi.org/10.1038/cddis.2012.170>
- Goldschneider, K. R., & Lucky, A. W. (2010, April). Pain management in epidermolysis bullosa. *Dermatologic Clinics*, Vol. 28, pp. 273–282. <https://doi.org/10.1016/j.det.2010.01.008>
- Gorell E., Eichstadt S., Barriga M., Ponakala A., Tteng C., y cols. (2020). Phase ½ clinical trial of gene corrected autologous cell therapy for recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Acta Derm Venereol* 100 Suppl 220 website: <https://www.eb-researchnetwork.org/research/news/eb-2020-first-global-congress-on-eb/>
- Goto, M., Sawamura, D., Nishie, W., Sakai, K., McMillan, J. R. y cols. (2006). Targeted skipping of a single exon harboring a premature termination codon mutation: Implications and potential for gene correction therapy for selective dystrophic epidermolysis bullosa patients. *Journal of Investigative Dermatology*, 126(12), 2614–2620. <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700435>
- Greenspan, D. S. (1993). The carboxyl-terminal half of type VII collagen, including

- the non-collagenous NC-2 domain and intron/exon organization of the corresponding region of the COL7A1 gene. *Human Molecular Genetics*, 2(3), 273–278. <https://doi.org/10.1093/hmg/2.3.273>
- Häkkinen, L., Larjava, H., & Koivisto, L. (2011). Granulation tissue formation and remodeling. *Endodontic Topics*, 24(1), 94–129. <https://doi.org/10.1111/etp.12008>
- Hammami-Hauasli, N., Schumann, H., Raghunath, M., Kilgus, O., Lüthi, U. y cols. (1998). Some, but Not All, Glycine Substitution Mutations in COL7A1 Result in Intracellular Accumulation of Collagen VII, Loss of Anchoring Fibrils, and Skin Blistering. *Journal of Biological Chemistry*, 273(30), 19228–19234. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.30.19228>
- Hammersen, J., Has, C., Naumann-Bartsch, N., Stachel, D., Kiritsi, D. y cols. (2016). Genotype, Clinical Course, and Therapeutic Decision Making in 76 Infants with Severe Generalized Junctional Epidermolysis Bullosa. *Journal of Investigative Dermatology*, 136(11), 2150–2157. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.06.609>
- Harel-Raviv, M., Bernier, S., Raviv, E., & Gornitsky, M. (1995). Oral epidermolysis bullosa in adults. *Special Care in Dentistry*, 15(4), 144–148. <https://doi.org/10.1111/j.1754-4505.1995.tb00502.x>
- 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., Bauer, J. W., Bodemer, C., Bolling, M. C., Bruckner-Tuderman, L. y cols. (2020). Consensus reclassification of inherited epidermolysis bullosa and other disorders with skin fragility. *British Journal of Dermatology*, bjd.18921. <https://doi.org/10.1111/bjd.18921>
- Has, C., Liu, L., Bolling, M. C., Charlesworth, A. V., El Hachem, M. y cols. (2020). Clinical practice guidelines for laboratory diagnosis of epidermolysis bullosa. *British Journal of Dermatology*, 182(3), 574–592. <https://doi.org/10.1111/bjd.18128>
- Has C., Nyström, A., Saeidian, A. H., Bruckner-Tuderman, L., & Uitto, J. (2018, October 1). Epidermolysis bullosa: Molecular pathology of connective tissue components in the cutaneous basement membrane zone. *Matrix Biology*, Vol. 71–72, pp. 313–329. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2018.04.001>
- Hashemi, H. M., Parhiz, A., & Ghafari, S. (2012). Vestibuloplasty: allograft versus mucosal graft. *J. Oral Maxillofac. Surg*, 41, 527–530. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2011.09.014>
- Herrera, O. R., Christensen, M. L., & Helms, R. A. (2016, July 1). Calprotectin: Clinical applications in pediatrics. *Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics*, Vol. 21, pp. 308–321. <https://doi.org/10.5863/1551-6776-21.4.308>
- Hinz, B. (2007, March 1). Formation and function of the myofibroblast during tissue repair. *Journal of Investigative Dermatology*, Vol. 127, pp. 526–537. <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700613>
- Hinz, B. (2010). The myofibroblast: Paradigm for a mechanically active cell. *Journal of Biomechanics*, 43(1), 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2009.09.020>

- Hovnanian, A., Rochat, A., Bodemer, C., Petit, E., Rivers, C. A., y cols. (1997). Characterization of 18 new mutations in COL7A1 in recessive dystrophic epidermolysis bullosa provides evidence for distinct molecular mechanisms underlying defective anchoring fibril formation. *American Journal of Human Genetics*, 61(3), 599–610. <https://doi.org/10.1086/515495>
- Hsu, C. K., Wang, S. P., Lee, J. Y. Y., & McGrath, J. A. (2014). Treatment of hereditary epidermolysis bullosa: Updates and future prospects. *American Journal of Clinical Dermatology*, 15(1), 1–6. <https://doi.org/10.1007/s40257-013-0059-z>
- Human gene mutation database profesional, v.2020. Resultados del gen COL7A1. <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=COL7A1> (Ingresado en Agosto 24, 2020)
- Igoucheva, O., Kelly, A., Uitto, J., & Alexeev, V. (2008). Protein therapeutics for junctional epidermolysis bullosa: Incorporation of recombinant β 3 chain into laminin 332 in β 3-/- keratinocytes in vitro. *Journal of Investigative Dermatology*, 128(6), 1476–1486. <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5701197>
- linuma, S., Aikawa, E., Tamai, K., Fujita, R., Kikuchi, Y. y cols. (2015). Transplanted Bone Marrow–Derived Circulating PDGFR α + Cells Restore Type VII Collagen in Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa Mouse Skin Graft. *The Journal of Immunology*, 194(4), 1996–2003. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1400914>
- Inamadar, A. C. (2020). Losartan as disease modulating therapy for Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa (<scp>RDEB</scp>). *Dermatologic Therapy*. <https://doi.org/10.1111/dth.14279>
- Jang, Y. C., Tsou, R., Gibran, N. S., & Isik, F. F. (2000). Vitronectin deficiency is associated with increased wound fibrinolysis and decreased microvascular angiogenesis in mice. *Surgery*, 127(6), 696–704. <https://doi.org/10.1067/msy.2000.105858>
- Jensen, S. A., Robertson, I. B., & Handford, P. A. (2012, February 8). Dissecting the fibrillin microfibril: Structural insights into organization and function. *Structure*, Vol. 20, pp. 215–225. <https://doi.org/10.1016/j.str.2011.12.008>
- Jiang, Y., Woosley, A. N., Sivalingam, N., Natarajan, S., & Howe, P. H. (2016). Cathepsin-B-mediated cleavage of Disabled-2 regulates TGF- β -induced autophagy. *Nature Cell Biology*, 18(8), 851–863. <https://doi.org/10.1038/ncb3388>
- Jonkman, M. F., & Pasmooij, A. M. G. (2009). Revertant Mosaicism — Patchwork in the Skin. *New England Journal of Medicine*, 360(16), 1680–1682. <https://doi.org/10.1056/nejmc0809896>
- Ju Lee S., Kim K., Cho B., Roh K., Kim S. y cols. (2020). Safety and clinical effects of systemic allogeneic UCB-MSCS therapy for patients with RDEB. *Acta Derm Venereol* 100 Suppl 220 website: <https://www.eb-researchnetwork.org/research/news/eb-2020-first-global-congress-on-eb/>
- Kaslick, R. S., & Brustein, H. C. (1961). Epidermolysis bullosa. Review of the literature and report of a case. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, Vol. 14, pp. 1315–1330. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(61\)90263-8](https://doi.org/10.1016/0030-4220(61)90263-8)
- Kaushik, A., Mahajan, R., Karim, A., Handa, S., De, D. y cols. (2020). Successful use of cyclosporine in epidermolysis bullosa pruriginosa. *Dermatologic*

- Therapy*. <https://doi.org/10.1111/dth.14489>
- Kern, J. S., Grüniger, G., Imsak, R., Müller, M. L., Schumann, H. y cols. (2009a). Forty-two novel COL7A1 mutations and the role of a frequent single nucleotide polymorphism in the MMP1 promoter in modulation of disease severity in a large European dystrophic epidermolysis bullosa cohort. *British Journal of Dermatology*, 161(5), 1089–1097. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2009.09333.x>
- Kern, J. S., Loeckermann, S., Fritsch, A., Hausser, I., Roth, W. y cols. (2009b). Mechanisms of fibroblast cell therapy for dystrophic epidermolysis bullosa: High stability of collagen VII favors long-term skin integrity. *Molecular Therapy*, 17(9), 1605–1615. <https://doi.org/10.1038/mt.2009.144>
- Kim, J. S., Kim, J. G., Moon, M. Y., Jeon, C. Y., Won, H. Y. y cols. (2006). Transforming growth factor- β 1 regulates macrophage migration via RhoA. *Blood*, 108(6), 1821–1829. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-10-009191>
- Kindler, T. (1954). Congenital poikiloderma with traumatic bulla formation and progressive cutaneous atrophy. *British Journal of Dermatology*, 66(3), 104–111. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.1954.tb12598.x>
- Kiritsi, D. (2020). Losartan for RDEB trial – results and international perspectives. *Acta Derm Venereol* 100 Suppl 220 website: <https://www.eb-researchnetwork.org/research/news/eb-2020-first-global-congress-on-eb/>
- Kiritsi, D., & Nyström, A. (2018, June 1). The role of TGF β in wound healing pathologies. *Mechanisms of Ageing and Development*, Vol. 172, pp. 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2017.11.004>
- Kiritsi, D., Zahn, T. & Hoffmann, F., Saaler-Reinhardt S. & Bruckner-Tuderman L. (2020). Losartan for EB, or ‘it takes a village to raise a child’. *Acta Derm Venereol* 100 Suppl 220 website: <https://www.eb-researchnetwork.org/research/news/eb-2020-first-global-congress-on-eb/>
- Knipper, J. A., Willenborg, S., Brinckmann, J., Bloch, W., Maaß, T. y cols. (2015). Interleukin-4 Receptor α Signaling in Myeloid Cells Controls Collagen Fibril Assembly in Skin Repair. *Immunity*, 43(4), 803–816. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.09.005>
- Kolarsick, P. A. J., Kolarsick, M. A., & Goodwin, C. (2011). Anatomy and Physiology of the Skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*, 3(4), 203–213. <https://doi.org/10.1097/JDN.0b013e3182274a98>
- Korolenkova, M. V. (2015). Dental treatment in children with dystrophic form of epidermolysis bullosa. *Stomatologija*, 94(2), 34–36. <https://doi.org/10.17116/stomat201594234-36>
- Krämer, S., Lucas, J., Gamboa, F., Peñarrocha Diago, M., Peñarrocha Oltra, D. y cols. (2020). Clinical practice guidelines: Oral health care for children and adults living with epidermolysis bullosa. *Special Care in Dentistry*, 40(S1), 3–81. <https://doi.org/10.1111/scd.12511>
- Krämer, S. M. (2006). Análisis de las características bucodentarias de pacientes con diferentes subtipos de epidermolisis bulosa. Universidad de Chile, Facultad de Odontología. Trabajo de investigación requisito para optar al título de cirujano-dentista. Repositorio académico Universidad de Chile website: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/141094>
- Krämer, S. M., Serrano, M. C., Zillmann, G., Gálvez, P., Araya, I. y cols. (2012).

- Oral Health Care for Patients with Epidermolysis Bullosa - Best Clinical Practice Guidelines. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 22(SUPPL. 1), 1–35. <https://doi.org/10.1111/j.1365-263X.2012.01247.x>
- Kühl, T., Mezger, M., Hausser, I., Handgretinger, R., Bruckner-Tuderman, L. y cols. (2015). High Local Concentrations of Intradermal MSCs Restore Skin Integrity and Facilitate Wound Healing in Dystrophic Epidermolysis Bullosa. *Molecular Therapy*, 23(8), 1368–1379. <https://doi.org/10.1038/mt.2015.58>
- Küttner, V., Mack, C., Gretzmeier, C., Bruckner-Tuderman, L., & Dengjel, J. (2014). Loss of collagen VII is associated with reduced transglutaminase 2 abundance and activity. *Journal of Investigative Dermatology*, 134(9), 2381–2389. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.185>
- Küttner, V., Mack, C., Rigbolt, K. T. G., Kern, J. S., Schilling, O. y cols. (2013). Global remodelling of cellular microenvironment due to loss of collagen VII. *Molecular Systems Biology*, 9, 657. <https://doi.org/10.1038/msb.2013.17>
- Laine, F. J., & Smoker, W. R. K. (1995). Oral cavity: Anatomy and pathology. *Seminars in Ultrasound, CT, and MRI*, 16(6), 527–545. [https://doi.org/10.1016/S0887-2171\(06\)80024-7](https://doi.org/10.1016/S0887-2171(06)80024-7)
- Lanschuetzer C. (2009). Life with Epidermolysis Bullosa (EB). Springer: Springer-Verlag Viena. pp 3-4.
- Leask, A., & Abraham, D. J. (2004). TGF- β signaling and the fibrotic response. *The FASEB Journal*, 18(7), 816–827. <https://doi.org/10.1096/fj.03-1273rev>
- Lee, S., Solow-Cordero, D. E., Kessler, E., Takahara, K., & Greenspan, D. S. (1997). Transforming growth factor- β regulation of bone morphogenetic protein-1/procollagen C-proteinase and related proteins in fibrogenic cells and keratinocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 272(30), 19059–19066. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.30.19059>
- Liao, Y., Itoh, M., Yang, A., Zhu, H., Roberts, S. y cols. (2014). Human cord blood-derived unrestricted somatic stem cells promote wound healing and have therapeutic potential for patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Cell Transplantation*, 23(3), 303–317. <https://doi.org/10.3727/096368913X663569>
- Liao, Y., Ivanova, L., Zhu, H., Yahr, A., Ayello, J. y cols. (2015). Rescue of the mucocutaneous manifestations by human cord blood derived nonhematopoietic stem cells in a mouse model of recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Stem Cells*, 33(6), 1807–1817. <https://doi.org/10.1002/stem.1966>
- Lim, D. S., Lutucuta, S., Bachireddy, P., Youker, K., Evans, A. y cols. (2001). Angiotensin II blockade reverses myocardial fibrosis in a transgenic mouse model of human hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*, 103(6), 789–791. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.103.6.789>
- Lim, H. C., An, S. C., & Lee, D. W. (2018). A retrospective comparison of three modalities for vestibuloplasty in the posterior mandible: apically positioned flap only vs. free gingival graft vs. collagen matrix. *Clinical Oral Investigations*, 22(5), 2121–2128. <https://doi.org/10.1007/s00784-017-2320-y>
- Loeys, B. L. (2015). Angiotensin receptor blockers: A panacea for Marfan syndrome and related disorders? *Drug Discovery Today*, Vol. 20, pp. 262–266. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.09.022>

- Lwin S. (2020). Fibroblast gene therapy for recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Acta Derm Venereol* 100 Suppl 220 website: <https://www.eb-researchnetwork.org/research/news/eb-2020-first-global-congress-on-eb/>
- Magno, J., Mehl, A. & Osti, K.A. (2020). Butterfly kit- clinical and logistic support to the newborn with epidermolysis bullosa. *Acta Derm Venereol* 100 Suppl 220 website: <https://www.eb-researchnetwork.org/research/news/eb-2020-first-global-congress-on-eb/>
- Mak, K., Manji, A., Gallant-Behm, C., Wiebe, C., Hart, D. A. y cols. (2009). Scarless healing of oral mucosa is characterized by faster resolution of inflammation and control of myofibroblast action compared to skin wounds in the red Duroc pig model. *Journal of Dermatological Science*, 56(3), 168–180. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2009.09.005>
- Malta, M., Osório, H., Guttman-Gruber, C., Kocher, T., Carvalho, A. y cols. (2020). Extracellular matrix distinct signature among dystrophic epidermolysis bullosa variants. *Acta Derm Venereol* 100 Suppl 220 website: <https://www.eb-researchnetwork.org/research/news/eb-2020-first-global-congress-on-eb/>
- Mariath, L., Santin, J. T., Frantz, J. A., Doriqui, M. J. R., Kiszewski, A. E. y cols. (2019). An overview of the genetic basis of epidermolysis bullosa in Brazil: discovery of novel and recurrent disease-causing variants. *Clinical Genetics*, 96(3), 189–198. <https://doi.org/10.1111/cge.13555>
- Mariath, L., Santin, J. T., Frantz, J. A., Doriqui, M. J. R., Schuler-Faccini, L. y cols. (2020a). Genotype-phenotype correlations on epidermolysis bullosa with congenital absence of skin: A comprehensive review. *Clinical Genetics*, cge.13792. <https://doi.org/10.1111/cge.13792>
- Mariath, L., Santin, J. T., Schuler-Faccini, L., & Kiszewski, A. E. (2020b). Inherited epidermolysis bullosa: update on the clinical and genetic aspects. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. <https://doi.org/10.1016/j.abd.2020.05.001>
- Marinkovich, M., Lane, A., Sridhar, K., Keene, D., Malyala, A. y cols. (2020). A phase ½ study of genetically corrected, collagen VII expressing autologous human dermal fibroblasts injected into the skin of patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa (RDEB). *Acta Derm Venereol* 100 Suppl 220 website: <https://www.eb-researchnetwork.org/research/news/eb-2020-first-global-congress-on-eb/>
- Markose, G., Graham, R. M., Woodward, R. T. M., Nasry, H., & Thomson, E. F. (2019). Modified tie-over technique for lingual sulcoplasty (vestibuloplasty). *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 57(1), 90–92. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2018.05.006>
- Martinez, A. (2020). Clinical challenges of EB skin-inside and out. *Acta Derm Venereol* 100 Suppl 220 website: <https://www.eb-researchnetwork.org/research/news/eb-2020-first-global-congress-on-eb/>
- Martínez-Santamaría, L., Maseda, R., Sacedón, R., de Arriba, M., Jimenez, E. y cols. (2020). Preliminary safety and efficacy outcomes of a phase I trial of systemic mesenchymal stromal cells for recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Acta Derm Venereol* 100 Suppl 220 website: <https://www.eb-researchnetwork.org/research/news/eb-2020-first-global-congress-on-eb/>
- McGrath, J. A., Gatalica, B., Christiano, A. M., Si, K., Owaribe, K. y cols. (1995). Mutations in the 180-kD bullous pemphigoid antigen (BPAG2), a

- hemidesmosomal transmembrane collagen (COL17A1), in generalized atrophic benign epidermolysis bullosa. *Nature Genetics*, Vol. 11, pp. 83–86. <https://doi.org/10.1038/ng0995-83>
- McMillan, J. R., Akiyama, M., & Shimizu, H. (2003). Epidermal basement membrane zone components: ultrastructural distribution and molecular interactions. *Journal of Dermatological Science*, 31(3), 169–177. [https://doi.org/10.1016/s0923-1811\(03\)00045-8](https://doi.org/10.1016/s0923-1811(03)00045-8)
- McMillan, J. R., McGrath, J. A., Tidman, M. J., & Eady, R. A. J. (1998). Hemidesmosomes show abnormal association with the keratin filament network in junctional forms of epidermolysis bullosa. *Journal of Investigative Dermatology*, 110(2), 132–137. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.1998.00102.x>
- Meitner, S., Papadimitriou, D. E. V., Kotsailidi, E. A., Habibzadeh, M., Chochlidakis, K. y cols. (2020). An alternative approach for vestibular extension using temporary coverage of epithelialized palatal grafts. *Quintessence International (Berlin, Germany : 1985)*, 51(4), 286–292. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a44141>
- Melo, S. P., Lisowski, L., Bashkirova, E., Zhen, H. H., Chu, K., y cols. (2014). Somatic correction of junctional epidermolysis bullosa by a highly recombinogenic AAV variant. *Molecular Therapy*, 22(4), 725–733. <https://doi.org/10.1038/mt.2013.290>
- Moles, A., Tarrats, N., Fernández-Checa, J. C., & Marí, M. (2012). Cathepsin B overexpression due to acid sphingomyelinase ablation promotes liver fibrosis in Niemann-Pick disease. *Journal of Biological Chemistry*, 287(2), 1178–1188. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.272393>
- Murphy-Ullrich, J. E., & Poczatek, M. (2000, April). Activation of latent TGF- β by thrombospondin-1: Mechanisms and physiology. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, Vol. 11, pp. 59–69. [https://doi.org/10.1016/S1359-6101\(99\)00029-5](https://doi.org/10.1016/S1359-6101(99)00029-5)
- Nagamine, Y., Medcalf, R. L., & Muñoz-Cánoves, P. (2005, April). Transcriptional and posttranscriptional regulation of the plasminogen activator system. *Thrombosis and Haemostasis*, Vol. 93, pp. 661–675. <https://doi.org/10.1160/TH04-12-0814>
- Nagy, N., & McGrath, J. A. (2010, January). Blistering skin diseases: A bridge between dermatopathology and molecular biology. *Histopathology*, Vol. 56, pp. 91–99. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2009.03442.x>
- Nakamura, H., Sawamura, D., Goto, M., Sato-Matsumura, K. C., LaDuca, J. y cols. (2004). The G2028R glycine substitution mutation in COL7A1 leads to marked inter-familial clinical heterogeneity in dominant dystrophic epidermolysis bullosa. *Journal of Dermatological Science*, 34(3), 195–200. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2004.02.005>
- Nammour, S., Gerges, E., Bou Tayeh, R., & Zeinoun, T. (2014). Oral crest lengthening for increasing removable denture retention by means of CO2 laser. *Scientific World Journal*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/738643>
- Németh, K., Leelahavanichkul, A., Yuen, P. S. T., Mayer, B., Parmelee, A. y cols. (2009). Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E 2-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nature Medicine*, 15(1), 42–49. <https://doi.org/10.1038/nm.1905>

- Ng, Y. Z., Pourreyron, C., Salas-Alanis, J. C., Dayal, J. H. S., Cepeda-Valdes, R. y cols. (2012). Fibroblast-derived dermal matrix drives development of aggressive cutaneous squamous cell carcinoma in patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Cancer Research*, 72(14), 3522–3534. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-2996>
- Nishie, W., Natsuga, K., Nakamura, H., Ito, T., Toyonaga, E. y cols. (2014). A recurrent “hot spot” glycine substitution mutation, G2043R in COL7A1, induces dominant dystrophic epidermolysis bullosa associated with intracytoplasmic accumulation of pro-collagen VII. *Journal of Dermatological Science*, Vol. 75, pp. 69–71. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2014.04.006>
- Nurminskaya, M. V., & Belkin, A. M. (2012). Cellular Functions of Tissue Transglutaminase. In *International Review of Cell and Molecular Biology* (Vol. 294, pp. 1–97). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394305-7.00001-X>
- Nyström, A., Bernasconi, R., & Bornert, O. (2018, October 1). Therapies for genetic extracellular matrix diseases of the skin. *Matrix Biology*, Vol. 71–72, pp. 330–347. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2017.12.010>
- Nyström, A., Bornert, O., & Köhl, T. (2017, January 1). Cell therapy for basement membrane-linked diseases. *Matrix Biology*, Vol. 57–58, pp. 124–139. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2016.07.012>
- Nyström, A., & Bruckner-Tuderman, L. (2018, August 1). Injury- and inflammation-driven skin fibrosis: The paradigm of epidermolysis bullosa. *Matrix Biology*, Vol. 68–69, pp. 547–560. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2018.01.016>
- Nyström, A., Buttgereit, J., Bader, M., Schmidt, T., Özcelik, C. y cols. (2013a). Rat Model for Dominant Dystrophic Epidermolysis Bullosa: Glycine Substitution Reduces Collagen VII Stability and Shows Gene-Dosage Effect. *PLoS ONE*, 8(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064243>
- Nyström, A., Thriene, K., Mittapalli, V., Kern, J. S., Kiritsi, D. y cols. (2015). Losartan ameliorates dystrophic epidermolysis bullosa and uncovers new disease mechanisms. *EMBO Molecular Medicine*, 7(9), 1211–1228. <https://doi.org/10.15252/emmm.201505061>
- Nyström, A., Velati, D., Mittapalli, V. R., Fritsch, A., Kern, J. S. y cols. (2013b). Collagen VII plays a dual role in wound healing. *Journal of Clinical Investigation*, 123(8), 3498–3509. <https://doi.org/10.1172/JCI68127>
- Odorisio, T., di Salvio, M., Orecchia, A., di Zenzo, G., Piccinni, E. y cols. (2014). Monozygotic twins discordant for recessive dystrophic epidermolysis bullosa phenotype highlight the role of TGF- β signalling in modifying disease severity. *Human Molecular Genetics*, 23(15), 3907–3922. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu102>
- Osmanov, T., Ugrinova, I., & Pasheva, E. (2013). The chaperone like function of the nonhistone protein HMGB1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 432(2), 231–235. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.02.008>
- Padmini, H., Raja, K. K., Hoe, Z. Y., Teh, Y. J., & Ting, C. J. (2018). Correlation of width of attached gingiva, depth of the vestibule on gingival health and oral hygiene maintenance in Malaysian young adults. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 12(11). <https://doi.org/10.7860/JCDR/2018/35347.12302>
- Park, J., Gamboni-Robertson, F., He, Q., Svetkauskaite, D., Kim, J. Y. y cols. (2006). High mobility group box 1 protein interacts with multiple Toll-like

- receptors. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 290(3).
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00401.2005>
- Pasmooij, A. M. G., Garcia, M., Escamez, M. J., Nijenhuis, A. M., Azon, A., Cuadrado-Corrales, N., ... Del Rio, M. (2010). Revertant mosaicism due to a second-site mutation in COL7A1 in a patient with recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Journal of Investigative Dermatology*, 130(10), 2407–2411. <https://doi.org/10.1038/jid.2010.163>
- Peking, P., Koller, U., Duarte, B., Murillas, R., Wolf, S. y cols. (2017). An RNA-targeted therapy for dystrophic epidermolysis bullosa. *Nucleic Acids Research*, 45(17), 10259–10269. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx669>
- Penagos, H., Jaen, M., Sancho, M. T., Saborio, M. R., Fallas, V. G. y cols. (2004). Kindler syndrome in native Americans from Panama: Report of 26 cases. *Archives of Dermatology*, 140(8), 939–944. <https://doi.org/10.1001/archderm.140.8.939>
- Peñarrocha, M., Larrazábal, C., Balaguer, J., Serrano, C., Silvestre, J. y cols. (2007). Restoration with implants in patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa and patient satisfaction with the implant-supported superstructure. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 22(4), 651–655. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17929528>
- Pietrokovski, J. (2013). The residual edentulous arches--foundation for implants and for removable dentures; some clinical considerations. A review of the literature 1954-2012. *Refu'at Ha-Peh Eha-Shinayim (1993)*, Vol. 30.
- Pietrokovski, J., & Massler, M. (1967). Ridge Remodeling after Tooth Extraction in Rats. *Journal of Dental Research*, 46(1), 222–231. <https://doi.org/10.1177/00220345670460011501>
- Pincheira J. (2014). Genética humana. Mediterráneo. pp 180-181
- Pipa, A., López-Arranz, E., González, M., Ortiz, J. & Pipa, M. (2010). Epidermolísis ampollosa de la unión: implicación oral. A propósito de un caso. *Av Odontostomatol (26):2* website: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0213-12852010000200003
- Powell, J. (2006). Skin physiology. *Women's Health Medicine*, 3(3), 130-133.
- Pereira, V., Asquino, N., Apellaniz, D., Bueno, R., Tapia, G. y cols. (2016). *Metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs) en Odontología Metalloproteinases (MMPs) of the extracellular matrix in Dentistry (Vol. 28)*.
- Preidl, R. H. M., Wehrhan, F., Weber, M., Neukam, F. W., Kesting, M. y cols. (2019). Collagen Matrix Vascularization in a Peri-Implant Vestibuloplasty Situation Proceeds Within the First Postoperative Week. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 77(9), 1797–1806. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2019.03.010>
- Puliyel, D., Chiu, C. & Habibian, M. (2014) Restorative and periodontal challenges in adults with dystrophic epidermolysis bullosa. *J Calif Dent Assoc* 42, 313–8
- Pulkkinen, L., Christiano, A. M., Airene, T., Haakana, H., Tryggvason, K. y cols. (1994). Mutations in the $\gamma 2$ chain gene (LAMC2) of kalinin/laminin 5 in the junctional forms of epidermolysis bullosa. *Nature Genetics*, 6(3), 293–298. <https://doi.org/10.1038/ng0394-293>
- Qin, H., Lerman, B., Sakamaki, I., Wei, G., Cha, S. C. y cols. (2014). Generation of

- a new therapeutic peptide that depletes myeloid-derived suppressor cells in tumor-bearing mice. *Nature Medicine*, 20(6), 676–681.
<https://doi.org/10.1038/nm.3560>
- Qin, W., Chung, A. C. K., Huang, X. R., Meng, X. M., Hui, D. S. C. y cols. (2011). TGF- β /Smad3 signaling promotes renal fibrosis by inhibiting miR-29. *Journal of the American Society of Nephrology*, 22(8), 1462–1474.
<https://doi.org/10.1681/ASN.2010121308>
- Qu, X., Liu, X., Cheng, K., Yang, R., & Zhao, R. C. H. (2012). Mesenchymal stem cells inhibit Th17 cell differentiation by IL-10 secretion. *Experimental Hematology*, 40(9), 761–770. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2012.05.006>
- Raghunath, M., Höpfner, B., Aeschlimann, D., Lüthi, U., Meuli, M. y cols. (1996). Cross-linking of the dermo-epidermal junction of skin regenerating from keratinocyte autografts: Anchoring fibrils are a target for tissue transglutaminase. *Journal of Clinical Investigation*, 98(5), 1174–1184.
<https://doi.org/10.1172/JCI118901>
- Ramirez, F., & Rifkin, D. B. (2012, April). Is losartan the drug for all seasons? *Current Opinion in Pharmacology*, Vol. 12, pp. 223–224.
<https://doi.org/10.1016/j.coph.2012.02.007>
- Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., y cols. (2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine*, 17(5), 405–424. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
- Rodríguez, F. A., Gana, M. J., Yubero, M. J., Zillmann, G., Krämer, S. M. y cols. (2012, February). Novel and recurrent COL7A1 mutations in Chilean patients with dystrophic epidermolysis bullosa. *Journal of Dermatological Science*, Vol. 65, pp. 149–152. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2011.11.010>
- Saeidian, A. H., Youssefian, L., Moreno Trevino, M. G., Fortuna, G., Vahidnezhad, H. y cols. (2018). Seven novel COL7A1 mutations identified in patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa from Mexico. *Clinical and Experimental Dermatology*, 43(5), 579–584. <https://doi.org/10.1111/ced.13407>
- Saito, M., Masunaga, T., Teraki, Y., Takamori, K., & Ishiko, A. (2008). Genotype-phenotype correlations in six Japanese patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa with the recurrent p.Glu2857X mutation. *Journal of Dermatological Science*, 52(1), 13–20.
<https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2008.03.005>
- Sakai, L. Y., Keene, D. R., Morris, N. P., & Burgeson, R. E. (1986). Type VII collagen is a major structural component of anchoring fibrils. *Journal of Cell Biology*, 103(4), 1577–1586. <https://doi.org/10.1083/jcb.103.4.1577>
- Scaffidi, P., Misteli, T., & Bianchi, M. E. (2002). Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature*, 418(6894), 191–195.
<https://doi.org/10.1038/nature00858>
- Schäfer, M., & Werner, S. (2008, August). Cancer as an overhealing wound: An old hypothesis revisited. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, Vol. 9, pp. 628–638. <https://doi.org/10.1038/nrm2455>
- Schropp, L., Wenzel, A., Kostopoulos, L. & Karring, T. . (2004). Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: A clinical and

- radiographic 12-month prospective study. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 91(1), 92. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2003.10.022>
- Schwanhüusser, B., Busse, D., Li, N., Dittmar, G., Schuchhardt, J. y cols. (2011). Global quantification of mammalian gene expression control. *Nature*, 473(7347), 337–342. <https://doi.org/10.1038/nature10098>
- Schwieger-Briel, A., Weibel, L., Chmel, N., Leppert, J., Kernland-Lang, K. y cols. (2015). A *COL7A1* variant leading to in-frame skipping of exon 15 attenuates disease severity in recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *British Journal of Dermatology*, 173(5), 1308–1311. <https://doi.org/10.1111/bjd.13945>
- Sedano, H. O., & Gorlin, R. J. (1989). Epidermolysis bullosa. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 67(5), 555–563. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(89\)90272-7](https://doi.org/10.1016/0030-4220(89)90272-7)
- Seiffert, D. (1997). Constitutive and regulated expression of vitronectin. *Histology and Histopathology*, Vol. 12, pp. 787–797. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9225162/>
- Seiffert, D., Curriden, S. A., Jenne, D., Binder, B. R., & Loskutoff, D. J. (1996). Differential regulation of vitronectin in mice and humans in vitro. *Journal of Biological Chemistry*, 271(10), 5474–5480. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.10.5474>
- Seong, G. J., Hong, S., Jung, S. A., Lee, J. J., Lim, E. y cols. (2009). TGF-beta-induced interleukin-6 participates in transdifferentiation of human Tenon's fibroblasts to myofibroblasts. *Molecular Vision*, 15, 2123–2128. <http://www.molvis.org/molvis/v15/a228>
- Serrano Martínez, C; Silvestre, F., Bagán J., Peñarrocha Diago, M. & Alió J. J. (2001). Epidermólisis ampollosa hereditaria: a propósito del manejo odontológico de tres casos clínicos. *Medicina oral*, 6(1) ,48-56
- Shimbo, T., Sasaki, E., Kitayama, T., Yamazaki, S., Nishida, M. y cols. (2018). 843 Systemic delivery of HMGB1 promotes tissue regeneration by activating PDGFR α cells in a mouse model of epidermolysis bullosa. *Journal of Investigative Dermatology*, 138(5), S143. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2018.03.853>
- Shimizu, H., Ishiko, A., Masunaga, T., Kurihara, Y., Sato, M. y cols. (1997). Most anchoring fibrils in human skin originate and terminate in the lamina densa. *Laboratory Investigation*, 76(6), 753–763. <https://europepmc.org/article/med/9194852>
- Shimizu, H., McGrath, J. A., Christiano, A. M., Nishikawa, T., & Uitto, J. (1996). Molecular basis of recessive dystrophic epidermolysis bullosa: Genotype/phenotype correlation in a case of moderate clinical severity. *Journal of Investigative Dermatology*, 106(1), 119–124. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12329600>
- Shinkuma, S., McMillan, J. R., & Shimizu, H. (2011). Ultrastructure and molecular pathogenesis of epidermolysis bullosa. *Clinics in Dermatology*, 29(4), 412–419. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2011.01.010>
- Shipman, A. R., Liu, L., Lai-Cheong, J. E., McGrath, J. A., & Heagerty, A. (2014). Somatic forward (nonrevertant) mosaicism in recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *JAMA Dermatology*, Vol. 150, pp. 1025–1027. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2014.281>

- Sikkerimath, B., Dandagi, S., Gudi, S., & Jayapalan, D. (2012). Comparison of vestibular sulcus depth in vestibuloplasty using standard Clark's technique with and without amnion as graft material. *Annals of Maxillofacial Surgery*, 2(1), 30. <https://doi.org/10.4103/2231-0746.95313>
- Siqueira, M. A., De Souza Silva, J., De Paula E Silva, F. W. G., Díaz-Serrano, K. V., De Freitas, A. C. y cols. (2008). Dental treatment in a patient with epidermolysis bullosa. *Special Care in Dentistry*, 28(3), 92–95. <https://doi.org/10.1111/j.1754-4505.2008.00012.x>
- Smoller, B. R., & Hiatt, K. M. (2009). Normal Cutaneous Histology. In *Dermatopathology: The Basics* (pp. 1–35). https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0024-1_1
- Sohaib Shahzan, M., Gounder, R., & Ganapathy, D. (2019). Assessment of buccal vestibular depth among completely edentulous patients. In *Drug Invention Today* | (Vol. 11).
- Spellman M. (2020). A tale of two therapeutic approaches – an update on clinical studies in DIACEREIN and FCX-007. *Acta Derm Venereol* 100 Suppl 220 website: <https://www.eb-researchnetwork.org/research/news/eb-2020-first-global-congress-on-eb/>
- Stapp, M. A., Spurr-Michaud, S., Tisdale, A., Elwell, J., & Gipson, I. K. (1990). $\alpha 6\beta 4$ integrin heterodimer is a component of hemidesmosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(22), 8970–8974. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.22.8970>
- Stoppenbrink, D., Daratsianos, N., Kutschera, E., Scharf, S., Braumann, B. y cols. (2019). Dimensional changes of the alveolar ridge contour of the premolar extraction site in adolescents. *Journal of Orofacial Orthopedics / Fortschritte Der Kieferorthopädie*, 80(4), 205–215. <https://doi.org/10.1007/s00056-019-00182-w>
- Subsecretaría de Salud Pública, división prevención y control de enfermedades, departamento salud bucal (2010). Análisis de situación de salud bucal en Chile. Ministerio de salud. Sitio web:<https://www.minsal.cl/sites/default/files/files/An%C3%A1lisis%20de%20Situaci%C3%B3n%20Salud%20Bucal%20final%20pdf.pdf>
- Sumeray M.(2020a). Development of two topical approaches to wound healing in EB- an update on progress with OLEOGEL-S10 and AP103. *Acta Derm Venereol* 100 Suppl 220 website: <https://www.eb-researchnetwork.org/research/news/eb-2020-first-global-congress-on-eb/>
- Sumeray M. (2020b). Non-viral gene therapy for epidermolysis bullosa. *Acta Derm Venereol* 100 Suppl 220 website: <https://www.eb-researchnetwork.org/research/news/eb-2020-first-global-congress-on-eb/>
- Tamai K. (2020). Development of HMGB1 peptide drug for regenerating epidermal stem cell niches in RDEB skin. *Acta Derm Venereol* 100 Suppl 220 website: <https://www.eb-researchnetwork.org/research/news/eb-2020-first-global-congress-on-eb/>
- Tamai, K., Murai, T., Mayama, M., Kon, A., Nomura, K. y cols. (1999). Recurrent COL7A1 mutations in Japanese patients with dystrophic epidermolysis bullosa: Positional effects of premature termination codon mutations on clinical severity [1]. *Journal of Investigative Dermatology*, Vol. 112, pp. 991–993.

- <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.1999.00601.x>
- Tamai, K., Yamazaki, T., Chino, T., Ishii, M., Otsuru, S. y cols. (2011). PDGFR α -positive cells in bone marrow are mobilized by high mobility group box 1 (HMGB1) to regenerate injured epithelia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(16), 6609–6614. <https://doi.org/10.1073/pnas.1016753108>
- Tan, W. L., Wong, T. L. T., Wong, M. C. M., & Lang, N. P. (2012, February). A systematic review of post-extraction alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *Clinical Oral Implants Research*, Vol. 23, pp. 1–21. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2011.02375.x>
- Tang, D., Shi, Y., Kang, R., Li, T., Xiao, W. y cols. (2007). Hydrogen peroxide stimulates macrophages and monocytes to actively release HMGB1. *Journal of Leukocyte Biology*, 81(3), 741–747. <https://doi.org/10.1189/jlb.0806540>
- Tarasenko, S., Ashurko, I., Taschieri, S., Repina, S., Esayan, A. y cols. (2020). Comparative analysis of methods to increase the amount of keratinized mucosa before stage-two surgery: a randomized controlled study. *Quintessence International (Berlin, Germany : 1985)*, 51(5), 374–387. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a44216>
- Telci, D., & Griffin, M. (2006). Tissue transglutaminase (TG2) - A wound response enzyme. *Frontiers in Bioscience*, 11(1 P.447-888), 867–882. <https://doi.org/10.2741/1843>
- Tencate, A. R., & Mills, C. (1972). The development of the periodontium: The origin of alveolar bone. *The Anatomical Record*, 173(1), 69–77. <https://doi.org/10.1002/ar.1091730106>
- Thriene, K., Grüning, B. A., Bornert, O., Erxleben, A., Leppert, J. y cols. (2018). Combinatorial omics analysis reveals perturbed lysosomal homeostasis in collagen VII-deficient keratinocytes. *Molecular and Cellular Proteomics*, 17(4), 565–579. <https://doi.org/10.1074/mcp.RA117.000437>
- Titeux, M., Pendaries, V., Tonasso, L., Décha, A., Bodemer, C. y cols. (2008). A frequent functional SNP in the MMP1 promoter is associated with higher disease severity in recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Human Mutation*, 29(2), 267–276. <https://doi.org/10.1002/humu.20647>
- Tolar, J., Akemi, I. Y., Riddle, M., McElmurry, R. T., Osborn, M. y cols. (2009). Amelioration of epidermolysis bullosa by transfer of wild-type bone marrow cells. *Blood*, 113(5), 1167–1174. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-06-161299>
- Torres, C. P., Gomes-Silva, J. M., Mellara, T. S., Carvalho, L. P., & Borsatto, M. C. (2011). Dental care management in a child with recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Brazilian Dental Journal*, 22(6), 511–516. <https://doi.org/10.1590/S0103-64402011000600012>
- Tsuruta, Y., Park, Y.-J., Siegal, G. P., Liu, G., & Abraham, E. (2007). Involvement of Vitronectin in Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury. *The Journal of Immunology*, 179(10), 7079–7086. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.10.7079>
- Turczynski, S., Titeux, M., Tonasso, L., Décha, A., Ishida-Yamamoto, A. y cols. (2016). Targeted Exon Skipping Restores Type VII Collagen Expression and Anchoring Fibril Formation in an In Vivo RDEB Model. *Journal of Investigative*

- Dermatology*, 136(12), 2387–2395. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.07.029>
- Uitto, J. (2011). Glycine substitution mutations in the col7a1 gene: Implications for inheritance of dystrophic epidermolysis bullosa - dominant vs. recessive. *Acta Dermato-Venereologica*, 91(3), 259–261. <https://doi.org/10.2340/00015555-1131>
- Uitto, J. (2019, December 26). Toward treatment and cure of epidermolysis bullosa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 116, pp. 26147–26149. <https://doi.org/10.1073/pnas.1919347117>
- Uitto, J., Has, C., Vahidnezhad, H., Youssefian, L., & Bruckner-Tuderman, L. (2017, January 1). Molecular pathology of the basement membrane zone in heritable blistering diseases:: The paradigm of epidermolysis bullosa. *Matrix Biology*, Vol. 57–58, pp. 76–85. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2016.07.009>
- Urzua, I., Mendoza, C., Arteaga, O., Rodríguez, G., Cabello, R. y cols. (2012). Dental caries prevalence and tooth loss in Chilean adult population: First national dental examination survey. *International Journal of Dentistry*. <https://doi.org/10.1155/2012/810170>
- Uzel, M. I., Scott, I. C., Babakhanlou-Chase, H., Palamakumbura, A. H., Pappano, W. N. y cols. (2001). Multiple Bone Morphogenetic Protein 1-related Mammalian Metalloproteinases Process Pro-lysyl Oxidase at the Correct Physiological Site and Control Lysyl Oxidase Activation in Mouse Embryo Fibroblast Cultures. *Journal of Biological Chemistry*, 276(25), 22537–22543. <https://doi.org/10.1074/jbc.M102352200>
- Vahidnezhad, H., Youssefian, L., Zeinali, S., Saeidian, A. H., Sotoudeh, S. y cols. (2017). Dystrophic Epidermolysis Bullosa: COL7A1 Mutation Landscape in a Multi-Ethnic Cohort of 152 Extended Families with High Degree of Customary Consanguineous Marriages. *Journal of Investigative Dermatology*, 137(3), 660–669. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.10.023>
- Van den Akker P. (2020). Exon skipping for RDEB. *Acta Derm Venereol* 100 Suppl 220 website: <https://www.eb-researchnetwork.org/research/news/eb-2020-first-global-congress-on-eb/>
- Van den Akker, P., Jonkman, M. F., Rengaw, T., Bruckner-Tuderman, L., Has, C. y cols. (2011). The international dystrophic epidermolysis bullosa patient registry: An online database of dystrophic epidermolysis bullosa patients and their COL7A1 mutations. *Human Mutation*, 32(10), 1100–1107. <https://doi.org/10.1002/humu.21551>
- Van Den Akker, P. C., Pasmooij, A. M. G., Meijer, R., Scheffer, H., & Jonkman, M. F. (2015). Somatic mosaicism for the COL7A1 mutation p.Gly2034Arg in the unaffected mother of a patient with dystrophic epidermolysis bullosa pruriginosa. *British Journal of Dermatology*, 172(3), 778–781. <https://doi.org/10.1111/bjd.13336>
- van Putten, S., Shafieyan, Y., & Hinz, B. (2016, April 1). Mechanical control of cardiac myofibroblasts. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, Vol. 93, pp. 133–142. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2015.11.025>
- Vanden Oever, M., Muldoon, D., Mathews, W., McElmurry, R., & Tolar, J. (2016). miR-29 Regulates Type VII Collagen in Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa. *Journal of Investigative Dermatology*, 136(10), 2013–2021.

- <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.05.115>
- Vara, O., Sarmiento, Y; Portal, M.E., Piloña, S. & Rodríguez, J. J. (2012). Epidermólisis bulosa simple. Presentación de un caso. *Rev Ciencias Médicas* website: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942012000500017
- Varki, R., Sadowski, S., Uitto, J., & Pfenninger, 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>
- Vázquez-Osorio, I., Chmel, N., Rodríguez-Díaz, E., Gonzalvo-Rodríguez, P., Happle, R. y cols. (2017, October 1). A case of mosaicism in ectodermal dysplasia–skin fragility syndrome. *British Journal of Dermatology*, Vol. 177, pp. e101–e102. <https://doi.org/10.1111/bjd.15374>
- Villone, D., Fritsch, A., Koch, M., Bruckner-Tuderman, L., Hansen, U. y cols. (2008). Supramolecular interactions in the dermo-epidermal junction zone: Anchoring fibril-collagen VII tightly binds to banded collagen fibrils. *Journal of Biological Chemistry*, 283(36), 24506–24513. <https://doi.org/10.1074/jbc.M802415200>
- Vogel, C., & Marcotte, E. M. (2012). Insights into the regulation of protein abundance from proteomic and transcriptomic analyses. *Nature Reviews Genetics*, 13(4), 227–232. <https://doi.org/10.1038/nrg3185>
- von Arx, T., Lozanoff, S., von Arx, T., & Lozanoff, S. (2017). Vestibule and Cheeks. In *Clinical Oral Anatomy* (pp. 15–27). https://doi.org/10.1007/978-3-319-41993-0_3
- Wagner, J. E., Ishida-Yamamoto, A., McGrath, J. A., Hordinsky, M., Keene, D. R. y cols. (2010). Bone marrow transplantation for recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *New England Journal of Medicine*, 363(7), 629–639. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0910501>
- Wang, Z., & Griffin, M. (2012, February). TG2, a novel extracellular protein with multiple functions. *Amino Acids*, Vol. 42, pp. 939–949. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-1008-x>
- Ward, V. J. (1976). The Depth of the Vestibular Fornix in the Mandibular Anterior Region in Health. *Journal of Periodontology*, 47(11), 651–655. <https://doi.org/10.1902/jop.1976.47.11.651>
- Webber, B. R., O'Connor, K. T., McElmurry, R. T., Durgin, E. N., Eide, C. R. y cols. (2017). Rapid generation of Col7a1 mouse model of recessive dystrophic epidermolysis bullosa and partial rescue via immunosuppressive dermal mesenchymal stem cells. *Laboratory Investigation*, 97(10), 1218–1224. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2017.85>
- Wells, R. G., & Discher, D. E. (2008, March 11). Matrix elasticity, cytoskeletal tension, and TGF- β : The insoluble and soluble meet. *Science Signaling*, Vol. 1, p. pe13. <https://doi.org/10.1126/stke.110pe13>
- Wertheim-Tysarowska, K., Sobczyńska-Tomaszewska, A., Kowalewski, C., Skroński, M., Święckowski, G. y cols. (2011). The COL7A1 mutation database. *Human Mutation*, 33(2), 327–331. <https://doi.org/10.1002/humu.21651>
- Whitlock, N. V., Ashton, G. H. S., Mohammedi, R., Mellerio, J. E., Mathew, C. G., Abbs, S. J., ... McGrath, J. A. (1999). Comparative mutation detection

- screening of the type VII collagen gene (COL7A1) using the protein truncation test, fluorescent chemical cleavage of mismatch, and conformation sensitive gel electrophoresis. *Journal of Investigative Dermatology*, 113(4), 673–686. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.1999.00732.x>
- Wipff, P. J., Rifkin, D. B., Meister, J. J., & Hinz, B. (2007). Myofibroblast contraction activates latent TGF- β 1 from the extracellular matrix. *Journal of Cell Biology*, 179(6), 1311–1323. <https://doi.org/10.1083/jcb.200704042>
- Wolf, K., & Friedl, P. (2009). Mapping proteolytic cancer cell-extracellular matrix interfaces. *Clinical and Experimental Metastasis*, 26(4), 289–298. <https://doi.org/10.1007/s10585-008-9190-2>
- Wong, T., Gammon, L., Liu, L., Mellerio, J. E., Dopping-Hepenstal, P. J. C. y cols. (2008). Potential of fibroblast cell therapy for recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Journal of Investigative Dermatology*, 128(9), 2179–2189. <https://doi.org/10.1038/jid.2008.78>
- Woodley D. (2020). Read-through therapeutics: drug repurposing for RDEB. *Acta Derm Venereol* 100 Suppl 220 website: <https://www.eb-researchnetwork.org/research/news/eb-2020-first-global-congress-on-eb/>
- Woodley, D. T., Hou, Y., Martin, S., Li, W., & Chen, M. (2008). Characterization of molecular mechanisms underlying mutations in dystrophic epidermolysis bullosa using site-directed mutagenesis. *Journal of Biological Chemistry*, 283(26), 17838–17845. <https://doi.org/10.1074/jbc.M709452200>
- Woodley, D. T., Keene, D. R., Atha, T., Huang, Y., Lipman, K. y cols. (2004). Injection of recombinant human type VII collagen restores collagen function in dystrophic epidermolysis bullosa. *Nature Medicine*, 10(7), 693–695. <https://doi.org/10.1038/nm1063>
- Wright, J. T. (2010, January). Oral Manifestations in the Epidermolysis Bullosa Spectrum. *Dermatologic Clinics*, Vol. 28, pp. 159–164. <https://doi.org/10.1016/j.det.2009.10.022>
- Wright, J. T., Fine, J. D., & Johnson, L. (1993a). Hereditary epidermolysis bullosa: oral manifestations and dental management. *Pediatric Dentistry*, Vol. 15, pp. 242–248.
- Wright, J. T., Fine, J. D., & Johnson, L. B. (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., Johnson L. & Steinmetz T. (1993b). Oral Involvement of Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa Inversa. *American Journal of Medical Genetics* 421 184-1188.
- Wright, J T, Johnson, L. B., & Fine, J. D. (1993c). Development defects of enamel in humans with hereditary epidermolysis bullosa. *Archives of Oral Biology*, 38(11), 945–955. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(93\)90107-w](https://doi.org/10.1016/0003-9969(93)90107-w)
- Wynn, T. A., & Ramalingam, T. R. (2012, July 6). Mechanisms of fibrosis: Therapeutic translation for fibrotic disease. *Nature Medicine*, Vol. 18, pp. 1028–1040. <https://doi.org/10.1038/nm.2807>
- Wynn, T. A., & Vannella, K. M. (2016, March 15). Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. *Immunity*, Vol. 44, pp. 450–462. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.02.015>
- Yanai, H., Ban, T., & Taniguchi, T. (2012, December 1). High-mobility group box

- family of proteins: Ligand and sensor for innate immunity. *Trends in Immunology*, Vol. 33, pp. 633–640. <https://doi.org/10.1016/j.it.2012.10.005>
- Youssefian, L., Vahidnezhad, H., Barzegar, M., Li, Q., Sotoudeh, S. y cols. (2015, May 22). The kindler syndrome: A spectrum of FERMT1 mutations in iranian families. *Journal of Investigative Dermatology*, Vol. 135, pp. 1447–1450. <https://doi.org/10.1038/jid.2015.9>
- Zhang, F., Tsai, S., Kato, K., Yamanouchi, D., Wang, C. y cols. (2009). Transforming growth factor- β promotes recruitment of bone marrow cells and bone marrow-derived mesenchymal stem cells through stimulation of MCP-1 production in vascular smooth muscle cells. *Journal of Biological Chemistry*, 284(26), 17564–17574. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.013987>
- Zhou, D., Gao, Y., Aied, A., Cutlar, L., Igoucheva, O. y cols. (2016). Highly branched poly(β -amino ester)s for skin gene therapy. *Journal of Controlled Release*, 244, 336–346. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.014>
- Zhou, L., Wang, L., Lu, L., Jiang, P., Sun, H. y cols. (2012). Inhibition of miR-29 by TGF-beta-Smad3 signaling through dual mechanisms promotes transdifferentiation of mouse myoblasts into myofibroblasts. *PLoS ONE*, 7(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033766>

Anexo 2: Consentimiento informado, proyecto “Determining the genetic basis of Epidermolysis bullosa symptoms through Genotype-Phenotype associations using Next Generation Sequencing”.

Versión 6.0

12 de Mayo 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) darles 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 integro 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 reportes generados con los datos obtenidos a partir de sus muestras y evaluaciones



Iniciales Investigador:



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, por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile y por el Comité de Ética e Investigación del Servicio de Salud Metropolitano Sur Oriente.

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. En caso de cualquier duda con relación a sus derechos como persona participante, puede contactar al Dr. Patricio Michaud del Comité de Ética e Investigación del Servicio de Salud Metropolitano Sur Oriente.

Muchas gracias por aceptar ser parte de nuestro equipo.



En testimonio,

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 Meléndez, 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 y que no interferirá en mi diagnóstico o tratamiento. Al firmar este consentimiento, acepto participar en este estudio o autorizo a mi familiar.

Nombre del paciente.....Rut.....

En la situación que aplique: Nombre de quien aprueba la participación del paciente en el estudio.....Rut.....
Relación con el paciente.....

Firma.....

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

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

Nombre del Investigador.....Rut.....

Firma.....

Nombre del testigo.....Rut.....

Firma.....

Nombre del representante del centro hospitalario.....

Firma.....

Fecha firma consentimiento:...../...../.....



Iniciales familiar:.....

Iniciales Investigador:

Anexo 3: Asentimiento informado familiares, proyecto “Determining the genetic basis of Epidermolysis bullosa symptoms through Genotype-Phenotype associations using Next Generation Sequencing”.

Versión 6.0

12 de Mayo 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 bullosa 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 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, por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile y por el Comité de Ética e Investigación del Servicio de Salud Metropolitano Sur Oriente.

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. En caso de cualquier duda con relación a sus derechos como persona participante, puede contactar al Dr Patricio Michaud del Comité de Ética e Investigación del Servicio de Salud Metropolitano Sur Oriente.



Iniciales Investigador:



PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: "Determinando las bases genéticas de los síntomas de Epidemolisis 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: Asentimiento informado paciente, proyecto “Determining the genetic basis of Epidermolysis bullosa symptoms through Genotype-Phenotype associations using Next Generation Sequencing”.

Versión 6.0

12 de Mayo 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 Investigador:



1

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, por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile y por el Comité de Ética e Investigación del Servicio de Salud Metropolitano Sur Oriente.

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. En caso de cualquier duda con relación a sus derechos como

persona participante, puede contactar al Dr Patricio Michaud del Comité de Ética e Investigación del Servicio de Salud Metropolitano Sur Oriente.



Nombre 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.....



Iniciales familiar:.....

Fecha firma asentimiento:.....



Iniciales Investigador:

Anexo 5: Acta de aprobación de protocolo de investigación otorgado al proyecto "Determining the genetic basis of Epidermolysis bullosa symptoms through Genotype-Phenotype associations using Next Generation Sequencing".



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
UNIVERSIDAD DE CHILE

COMITÉ ÉTICO
CIENTÍFICO

ACTA DE APROBACION DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

Ed 15/04/2014

Dra. MA.TorresPdta./Dr. E.Rodríguez/Srta. A.Hemera/Dra. B. Urzúa O./Dra. X. Lee M./Srta. K. Lagos B./Sra. L.Comejo 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. M^a Angélica Torres V
Presidente 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 Comejo
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: Otorninolaringólogo, 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 CIENTIFICO
 FACULTAD DE ODONTOLOGIA U. DE CHILE



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