



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA
SECRETARÍA DE SALUD

DESCRIPCIÓN DE CINCO PACIENTES MEXICANOS
CON DISPLASIA ECTODÉRMICA Y HENDIDURAS
LABIOPALATINAS QUE PRESENTAN MUTACIONES
EN EL GEN *TP63*

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA

PRESENTA:

DRA. ELIZABETH RAMOS RAUDRY

TUTOR:

DRA. EMIY YOKOYAMA REBOLLAR

CO-TUTOR:

DRA. VICTORIA DEL CASTILLO RUIZ

CIUDAD DE MÉXICO

MARZO 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



DESCRIPCIÓN DE CINCO PACIENTES MEXICANOS CON DISPLASIA
ECTODERMICA Y HENDIDURAS LABIOPALATINAS QUE PRESENTAN
MUTACIONES EN EL GEN *TP63*

DRA. ROSAURA ROSAS VARGAS
DIRECTORA DE ENSEÑANZA

DR. MANUEL ENRIQUE FLORES LANDERO
JEFE DE DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO

DRA. VICTORIA DEL CASTILLO RUIZ
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE GENÉTICA MÉDICA
CO-TUTOR DE TESIS

DRA. EMI YOKOYAMA REBOLLAR
TUTOR DE TESIS

DEDICATORIA

A todas aquellas personas que contribuyeron a mi formación como ser humano y como médico.

AGRADECIMIENTOS:

El presente trabajo forma parte del protocolo No. 102-2012 titulado “MUTACIONES DEL GEN *TP63* EN PACIENTES MEXICANOS CON DISPLASIA ECTODÉRMICA Y HENDIDURAS LABIOPALATINAS”.

La realización del mismo se llevó a cabo bajo la tutoría de la Dra. Emiy Yokoyama Rebollar, médico adscrito al Departamento de Genética Humana del INP a cargo de la Dra. Victoria del Castillo Ruiz, jefa del Departamento y Co-tutor de esta tesis. Parte del análisis clínico también fue apoyada por la Dra. Carola Durán McKinster jefa del servicio de Dermatología del INP.

Cabe mencionar que gran parte del trabajo de laboratorio se realizó con el apoyo de la Dra. Sara Frías Vázquez, Leda Torres Maldonado y Rehotvebely Barrientos Ríos del Laboratorio de Citogenética del Departamento de Genética Humana del INP, así como personal del Departamento de Genética del Instituto de Oftalmología Fundación Conde de Valenciana con el apoyo del Dr. Juan Carlos Zenteno Ruiz, Beatriz Buentello Volante y Vanessa Ruiz.

ÍNDICE

- I. Resumen
- II. Introducción
- III. Marco teórico
- IV. Justificación
- V. Planteamiento del problema
- VI. Pregunta de Investigación
- VII. Objetivos
 1. Objetivo general
 2. Objetivos particulares
- VIII. Metodología
 1. Tipo de estudio
 2. Población de estudio
 - a. Población objetivo
 - b. Población elegible
 3. Criterios de inclusión
 4. Criterios de exclusión
 5. Procedimiento
- IX. Resultados
 1. Análisis de resultados
- X. Discusión
- XI. Conclusiones
- XII. Bibliografía

RESUMEN

Las displasias ectodérmicas son un grupo heterogéneo de trastornos hereditarios cuya incidencia es de 7/10,000 recién nacidos vivos. Son muy heterogéneas por lo que se pueden presentar con todos los modelos de herencia mendeliana. Estas entidades son causadas por un desarrollo anormal de estructuras derivadas del ectodermo la mayoría se asocian también a anomalías del mesodermo. Las manifestaciones clínicas características funcionales y estructurales se presentan en dientes, cabellos, uñas, glándulas sudoríparas y otras glándulas écrinas, aunque también se pueden manifestar anomalías a nivel de la glándula mamaria, tiroides, médula adrenal, pituitaria anterior, sistema nervioso central, oído externo, córnea, conjuntiva y ducto lacrimal.

Las displasias ectodérmicas tienen características comunes, pero se destacan algunos síndromes por poseer signos clínicos específicos. Actualmente se conocen 200 entidades diferentes y se ha identificado el gen causal en 30 de éstas. El diagnóstico se realiza por clínica y aunque el estudio molecular se encuentra disponible en algunos países de forma rutinaria pero no en México, éste permite tener acceso a estudios prenatales y elimina la necesidad de realizar estudios invasivos como biopsia de piel.

A nivel molecular se ha encontrado alteración en reguladores de la transcripción, dentro de los cuales está el gen *TP63*, el cual a su vez, se ha determinado como causante de displasia ectodérmica asociado con hendiduras labio-palatinas. De modo independiente es frecuente observar hendiduras labio-palatinas (LPH) y displasias ectodérmicas (DE) pero si ambas se observan juntas, debe descartarse mutaciones en este gen. Por este motivo, se decidió realizar la búsqueda de mutaciones en el gen *TP63* en 5 pacientes con DE y LPH mediante la técnica de secuenciación. En dos de los 5 pacientes encontramos mutaciones nuevas no descritas previamente, lo cual nos permitió definir la causa etiológica de la enfermedad y brindar asesoramiento de certeza, además de aportar información adicional sobre la variabilidad de nuestra población.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son las mutaciones más frecuentes en pacientes mexicanos con displasia ectodérmica y hendiduras labio-palatinas en el gen *TP63*?

MARCO TEÓRICO

1. DISPLASIAS ECTODÉRMICAS

Las displasias ectodérmicas (DE) son un grupo heterogéneo de trastornos hereditarios caracterizadas por compartir anomalías estructurales y funcionales en varios tejidos derivados del ectodermo, incluyendo alteraciones en los dientes, cabello y uñas, glándulas sudoríparas y otras glándulas écrinas (Figura 1). Otras estructuras que derivan del ectodermo embrionario y que también puede estar afectadas son: glándula mamaria, glándula tiroides, médula adrenal, pituitaria anterior, sistema nervioso central, oído externo, córnea, conjuntiva, glándula y ducto lacrimal. La mayoría de estas enfermedades se asocian también con un desarrollo anormal de estructuras derivadas del mesodermo y, ocasionalmente, discapacidad intelectual.¹

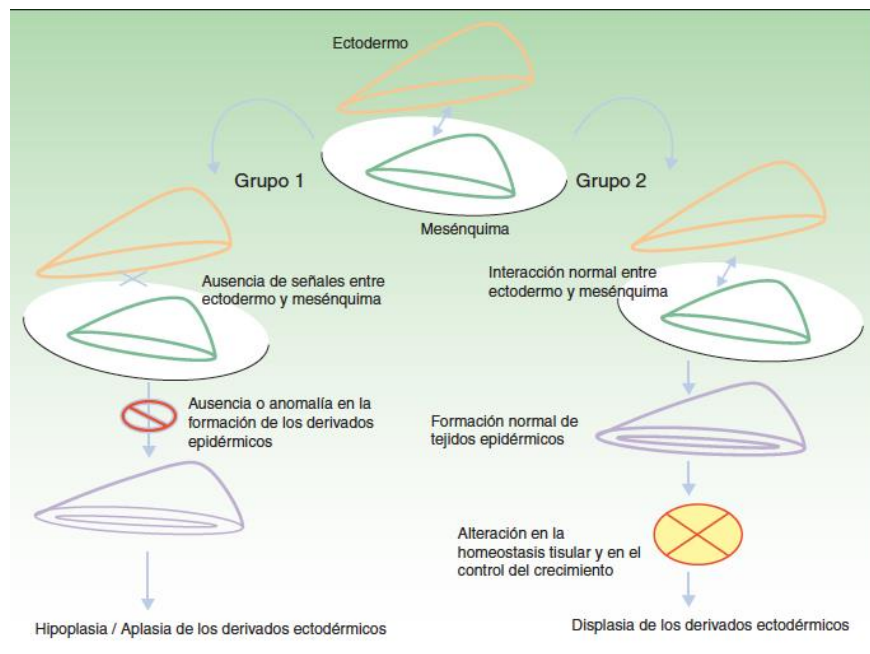


Figura 1. Interacción del ectodermo en el desarrollo embrionario.

El defecto congénito a nivel de los dientes, las uñas, el cabello, o las glándulas sudoríparas se puede manifestar de forma aislada, es decir, como un trastorno del desarrollo que afecta solo un área, o asociarse con otras malformaciones, y no necesariamente formar parte de un síndrome de displasia ectodérmica. Para considerar un síndrome de displasia ectodérmica, deben estar involucrados al menos 2 o más estructuras.²

Las DE son consideradas como enfermedades raras, con una incidencia estimada que varía de 7/10,000¹ a 1/100,000³ nacimientos. Son tan heterogéneas que pueden seguir cualquiera de los modelos posibles de herencia mendeliana, y aunque las características clínicas son comunes en muchas de ellas, algunos síndromes poseen datos específicos. Actualmente se conocen unas 200 entidades diferentes, de las cuales se ha identificado el gen causal en aproximadamente 30.³

Existen varias clasificaciones, como la de Freire-Maia y Pinheiro en 1984, donde propone un esquema que se basa en las características y defectos asociados. En la más reciente, el grupo A presenta 11 subgrupos divididos con base en las diferentes combinaciones de las principales estructuras ectodérmicas (cabello, dientes y uñas o glándulas sudoríparas), pero sin abordar la patogénesis y la genética de cada una de las entidades que los integran y en el grupo B se encuentran entidades con involucro de una sola de las cuatro estructuras ectodérmicas principales, aunado a la presencia de otra estructura ectodérmica secundaria como los oídos, labios, palmas, o plantas. Actualmente con los avances de la biología molecular, se ha logrado reclasificar a las DE incluyendo categorías de defectos de señalización NF- κ B, factores de transcripción, proteínas de unión, moléculas estructurales y moléculas de adhesión celular (Tabla 1).^{2,4}

Tabla 1. Clasificación de displasias ectodérmicas del grupo A [N=186, casos únicos =26]

DISPLASIA ECTODÉRMICA (DE)		REFERENCIA OMIM	HERENCIA
Subgrupo cabello-dientes-uñas-glándulas sudoríparas. N=42, casos únicos=4			
1	Defecto del campo acrorrenal, DE y diabetes lipoatrófica [AREDYLD]	207780	AR
2	Síndrome de alopecia-contracturas-enanismo-retraso mental	203550	AR
3	Síndrome de anquilobléfaron-defectos ectodérmicos-labio/paladar hendido [AEC; Síndrome de Hay-Wells]	106260	AD
4	Anoniquia con pigmentación en áreas de flexión	106750	AD
5	Artrogriposis y DE	601701	AR
6	Síndrome de Caarena	Freire-Maia y Pinheiro, 1984	AD?; XD?
7	Síndrome de Carey [caso único]	Freire-Maia y Pinheiro, 1984	¿?
8	Síndrome de DE-labio/paladar hendido [CLPED1; síndrome de Zlotogora-Ogur; síndrome de la isla Margarita]	225060	AR
9	Síndrome de caries-queratoderma acral-cabello rizado	Van Steensel et al., 2001	AD
10	Disqueratosis congénita, AD [Disqueratosis congénita tipo Scoggins]	127550	AD
11	Disqueratosis congénita, AR	224230	AR
12	Disqueratosis congénita, Ligada al X [síndrome Zinsser-Cole-Engman]	305000	XR
13	Síndrome de ectrodactilia, DE y labio/paladar hendido [EEC1]	129900	AD
14	Síndrome de ectrodactilia, DE y labio/paladar hendido 3 [EEC3]	604292	AD
15	DE hipohidrótica con acantosis nigricans [síndrome de Lelis]	608290	¿?
16	DE con alopecia, oncodisplasia, hipohidrosis, queratoderma, dientes anormales y sordera [caso único]	Akhyani y Kiavash, 2007	AR?
17	DE con alteraciones cardíacas y esqueléticas [caso único]	Lipson, 1988	¿?
18	DE con retraso mental y sindactilia [caso único]	600906	AR?
19	DE con dientes neonatales, tipo Turnpenny	601345	AD
20	DE tipo Caratinga	Montebelo et al., 1996	AD?; XD?
21	DE hipohidrótica con hipotiroidismo y agenesia de cuerpo calloso	225040	AD?; AR?; XD?
22	Hipoplasia dérmica focal [FDH]	305600	XD
23	DE hipohidrótica, autosómica dominante [ADHED]	129490	AD
24	DE hipohidrótica, autosómica recesivo [ADHER]	224900	AR
25	DE hipohidrótica, ligado-X [XLHED; síndrome Christ-Siemens-Touraine; síndrome CST]	305100	XR
26	DE hipohidrótica con inmunodeficiencia	300291	XD
27	DE hipohidrótica con inmunodeficiencia, osteopetrosis y linfedema [síndrome OLEDAID]	300301	XD
28	Hipomelanosis de Ito [HMI; Incontinencia pigmenti tipo I: IP1]	300337	XD
29	Síndrome de queratitis-ictiosis-sordera, autosómico dominante [síndrome de KID, AD]	148210	AD
30	Síndrome de queratitis-ictiosis-sordera, autosómico recesivo	242150	AR

	[síndrome de KID, AR]		
31	Síndrome Naegeli-Franceschetti-Jadassohn [NFJS]	161000	AD
32	Displasia odontooncodérmico [OODD]	257980	AR
33	Síndrome Odontotricomélico	273400	AR
34	Paquioniquia congénita tipo 1 [PC1]	167200	AD
35	Paquioniquia congénita tipo 2 [PC2]	167210	AD
36	Síndrome Papillon-Lefèvre	245000	AR
37	Síndrome de Rapp-Hodgkin	129400	AD
38	Síndrome Rosselli-Gulienetti	225000	AR
39	Síndrome cuero cabelludo-oreja-pezones [síndrome Finlay-Marks; DE con quiste adrenal]	181270;129550	AD
40	Trico-odonto-onicodisplasia con pili torti	Freire-Maia y Pinheiro, 1984	AD?; XD?
41	Displasia trico-onico-dental [TOD]	Koshiba et al., 1978	AD
42	Defectos trico-onico-dental [XTE]	Moynahan, 1970	AR
Subgrupo cabello-dientes-uñas. N=43, casos único=10.			
43	Síndrome de Ackerman	200970	AR
44	Síndrome ADULT	103285	AD
45	Artrogriposis, DE, labio/paladar hendido y retraso del desarrollo	301815	XR
46	Síndrome cardiofaciocutáneo [CFC]	115150	AD
47	Síndrome de Clouston	129500	AD
48	Síndrome Coffin-Siris	135900	AD?; AR?; XD?
49	Síndrome de Costello	218040	AR
50	Displasia craneoectodérmico [Síndrome Sensebrenner]	218330	AR
51	Dermoodontodisplasia	125640	AD
52	Dolicocefalia, defectos dentales, tricodisplasia	Freire-Maia y Pinheiro, 1984	AD
53	Defectos ectodérmico con alteraciones esqueléticos [caso único]	Wallace, 1958	¿?
54	Síndrome DE con facies característica y polidactilia preaxial de pies [caso único]	129540	AD?
55	DE con anomalías pilosas y sindactilia	Wiedemann et al., 1980	AR
56	DE con deficiencia tetramélicas [caso único]	Freire-Maia y Pinheiro, 1984	¿?
57	DE, labio/paladar hendido, sindactilia ósea y cutánea grave y retraso mental [caso único]	Freihofer et al., 1997	¿?
58	DE tipo tricoodontooniqueal	129510	AD
59	Síndrome de Ellis-van Creveld [EVC]	225500	AR
60	Síndrome de GOMBO	233270	AR
61	Retraso del crecimiento, alopecia, pseudoanodoncia y atrofia óptica [síndrome de GAPO]	230740	AR
62	DE hidrótica autosómica recesiva [síndrome de dientes y uñas de Fried]	602401	AR
63	Hipoplasia de uñas, malformaciones de manos y pies, cabello rizado, microdoncia, crisis convulsivas [caso único]	Cortés y Lacassie, 1986	¿?
64	Hipotricosis con pili bifurcati	Beemer et al., 1987	AR?
65	Incontinencia pigmenti [IP2]	308300	XD
66	Enanismo mesomélico-alteraciones esqueléticas-DE [caso	Brunoni, 1984	¿?

	único]		
67	Oculotricodisplasia [OTD]	257960	AR
68	Odonto-onicodisplasia-alopecia	Pinheiro y Freire-Maia, 1981	AR
69	Síndrome odontotricoungueal-digital-palmar	601957	AD?; XD?
70	Osteoesclerosis y DE [caso único]	Côté y Katsantoni, 1982	AR
71	Displasia pilo-dento-ungular con microcefalia [caso único]	Tajara et al., 1987	AR
72	Hiperplasia pineal, diabetes mellitus insulino-resistente y alteraciones somáticas	262190	AR
73	Síndrome de Rothmund-Thomson	268400	AR
74	Síndrome de Salamon-Milicevic [caso único]	Salamon y Milicevic, 1964	AR
75	Síndrome Schinzel-Giedion retraccion-mediofacial	269150	AD?; AR?
76	Síndrome Schöpf-Schulz-Passarge	224750	AR
77	Síndrome de Sener	606156	¿?
78	Pulgar deforme y alopecia	188150	AD
79	Síndrome tricodentoseo [TDO]	190320	AD
80	Defectos trico-dermodisplasia-dental	Pinheiro et al., 1986	AD?; XD?
81	Displasia tricodontooniqueal	275450	AR?
82	Síndrome trico-odonto-oniqueal-dérmico [caso único]	Pinheiro et al., 1981	¿?
83	Síndrome tricorinofalángico tipo I [TRPS1]	190350	AD
84	Tricotiodistrofia fotosensible [TTDP]	601675	AR
85	Síndrome Witkop	189500	AD
Subgrupo cabello-dientes-glándulas sudoríparas. N=10, casos únicos=2.			
86	Síndrome de Böök	112300	AD
87	Labio/paladar hendido, DE, alteraciones acrales	Richieri-Costa et al., 1992	AR
88	DE hipohidráulica con sudoración focal	Gorlin, 1988	AR?; XR?
89	Síndrome de ictiosis folicularis, atriquia y fotofobia [IFAP]	308205	XR
90	Síndrome neuroectodérmico de Johnson	147770	AD
91	Displasia de Lenz-Pasarge	Lenz, 1963	XD
92	Leucomelanoderma, infantilismo, retraso mental, hipodoncia, hipotricosis	246500	AR
93	DE regional con paladar hendido bilateral [caso único]	Fára, 1971	¿?
94	Síndrome cúbito-glándula mamaria [UMS]	181450	AD
95	DE Wesser-Vistnes con parálisis de paladar [caso único]	Wesser y Wistnes, 1969	¿?
Subgrupo cabello-uñas-glándulas sudoríparas. N=8, casos únicos=4			
96	Alopecia-onicodisplasia-hipohidrosis-sordera [caso único]	Freire-Maia et al., 1977	¿?
97	Alopecia-atrofia de piel-anoniquia-defectos de lengua	Sequeiros y Sack, 1985	¿?
98	DE con alteraciones oculares y digitales [caso único]	Viljoen y Winship, 1988	¿?
99	DE con retraso mental grave [caso único]	Kirman, 1955	¿?
100	DE hipohidráulica con hipotiroidismo y disquinesia ciliar	225050	AR
101	Síndrome de DE/fragilidad de piel	604536	AR
102	Síndrome de Fische-Volavsek	Fischer, 1921	AD

103	Tricodisplasia-onicogriposis-hipohidrosis-catarata [caso único]	Freire-Maia et al., 1975	¿?
Subgrupo dientes-uñas-glándulas sudoríparas. N=2			
104	Síndrome ameloónico-hipohidrotica	104570	AD
105	Síndrome extremidades-glándula mamaria [LMS]	603543	AD
Subgrupo cabello-dientes. N=32, casos únicos=3			
106	Síndrome de Barber-Say	209885	AD?; AR?; XD?
107	Síndrome blefaroqueiloodontico	119580	AD
108	Braquimetapodia-anodoncia-hipotricosis-albinismo	211370	AR
109	Síndrome de catarata-hipertriosis, retraso mental [síndrome CAHMR]	211770	AR
110	Ataxia cerebelar y DE	212835	AR
111	Labio/paladar hendido-oligodoncia-sindactilia-defectos de cabello	Martínez et al., 1987	AD?; XD?
112	Atriquia congénita, hiperqueratosis palmoplantar, retraso mental y pérdida temprana de dientes	Steijlen et al., 1994	AR?
113	Displasia craneotubular con retraso del crecimiento postnatal grave, retraso mental y DE [caso único]	Nishimura et al., 1997	¿?
114	Artrogriposis distal, DE y cariomiopatía dilatada [caso único]	Parker et al., 1998	AR?
115	Síndrome de Dubowitz	233370	AR
116	DE y sordera neurosensorial	224800	AR
117	DE Cape Verde	Werninghaus, 1993	AR
118	DE, ectrodactilia, distrofia macular [síndrome EEM]	225280	AR
119	Fibromatosis gingival con hipertriosis	135400	AD
120	Fibromatosis gingival-cabello escaso-malposición dental [caso único]	Jorgenson, 1971	AR
121	Síndrome Gorlin-Chaundhry-Moss	233500	AR
122	Síndrome de Hallermann-Streiff [HSS]	234100	AR
123	Hipertriosis universal	145700	AD
124	Síndrome de Johanson-Blizzard [JBS]	243800	AR
125	Retraso mental, hipotricosis y sindactilia	López y Marzque-de-Faria, 1996	AR?
126	Displasia oculodento ósea recesiva	257850	AR
127	Displasia oculodento digital [ODDD]	164200	AD
128	Síndrome orofaciadigital I [OFD1]	311200	XD
129	Pili torti	261900	AR
130	Displasia pilodental con errores de refractivos	262020	AR
131	Talla baja progeroide con nevo pigmentado [síndrome Mulvihill-Smith]	176690	AD
132	Ceguera Rodríguez [microftalmia, microcórnea y esclerocórnea con talla baja y alteraciones de cabello y dentales]	268320	AR
133	Displasia tricodental	601453	AD
134	Tricodisplasia y amelogénesis imperfecta	Angelos y Jorgenson, 1993	AD?; XD?
135	Alteraciones de cabello, distrofia pigmentaria de retina, alteraciones dentales y braquidactilia	191482	AD
136	Síndrome Walbaum-Dehaene-Schlemmer	Walbaum et al., 1971	AR
137	Síndrome neuroectodérmico de Zurich	280000	AR

Subgrupo de cabello-uñas. N=26, casos únicos=2			
138	Alopecia congénita con queratosis palmoplantar	104100	AD
139	Alopecia, distrofia de uñas, hiperqueratosis palmoplantar, queratitis, dificultado en audición y micrognatia [caso único]	Nakamura e Ishikawa, 2007	¿?
140	Anoniquia-onicodistrofia con hipoplasia o ausencia de falanges distales [síndrome de Cooks]	106995	AD
141	Enfermedad neurodegenerativa autosómica recesiva con tricornexis invaginata y DE	Gyure et al., 1992	AR?
142	Hipoplasia de cartílago-cabello [CHH]	250250	AR
143	Síndrome de cabello rizado-anquilobléfaron-displasia ungueal [CHANDS]	214350	AR
144	DE hidrótica tipo Christianson-Fourie	601375	AD
145	DE con alteraciones de piel y retraso mental	Halal et al., 1991	AR
146	DE tipo cabello-uñas "pura"	602032	AD?
147	Displasia cabello-uñas	Pinherio Freire-Maia, 1992	AD
148	Codos cabelludos [hipertrichosis cubiti]	139600	AD
149	Hipotricosis y displasia de uñas con DE hidrótica [caso único]	Harrinson y Sinclair, 2004	¿?
150	Ictiosis e hipogonadismo masculino	308200	XR?
151	Ictiosis con alopecia, eclabion, ectropión y retraso mental	242510	AR
152	Síndrome de linfedema-hipoparatiroidismo	247410	AR?; XR?
153	Moniletrix	158000	AD
154	Onicotricodisplasia y neutropenia	258360	AR
155	Pili torti y onicodisplasia	Beare, 1952	AD
156	Pili torti, alopecia y onicodisplasia	Calzavara-Pinton et al., 1991	AR
157	Poliposis, pigmentación en piel, alopecia y cambios de uñas de los dedos	175500	¿?
158	Síndrome de pterigium poplíteo tipo letal	263650	AR
159	Síndrome de maduración esquelética acelerada, falla del crecimiento y facies peculiar [síndrome de Marshall II]	Marshall et al., 1971	AR?; XR?
160	Inmunodeficiencia de células T, alopecia congénita y distrofia ungueal	601705	AR?
161	Tricomegalia con retraso mental, enanismo y degeneración pigmentaria de retina	275400	AR
162	Trico-onicodisplasia-xeroderma	Freire-Maia et al., 1985	AR
163	Tricotodistrofia no-fotosensible 1 [TTDN1]	234050	AR
Subgrupo cabello-glándulas sudoríparas. N=5, casos únicos=1			
164	Piel seca y areolas supernumerarias	Freire-Maia y Chautard-Freire-Maia, 1990	AD
165	Displasia dérmica facial focal [DE facial]	136500; 227260	AD
166	Talla baja-insuficiencia renal-alteración oftalmológica-retraso del crecimiento-DE [SKORED]	Greenstein et al., 1985	AR?; XR?
167	Tetra-melia con DE y alteraciones de conducto lagrimal [caso único]	273390	AR
168	Síndrome trico-facio-hipohidrótico	Antley et al., 1976	AR?; XR?

Subgrupo dientes-uñas. N=13			
169	Síndrome conreodermatooseo [síndrome CDO]	122440	AD
170	Sordera congénita y oncodistrofia autosómica dominante	124480	AD
171	Síndrome de sordera, oncodistrofia, osteodistrofia y retraso mental [síndrome DOOR]	220500	AR?; AD?
172	Dermatoostolisis tipo Kirghizian	221810	AR
173	Síndrome Haim-Munk [HMS]	245010	AR
174	Pérdida de la audición neurosensorial con hipoplasia de esmalte y defecto ungueal [síndrome de Heimler]	234580	AR
175	Síndrome lacrimoauriculodentodigital [LADD]	149730	AD
176	Displasia odontomicroniquial	601319	AR
177	Displasia odonto-ungueal	Pinheiro y Freire-Maia, 1996	AD
178	Síndrome otopalatodigital tipo I [OPD1]	311300	XD
179	Picnodisostosis	265800	AR
180	Disostosis acrofacial de Weyers	193530	AD
181	Síndrome Williams-Beuren [WBS]	194050	AD
Subgrupo dientes-glándulas sudoríparas. N=3			
182	DE hipohidrótica con midriasis, atrofia de iris y retraso mental	Beyer et al., 1979	AD?
183	Síndrome Kohlschutter-Tonz [epilepsia, demencia y amelogénesis imperfecta]	226750	AR?; XR?
184	Síndrome de Marshall I	154780	AD
Subgrupo uñas-glándulas sudoríparas. N=2			
185	DE, ausencia de dermatoglifos, cambios de uñas y pliegues palmares únicos	129200	AD
186	Panoniqia congénita recesiva	260130	AR

AD, autosómico dominante; AR, autosómico recesivo; XD, ligado al X dominante; XR, ligado al X recesivo. Tomado de: Visinoni _AF, et al. 2009. Ectodermal dysplasias: Clinical and molecular review. Am J Med Genet Part A 149A:1980–2002.

Otra forma más sencilla de clasificarlas es aquella que las divide en 2 grandes grupos: hipohidrótica e hidrótica. La displasia ectodérmica hipohidrótica se caracteriza por ausencia parcial de glándulas sudoríparas écrinas lo cual resulta en la reducción del sudor, presentándose clínicamente como hiperpirexia e intolerancia al calor y la hidrótica también llamada síndrome de Clouston con patrón de herencia autosómico dominante y se produce por mutación del gen *GJB6* que codifica para la proteína conexina 30 esta entidad presenta la triada clínica de alopecia parcial o total, queratodermia y distrofia ungueal sin afectación de glándulas sudoríparas.²

El diagnóstico de las DE se realiza por clínica, aunque el estudio molecular está disponible en algunos países de primer mundo, lo que permite realizar estudios

prenatales, e incluso, elimina la necesidad de realizar biopsia de piel para confirmar el diagnóstico.¹

La mayoría de las DE tienen una etiología genética con un patrón de herencia mendeliana determinada. La más común es la DE hipohidrótica, la cual se hereda con un patrón de herencia recesivo ligado al X en un 90% de las familias. Estos casos ligados al cromosoma X pueden asociarse a inmunodeficiencias, por lo que es frecuente que los pacientes presente además datos de infecciones recurrentes (Tabla 2).⁵⁻⁸

Tabla 2. Alteraciones en la vía de señalización que modulan actividad NF- κ B

VÍA	GEN	LOCUS	PROTEÍNA	ENFERMEDAD	OMIM	HERENCIA
Ectodisplasia EDAR-EDARRADO	ED-1 EDAR	Xq12-q13 2q13	Ectodisplasia EDAR	Displasia ectodérmica anhidrótica	305100 129490	LX AD AR AR
	EDARRADO	1q42.2-q43	Dominio de muerte asociado a EDAR		224900	
NEMO	NEMO/IKK γ	Xq28	NF- κ B	Incontinencia pigmenti	308300	LX
	IKB α	14q13	IKB α	Displasia ectodérmica anhidrótica con inmunodeficiencia y/o osteopetrosis	300291	LX
				Displasia ectodérmica anhidrótica con inmunodeficiencia	164008	AD

En algunos casos de DE sindrómica (tabla 3), se ha observado que las manifestaciones clínicas se superponen entre sí, por lo que se ha propuesto la posibilidad de que sean entidades alélicas; como el grupo de DE que se asocian con hendiduras faciales dentro de los cuales se encuentre el síndrome de EEC (ectrodactilia, displasia ectodérmica y paladar hendido), síndrome de Hay-Wells o AEC (displasia ectodérmica con paladar hendido y anquibléfaron), síndrome de extremidad y mama, síndrome de ADULT (acro-dermato-ungueal-lagrimal-dental), síndrome de Rapp Hodgkin, así como mano-pie hendidos, en las que se ha demostrado heterogeneidad alélica por mutaciones en el gen *TP63*. Ahora se sabe

que las diferencias fenotípicas de estas, podrían estar en relación con el dominio a nivel de la proteína que se afecta por la mutación.²

Tabla 3. Síndromes de displasia ectodérmica y hendiduras labio-palatina.

CARACTERÍSTICA	EEC	AEC	RAPP-HODGKIN	LIMB-MAMMARY	ADULT
Extremidades					
Ectrodactilia	68	0	0	71	60
Sindactilia	43	25	30	43	60
Tegumentos					
Erosión en piel	34	81	40	14	93
Cabello ralo	66	94	100	14	53
Distrofia ungueal	52	81	60	46	100
Manifestaciones orales					
Labio hendido	39	44	30	3	0
Paladar hendido	40	81	70	31	0
Hipodoncia/anodoncia	53	81	90	29	100
Otras					
Anquiobléfaron	1	44	10	0	0
Atresia lagrimal	57	50	80	59	67
Hipoplasia de glándula mamaria	14	13	10	100	80
Disgenesia renal o de ureteros	15	38	20	0	0

2. PALADAR HENDIDO (PH)/LABIO CON O SIN PALADAR HENDIDO (LPH)

Es un defecto congénito con una incidencia de 1/700 LPH y 1/2500 PH con un patrón de herencia predominantemente multifactorial. Así mismo se pueden clasificar en sindrómicos y no sindrómicos dependiendo si se asocian o no con otras entidades. Siendo más frecuente la asociación de PH a síndromes (50%) en comparación con LPH (30%).⁹

La mayoría de los casos de LPH no sindrómicos son unilaterales (80-85%) siendo más frecuente en hombres que en mujeres y con predominio del lado izquierdo, mostrando una relación 2:1. Los factores causales se pueden clasificar en genéticos y ambientales. Dentro de los factores ambientales que afectan seriamente el desarrollo del feto se encuentran: edad materna, consumo de medicamentos como antiepilépticos y corticosteroides, uno de los factores de riesgo que se han estudiado es el tabaquismo materno durante el embarazo, encontrándose en 13 revisiones como factor positivo y con significancia estadística

(OR global de 1.28, IC 95% 1.20-1.36, valor de $p < 0.00001$). También se ha visto que mutaciones en los genes *GSTT1* (glutación S-transferasa theta) o *NOS3* (óxido nítrico sintasa 3) parecen tener influencia de riesgo para este tipo de malformaciones en presencia de tabaquismo materno. El consumo de alcohol durante el embarazo también se ha sugerido como factor de riesgo, sin embargo la evidencia es menos consistente y el ácido fólico ha mostrado prevenir ocurrencia y recurrencia de defectos de tubo neural, pero los hallazgos de su efecto en otras malformaciones congénitas, incluyendo LPH, es menor. Se sugieren algunas enfermedades y condiciones maternas que pueden tener relación con esta entidad como la obesidad, la diabetes materna, dieta baja en ácido fólico.

En cuanto a los factores genéticos se incluyen además de mutaciones génicas algunos polimorfismos que predisponen a esta entidad. Se consideran más de 450 síndromes asociados a esta entidad de diversas etiologías genéticas.^{10,11}

3. FISIOPATOLOGÍA

GEN *TP63*

El gen *TP63* codifica un factor de transcripción homólogo a p53 que es traducido en 6 isoformas proteicas.(Vid infra) Las que más se asemeja a p53 son las que tienen el dominio de transactivación, mientras que las isoformas delta pierden este dominio, sin embargo, ambas isoformas tienen funciones como activadores transcripcionales. La proteína TP63 tiene un dominio SAM que no tiene p53, el cual es relevante para la interacción proteína-proteína TP63 y es ampliamente conservado entre diversos organismos (Figura 2).^{12,13}

El gen *TP63* es transcrito en células madre basales del epitelio estratificado, por células mioepiteliales de la mama y de las glándulas salivales, así como también por el compartimiento proliferativo de la mucosa gástrica. Su proteína tiene un rol principal en el control de las células madre epiteliales, en la diferenciación y estratificación de los derivados ectodérmicos durante el desarrollo embriológico.¹³

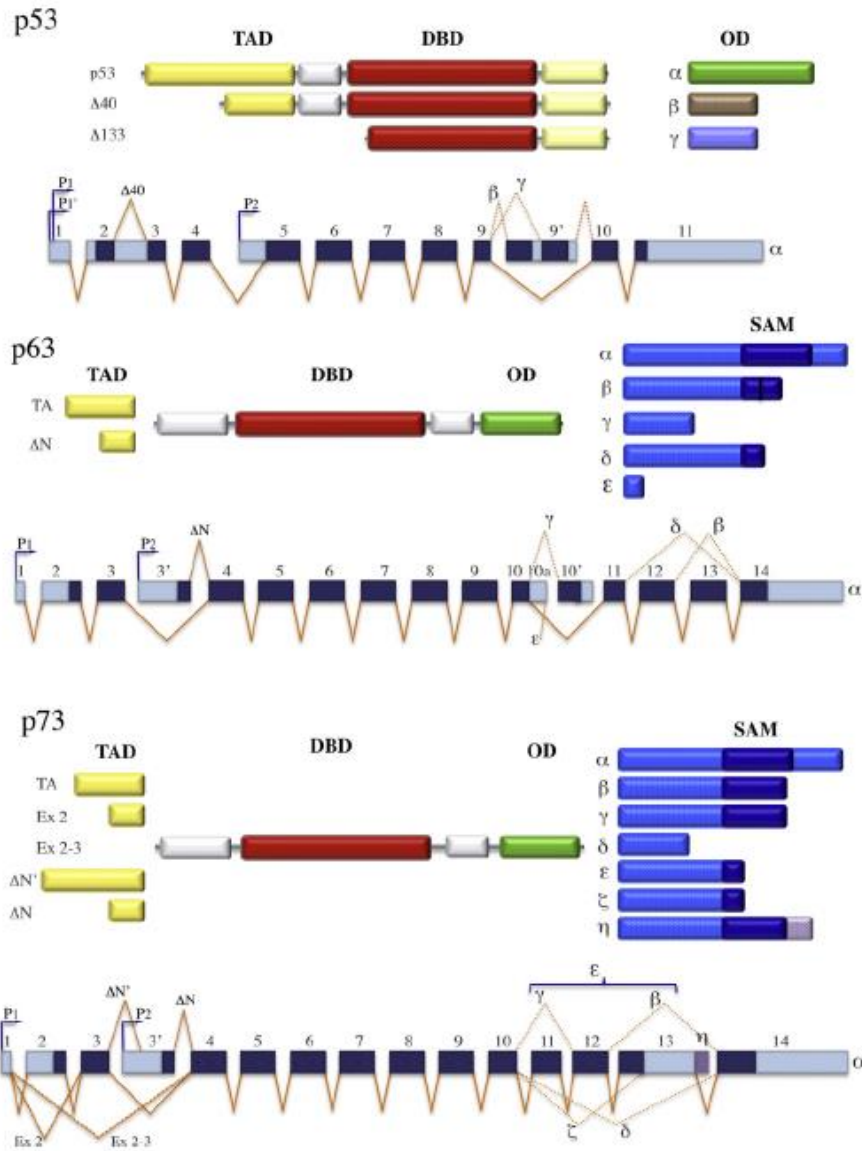


Figura 2. Isoformas de las proteínas codificadas por los genes de la familia de p53

El gen *TP63* tiene su locus en 3q27. Es un factor de transcripción que juega un papel importante en el desarrollo de apéndices epiteliales. Los 6 diferentes transcritos se pueden generar por promotores y splicing alternativos. Los dominios proteicos incluyen: dominio de transactivación proteica, dominio central de ligamiento al DNA, un dominio carboxilo de oligomerización, un motivo alfa estéril (SAM) y un dominio de transactivación inhibitorio (TID). La proteína TP63 se

encuentra localizada en el núcleo de las células basales en el epitelio estratificado, incluyendo, piel mucosa oral, epitelio cervical y vaginal, urotelio y mama.^{13,14}

TP63 tiene un papel principal en la división y diferenciación de las células madres epidérmicas y es un factor de transcripción de muchos otros factores importantes para desarrollo epidérmico y para la homeostasis, los cuales incluyen: P-caderina, el regulador del desarrollo del cabello, la proteína morfogénica de hueso, el factor de crecimiento fibroblástico y el factor transformador de crecimiento B, entre otros (Figura 3).¹⁴

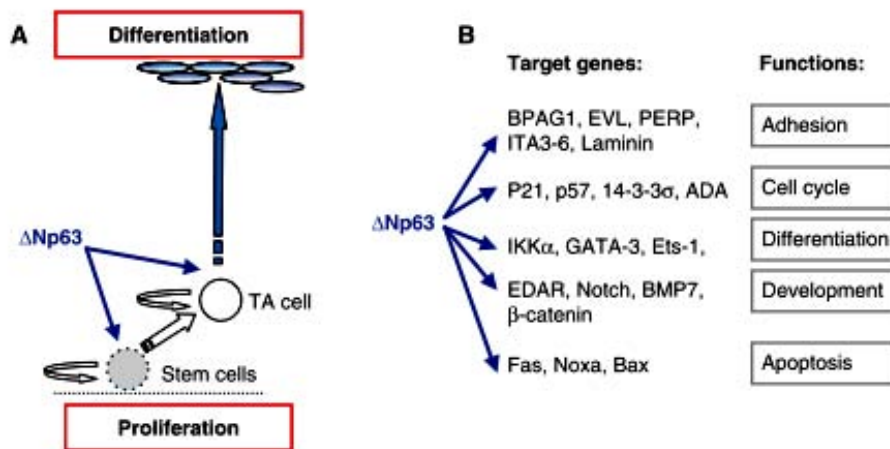


Figura 3. Rol del gen *TP63* como factor de transcripción.

La isoforma delta *TP63* es requerida para realizar la diferenciación de los progenitores de los queratinocitos, con la subsecuente degradación de esta mediada vía proteosómica por blancos transcripcionales de esta misma isoforma además de la expresión de un microRNA específico de *TP63* (miR203), induciendo así, una regulación negativa de *TP63* durante la fase terminal.¹⁵

TP63 también regula la transcripción vía elementos de respuesta utilizados por *p53*, y puede controlar diversas rutas transcripcionales dependiendo del estado de maduración del precursor del queratinocito, lo cual es también dependiente de una variedad de estímulos extracelulares, en la proliferación de las capas basales

de queratinocitos y modulador de la formación de moléculas que intervienen en la barrera epidérmica como ALOX12 e inhibidor de la proliferación, produciendo así activación de los genes que participan en el arresto del ciclo celular compitiendo con p53 por el uso de los mismos elementos respuesta. Seguido de un estímulo de diferenciación, puede activar genes como *IKKalfa* e *IRF6* para salir del ciclo celular y reorganizar la transcripción de moléculas de adhesión que inducen a los queratinocitos a estratificarse, por lo que diferencias en la expresión temporal, o en la combinación de isoformas, así como en las propiedades bioquímicas y en la actividad transcripcional pueden tener un profundo impacto en el complejo de genes a ser transcritos, por lo que *TP63* tiene distintos roles de tiempo y región específica.¹⁶

Hay un amplio espectro de enfermedades hereditarias asociadas con mutaciones en *TP63* cuya característica en común es la presentación de displasia ectodérmica, un grupo fenotípico que comprende una maduración y estratificación anormal de la piel con desarrollo anormal de cabello, dientes, uñas, glándulas écrinas y córnea, otras 2 consistentes características asociadas son la ectrodactilia y las hendiduras orofaciales.^{2,17}

El tallo alfa de la proteína TP63 contiene un sitio de sumoilación que regula la vida media de TP63. Lo que explica que las mutaciones en *TP63* expliquen solo una minoría de los pacientes con ectrodactilia aislada o no sindrómica (10%), o del labio /paladar hendido (0.1%). Mutaciones en los exones 13 y 14 afectan solo la isoforma alfa y se han encontrado asociadas a las 4 entidades (Figura 4).¹⁸

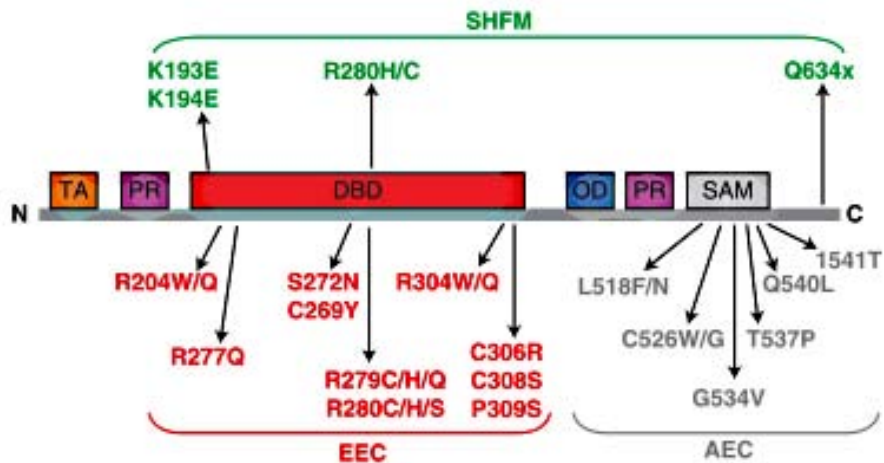


Figura 4. Mutaciones en el gen *TP63*, su ubicación en los dominios proteicos, y su correlación sindrómica

***TP63* Y SU RELACIÓN CON LPH**

La relación de las mutaciones en el gen *TP63* y la presencia de LPH claramente radica en la inhabilidad de activar o reprimir la expresión de los genes blanco siendo uno de estos genes blanco *IRF6*. El cual es un miembro de la familia de factores de transcripción dependientes de interferón que controla el cambio en la proliferación y diferenciación de las células epidérmicas siendo requerido para el cierre del paladar.¹³

La falta de estratificación del apéndice del ectodermo apical y una reducida expresión del factor FGF8 inducida por la mutación de *TP63* aunada a otras condiciones genéticas parece ser el común denominador durante el desarrollo de esta malformación (Figura 5).¹³

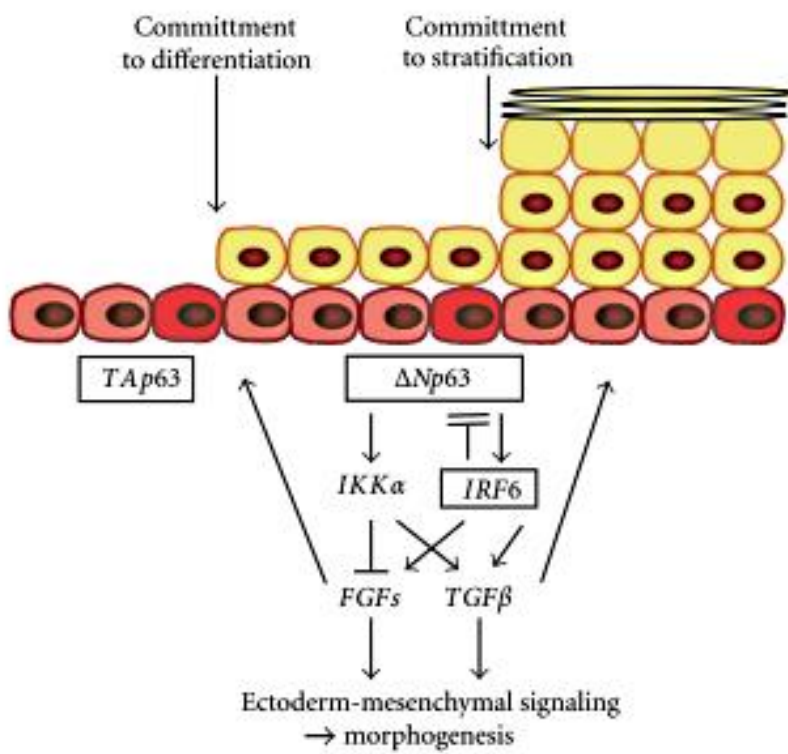
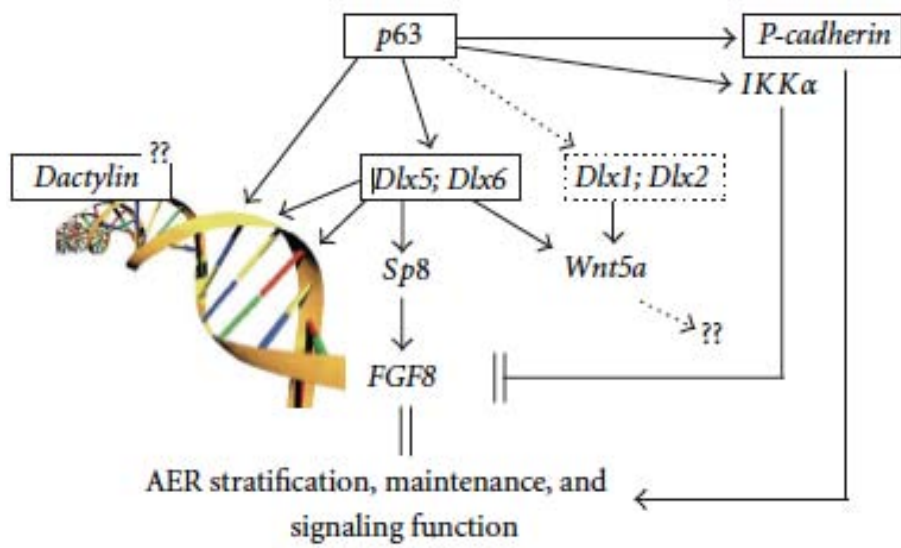


Figura 5. Vía de la estratificación del apéndice del ectodermo apical

EL GEN *TP63* Y SU RELACIÓN CON EL CÁNCER

En las células normales mamarias el gen *TP63* se expresa en el núcleo. En el 22% de los carcinomas de mama se encuentra una sobreexpresión de la isoforma Δ Tp63 esto ocurre en los menos diferenciados y más agresivos tumores, en especial en ciertos subtipos, triple negativos, ductales pobremente diferenciados (Figura 6). Esta isoforma funciona como un proto-oncogen y presenta una sobreexpresión en el 81-100% de los carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello. La sobreexpresión de esta isoforma se ha relacionado con la inhibición de la apoptosis. La otra principal isoforma TAp63 presenta un comportamiento de gen supresor tumoral, la cual se ha visto relacionada con carcinoma de células transicionales de vejiga y linfoma no Hodgkin. Se menciona también un rol de TP63 en la metástasis lo cual probablemente tenga que ver con la regulación de la adhesión celular. La isoforma Δ Tp63 se ha relacionado con resistencia al tratamiento con doxirrubicina, observándose un incremento a la respuesta a cisplatino lo cual se atribuye a que el cisplatino induce degradación mediada por proteosomas de la isoforma Δ Tp63 funcionando como una ligasa E.¹⁹

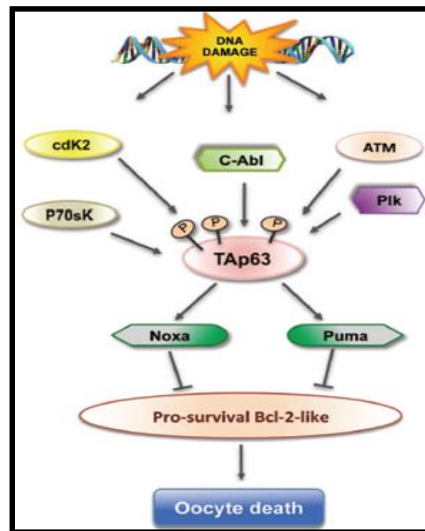


Figura 6. La isoforma TP63 con función de gen supresor tumoral

4. ENTIDADES SINDROMÁTICAS

EEC (ectrodactilia, displasia ectodérmica y paladar hendido)

El síndrome de EEC es el síndrome de displasia ectodérmica más frecuente asociado a mutaciones del gen *TP63*. Además de las alteraciones a nivel del cabello, dientes y piel, presentan paladar hendido y ectrodactilia, así como facies característica con hipoplasia maxilar, punta nasal ancha y filtrum corto, cabello fino, esparcido y pueden tener zonas de alopecia, cejas y pestañas escasas, las uñas pueden ser delgadas y quebradizas o tener hoyuelos, las anomalías dentales incluyen hipodoncia, dientes en forma cónica, anomalías en el esmalte que les predispone a caries, la piel puede ser delgada y seca, similar a un aspecto de dermatitis con susceptibilidad a eczema, la sudoración se encuentra respetada. Comúnmente tiene ambos paladar y labio hendido, así como ausencia o hipoplasia de la punta lacrimal, con blefaritis, queratitis o dacriocistitis. En las extremidades presentan ectrodactilia y sindactilia con variabilidad en la expresión (Figura 7a-e).^{20,21}

Existen reportes que describen defectos a nivel de sistema nervioso central, déficit de hormona del crecimiento (por insuficiencia hipotalámica-hipófisis), holoprosencefalia semilobar (con hipogonadismo hipogonadotrófico y diabetes insípida de origen central), así como atresia de coanas. Se han reportado de forma frecuente las anomalías genitourinarias entre las que se incluyen hidrouréter, hidronefrosis y agenesia renal, el retraso mental en esta entidad es raro y hay variabilidad inter e intrafamiliar. Se han reportado también casos de EEC sin labio/paladar hendido e incluso sin afección de las extremidades, ya que la ectrodactilia se presenta en el 84% de los pacientes y el paladar hendido sin involucro del labio solo en el 68%.^{21,22}

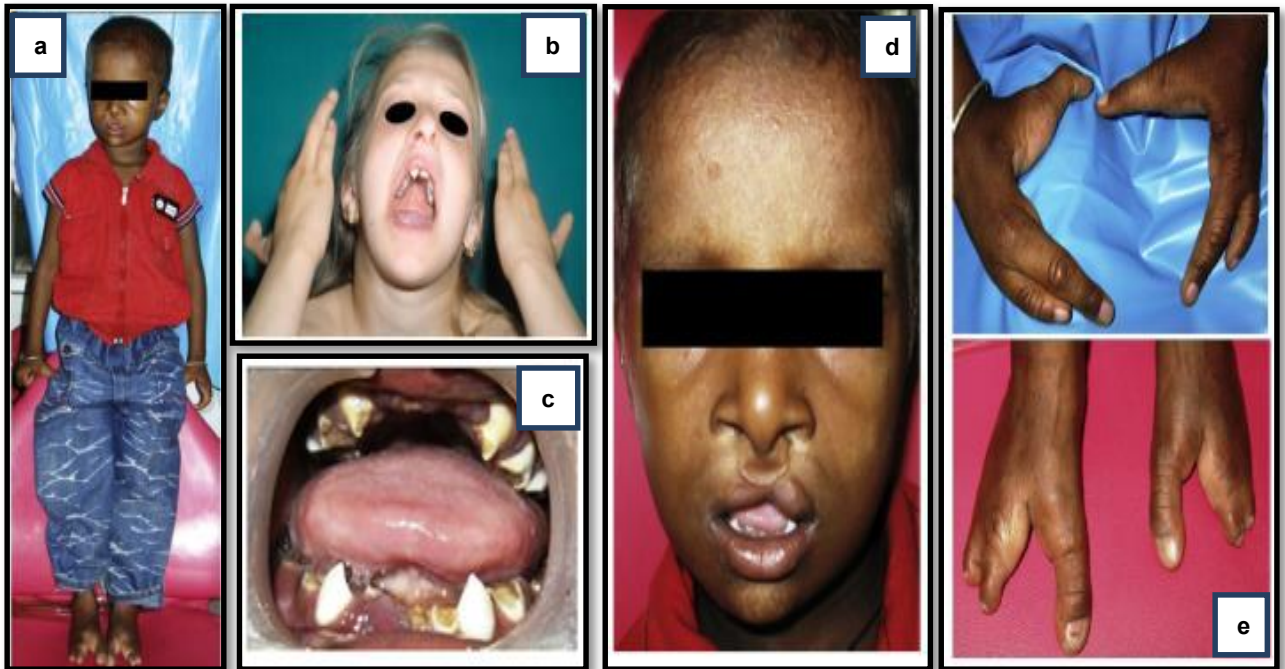


Figura 7a. mano hendida bilateral y pie hendido bilateral; 7b. oligodactilia y paladar hendido; 7c. oligodoncia y piezas dentarias con forma cónica; 7d. labio hendido; 2e. oligodactilia en manos y pies. Tomadas de: Koul M, et al. Ectrodactyly-ectodermal dysplasia clefting syndrome (EEC syndrome). J Oral Biol Craniofac Res .2014; 4:135 -139.

El síndrome de EEC, tiene un patrón de herencia autosómico dominante con expresividad variable. Presenta heterogeneidad de locus con 3 loci involucrados: el EEC3 en 3q27 se identificó al gen *TP63* como causal, EEC1 se ha mapeado en 7q21 basado en translocaciones y deleciones y EEC2 se mapeó en el cromosoma 19 en una familia. Las mutaciones generalmente son de sentido erróneo y afectan a todas las isoformas causando un efecto dominante negativo. Las más comunes son las sustituciones de aminoácidos en el dominio de unión al DNA de la proteína. La sustitución de arginina por alanina (p.R279H o c.836G>A) en el exón 7 del gen *TP63* representa el 55% de las mutaciones reportadas, por lo que se considera un punto caliente. Aparte de las mutaciones que causan corrimiento del marco de lectura en el exón 13, se han descrito 40 diferentes mutaciones patogénicas en este gen, todas de sentido erróneo y en estado heterocigoto

localizadas en el dominio de unión al DNA y predominantemente en los codones 204, 227, 280, 304 y 279. Estas 5 mutaciones se presentan en el 90% de los pacientes con EEC, en las que se estima un riesgo de 5% de mosaico germinal.
20,21

El tratamiento involucra corrección quirúrgica del labio y paladar hendido, así como manejo de problemas asociados con lenguaje, dentición, audición, anomalías del ducto lagrimal, así como manejo ortopédico y terapia de rehabilitación por las anomalías en miembros. Existen reportes de penetrancia incompleta y de mosaico germinal, por lo que el diagnóstico prenatal debe de acompañarse siempre de detección por ultrasonografía.^{23,24}

AEC (Síndrome anquilobléfaron- displasia ectodérmica-labio/paladar hendido)

En el síndrome anquilobléfaron - displasia ectodérmica - labio/paladar hendido, también conocido como síndrome de Hay–Wells, alélico con EEC por mutaciones en el gen *TP63*, los individuos pueden tener el cabello tosco, grueso y esparcido o presentar una alopecia casi total. La mayoría de los recién nacidos tienen erosiones superficiales de la piel, más frecuentemente en el cuero cabelludo, las cuales pueden presentarse en parches o involucrar grandes extensiones corporales; las uñas son ausentes o distróficas; la sudoración se encuentra disminuida sin causar hipertermia; los dientes pueden ser cónicos o reducidos en número y el maxilar puede estar hipoplásico debido a reducción dental, también es frecuente observar labio y paladar hendido y ocasionalmente sinéquias alveolares. La fusión de los párpados o anquilobléfaron es la característica distintiva que se observa en el 70% de los casos, el cual se puede asociar a blefaritis crónica e incluso acompañarse de ausencia de la punta lacrimal con pestañas ausentes.^{2,26}

Tiene un patrón de herencia autosómico dominante, 80% de las mutaciones resultan en sustituciones de aminoácidos del motivo alfa estéril SAM y el 20% restante en el dominio inhibitorio de la transactivación. Algunos autores consideran que esta entidad y el síndrome de Rapp–Hodgkin deberían ser considerados la

misma entidad con un espectro clínico de variación. Para el diagnóstico molecular, se sugiere primero secuenciar los exones 13 y 14.^{2,25,26}

Como parte del tratamiento, se requiere del manejo dermatológico de las lesiones, así como el manejo quirúrgico del LPH y del anquibléfaron, aunque en algunos casos este resuelve espontáneamente. De igual manera, se llega a necesitar algunas veces tratamiento dietético, oftalmológico y dental. Esta entidad presenta un patrón de herencia autosómico dominante, siendo 70% mutaciones *de novo* con riesgo de recurrencia a partir de la descendencia del paciente, sin embargo se debe considerar la posibilidad de mosaico germinal en los padres, se debe realizar diagnóstico prenatal (Figura 8a-c).^{2,26}

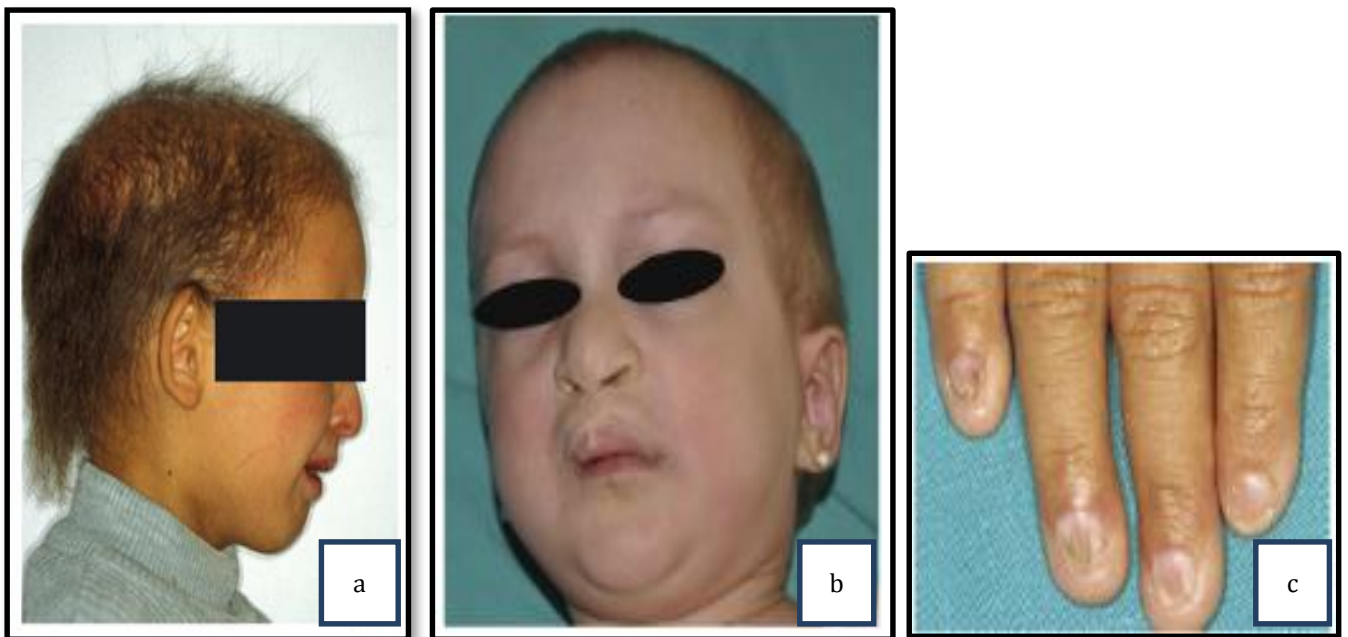


Figura 8a. cabello tosco, grueso y esparcido; 8b. paladar hendido; 8c. uñas distróficas. Tomado de: Macias E, et al. Hay-Wells syndrome (AEC): a case report. Oral Dis. 2006; 12: 506-508.

Síndrome de Rapp–Hodgkin

Es una DE sindrómica asociada a hendiduras orofaciales con patrón de herencia autosómico dominante sin la presencia de ectrodactilia. La tricodisplasia es comúnmente expresada, ya que presenta el pelo grueso y tosco que se reporta al microscopio como *pili torti* y *pili canaliculi*; la alopecia ocurre en pacientes adultos con cejas esparcidas en el tercio externo, así como hipodoncia, dientes con aspecto cónico y uñas displásicas, con número reducido de glándulas sudoríparas sin presentar hipertermia (Figura 9a y 9b). Pueden presentar LPH, paladar hendido submucoso o úvula bífida, hipoplasia maxilar, y de forma ocasional agenesia o atresia del canal auditivo, hipospadias y pabellones auriculares malformados. Se hereda con un patrón autosómico dominante con expresividad variable; las mutaciones ocurren principalmente en el dominio SAM o en el dominio TID y finalmente, el manejo y el tratamiento es esencialmente el mismo que para el AEC. Para el análisis molecular, también se recomienda iniciar con la secuenciación de los exones 13 y 14 del gen *TP63* y se puede ofrecer diagnóstico prenatal (Figura 9c).^{2,17}

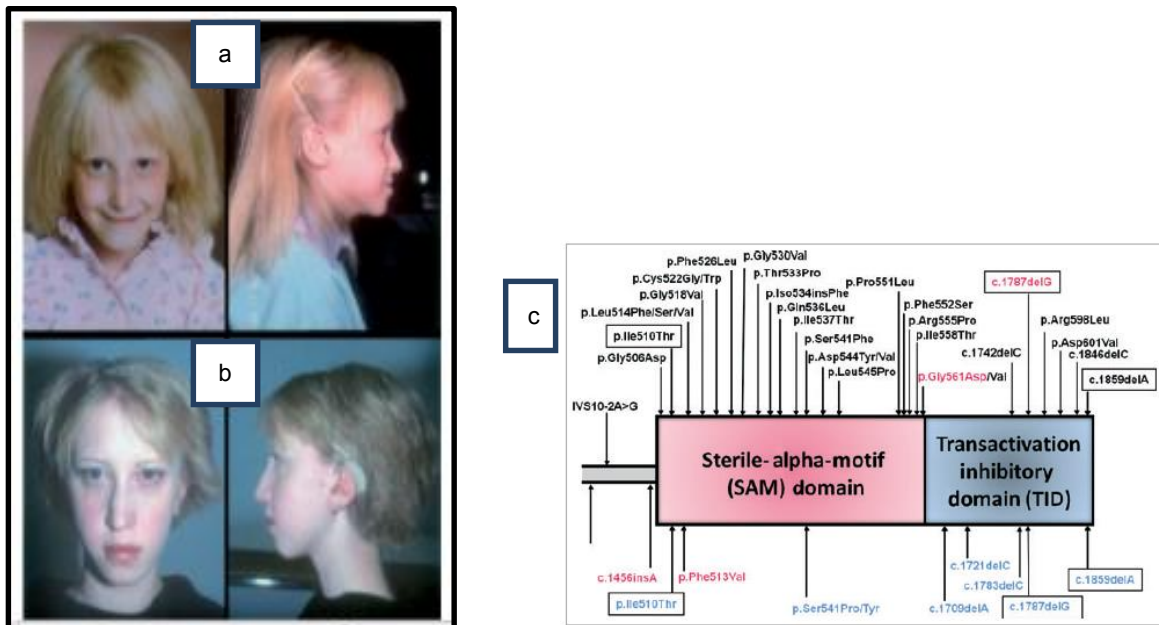


Figura 9a. y 9b. tricodisplasia; cabello tosco, grueso; 9c. mutaciones más frecuentes. Tomado de: Chan I, et al. Rapp–Hodgkin syndrome and the tail of p63. Clin Exp Dermatol.2005; 30:183–186.

ADULT (acro-dermato-ungueal-lagrimal-dental)

Síndrome que clínicamente se manifiesta por puente nasal ancho, hipoplasia mediofacial excesivas pecas, anomalías del ducto lacrimal, hipodoncia, forma cónica de los dientes, hipoplasia de la glándula mamaria, hipotricosis especialmente alopecia frontal, hipohidrosis, dermatitis exfoliativa, xerosis, no presentan hendiduras faciales, o anquibléfaron. Las mutaciones asociadas a esta entidad son las presentes en el dominio DBD que presentan una posible ganancia de función y otras en el dominio TA2 se han descrito estas 7 mutaciones p.Arg298Gln, p.Arg298Gly, p.Arg243Trp, p.Arg227Gln, p.Pro127Leu, p.Val114Met, y p.Asn6His.^{2,27}

Síndrome mama-extremidad

Es una condición similar al síndrome EEC que se caracteriza por presentar ectrodactilia, hipoplasia de pezones o glándula mamaria, hendidura palatina sin hendidura labial y ausencia de defectos en piel o cabello. Puede presentar estenosis del conducto lacrimal, sordera conductiva y anomalías estructurales a nivel urogenital. Las mutaciones afectan el dominio SAM.²

SHFM4 (Malformación mano hendida pie hendido)

La mano y el pie hendido se caracteriza por la ausencia de rayos digitales centrales que puede afectar aleatoriamente a una de las cuatro extremidades, generalmente se presenta de forma no sindrómica pero se puede transmitir de forma más frecuente con un patrón de herencia autosómico dominante con penetrancia incompleta, sin embargo puede incluir todos los modos de herencia inclusive mosaico a nivel germinal. Hasta la fecha se han encontrado 5 loci. El gen *TP63* juega un importante rol en la regulación de la formación del ápice ectodérmico que tiene un rol crítico en la formación de las extremidades. Dentro de las entidades que debemos considerar como diagnósticos diferenciales de **SHFM4** se encuentran: el síndrome de Roselli–Gulienetti, el síndrome

odontotricomérico, Bowen–Armstrong, LADD, EEM (ectrodactilia, displasia ectodérmica y distrofia macular), CHANDS (cabello rizado, anquibléfaron y displasia de uña).²⁶

JUSTIFICACIÓN

De modo independiente es frecuente observar las hendiduras labio palatinas y las displasias ectodérmicas, pero si observamos ambos juntos debemos pensar en descartar mutaciones en el gen *TP63* por lo anteriormente comentado. Aunque esperamos encontrar un patrón de herencia autosómico dominante, el tamaño pequeño de las familias puede no ser informativo por lo que se requiere una adecuada exploración de los familiares. El diagnóstico oportuno de estas entidades permitirá mejor abordaje y considerando que no se ha estudiado un grupo de pacientes con displasia ectodérmica asociada a hendiduras labio-palatinas en México y al ser nuestro Instituto un centro de referencia para este tipo de padecimientos, el identificar mutaciones nuevas o ya conocidas, podrá aportar información adicional para el conocimiento de dichos cambios genéticos, así como la expresividad variable en nuestra población.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Tanto las displasias ectodérmicas (DE) como las hendiduras labio-palatinas (HLP) son entidades patológicas frecuentes cuando se presentan de forma independiente. Sin embargo, también las podemos encontrar asociadas e incluso se pueden presentar en conjunto con otras malformaciones congénitas. Cuando se observan ambos defectos asociados, las principales causas etiológicas pueden corresponder a mutaciones en el gen *TP63*, ya que se sabe que este gen está directamente relacionado con el proceso y desarrollo normal de los derivados del ectodermo y que polimorfismos en este gen, se han asociado con la presencia de LPH. La variabilidad en la expresión ha sido ampliamente descrita. Es frecuente

que existan pacientes con DE o HLP como manifestación aislada y que posteriormente se presente otro caso en la misma familia con más datos o con la expresión completa de cualquiera de los síndromes, o bien un miembro se diagnóstica con uno de estos padecimientos y otro miembro de la misma familia tiene criterios clínicos para otro padecimiento. Tal es el caso de una madre con datos clínicos de Rapp-Hodgkin y su hijo con EEC (ectrodactilia, displasia ectodérmica, paladar hendido y quistes renales bilaterales 53) o el de una madre con AEC y sus dos hijas con dismorfias faciales típicas de Rapp-Hodgkin en quienes se demostró la mutación 1859delA del gen *TP63*. Bertola DR, en 2004 encontró en dos pacientes no familiares, una con AEC y otra con Rapp-Hodgkin, la mutación I510T en este mismo gen y finalmente Steele JA (2005) reportó una nueva mutación de tipo puntual en el exón 14 del mismo gen, en una madre con síndrome de Rapp-Hodgkin y sus dos hijas con síndrome de AEC. Chan I et al (2005) consideraron que estos datos afirman que existe sobreposición entre el síndrome de Rapp-Hodgkin y otros síndromes de displasia ectodérmica, notablemente con el síndrome de Hay-Wells; de tal forma que la futura caracterización de las consecuencias funcionales de estas mutaciones a nivel molecular y celular nos brindarán más datos en relación con el espectro clínico de estos síndromes malformativos del desarrollo. Actualmente ya son consideradas como entidades alélicas en el sistema OMIM. Aunque se ha determinado claramente que la transmisión en estas entidades sindrómicas es autosómica dominante, en ocasiones en familias pequeñas es difícil determinar el tipo de herencia y por consiguiente el asesoramiento genético puede dificultarse sobre todo en las que muestran poca sintomatología o en las que erróneamente se puede considerar que el caso índice es una mutación nueva. Por esto se recomienda que en todos los casos se realice una exploración minuciosa e intencionada a los familiares, con el propósito de identificar aquellos con manifestaciones mínimas del padecimiento.

El diagnóstico temprano de estos síndromes, ya sea de forma prenatal mediante la identificación de defectos labio-palatinos o alteraciones en extremidades, principalmente por ultrasonido de segundo nivel o al nacimiento, ayudará a los

padres a tener acceso a orientación sobre la manera de disminuir las secuelas secundarias a las malformaciones que puedan producir algún grado de discapacidad. El manejo de estos pacientes requiere de acciones multidisciplinarias, se debe realizar prevención de infecciones oftalmológicas con lágrimas artificiales, así como visitas frecuentes con el estomatólogo para evitar problemas de mala oclusión por oligodoncia o dientes cónicos, y evitar complicaciones de caries por defecto de esmalte; es importante tomar en cuenta la lubricación de la piel para evitar infecciones y lesiones secundarias a la hipohidrosis y muchas veces se requieren múltiples correcciones quirúrgicas de los defectos en extremidades.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar las mutaciones del gen *TP63* en pacientes mexicanos con displasia ectodérmica y hendiduras labio-palatinas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el tipo y la frecuencia de mutaciones del gen *TP63* en pacientes mexicanos con displasia ectodérmica y hendiduras labio-palatinas.
2. Describir las características clínicas en cada paciente diferentes a la DE y HLP.

CLASIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.

De acuerdo a los ejes de trabajo se propone realizar un estudio observacional con base en el control de la asignación de los factores de estudio, descriptivo de acuerdo a la finalidad, transversal por la secuencia temporal y prospectivo con base en la fuente primaria de datos.

MATERIAL Y MÉTODOS

A. Población objetivo: Pacientes mexicanos (que ambos padres y abuelos, por ambas ramas sean mexicanos) con displasia ectodérmica y hendiduras labio-palatinas.

B. Población elegible: Pacientes mexicanos con displasia ectodérmica y hendiduras labio-palatinas que hayan sido pacientes del Instituto Nacional de Pediatría desde mayo de 1972 hasta febrero del 2013.

C. Criterios de inclusión:

- Pacientes de cualquier edad y género
- Que los padres y/o pacientes firmen y acepten la carta de consentimiento informado y en su caso la carta de asentimiento para pacientes de 12 años o mayores, así como de ser necesario, los familiares sanos.

D. Criterios de exclusión:

- Se excluirán temporalmente pacientes transfundidos en los últimos tres meses.

E. Tamaño de muestra: MUESTREO NO PROBABILÍSTICO: con base en la cantidad de pacientes con displasia ectodérmica asociada a hendiduras labio palatinas que se cuente en el Instituto Nacional de Pediatría, se calcula un tamaño de muestra de 5 casos índice no relacionados.

F. Diseño experimental: Se contactaron a pacientes con diagnóstico de síndromes de displasia ectodérmica y hendiduras labio-palatinas, de acuerdo a datos del expediente clínico, valorados por el servicio de Genética del periodo de 1972 a 2012 independiente de la edad actual. Para el objetivo de titulación, reunieron un total de 5 pacientes a los cuales se les invitó a participar en el protocolo explicándoles objetivos y beneficios del mismo, una vez que aceptaron su participación en el proyecto, se tomó muestra de sangre periférica, 5-10 ml con EDTA por punción venosa, previa lectura y firma de consentimiento o asentimiento informado, según fuera el caso.

METODOLOGÍA

Para el estudio molecular del gen *TP63* se realizó la extracción DNA genómico mediante la técnica de precipitación salina con el kit Gentra Puregene Blood de Qiagen a partir de leucocitos de sangre periférica con EDTA como anticoagulante (3-5 mL) del caso índice. El DNA genómico obtenido se cuantificó y se valoró su pureza e integridad mediante espectrofotometría y electroforesis en un gel de agarosa. Las muestras de DNA se conservaron a 4° C hasta el término del análisis.

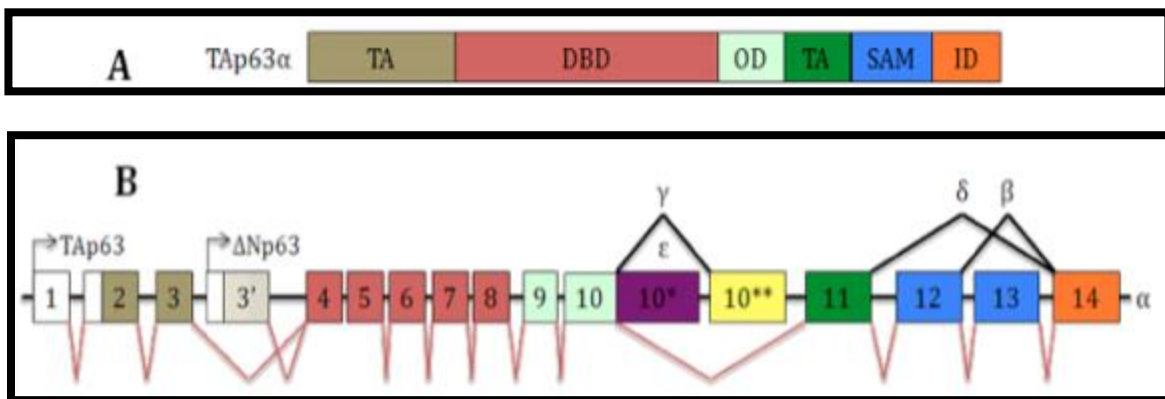


Figura 10a, Dominios de la proteína p63; 10b. exones del gen TP63, los exones 4 al 8 codifican para el dominio de unión a DNA.

Como estrategia inicial se realizó la búsqueda de las mutaciones en los exones 4 al 8 y 14 en el gen *TP63* correspondientes al dominio de unión a DNA, región en donde se han reportado la mayoría de las mutaciones, así como los exones 1, 3, 12 y 13 (Figuras 10a y 10b). Las mutaciones se identificaron mediante amplificación por PCR; los oligonucleótidos de cada secuencia, así como el tamaño del producto amplificado se encuentra en la Tabla 4.

Tabla 4. Oligonucleótidos y condiciones de PCR para el análisis de mutaciones del gen *TP63*.

Secuencias de los Primers			
Exón	Forward	Reverse	Producto de PCR
1	TC CCG GCT TTA TAT CTA TAT ATA C	GAC ACA TTC ATA ATA CAC AAG GCA C	211
2	TCC ACT TGG GTT TTC ATG ATA GAG	GTA AGC AAT ATT TTG ACC ACC CAC	300
3	GCT TGT TGT TAA CAA CAG CAT G	GAA AAG ACA GGT TTA ACA GAG C	281
3'	CAT ATT GTA AGG GTC TCA GAG G	GAC CGA GAA CCG CAA ATA CG	223
4	GAT CCG TGG CTT CAG CGG	AAG CCC ATC CTT GGA CTT GG	354
5	GTT GGT TCT CTC CTT CCT TTC	GCC CAC AGA ATC TTG ACC TTC	291
6	CCA CCA ACA TCC TGT TCA TGC	GTT CTC TCA AGT CTA CTC AGT CC	267
7	GGG AAG AAC TGA GAA GGA ACA AC	CAG CCA CGA TTT CAG TTT GCC	253
8	GTA GAT CTT CAG GGG ACT TTC	CCA ACA TCA GGA GAA GGA TTC	260
9	GCT TTA GAA GTG TTC CCA GG	ACA CCT CCT TTC CCA TTG TC	237
10	TGA GGA TTG ACC ACA CTT CTA AC	CAT CAA TCA CCC TAT TGC TGA TC	287
11	TGA NCA TCA TTT CCA TGT TTG TC	TCA CAG AGT CTT GTC CTA AGC	254
12	GGA CTA TAA CAG TAT CCG CCC	CAA GAT GGA CCA CTG GGA TG	294
13	CTT ATC TCG CCA ATG CAG TTG G	AAC TAC AAG GCG GTT GTC ATC AG	240
14	GGG AAT GAT AGG ATG CTG TGG	AAG ATT AAG CAG GAG TGC TT	449
15	GAT GAA GTC CTA GGC CTT C	GGA AAT ACA ACA CAC ACA CT	205

La amplificación por PCR se realizó mediante condiciones estándar de concentración de reactivos, utilizando Taq polimerasa Gold™ Applied Biosystems. Las condiciones que se emplearon para la amplificación en el termociclador constaron de 35 ciclos bajo las siguientes condiciones: (Tabla 5).

Tabla 5. Condiciones de PCR para los exones

Exón	Condiciones
8	95° C – 10 minutos 95° C – 45 segundos 54° C – 40 segundos 72° C – 45 segundos 72° C - 10minutos 4° C - ∞
6,7,13	95° C – 10 minutos 95° C – 45 segundos

	55° C – 40 segundos 72° C – 45 segundos 72° C - 10minutos 4° C - ∞
5	95° C – 10 minutos 95° C – 45 segundos 57° C – 40 segundos 72° C – 45 segundos 72° C - 10minutos 4° C - ∞
4	95° C – 10 minutos 95° C – 45 segundos 58° C – 40 segundos 72° C – 45 segundos 72° C - 10minutos 4° C - ∞
1 y 3	95° C – 10 minutos 95° C – 45 segundos 59° C – 40 segundos 72° C – 45 segundos 72° C - 10minutos 4° C - ∞

Solo se realizaron secuencias forward de los exones 1, 2, 8,12 y 13. El resto de los exones se realizaron ambas secuencias forward y reverse.

Purificación de los productos de PCR

Se purificó por bandas por separado mediante electroforesis con un gel de agarosa al 2%. Se tomó todo el volumen de cada PCR con 3 µL de amortiguador de carga 1% (azul de bromofenol, Glicerol, Xilencianol), se mezclaron y se colocó en el pozo del gel. En otro pozo se colocó el peso molecular de 100 pares de bases (Low Range DNA Ladder Fermentas). Para el corrimiento de las muestras las condiciones fueron las siguientes, 110v durante 1 hora y 30 minutos.

Para observarlas se colocaron en el transiluminador de luz UV. Se cortaron las bandas que corresponden al DNA de cada uno de los pacientes y se colocaron cada una en un tubos de 1.5 ul nuevo.

La purificación de las bandas, se realizó empleando el KIT QUIAGEN®):

- 1.- Primero se cortó la banda de los amplificados, obtenida en geles de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio.

- 2.- Se agregó 600ul de solución QG (300ul de Buffer Qg por c/100mg de gel)
- 3.- Se incubo a 50°C Aproximadamente 15 min.
- 4.- Se agregó 1:1 isopropanol y posteriormente se agregó dicha solución a la columna que se centrifugó a 3000 rpm durante 1 min.
- 5.- Se agregó 500 µL de la solución QG y se centrifugó a 3000 rpm durante 1 min.
- 6.- Agregó 750 µL de Buffer PE y se centrifugó 2 min. para quitar cualquier resto de agarosa.
- 7.- Posteriormente se cambió la columna en otro tubo de 1.5 µL nuevo para eluir el DNA.
- 8.- Se agregó 20 µL de agua libre de nucleasas. Se incubó a temperatura ambiente por 1 minuto. Posteriormente se centrifugó a 16,000xg por 2 minutos. Se conservó a 4°C, hasta su uso.

Reacción de secuenciación

Se utilizó el estuche comercial de secuenciación BigDye Terminator V 3.1 CycleSecuencing (Applied Biosystems®). En la Tabla 6 muestran los reactivos, las concentraciones de estos y los volúmenes que se utilizaron, y en la Figura 11 se muestra el programa de reacción empleado.

Tabla 6. Reactivos y sus concentraciones de reacción de secuenciación

Reactivo	Concentración	Volumen
Producto de PCR	100 ng/MI	2 MI
Oligonucleótido	100 ng/MI	1MI
Amortiguador	5x	3.5MI
BygDye Terminator V 3.1 Cycle secuencing	1x	1 MI
H2O libre de RNAsas	-	12.5 MI
Volumen de reacción	-	20 MI

Programa de reacción de secuenciación.

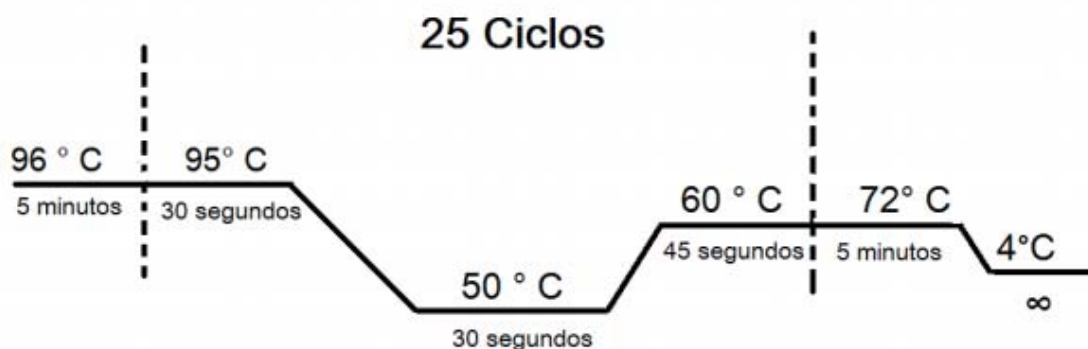


Figura 11. Programa para el termociclador para la reacción de secuenciación donde se muestran los ciclos con sus correspondientes temperaturas.

Purificación de los productos de la reacción de secuenciación

Se realizaron nuevas reacciones de PCR para la secuenciación nucleotídica y cada reacción de 10 μ l con 0.5 μ l de BigDye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems) contenía los cuatro dideoxynucleótidos trifosfatados (ddNTPs) marcados por fluorescencia, deoxynucleótidos trifosfatados (dNTPs) no marcados, Tris-HCl (Ph 9.0), $MgCl_2$ y la enzima ampliTaQ polimerasa; se agregó además 0.5 μ l del oligonucleótido correspondiente, 10-20 ng del DNA de cada producto de PCR como templado y agua bidestilada para un volumen final de 10 μ l. Para esta PCR ver fig. 11. Los productos de esta segunda PCR se purificaron por medio de columnas Centri-Sep (Applied, Biosystems) para eliminar el exceso de ddNTPs fluorescentes y de dNTPs no marcados. Cada muestra se resuspendió en 20 μ l de formamida desionizada y posteriormente se desnaturalizó a 95°C por 5 min. Los productos se analizaron en un secuenciador automático ABI Prism 310 Genetic analyzer.

Análisis de las secuencias

Los amplificadores fueron sometidos a secuenciación automática fluorescente para determinar el tipo de cambio (mutación o polimorfismo) y con ello identificar mutaciones previamente reportadas o mutaciones propias de la población mexicana aún no reportadas. El análisis se realizó mediante los programas Chromas Lite 2.1 para la visualización de las secuencias y Mutation Analyzer el cual es una plataforma para análisis de secuencias que permite caracterizar gráficamente y así mismo comparar con la secuencia de referencia y correlacionar con la nomenclatura estandarizada así como en las siguientes bases de datos: HGNC:15979.TP63, CTD 8626, BioMuta TP63, DMDM57013009, Malacaras TP63. En los casos de mutaciones no reportadas, se realizó búsqueda en programas predictores de las posibles consecuencias de la mutación y de igual forma aquellos cambios de sentido erróneo o presentes en sitios de splicing, no descritos previamente en la literatura, se analizaron *in silico* para predecir si tienen o no un efecto patogénico con los programas PMUT (mmb.pcb.ub.es/PMut) el cual predice si el cambio a nivel de la proteína generado por una mutación puede ser patológico, no patológico o neutral; SIFT (sift.jcvi.org) que predice sobre como la sustitución de un aminoácido afecta la función de la proteína; o POLYPHEN (bwh.harvard.edu/pph) predice los efectos funcionales de los SNPs no sinónimos humanos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Las mutaciones se anotaron en forma descriptiva.

DEFINICION DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE
Sexo	Género del paciente	Masculino = 1 Femenino = 2	Cualitativa Nominal Dicotómica
Edad	Número de años de vida	Cantidad	Cuantitativa Ordinal Continua
Familiares afectados	Si existe en la familia otros familiares con la misma patología del paciente o en su caso con expresión mínima de la enfermedad	Si = 1 No = 2	cualitativa Nominal Dicotómica
Parentesco de familiares afectados	Tipo de parentesco con el paciente en aquellos familiares afectados con la misma patología	Padre = 1 Madre = 2 Hermano (a) = 3 Tío(a) materno = 4 Tío(a) paterna = 5 Abuelo (a) materno = 6 Abuelo (a) paterno = 7	Cualitativa Nominal Politómica
Displasia ectodérmica	Enfermedad con afección de dos o más derivados ectodérmicos. Se analizará que derivado ectodérmico está involucrado para el análisis	Cabello = 1 Dientes = 2 Uñas = 3 Glándulas sudoríparas = 4	Cualitativa Nominal Politómica
Hendiduras labio-palatinas	Defecto facial de línea media en la región maxilar superior en el cual puede estar involucrados labio, región alveolar y/o paladar, ya sea duro y/o blando	Labio hendido unilateral = 1 Labio hendido bilateral = 2 Labio y paladar hendido unilateral = 3 Labio y paladar hendido bilateral = 4 Paladar hendido = 5	Cualitativa Nominal Politómica
Mutación	Cambio en la secuencia del genoma la cual es deletérea para la función de la proteína	Si = 1 No = 2	Cualitativa Nominal Dicotómica
Tipo de mutación	Descripción de la mutación de acuerdo a la nomenclatura internacional del Genoma Humano		Cualitativa Nominal Descriptiva

CASOS CLÍNCOS

Paciente número 1

No. de expediente: 467314

Fecha de Nacimiento: 25/01/2010

Edad de los progenitores al nacimiento: Madre 37 años, Padre 36 años.

Antecedentes prenatales: Gesta 3/3, control prenatal desde el segundo mes, regular, realizaron 6 ultrasonidos reportados normales. Notan movimientos uterinos en el segundo mes, los refieren aumentados a las 34 semanas de gestación, nace por cesárea en el Hospital General de Tlanepantla por sufrimiento fetal agudo, desconoce presentación, peso 1,810 grs, talla 43cm, no recuerdan Apgar, no hubo llanto o respiración espontánea, requirió maniobras de respiración no especificadas niega cianosis o ictericia y permanece internado durante 20 días para ganancia de peso.

Desarrollo psicomotor: Sostén cefálico 3 meses, sedestación 7 meses, comienza bipedestación 11 meses, balbuceo 3 meses, actualmente cursa 3er año de kínder con adecuado aprovechamiento.

Exploración física a los 11 meses: Peso 8,340 grs (pc <3), talla 74 cm (pc 25-50), perímetro cefálico 44 cm (pc 5), cráneo con plagiocefalia, cabello fino, frente prominente, glabella prominente, cejas curvas dispersas en tercio medio y externo, sutura metópica imbrincada, hipertelorismo, epicanto inverso bilateral, pestañas largas, fisuras palpebrales oblicuas hacia arriba, puente nasal ancho, punta de nariz bulbosa, filtrum postoperado de labio paladar hendido derecho con cicatriz del lado derecho, labios regulares, cavidad oral con presencia de placa, pabellones auriculares ligeramente acopados, hélix desplegado y antihélix prominente, cuello regular, tórax normolíneo, ruidos cardiacos sin alteraciones, abdomen sin adenomegalias, genitales externos masculinos con fimosis, extremidades superiores sin limitaciones, palo de golf bilateral, extremidades inferiores sin alteraciones (Figura 12a y 12b).

El paciente tiene diagnóstico de displasia ectodérmica + labio paladar hendido derecho

Estudios de laboratorio y gabinete realizados:

Biopsia de piel (28/10/13): compatible con morfea incipiente, piel con incrementos de colágeno en la dermis media y superficial, sin afección de anexos o atrofia epidérmica.

Cariotipo bandas GTG (10/01/11): 46,XYqh+[15] resolución de 450-500 bandas BG. Segundo cariotipo en prometafase reportado igual.

TC de cráneo (13/01/12): Encéfalo sin evidencia de alteraciones/leve tendencia a plagiocefalia/ mastoides ocupadas por líquido bilateral con engrosamiento etmoideo.

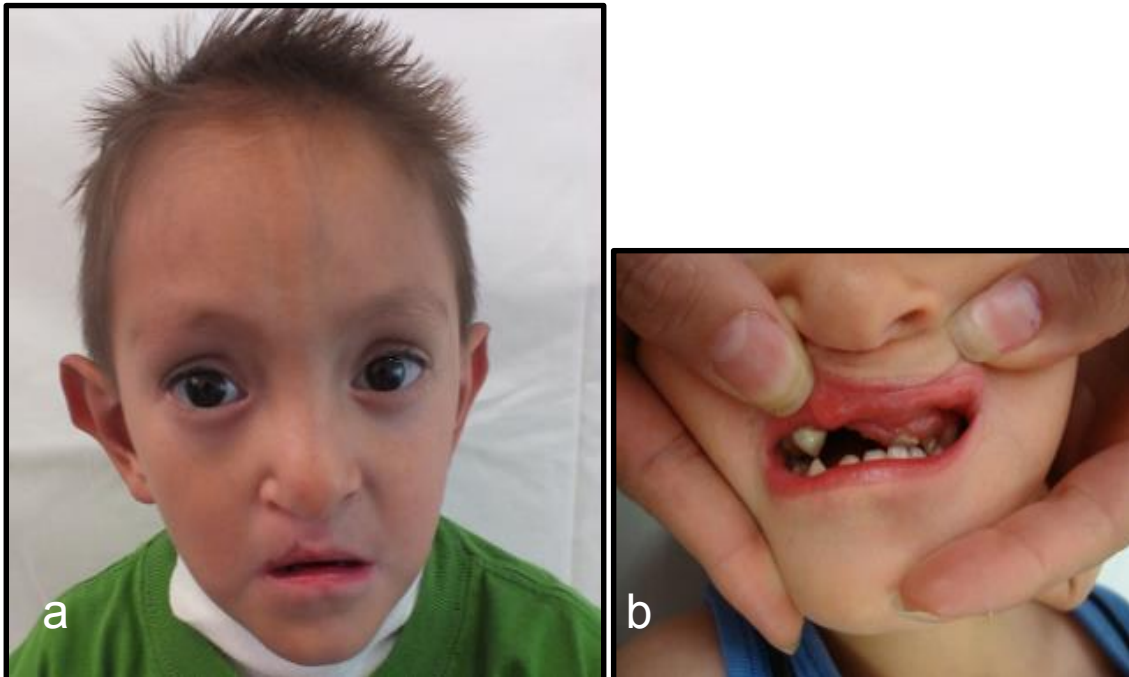


Figura 12a. Paciente masculino de 3 años de edad con frente amplia, implantación alta de cabello, el cual es escaso, punta de nariz hacia abajo, filtrum corto, cicatriz de labio hendido derecho corregido, pabellones auriculares acopados con hélix desdoblado; 12b. Dientes cónicos.

Paciente número 2

No. de expediente: 473151

Fecha de Nacimiento: 21/10/2000

Edad de los progenitores al nacimiento: Madre 42 años, Padre 37 años.

Antecedentes prenatales: Gesta 5/6, control prenatal regular desde el primer mes, sin realizar ultrasonidos. Niega adversos o teratógenos, nace por parto a las 40 semanas de gestación en Centro de Salud, presentación cefálica, peso 2,900grs, no recuerda talla y Apgar, refiere llanto espontáneo, egresa a las 24 hrs.

Desarrollo psicomotor: Sonrisa social 3 meses, sostén cefálico 3 meses, sedestación 9 meses, bipedestación 1 año 6 meses, marcha 2 años, control de esfínteres 2 años 6 meses, balbuceo 4 meses, monosílabos 9 meses, bisílabos 9 meses, frases 1 año. en el 2014 cursaba tercer año de primaria (escuela de gobierno común), con promedio de 9.5, pero refieren con dificultades para la lectoescritura y operaciones básicas. Con déficit de relaciones sociales con sus compañeros

Exploración física a los 12 años 6 meses: Peso $pc < 3$, talla $pc < 3$, braquicefalia, pelo corto, grueso, frente estrecha, cejas arqueadas, escasas, puente nasal ancho, fisuras palpebrales amplias y dirigidas hacia arriba, pabellones de adecuada implantación acopados, filtrum no valorable por queiloplastía bilateral, paladar sin fístula, cuello regular, clavículas presentes, tórax normolíneo, cardiopulmonar sin compromiso, abdomen sin hernias ni megalias, genitales masculinos, extremidades sin limitación, hipotróficos, ausencia de uña del primero y tercer dedo de mano derecha, dorso integro.

El paciente tiene antecedente de diagnóstico de linfoma de Hodgkin variedad esclerosis nodular estadio IV, además de síndrome de EEC tipo 3 con agenesia renal izquierda y antecedente de criptorquidia bilateral.

Estudios de laboratorio y gabinete realizados:

Biopsia de ganglio cervical y aspirado de médula ósea (12/04/11): linfoma de Hodgkin, clásico, variedad esclerosis nodular con cambios de regeneración y fibrosis reticulínica leve.

PET CT (19/11/13): metabolismo normal en todas las estructuras.

Alfa- fetoproteína y HCG (19/07/13): normales

Gamagrama óseo 10/05/11: de características normales

Gamagrama cuello, mediastino y abdomen (08/04/11): masa cervical izquierda y mediastinal y masa abdominal en relación con diagnóstico de envío de probable linfoma.

TAC de cuello, mediastino y abdómno-pélvico (21/06/11): Disminución del 50% del tumor con respecto al previo previa de abril del 2011 reportaba gran lesión tumoral aparente a expensas de crecimientos ganglionares en lado izquierdo del cuello con lesión probablemente metastásica a nivel de bazo. Riñón derecho único con nefromegalia probablemente compensadora.

Ultrasonido testicular (03/05/12): ambos testículos no descendidos localizados en tercio proximal de canal inguinal correspondiente

Radiografía de manos y pies (05/09/11): Desmineralización ósea generalizada, sin evidencia de otras alteraciones

Centellografía ósea (29/06/11): estudio negativo para lesiones blásticas.

Paciente número 3

No. de expediente: 476131

Fecha de Nacimiento: 12/08/2002

Edad de los progenitores al nacimiento: Madre 37años, Padre 33 años

Antecedentes prenatales: Gesta 4/4. Control prenatal desde el primer mes regular, movimientos fetales ligeramente aumentados desde el tercer mes, 8 ultrasonidos reportados normales, niega amenaza de aborto, refiere elevación de tensión arterial a los 8 meses con cifras 140/100 sin manejo por medicamentos, posteriormente 120/80 niega otros adversos o teratógenos, 9 meses de embarazo cesárea por presentación pélvica con peso 2,550 grs, talla 48 cm, perímetro cefálico 33 cm, Apgar 9/9, llanto y respiración espontáneos, no requiere maniobras avanzadas.

Desarrollo psicomotor: Sedestación 6 meses, deambulación 1 años 2 meses, control de esfínteres 1 año 8 meses, balbuceo 6 meses, monosílabos 10-12 meses, bisílabos 6 años, frases 8 años. Actualmente acude a 6º año primaria con apoyo.

Exploración Física 9 años 3 meses: Peso 42 pc >95, talla 140 pc 75, normocéfalo, frente amplia, cejas escasas en tercio medio y externo, ojos de implantación profunda, fisuras palpebrales ligeramente hacia arriba, puente nasal regular, punta bulbosa, alas de la nariz hipoplásicas, labios gruesos y micrognatia, 6 dientes cónicos, paladar y úvula íntegros, pabellones auriculares de adecuada implantación y conformación, cuello con acantosis, tórax normolíneo, precordio rítmico sin agregados, abdomen sin hernias o megalias, genitales externos masculinos Tanner II, extremidades con adecuado tono, fuerza y trofismo.

Paciente con probable malformación del sistema nervioso central documentada en IRM extra INP. Aunado a displasia ectodérmica y Paladar hendido submucoso. Su madre también afectada con displasia ectodérmica hipohidrótica. Pb. Rapp Hodgkin.

Estudios de laboratorio y gabinete realizados:

Nasofibroscopía: reporta paladar hendido submucoso.

Paciente número 4

No. de expediente: 479682

Fecha de Nacimiento: 29/01/12

Edad de los progenitores al nacimiento: Madre 26 años, Padre 25 años

Antecedentes prenatales: Gesta 1/1, control prenatal regular, 7 consultas, 2 ultrasonidos reportados normales, movimientos fetales normales desde los 5 meses, cervicovaginitis a los 7 meses tratada con fosfomicina, aumento de presión arterial a las 35 semanas de gestación. Probable preeclampsia sin tratamiento farmacológico, no recuerda cifras tensionales, glucosa normal, niega teratógenos

nace a las 38 semanas de gestación por cesárea indicada por circular de cordón, se atendió en el centro de especialidades médicas de Xalapa, presentación cefálica, peso 3,500 grs. talla 53cm, desconoce Apgar, llanto y respiración espontáneos, niega maniobras avanzadas, detectan ectrodactilia desde el nacimiento.

Desarrollo psicomotor: Sedestación 7 meses, rodamiento 6 meses, bipedestación con apoyo 8 meses, monosílabos 7 meses, bisílabos 9 meses.

Exploración física a los 9 meses: Peso 8,960 grs (10) talla 73cm (pc 50-75) perímetro cefálico 44.8 cm (50-75) normocéfalo, cabello un poco escaso textura normal, fontanela anterior puntiforme, posterior cerrada, frente alta, cejas un poco escasas dispersas, fisuras palpebrales, discretamente hacia arriba, narinas antevertidas, filtrum largo y delgado, labios delgados, pabellones auriculares bien implantados, bien conformados, ruidos cardiopulmonares sin compromiso, abdomen sin hernias o megalias, genitales sin alteraciones, dorso con manchas azuladas, extremidad superior derecha con ausencia de tercer dedo, sindactilia completa primero y segundo dedo inferior derecha con hipoplasia de falange distal de 2º orjejo, sindactilia cutánea parcial de tercero y cuarto orjejos, probable dacriostenosis bilateral, paladar ojival, úvula central.

Estudios de laboratorio y gabinete realizados:

Nasofibroscopía: reporta paladar hendido submucoso.

Paciente número 5

No. de expediente: 434138

Fecha de Nacimiento: 13/04/2004

Edad de los progenitores al nacimiento: Madre 32 años, Padre 33 años.

Antecedentes prenatales: Gesta 3/3, control prenatal regular, movimientos fetales disminuidos a los 7 meses, cervicovaginitis en el 4 mes. a las 26 semanas de gestación detecta por USG polihidramnios, resto negado, nace a las 38

semanas de gestación por cesárea indicada por plihidramnios en hospital privado, BPD, presentación cefálica, peso 3100, talla 49 cm. Apgar 8/9, PC 35 cm, respiración y llanto espontaneo, presento taquipnea transitoria del RN requirió incubación con casco cefálico por 3 días, ictericia al 4° día remitida con helioterapia, 2 USG 2° y 5° mes normales.

Desarrollo psicomotor: Fijación de la mirada 1 mes, sonrisa social 3 meses, sostén cefálico 4 meses.

Exploración física: A los 5 meses con peso en pc 10-25, talla en pc 25, perímetro cefálico 43 cm, fontanela anterior 5x4 cm, braquicefalia, implantación muy alta del cabello, frente prominente y amplia, exoftalmos, quiste dermoide en región ciliar derecha, facies redonda y fisuras palpebrales hacia abajo, nariz ancha, no hay dientes solo 3 muelas, cicatriz de cierre de labio bilateral, paladar hendido central completo, pabellones auriculares acopados, ruidos cardiacos normales, abdomen sin hernias ni megalias, genitales femeninos, manos con equivalente transverso bilateral, miembros inferiores simétricos con dorso integro. Dermatitis diseminada a todos los segmentos constituida por pelo seco, delgado, seco, abundante, xerosis leve, evolución congénita y asintomática, sindactilia cutánea 3° y 4° dedos en manos y en pies 2° y 3° bilateral. Se diagnostica hipotiroidismo congénito (Figura 13a y 13b).

Estudios de laboratorio y gabinete realizados:

TAC 3D (13/02/13): defecto palatino bilateral con ausencia de piezas dentarias.

Edad Ósea (13 /08 /04): acorde; **(25/10/05):** atrasada; **(25/08/12):** normal.

Gpo. Sanguíneo: Grupo: O Rh (+)

Cariotipo: 46,XX[15] BG con 400-500 bandas de resolución.

TAC de orbitas y macizo facial (04/09/14): imagen correspondiente a probable quiste dermoide localizado en párpado superior y epicanto en ojo derecho.

PEATC (02/02/05): audición normal para tonos agudos bilaterales.

Gamagrama de tiroides (13/05/04): tiroides ectópica sublingual.

Polisomnografía (03/12/14): síndrome de apnea de sueño de intensidad severa y actividad eléctrica cerebral dentro de límites normales.

TAC cerebral (25/01/05): mínima atrofia corticosubcortical (pérdida parcial de volumen) de etiología a determinar.

USG renal (20/12/04): normal

Rx. de columna vertebral (23/09/04): escoliosis moderada de convexidad izquierda en unión dorso lumbar.

USG transccraneal (11/06/04): inmadurez cerebral evidenciada por mala definición aun de giros corticales, principalmente en el hemisferio cerebral izquierdo.



Figura 13a. Paciente femenina (a la edad de 2 años) con frente amplia, implantación alta de cabello, el cual es escaso, nariz asimétrica, filtrum corto, cicatriz de labio hendido bilateral corregido. 13b. Hipoplasia mediofacial a expensas de maxilar superior, puente nasal deprimido, pabellones bien implantados y bien conformados.

RESULTADOS

En el análisis del gen *TP63* encontramos tanto polimorfismos como mutaciones. En los pacientes 1 y 5 no se han detectado hasta el momento algún cambio en la secuencia del gen.

En cuanto a los *polimorfismos*, en el paciente 2 se detectó el cambio c.552G>A o p.Ser184Ser en el **exón 4** y otro cambio c.918C>T o p.Phe306Phe en el **exón 7**; de igual forma, este último cambio de c.918C>T o p.Phe306Phe en el **exón 7** se encontró en los pacientes 3 y 4. Al analizarlos *in silico*, no se obtuvo información por tratarse de cambios de tipo sinónimo. Además de los cambios anteriores, en los pacientes 3 y 4 encontramos otro polimorfismo c.992+44G>A en el **exón 7**, el cual ya está reportado en la literatura (rs373501161) como variante normal (Figura 14a. y 14b)

En cuanto a las *mutaciones*, hasta el momento contamos con dos; una en el paciente 3, en el **exón 5** se demostró el cambio c.489G>A o p.Glu255Lys; y el otro cambio c.1826G>A o p.Glu609Lys, se encontró en el paciente 4 en el **exón 14**. Ninguna de las mutaciones ha sido reportada previamente. (Figura 15a y 15b).

Sin embargo, el estudio *in silico* de estas mutaciones, utilizando 2 programas predictores (Poliphen y SIFT), se reportan como patológicas y con compromiso de función de la proteína TP63, lo que correlaciona con el fenotipo de las displasias ectodérmicas, sin embargo aún falta su validación. Al momento no parecen conferir alguna característica patognomónica o fuera de este espectro de las displasias ectodérmicas asociadas a LPH.

Tabla 5. Resultados del estudio molecular del gen *TP63*

ID	EXP	PACIENTE	<i>TP63</i>					
			Exón 1-3b	Exón 4	Exón 5	Exón 7	Exón 9-11	Exón 14
D1	467314	ZNSJ	NL	NL	NL	NL	NL	NL
D2	473151	RTJ	NL	p.Ser184Ser o c.552G>A	NL	p.Phe306Phe o c.918C>T	NL	NL
D3	476131	DCH	NL	NL	*c.489G>A o p.Glu255Lys	p.Phe306Phe o c.918C>T c.992+44G>A (rs373501161)	NL	NL
D4	479682	ORI	NL	NL	NL	p.Phe306Phe o c.918C>T c.992+44G>A (rs373501161)	NL	*c.1826G>A o p.Glu609Lys
D5			NL	NL	NL	NL	NL	NL

*En negritas se marcan las mutaciones, las demás son polimorfismos.

POLIMORFISMOS

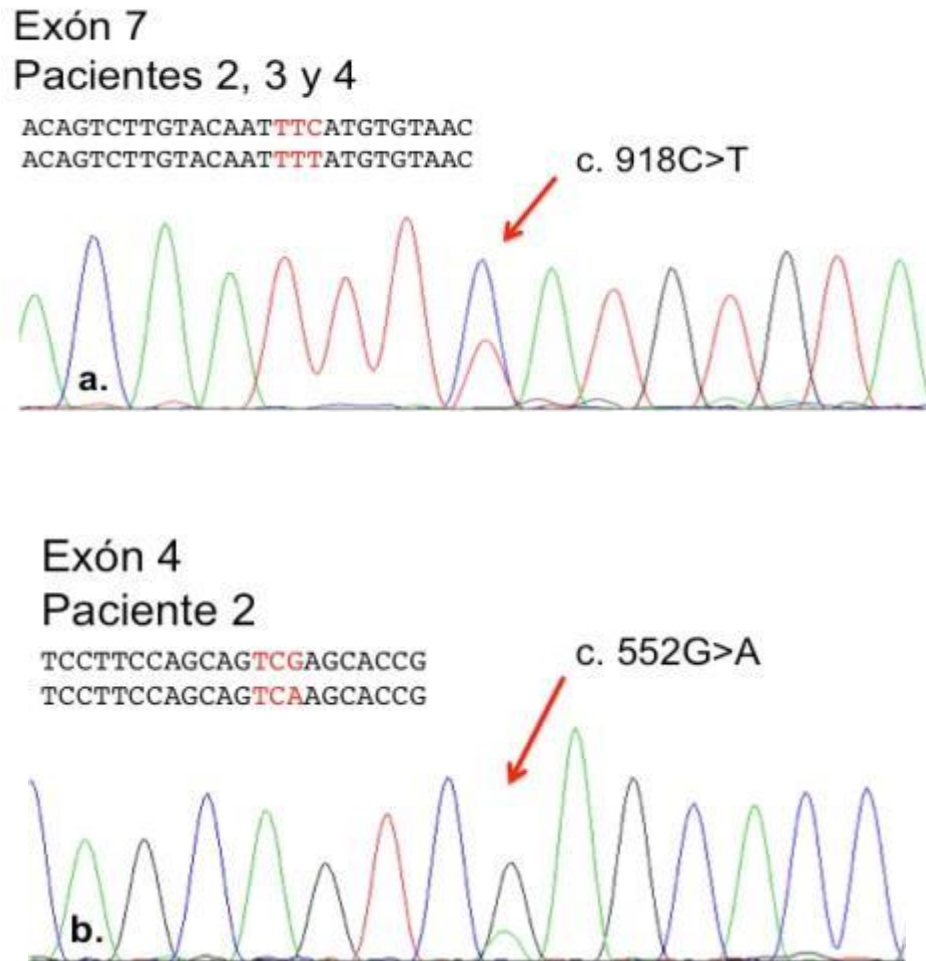


Figura 14a. Mutación puntual de tipo transición en estado heterocigoto que en el nucleótido 918 del DNA complementario presenta cambio de una citosina por una timina; 14b. Mutación puntual de tipo transición en estado heterocigoto que en el nucleótido 918 del DNA complementario presenta cambio de una guanina por una adenina

MUTACIONES

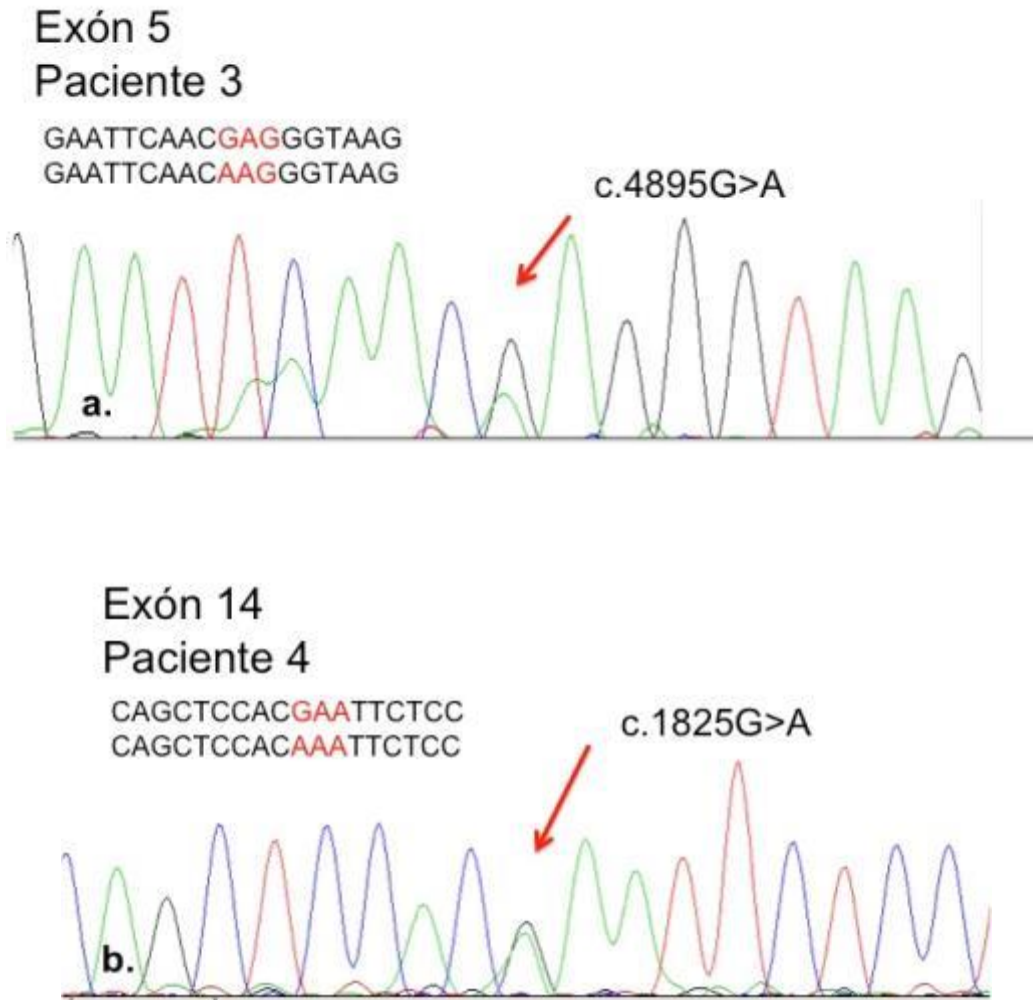


Figura 15a. Mutación puntual de tipo transición en estado heterocigoto que en el nucleótido 4895 del DNA complementario presenta cambio de una guanina por una adenina; 15b. Mutación puntual de tipo transición en estado heterocigoto que en el nucleótido 1825 del DNA complementario presenta cambio de una guanina por una adenina

DISCUSIÓN

Hasta la fecha se han descrito dos genes causantes de entidades sindrómicas donde encontramos la asociación de DE y LPH. Uno de ellos es el gen *PVRL1* (Nectina 1) que se relaciona con síndrome de CLPED (OMIM225000) y síndrome odonto-tricomélico (OMIM 273400); el otro es el gen *TP63*, el cual se relaciona con síndrome de EEC (OMIM 604292;), síndrome de AEC (OMIM 106260), síndrome de Rapp-Hodgkin (OMIM 129400) y síndrome mama- extremidad (OMIM 603543). Cada entidad presenta características específicas que permite al clínico identificarlas y diferenciar una de otra.

En el análisis de los 5 pacientes describimos de forma inicial las características clínicas relevantes. Cabe mencionar que en tres de ellos se integró entidad sindrómica, los 2 restantes presentan la displasia ectodérmica y las hendiduras faciales sin presentar datos clínicos específicos que permitieran englobarlos en una de las 200 entidades sindrómicas descritas. Solo uno de los pacientes tiene antecedentes familiares de esta patología; los demás son aparentemente casos *de novo* o primer caso en la familia.

En cuanto a los cambios encontrados en la secuencia del gen *TP63*, contamos con 3 polimorfismos, así como 2 mutaciones, las cuales no han sido previamente reportadas en la literatura. Aún falta completar la secuencia del gen completo, es decir, de los exones 2, 9-11 y 14 (Figura 10b).

Tomando en cuenta solo las posibles mutaciones, en el paciente 3 se encontró el cambio c.481G>A que corresponde a una mutación de sentido erróneo que condiciona una sustitución a nivel de aminoácido p.A161T el exón 5. De igual forma, en el paciente 4 se encontró el cambio c.1825G>A en el exón 14 que es una mutación de sentido erróneo que condiciona una sustitución de un aminoácido que corresponde a nivel de proteína p.Glu609Lys que ha sido reportado como SNP asociado a melanoma maligno pero no en pacientes con DE asociada a LPH según reporta la base de datos ClinVar.²⁸ La correlación genotipo-fenotipo no es posible, al igual que buscar su comparación con otros, ya que son mutaciones no reportadas previamente. Las dos mutaciones encontradas generan sustitución de

un ácido glutámico por una lisina, por lo que el cambio de un aminoácido ácido por uno básico se espera tenga repercusión en la proteína. Cuando el cambio se da a nivel del codón 255 se cree que interfiere con la actividad de promotor de la transcripción de la proteína esto porque se encuentra en el dominio de unión al DNA donde hay una región canónica de 22 pares de bases rica en adeninas y timinas lo cual a nivel de la proteína favorece en su estructura terciaria la formación de una superhélice y el cambio a este nivel condiciona rigidez por una inadecuada formación del tetrámero. El cambio a nivel del codón 609 solo se sabe que se encuentra entre el dominio SAM y el de transactivación, y que es considerado como patogénico. Por lo anterior al encontrar estos cambios inferimos que generarían afección a nivel del fenotipo, con dismorfias mayores y menores dentro de las descritas para el espectro de las displasias ectodérmicas por compromiso de la función de la proteína TP63, donde como ya se mencionó una de sus principales funciones es como promotor de la transcripción.

Sin embargo, sí hay reportes previos donde se ha logrado hacer la correlación fenotipo-genotipo con otras mutaciones en este gen las cuales mencionamos a continuación.

La mutación p.Arg227His se asocia con el síndrome EEC tipo 3. Esta mutación fue reportada en miembros de 3 familias diferentes con diagnóstico de EEC y fue identificada así mismo en 2 estudios previos en madre e hijo con síndrome de ADULT, por lo que se observa una considerable relación entre ambas entidades.²⁹

La duplicación de 11 pares de bases (1716dupCTCCCCTTCTC), que condiciona que la proteína incremente su tamaño en 26 aminoácidos, fue reportada en un paciente que presenta similares características clínicas del síndrome de Rapp Hodgkin y del síndrome de AEC. El paciente presentó al nacimiento anquilobléfaron bilateral y paladar hendido submucoso por lo que fue diagnosticado con el síndrome de la AEC, sin embargo, el paciente sólo presentaba un ligero eritema del cuero cabelludo. Al momento de reevaluar el caso a la edad de 11 años, se mostró dismorfia facial que incluyen sutura

metópica prominente, alas nasales hipoplásicas, nariz estrecha, hipoplasia del tercio medio facial con prognatismo relativo, así como hiperhidrosis y sindactilia, lo que sugirió el diagnóstico del síndrome de Rapp Hodgkin.³⁰

La mutación p.Arg227Pro se reportó en padre e hija tailandeses. La hija de 4 años presentaba pelo oscuro, seco y escaso, labio y paladar hendido, puente nasal deprimido, piel ligeramente seca y las uñas delgadas, manos hendidas y pie derecho hendido, así como sindactilia de los dedos cuarto y quinto. Su padre tenía el pelo oscuro normal, piel seca, mano hendida derecha, pulgar derecho bífido y contractura en flexión de la falange distal del dedo índice izquierdo, braquidactilia de segundos y uñas hipoplásicas. El compromiso dental del padre se manifestó con hipoplasia del esmalte, caries extensas dentales, hipodoncia de los caninos inferiores, microdoncia generalizada, crestas marginales prominentes incisivos superiores permanentes, molares permanentes de forma redonda e incisivos centrales superiores permanentes en forma de barril.³¹

La delección de un par de bases, 1783delC reportada en una madre y su hija con diagnóstico de síndrome de Rapp-Hodgkin se asocia con distrofia corneal y menopausia prematura. Esta mutación condiciona un cambio del marco de lectura que conlleva a una proteína con 22 aminoácidos más.³²

La mutación p.Pro127Leu fue reportada en una madre e hija de origen holandés quienes presentaron manifestaciones mínimas del síndrome de ADULT. Esta mutación no se logró identificar en 100 controles de origen holandés.³³

La mutación p.Arg97Cys se reportó en un paciente mexicano con diagnóstico de mano hendida, el cual además presentaba aplasia cutis. Esta última no se logró demostrarse su asociación con la mutación.³⁴

La mutación p.Arg298Gln identificada en pacientes con diagnóstico de síndrome de ADULT en miembros de 2 familias no relacionadas de origen italiano y holandés, presentaron manifestaciones clínicas como atelia/hipotelia, hipodontia e hiperlinealidad palmar, en las cuales no fue posible realizar una estricta correlación fenotipo-genotipo.³⁵

La delección de 2 pares de bases (1576delTT) identificada en el exón 13 que genera un codón de paro prematuro, se reportó en una paciente con ausencia de útero y ovarios, y perfil hormonal con hipergonadismo hipogonadotrófico, en quien se concluyó el diagnóstico de mama-extremidad.³⁶

La mutación Asp312Gly identificada en una paciente de origen japonés con diagnóstico de EEC3, donde se correlaciona junto con otros 2 reportes una asociación con linfoma maligno.³⁷

Finalmente, la mutación p.Val114Met reportada en un paciente con síndrome de ADULT quien presentaba braquidactilia y camptodactilia de quintos dedos, hipoplasia de rayos cubitales, y ano imperforado, lo que sugiere la superposición fenotípica con síndrome mama-extremidad.³⁸

CONCLUSIONES

Este es el avance de resultados del primer reporte de pacientes mexicanos con DE y LPH, en quienes se realiza la búsqueda de mutaciones en el gen *TP63*. Hasta el momento no hemos podido validar la identificación de las 2 mutaciones descritas, pero por un lado, no podemos descartar su peso en la explicación de las manifestaciones clínicas y por otro lado, esto no cambia el diagnóstico clínico debido a la propia heterogeneidad genética de dichas entidades. En dos de los 5 pacientes no se ha logrado identificar algún cambio en la secuenciación.

BIBLIOGRAFÍA.

- 1.- García M, Hernández M, Torrelo A. Displasias ectodérmicas: revisión clínica y molecular. *Actas Dermosifiliogr.* 2013;104(6):451-470.
- 2.- Granje D. Ectodermal Dysplasias. Genetic disorders. Vol 3. 3ª ed. España: Elsevier; 2007. p.3503-3513.
- 3.- Pecellín I, Reguera Y, Pecellín C, Delgado M, Valencia J, Santaella I, Neth O. Displasia ectodérmica anhidrótica asociada a déficit de lectina de unión a manosa. *An Pediatr Barc.* 2012;77(1):43-46.
- 4.- Priolo M. Ectodermal Dysplasias: An Overview and Update of Clinical and Molecular-Functional Mechanisms. *Am J Med Genet A.* 2013; 149(A):20-23.
- 5.- Singh C, Saxena C. Hypohidrotic Ectodermal Dysplasia. *Med J Armed Forces India.* 2014;30:1-4.
6. - Huttner K. Future Developments in XLHED Treatment Approaches. *Am J Med Genet A.* 2013; 164(A):2433–2436.
7. - Clarke A. Ectodermal Dysplasias. *Brenner's Encyclopedia of Genetics*, Vol 2. 2ª ed. España: Elsevier; 2013. p.448-450.
8. - Liu K, Huang C, Chao S. Anhidrotic ectodermal dysplasia A case series in a medical center in southern Taiwan. *Dermatologyc clinic.* 2012; 30:39-42.
9. - Dixon M, Marazita M, Beaty T, Jeffrey M. Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences. *Nat Rev Genet.* 2011;12:167-178.
10. - Salvia N, Stanier P. Genetics of cleft lip and/or cleft palate: Association with other common anomalies. *Eur J Med Genet.* 2014;57:381-393.
11. - Gildestad T, Bjørge T, Vollset S, Klungsøyr K, Roy Miodini Nilsen, Haaland O y Øyen N. Folic acid supplements and risk for oral clefts in the newborn: a population-based study. *Br J Nutr.* 2015;114:1456–1463.
- 12.- Allocati N, Ilio C, Laurenzi V. p63/p73 in the control of cell cycle and cell death. *Exp Cell Res.* 2012;318:1285–1290.

13. - Guerrini L, Costanzo A, Merlo G. A Symphony of Regulations Centered on p63 to Control Development of Ectoderm-Derived Structures. *J Biomed Biotechnol.* 2011;13:1-10.
14. - Morasso M, Radoja N. Dlx Genes, p63, and Ectodermal Dysplasias. *Birth Defects Res C.* 2005;75:163–171.
15. - Yao J, Chen J. Roles of p63 in Epidermal Development and Tumorigenesis. *Biomed J.* 2012;35(6):457-463.
16. - Costanzo A, Pediconi N, Narcisi A, Guerrieri F, Belloni L, Fausty F, Botti E, Levrero M. TP63 and TP73 in cancer, an unresolved “family” puzzle of complexity, redundancy and hierarchy. *FEBS Letters.* 2014;588:2590–2599.
17. - Chan I, McGrath J, Kivirikko S. Rapp–Hodgkin syndrome and the tail of p63. *Clin Exp Dermatol.* 2005;30:183–186.
18. - Dötsch V, Bernassola F, Coutandin D, Candi E, Melino G. p63 and p73, the Ancestors of p53. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010;2(9):a004887. doi: 10.1101/cshperspect.a004887.
19. - Graziano V, Laurenzi V. Role of p63 in cancer development. 2011;816:57–66.
20. - Barbaro V, Confalonieri L, Vallini I, Ferrari S, Ponzin D, Mantero G, Willoughby C, Parekh M, Iorio E. Development of an Allele-Specific Real-Time PCR Assay for Discrimination and Quantification of p63 R279H Mutation in EEC Syndrome. *JMD.* 2012; 14(1): 38-45.
21. - Koul M, Dwivedi R, Upadhyay V. Ectrodactyly-ectodermal dysplasia clefting syndrome (EEC syndrome). *J Oral Biol Craniofac Res.* 2014;4:135-139.
22. - Fernandes B, Ruas E, Machado A, Figueiredo A. Ectrodactyly Ectodermal Dysplasia-Clefting Syndrome (EEC): Report of a case with perioral papillomatosis. *Pediatr Dermatol.* 2002; 19(4): 330-332.
23. - Bigata X, Bielsa I, Artigas M, Azón A, Ribera M, Ferrandiz C. The Ectrodactyly-Ectodermal Dysplasia-Clefting Syndrome (EEC): Report of five cases. *Pediatr Dermatol.* 2003;20(2):113-118.

24. - Gün I, Kizilaslan C, Atalay M. Familial ectrodactyly–ectodermal dysplasia–clefting syndrome. *Gynecology and Obstetrics*. 2012;1:86-87.
25. - Macias E, Carlos F, Cobo J. Hay–Wells syndrome (AEC): a case report. *Oral Dis*. 2006;12:506–508.
26. - S. Mundlos, D. Horn, Split Hand/Foot Malformation (SHFM), Syndromic, p63 Associated. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2014;1:232-234.
27. - Berk D, Armstrong N, Shinawi M, Whelan A. ADULT syndrome due to an R243W mutation in TP63. *International Journal of Dermatology*. 2012;51:693–696.
- 28.- Ncbi.nlm [internet]. Estados Unidos: NHGRI/NIH; 2012 [actualizado 6 Ene 2016; citado 23 diciembre 2015] Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/8626>.
29. -Reisler T, Patton A, Meagher J. Further phenotypic and genetic variation in ADULT syndrome. *Am J Med Genet*. 2006;140(A):2495-2500.
- 30.- Prontera P, Escande F, Cocchi G, Donti E, Martini A, Sensi A. An intermediate phenotype between Hays-Wells and Rapp-Hodgkin síndromes in a patient with a novel p63 mutation: confirmation of a variable phenotypic spectrum with a common aetiology. *Genet Counsel*. 2008;19:397-402.
31. - Sripathomsawat W, Tanpaiboon P, Heering J, Dotsch V, Hennekam M, Kantaputra, P. Phenotypic analysis of Arg227 mutations of TP63 with emphasis on dental phenotype and micturition difficulties in EEC syndrome. (Letter) *Am J Med Genet*. 2011;155A:228-232.
32. - Holder M, Martin D, Escande F, Manouvrier S. A new mutation in TP63 is associated with age-related pathology. *Europ J Hum Genet*. 2007;15:1115-1120.
33. -Van Z, Van S. A novel TP63 mutation in a family with ADULT syndrome presenting with eczema and hypohelia. *Am J Med Genet*. 2009;149(A):1558-1560.
34. - Zenteno J, Berdon V, Kofman S, Mutchinick O. Isolated ectrodactyly caused by a heterozygous missense mutation in the transactivation domain of TP63. *Am J Med Genet*. 2005;134(A):74-76.

35. - Rinne T, Hamel B, Van H, Brunner H. Pattern of p63 mutations and their phenotypes update. *Am J Med Genet.* 2006;140(A):1396-1406.
- 36.- Van H, Hamel B, Bamshad M, Sangiorgi E, Gurrieri F, Duijf P, Vanmolkot K.p63 gene mutations in EEC syndrome, limb-mammary syndrome, and isolated split hand-foot malformation suggest a genotype-phenotype correlation. *Am J Hum Genet.* 2001;69:481-492.
37. - Akahoshi K, Sakazume S, Kosaki K, Ohashi H, Fukushima Y. EEC syndrome type 3 with a heterozygous germline mutation in P63 gene and B cell lymphoma. *Am J Med Genet.* 2003;120(A):370-373.
38. - Slavotinek A, Tanaka J, Winder A, Vargevik K, Haggstrom A, Bamshad M. Acro-dermato-ungual-lacrima-tooth (ADULT) syndrome:report of a child with phenotypic overlap with ulnar-mammary syndrome and a new mutation in TP63. *Am J Med Genet.* 2005;138(A):146-149.