



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN
"LUIS GUILLERMO IBARRA IBARRA"
ESPECIALIDAD EN:
GENÉTICA MÉDICA

TÍTULO

"IDENTIFICACIÓN DE NUEVA VARIANTE PATOGENICA EN EL GEN *TGM1*, EN PACIENTES CON ICTIOSIS LAMINAR, EN LA REGIÓN DE LAS ALTAS MONTAÑAS DE VERACRUZ: ANÁLISIS CLÍNICO Y MOLECULAR".

TESIS

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
MÉDICO ESPECIALISTA EN:
GENÉTICA MÉDICA

PRESENTA:

JUAN CARLOS MORALES MORFÍN

PROFESOR TITULAR:

DRA. EN C. MARÍA DE LA LUZ ARENAS SORDO

ASESOR CLÍNICO:

M. EN C. NORBERTO LEYVA GARCÍA

ASESOR METODOLÓGICO:

DR. EN C. HERNÁN CORTÉS CALLEJAS





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

COMITÉ ACADÉMICO

IDENTIFICACIÓN DE NUEVA VARIANTE PATOGENICA EN EL GEN *TGM1*, EN PACIENTES
CON ICTIOSIS LAMINAR, EN LA REGIÓN DE LAS ALTAS MONTAÑAS DE VERACRUZ:
ANÁLISIS CLÍNICO Y MOLECULAR.

DRA. EN C. MARÍA DE LA LUZ ARENAS SORDO
PROFESORA TITULAR

M. EN C. NORBERTO LEYVA GARCÍA
ASESOR CLÍNICO

DR. EN C. HERNÁN CORTÉS CALLEJAS
ASESOR METODOLÓGICO

FIRMAS DE LAS AUTORIDADES DE LA DIRECCIÓN EN EDUCACIÓN EN SALUD

IDENTIFICACIÓN DE NUEVA VARIANTE PATOGENICA EN EL GEN *TGM1*, EN PACIENTES
CON ICTIOSIS LAMINAR, EN LA REGIÓN DE LAS ALTAS MONTAÑAS DE VERACRUZ:
ANÁLISIS CLÍNICO Y MOLECULAR.

DRA. MATILDE L. ENRÍQUEZ SANDOVAL
DIRECTORA DE EDUCACIÓN EN SALUD

DR. HUMBERTO VARGAS FLORES
SUBDIRECCIÓN DE EDUCACIÓN MÉDICA

DR. ROGELIO SANDOVAL VEGA GIL
JEFE DEL SERVICIO DE EDUCACIÓN MÉDICA DE POSGRADO

Índice

RESUMEN	7
INTRODUCCIÓN	8
MARCO TEÓRICO	9
Generalidades del sistema tegumentario: La piel como órgano	9
Histología cutánea	9
Epidermis	9
Estrato basal.....	10
Estrato espinoso/escamoso	11
Estrato granuloso	12
Estrato lúcido	12
Estrato córneo.....	13
Unión dermoepidérmica.....	14
Dermis.....	14
Hipodermis.....	15
Embriología del sistema tegumentario	15
Cronología de eventos	16
Funciones de la piel: Generalidades.....	17
Fisiología de la queratinización (Maduración)	17
Queratinas	19
Genética y clasificación.....	20
Estructura proteica	22
Funciones de las queratinas	23
Desmosomas	25
Otros componentes y precursores de la envoltura cornificada.....	27
Involucrina	28
Loricrina	29
SPR	29

Cistatina y elafina.....	29
Filagrina.....	30
Proteínas S100 y anexina 1	30
Sitio de expresión de precursores	31
Transglutaminasas (TGs)	32
Genética y clasificación.....	32
Estructura proteica	34
Bioquímica enzimática conocida	34
Otras actividades de las TGs	38
Sitios de expresión y actividad.....	40
Transglutaminasa 1	40
Genética.....	40
Expresión y fisiología	41
Aspectos clínicos y genéticos de las ictiosis congénitas autosómico recesivas (ICAR)	43
Definición.....	43
Epidemiología	43
Clínica.....	43
Etiología	45
Correlación genotipo-fenotipo	45
Diagnóstico	47
Tratamiento	48
JUSTIFICACIÓN.....	49
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	49
OBJETIVO GENERAL	50
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	50
MATERIALES Y MÉTODOS	51
DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN: TRANSVERSAL DESCRIPTIVO.....	51
Identificación de pacientes y familiares.....	51

Secuenciación de exoma completo.....	51
Secuenciación Sanger	52
Modelado molecular de la proteína TGM1 mutante	52
DESCRIPCIÓN DEL UNIVERSO DE TRABAJO	53
CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	54
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	54
CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.....	54
RECURSOS MATERIALES.....	54
RECURSOS HUMANOS	55
TAMAÑO DE LA MUESTRA	55
CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	56
RESULTADOS	57
Características clínicas.....	57
Identificación de la nueva mutación en <i>TGM1</i>	59
Hallazgos epidemiológicos	60
Posible participación de la variante c.1054 en la conformación de TGM1.....	61
DISCUSIÓN	65
CONCLUSIONES	68
REFERENCIAS.....	68
LISTA DE CUADROS	84
LISTA DE FIGURAS.....	84

RESUMEN

La ictiosis congénita autosómico recesiva describe un espectro de enfermedades cutáneas con severidad clínica variable, caracterizadas por el desarrollo de hiperqueratosis. Se ha descrito una prevalencia mundial variable. La prevalencia más alta a nivel mundial, descrita antes del presente estudio, es la de la costa de Galicia (1 de cada 33,000 individuos). Describimos la identificación de una nueva variante patogénica en el gen *TGM1*, en múltiples pacientes, residentes de diversas comunidades de la región de las Altas Montañas de Veracruz. La detección de la variante se realizó mediante secuenciación de exoma y validación mediante secuenciación Sanger. Reportamos la prevalencia más alta de ICAR a nivel mundial (1 de cada 1,348 individuos). Para determinar la naturaleza patogénica de la variante se realizó un análisis de dinámica molecular, determinando perturbación de la motilidad de la proteína mutante, respecto a la silvestre; lo cual permite determinar, en conjunto con la asociación clínica, que la variante patogénica influye negativamente sobre la función de la proteína.

INTRODUCCIÓN

El término **ictiosis** hace referencia a un grupo de trastornos hereditarios y adquiridos, caracterizados por **hiperqueratosis** (engrosamiento de la capa superficial de la piel).

El nombre deriva del griego “*ἰχθύς*” (ichthys), que significa pez.

Avicena la definió como “nigra albarras”.

Durante el siglo XIX, en india y china se le conocía como enfermedad de piel de serpiente o de escamas de pez.

La primera descripción de la ictiosis documentada en la literatura médica, fue el trabajo “**On cutaneous diseases**” por Wilian y colaboradores (1), en 1908.

La principal manifestación clínica es la formación de **escamas cutáneas**, las cuales dan un aspecto grueso a la piel (1,2).

Se han identificado distintas causas genéticas, incluyéndose la ictiosis vulgar, las **ictiosis congénitas autosómicas recesivas (ICAR)**, la hiperqueratosis epidermolítica y la ictiosis ligada al X (XLI), entre otras.

En el presente documento se describe la detección de una nueva **variante patogénica (VP** o Mutación) en el gen de la transglutaminasa 1 (**TGM1**) (gen perteneciente al grupo de las ICAR), la cual se detectó en un amplio grupo de pacientes, originarios de diversos municipios pertenecientes a la región de las Altas Montañas de Veracruz, México.

Se describe igualmente la repercusión molecular de la variante a nivel de la proteína y se reporta un análisis de la repercusión de la enfermedad sobre la calidad de vida en los pacientes afectados.

MARCO TEÓRICO

Generalidades del sistema tegumentario: La piel como órgano

El **sistema tegumentario**, en conjunto, está compuesto por la **piel** y por sus estructuras secundarias (**anexos cutáneos**). El sistema está formado por varios tipos de tejido, incluidos: **tejido epitelial** (Epidermis y glándulas), **tejido conjuntivo**, **músculos**, **vasos sanguíneos** y **tejido nervioso**.

La piel representa el mayor órgano corporal en cuanto peso y volumen (aproximadamente **15% del peso del adulto**). Esta forma una cubierta continua sobre el cuerpo, excepto a nivel de los orificios naturales, en los cuales se continúa con las mucosas.

Debido a los pliegues que presenta, la superficie promedio es de 16,000-20,000 cm² (**1.6-2 m²**).

En función de su grosor, la piel se clasifica en **piel gruesa** (Grosor de **400-600 µm**; Presente en palmas y plantas) y en **piel delgada** (Resto de localizaciones).

Histología cutánea

La piel se divide en **3 capas básicas**: **Epidermis** (Superficial), **dermis** e **hipodermis** (Profunda) (Ver **Figura A**) (3).

Epidermis

La **epidermis** consiste en un **epitelio escamoso estratificado y queratinizado**, compuesto en su mayoría por células denominadas **queratinocitos** (4,5), los cuales comprenden el **80%** del total de células de la epidermis.

El espesor de la epidermis varía. En los párpados, la epidermis mide menos de **.1 mm**, mientras que en palmas y plantas puede alcanzar **1.5 mm** de espesor.

La epidermis es avascular. Los nutrientes se liberan en el tejido mediante difusión de líquidos desde la dermis.

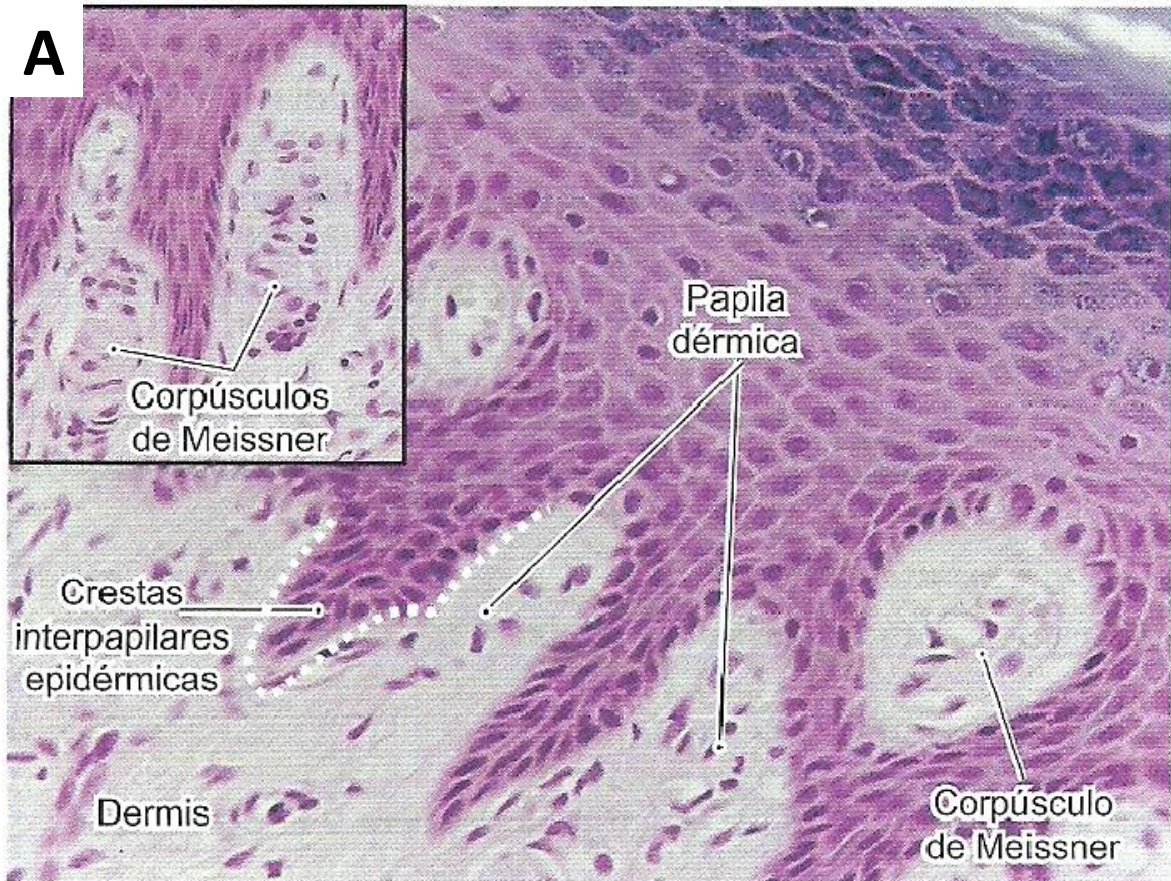


Figura A: Corte histológico teñido con hematoxilina y eosina, visualizado mediante microscopía de luz. Se puede apreciar la unión dermoepidérmica (línea punteada). Profundamente a esta, la dermis, de aspecto claro; y superficialmente la epidermis, teñida más intensamente.

Se distinguen **5 capas o estratos en la epidermis** (Ver **Figura B**) (3).

Estrato basal

Capa más profunda (En contacto con la dermis). Consiste en **una sola capa de células cúbicas** o cúbicas alargadas. Muchas de estas células son **embrionarias**, es decir, se dividen de forma activa y originan las células de las capas superficiales. Se necesitan de **3-4 semanas** para que los queratinocitos terminen su ciclo de renovación.

Existen también en este estrato, los **melanocitos**, localizados al nivel o justo por encima del estrato basal. Estos producen gránulos de **melanina**, los cuales insertan en los queratinocitos. La melanina protege a las células, en particular al núcleo, de los efectos mutágenos de la **luz UV**.

Otras células del estrato son las **células de Merkel** (Denominadas también complejos axonales de las células de Merkel o Discos de Merkel). Estas son **células receptoras táctiles**, que establecen contactos sensitivos con terminaciones nerviosas sensitivas, respondiendo a estímulos táctiles continuos. Poseen gránulos citoplasmáticos con neurotransmisores.

Estos 2 tipos celulares (Melanocitos y células de Merkel), junto con las **células de Langerhans** (Localizadas en el estrato espinoso), poseen un citoplasma claro y se denominan como **células claras** de la piel.

Las células basales de la epidermis originan también los **anexos cutáneos** (foliculos pilosos, uñas y glándulas). Algunos anexos cutáneos se extienden hasta la hipodermis.

Las células adyacentes se mantienen conectadas entre sí por **desmosomas**, los cuales son conexiones intercelulares especializadas en la cohesión y comunicación intercelular.

Estrato espinoso/escamoso

Formado por **5-10** capas de **queratinocitos poliédricos** (Denominados también, **células espinosas**) que se aplanan en la parte superficial de la capa. La capa espinosa se caracteriza por células que contienen múltiples desmosomas.

Las **células de Langerhans** (Macrófagos presentadores de antígeno) se localizan en esta capa. Los **tonofilamentos** (Filamentos proteicos citoplasmáticos que forman parte del citoesqueleto celular) se vuelven más densos en el estrato espinoso, en comparación con el basal; estos giran en torno a la **placa de anclaje** (Porción intracelular de los desmosomas).

El estrato basal y espinoso son los únicos con células mitóticamente activas y en conjunto se denominan como **capa germinativa**.

Estrato granuloso

En piel delgada solo se ve una única capa de células, siendo esta capa más prominente en la **piel gruesa**.

Los queratinocitos del estrato granuloso adoptan una **morfología aplanada y más ancha** que las del estrato espinoso y presentan gránulos basofílicos de **queratohialina** en su citoplasma (Estos gránulos son basófilos en los cortes teñidos con hematoxilina y eosina). Estos gránulos contienen también otras proteínas y lípidos. Algunos gránulos contienen precursores de la **envoltura cornificada**, los cuales son depositados sobre la superficie interna de la envoltura cornificada en desarrollo (6,7).

Los tonofilamentos son más densos y se hallan en asociación con los gránulos de queratohialina. El **gránulo laminar** (También llamado cuerpo de Odland o queratinosoma), se forma en la parte superficial del estrato espinoso y en el granuloso.

Estrato lúcido

Solo se encuentra en **piel gruesa**. Consta de capas de **células aplanadas**, densamente empaquetadas. Cuando estas células empiezan a degenerar, los núcleos se vuelven **picnóticos** (núcleos en degeneración).

En algunas bibliografías se usa el término de **zona transicional** (Distinta a estrato lúcido), para delimitar una zona de remodelamiento extensivo que marca la transición entre epidermis viva y muerta. En esta región, los organelos intracelulares son destruidos por proteasas y nucleasas. De manera concomitante con esta destrucción, ocurre el ensamblado de la envoltura cornificada y la estabilización de los haces de **filamentos intermedios**. El resultado de este proceso es la construcción de la capa epidérmica más externa, compuesta de corneocitos.

Los gránulos de queratohialina descargan su contenido en la unión de las capas granular y cornificada y forman la **barrera de permeabilidad** (8,9). Al mismo tiempo, la unidad interna de la membrana celular se engrosa formando la envoltura cornificada. Diversas proteínas

contribuyen a esta estructura, estas incluyen a la **involucrina**, **loricrina**, **periplaquina**, **envoplaquina**, entre otras (10,11); las cuales se mencionarán más adelante.

Estrato córneo

Capa más superficial. Este estrato es particularmente prominente en **piel gruesa** (Unas 10 veces más grueso que en piel delgada).

Contiene numerosas células aplanadas, llenas de **queratina** (Red de filamentos intermedios de queratina con los que se entrecruza la filagrina); denominadas también como **corneocitos**. Estas células **carecen de núcleo y de organelos**, tratándose prácticamente de **células muertas**. La queratina y los desmosomas que se mantienen en las células explican la resistencia mecánica de la epidermis. Los corneocitos se tornan compactos y deshidratados.

En las células cornificadas, la membrana celular se reemplaza por un material proteínico covalentemente entrecruzado con los filamentos de queratina, proveyendo una estructura altamente insoluble y flexible que protege las células epiteliales subyacentes.

Ultraestructuralmente, las células del estrato córneo se componen de filamentos densamente empaquetados, desarrollados a partir de los **tonofilamentos**, alterados y cubiertos por la proteína **filagrina** (Proteína básica de los gránulos de queratohialina).

Los gránulos de queratohialina desaparecen en el estrato córneo.

En esta capa se forman **surcos** y **crestas**, los cuales conforman un patrón característico en distintas áreas como los **dermatoglifos** (Huellas dactilares). Con el envejecimiento, histológicamente, el epitelio se adelgaza, y un suavizado de la interfaz de tejido conjuntivo epitelial resulta en el aplanamiento de las crestas epiteliales.

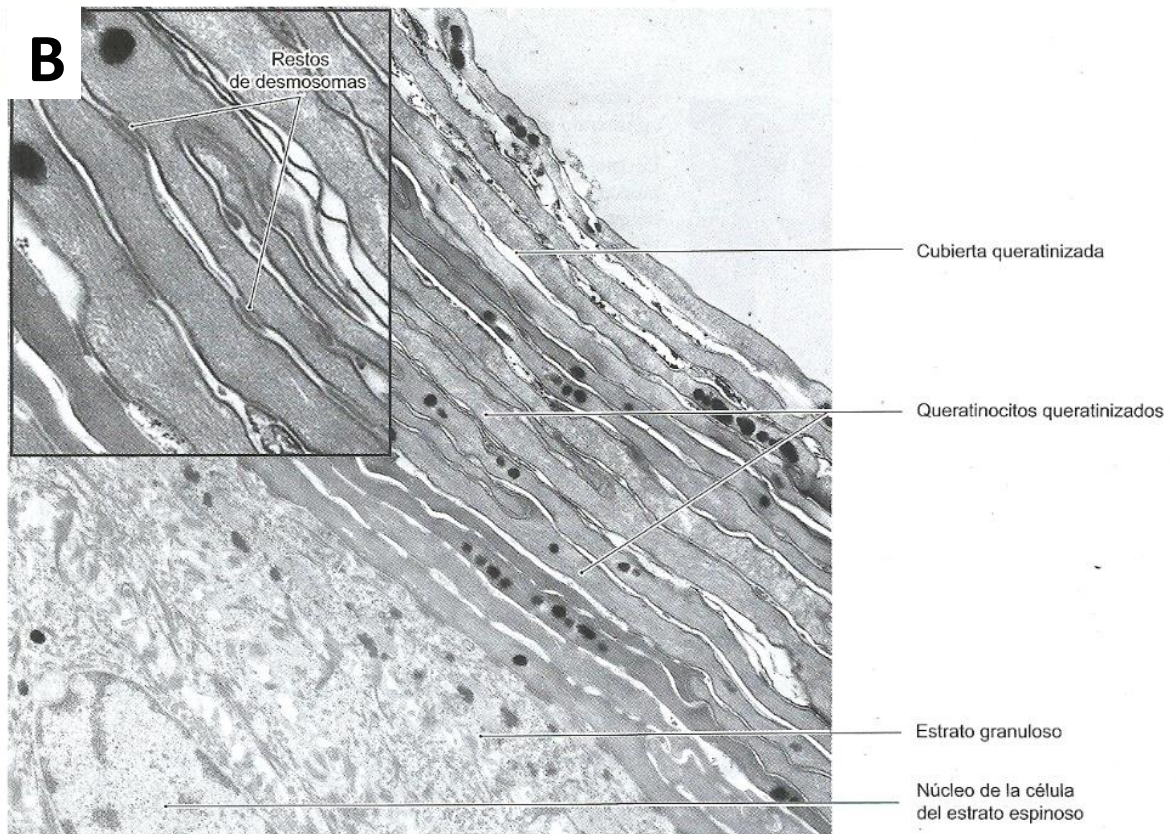


Figura B: Imagen de microscopía electrónica. Se ilustran las células presentes en los diversos estratos epidérmicos, así como una ampliación en la que se observan las uniones desmosomales presentes entre los queratinocitos del estrato corneo.

Unión dermoepidérmica

El límite entre la epidermis y la dermis se extiende en pliegues. La parte de la dermis que se proyecta hacia la epidermis se denomina **papila dérmica**, y la parte de la epidermis que se proyecta hacia la dermis se denomina **cresta interpapilar epidérmica**.

Dermis

Capa situada profundamente en relación a la epidermis, compuesta principalmente por **tejido conjuntivo** (Rico en **colágeno tipo 1** y **fibras elásticas**; las cuales aportan resistencia y elasticidad a la piel).

La dermis es más gruesa en la espalda, donde es de **30-40** veces más gruesa que la epidermis de esa región. Posee diversos tipos de tejido, entre los que se incluyen: **vasos sanguíneos, nervios y receptores sensitivos aferentes**, así como **corpúsculos de Meissner** (responsables del **tacto discriminatorio**; son más numerosos en piel gruesa, particularmente en las puntas de los dedos) y **terminaciones nerviosas libres** (Dolor o temperatura).

Se divide a su vez en 2 capas: **Capa papilar superficial** y **capa reticular profunda** (Capa gruesa de tejido conjuntivo irregular denso).

Las fibras elásticas se hacen más delgadas en dirección a la epidermis. Estas se clasifican en 3 tipos, según su contenido de microfibrillas y elastina: 1) **Fibras elásticas**: Las más gruesas, contienen sobre todo elastina. 2) **Fibras de elastina**: Tamaño intermedio, poseen pequeñas cantidades de elastina amorfa. 3) **Fibras de oxitalan**: Las más delgadas, formadas sólo por microfibrillas.

Hipodermis

Denominado también como **tejido celular subcutáneo**. Representa una capa de transición (Subcutánea) situada por debajo de la dermis, formada por tejido conjuntivo laxo, **tejido adiposo**, nervios, arterias y venas.

Aquí se sitúan los **corpúsculos de Pacini (Vibración)**. Estos se encuentran tanto en piel gruesa como delgada, pero son más numerosos en las puntas de los dedos de manos y pies.

Embriología del sistema tegumentario

La piel se desarrolla a partir del **ectodermo** y **mesodermo**.

Las células epiteliales de la **epidermis** son derivados del **ectodermo superficial**; mientras que las células de Langerhans, la dermis y la hipodermis se forman a partir del **mesénquima**, el cual a su vez procede del **mesodermo** subyacente al ectodermo superficial.

La mayor parte del mesénquima que se diferencia en el tejido conjuntivo de la dermis procede de la capa somática del **mesodermo lateral**, aunque una parte deriva de los dermatomas de los **somitas**.

Los melanocitos y las células de Merkel se forman a partir de células de la **cresta neural**.

Cronología de eventos

Unas **4 semanas** después de la concepción, el embrión está cubierto por una sola capa de células ectodérmicas, dispuestas sobre el tejido mesenquimatoso. Al cabo de **5 semanas**, la epidermis tiene 2 capas de células: la **capa superficial** de epitelio escamoso (**Peridermo**) y la **capa basal (Germinal)**.

Las células del peridermo sufren queratinización y descamación continuas; en el feto forman el unto sebáceo (**vérnix caseoso**), el cual protege a la piel del feto de las altas concentraciones de urea en el líquido amniótico.

A los **2-3 meses**, las células basales se dividen con rapidez y la epidermis adquiere el grosor de varias capas (Las crestas epidérmicas se forman alrededor de la décima semana). Al mismo tiempo, el mesénquima se diferencia en un tejido conjuntivo más maduro con vasos sanguíneos. Hacia la semana 11, las células mesenquimatosas han comenzado a producir fibras de colágeno y tejido conjuntivo elástico.

A los **4 meses**, las células de la **cresta neural** migran hacia la capa basal de la epidermis y se diferencian en melanocitos y células de Merkel. La señalización **Wnt** regula este proceso.

A los **5 meses** empiezan a formarse los **anexos** (Folículos pilosos y glándulas). Una acumulación de células basales forma un pliegue denominado **yema epidérmica**, que se proyecta hacia la dermis. Estas células se diferenciarán en los anexos.

A las **21 semanas**, el peridermo desaparece y se forma el estrato córneo.

Funciones de la piel: Generalidades

- 1) **Protección:** Evitando que los tejidos internos se vean afectados por agentes físicos (Traumatismos, radiación, luz solar), químicos o biológicos.
- 2) Regulación de la **hidratación:** Formando una barrera impermeable a líquidos.
- 3) Regulación de la **temperatura:** La evaporación del sudor, así como la dilatación de la red capilar y de las anastomosis (comunicaciones arteriovenosas), ayudan a regular la temperatura corporal.
- 4) Función **somatosensitiva:** Los receptores sensitivos de la piel transforman la energía física en potenciales de acción que son transportados por nervios periféricos hasta el SNC, donde se generan las sensaciones del tacto, presión, dolor, calor, frío, vibración, etc.
- 5) Función **inmunitaria:** Las **células de Langerhans** y **linfocitos** de la piel, entre otras células, contribuyen a la respuesta inmune cutánea.
- 6) Producción de **vitamina D**.

Fisiología de la queratinización (Maduración)

La queratinización, también llamada **cornificación**, es un proceso de diferenciación celular que sufren los **queratinocitos**, a través del cual pasan de su estado post germinativo (Estrato basal) a uno completamente diferenciado, endurecido, con células llenas de proteínas, constituyendo el **estrato córneo**.

Existen 2 tipos de poblaciones celulares durante la queratinización: población **progenitora** y población en **maduración**. Tras cada división, la célula hija puede mantenerse en la población progenitora o cambiar a la de maduración. A medida que las células se mueven hacia arriba en el epitelio, pierden la capacidad de proliferación.

El proceso de migración desde la capa basal hasta la superficie se conoce como **maduración**. Cuando entran a la vía de **maduración**, los queratinocitos sufren diferenciación y se comprometen a cambios bioquímicos y morfológicos. Al final del proceso de diferenciación, la célula muerta llena con proteínas densamente empaquetadas contenidas dentro de una membrana celular endurecida. Tras llegar a la superficie, las células sufren descamación.

El tiempo que le toma a una célula dividirse y pasar a través del epitelio se estima entre **52-75 días en la piel**, 4-14 días en intestino, 41-75 en encías y mejillas.

Existen numerosos **factores que controlan la diferenciación** de queratinocitos, incluidos:

1. Los metabolitos activos de **vitamina D3** actúan en una vía autocrina para disminuir la proliferación queratinocítica y para incrementar la diferenciación celular.
2. **EGF** (Factor de crecimiento epidérmico) y **TGF- α** (Factor de crecimiento transformante alfa), ejercen un efecto mitogénico en las células basales a través de las interacciones con receptores EGF (Mucosa oral).
3. El **KGF** (Factor de crecimiento queratinocítico), miembro de la familia de FGF, producido por los fibroblastos de la lámina propia. Este ejerce un fuerte estímulo para la proliferación epitelial. La **IL-1 β** (interleucina 1- β) e **IL-6** (interleucina 6), pueden incrementar la proliferación queratinocítica estimulando la producción de KGF.
4. El **factor de crecimiento de hepatocitos** es otro factor paracrino que se origina en el tejido conectivo, el cual estimula la proliferación y migración de queratinocitos.
5. **TGF- β** inhibe la síntesis de DNA en células basales y promueve la diferenciación terminal. Este se secreta por las células basales y suprabasales.

6. En mucosa oral, altos niveles de **vitamina A** causan que el epitelio cornificado normal sufra metaplasia mucosa. La deficiencia de vitamina A causa el efecto opuesto, metaplasia escamosa.
7. El **calcio** juega un rol importante en la diferenciación queratinocítica (Se menciona a detalle más adelante).

Algunas enzimas apoptóticas como la **caspara-3**, se activan en células cornificadas en la transición entre la capa granular y cornificada. La enzima caspara-3 puede involucrarse en el desmantelamiento del núcleo y los organelos. La proteasa apoptótica caspara-14 no se activa en células de la matriz ungueal, indicando diferencias en los procesos de queratinización suave o rígida.

Queratinas

El **citoesqueleto** de una célula está compuesto por **microtúbulos** (20-25 nm de diámetro), **filamentos intermedios** (7-12 nm) y **microfilamentos** (4-7 nm).

Los **filamentos intermedios** mantienen la integridad estructural de los queratinocitos (Y de muchas otras células del cuerpo). Estos sirven de andamio para el citoesqueleto, agregándose en haces que varían en diámetro.

La **queratina** es la proteína típica que conforma los filamentos intermedios en los queratinocitos de los epitelios en vertebrados. Dentro de las diversas familias y subfamilias de proteínas que componen los filamentos intermedios, la queratina es importante debido a su alta diversidad molecular.

Las **queratinas** son las **proteínas más abundantes** en el corneocito, constituyendo el **85%** del total de proteínas celulares. Esta proteína es insoluble y fibrosa y contiene una alta proporción de **cisteína**.

Lo que se conoce macroscópicamente como queratina, en realidad es una mezcla de queratinas, proteínas asociadas a filamentos de queratina y otras enzimas derivadas de células epiteliales.

La microscopía electrónica revela que la queratina consiste en agregados de finas fibras, esencialmente similares a los **tonofilamentos** en las células profundas del epitelio. Los filamentos probablemente se unen entre sí por las mismas fuerzas atrayentes que operan entre todos los polipéptidos, sin embargo, la presencia de un número apreciable de **puentes disulfuro** es una característica importante.

Genética y clasificación

En humanos, las queratinas **se codifican por 54 genes**. Existen **30 familias** divididas en **2 grupos** principales: **Tipo 1 o ácidas** (Incluidas K9-K20), **tipo 2 o básicas** (K1-K8). Existen 28 tipos de queratinas tipo 1 (17 epiteliales y 11 del cabello) y 26 tipo 2 (20 epiteliales y 6 del cabello).

En el genoma humano, los genes para queratina se encuentran agrupados en 2 sitios: locus **17q21.2** (Queratinas tipo 1, excepto K18) y locus **12q13.13** (Queratinas tipo 2). Los genes para queratinas se designan **KRT1**, **KRT2**, etc. (Ver **Figura C**) (12).

Las queratinas y proteínas asociadas a estas son importantes marcadores diagnósticos. Las queratinas se expresan en un patrón altamente específico relacionado con su tipo epitelial y nivel de diferenciación. Su expresión es **región-específica** y **diferenciación-específica**. Como dato interesante, algunas queratinas pueden expresarse diferencialmente en tumores, y se conservan bastante bien respecto a su origen original, pudiendo emplearse en el diagnóstico inmunohistoquímico de carcinomas.

C

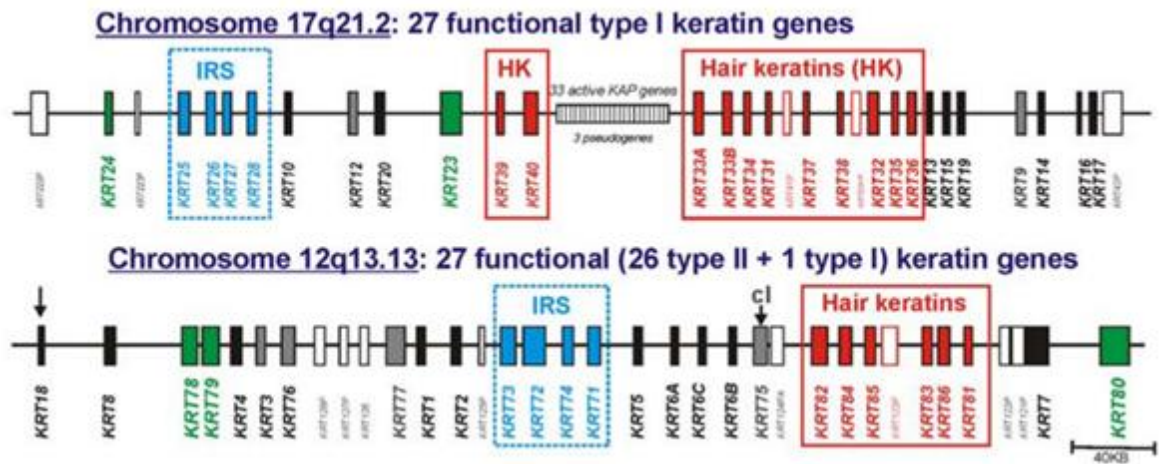


Figura C: Representación esquemática de los loci que albergan a las diversas familias de queratina.

Los distintos tipos de queratina varían en el número y secuencia de sus aminoácidos, así como en su polaridad, carga y tamaño.

Otras maneras de clasificar las queratinas, además de su pH, incluyen:

- 1) **Síntesis preferencial:** **Queratinas primarias** (Queratinas que siempre se sintetizan por células epiteliales, por ejemplo, K8/18 en epitelios simples y K5/14 es epitelios estratificados) y **queratinas secundarias** (Producidas por células epiteliales en adición a las queratinas primarias, por ejemplo, K7/19 en epitelio simple y 6/16 en epitelio estratificado).
- 2) Basado en su **peso molecular:** **Peso bajo** (Epitelios glandulares y simples), **intermedias** (Epitelios estratificados), **alto** (Epitelios estratificados queratinizados). El rango de peso molecular de las queratinas varía entre **44-64 kDa**.

Durante la diferenciación epidérmica, las queratinas de bajo peso molecular de la capa basal (K5/K14), son remplazadas por queratinas de alto peso molecular (K1/K10/K11), las cuales pueden emplearse como marcadores de queratinización.

3) **Distribución: Blandas** (Piel y mucosa), **duras** (Uñas y cabello). Las uñas y el cabello están compuestas por subfamilias separadas de queratinas, denominadas **queratinas del pelo** (13,14). Estas difieren de las queratinas epiteliales debido a su alto contenido de azufre en los dominios N y C-terminal, lo cual es responsable del alto grado de entrecruzamiento filamentoso de las proteínas asociadas a queratina. De las 52 queratinas, 26 se expresan en el folículo piloso.

Estructura proteica

La estructura primaria de aminoácidos varía en número y secuencia de los mismos, lo cual modifica sus propiedades de polaridad, carga y tamaño.

La secuencia primaria de aminoácidos (Recién codificada) es ligeramente más larga que la de la queratina madura, lo cual indica la presencia de modificaciones postraduccionales antes de la formación de filamentos de queratina. Las **modificaciones postraduccionales** incluyen formación de puentes disulfuro, fosforilación, glicosilación, desaminación o formación de puentes inter/intra-cadena.

Todas las proteínas que forman filamentos intermedios poseen una **estructura secundaria tripartita**, la cual consiste en un **dominio principal N-terminal (Cabeza)** (Aproximadamente 320 aminoácidos), un **dominio central α -helicoidal** y un **dominio C-terminal (Cola)**. Los últimos 2 dominios poseen longitud variable, según el tipo de queratina. En las queratinas, estos 3 dominios se dividen en subdominios.

El dominio **N-terminal** consiste en 2 subdominios **V1** y **H1**. El dominio **central α -helicoidal** se compone de los subdominios **1A**, **1B**, **2A** y **2B**, conectados por los enlazadores **L1**, **L12** y **L2**. El dominio **C-terminal** se compone de los subdominios **H2** y **V2** (15–17).

Todas las proteínas que forman filamentos intermedios pueden autoensamblarse en haces de filamentos.

La **estructura terciaria** de las queratinas es un **heterodímero** compuesto por los dominios α -helicoidales (Dominio crítico para el ensamblaje de filamentos intermedios) de una queratina ácida y otra básica, dispuestas en una orientación paralela.

Las queratinas se caracterizan por la capacidad de formar **estructuras cuaternarias complejas**, incluyendo la formación de tetrámeros, octámeros y filamentos de longitud unitaria.

Funciones de las queratinas

Fundamentalmente **influyen la arquitectura y actividad mitótica de las células epiteliales**. Las queratinas y filamentos asociados **proveen un andamiaje para que las células epiteliales y tejidos soporten el estrés mecánico**, mantengan su integridad estructural, protegen contra variaciones en la presión hidrostática y establecen polaridad celular (18).

En algunos epitelios, los filamentos de queratina están conspicuamente dispuestos como **tonofilamentos**. Dentro de la célula, trenzan alrededor del núcleo, fijándolo, se expanden a lo largo del citoplasma y se anclan a los **desmosomas** y **hemidesmosomas** (estructuras que se analizarán más adelante) en la periferia celular (Ver **Figura D**) (12). Estas características sugieren que las queratinas desempeñan un rol importante en la integridad y estabilidad mecánica de los tejidos epiteliales.

Los epitelios simples (no estratificados) de los órganos internos, los cuales experimentan poco estrés mecánico, poseen pocos miembros de filamentos de queratina, distribuidos escasos y dispersamente por el citoplasma.

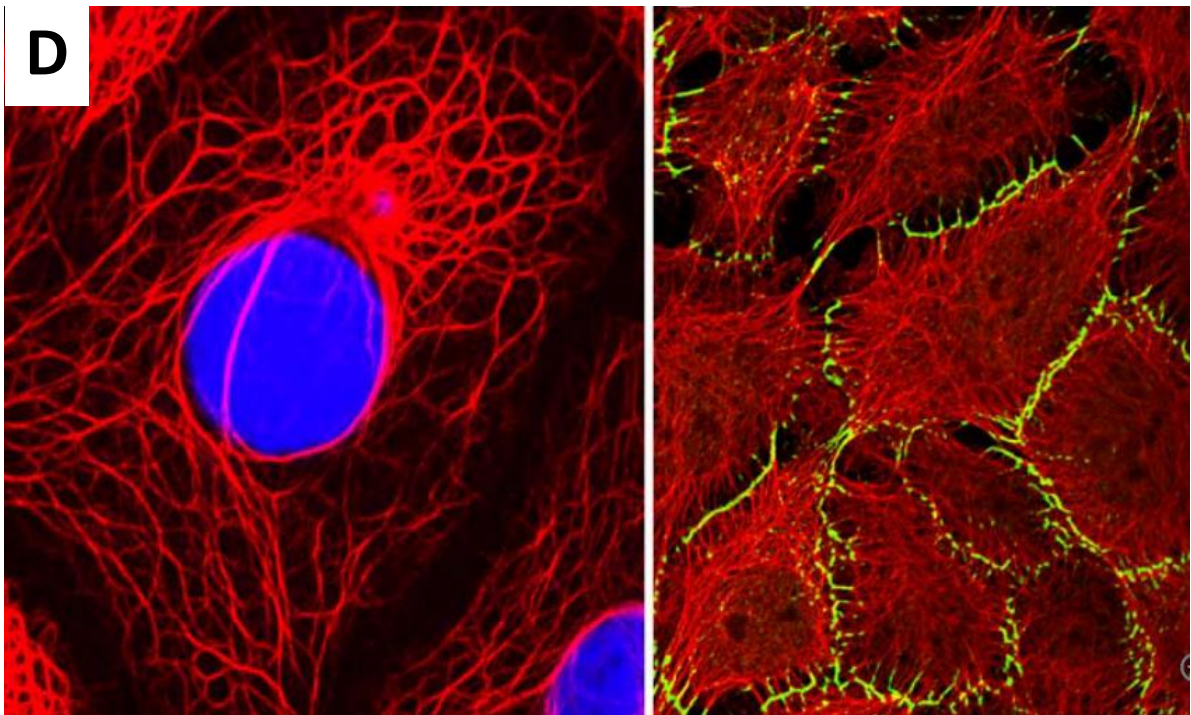


Figura D: Microscopía de fluorescencia en la que se observa el núcleo de color azul teñido con DAPI, los filamentos de queratina de color rojo y la desmoplaquina de color verde.

Durante la diferenciación terminal, los filamentos de queratina se unen covalentemente a la envoltura, a través de residuos de **lisina** localizados en el extremo N-terminal de las queratinas tipo 2.

Las queratinas y filamentos se involucran también en la **señalización celular**, **transporte celular**, **compartimentalización** y **diferenciación** celular (19).

Las queratinas regulan la respuesta a **señales proapoptóticas** (K8 es antiapoptótica) y tienen la habilidad de modular la síntesis proteica y el tamaño celular en células epiteliales (20). Las queratinas participan también en la **cicatrización de heridas**, regulando la síntesis proteica y el tamaño celular.

Algunas queratinas protegen contra el estrés/lesión hepática (K8/K18). Esto refuerza la expresión tejido-específica.

Desmosomas

Los desmosomas son estructuras multiproteicas complejas, esenciales para la unión intercelular. Los desmosomas son cruciales en los tejidos que experimentan estrés mecánico, como el miocardio, vejiga, mucosa gastrointestinal y la piel.

Los desmosomas contienen 2 tipos de proteínas: Proteínas **transmembrana** (Las cuales se proyectan hacia el espacio extracelular y conectan las membranas celulares de células diferentes) y proteínas de la **placa de anclaje** (Las cuales enlazan a los filamentos intermedios con las proteínas transmembrana).

Los estudios de microscopía electrónica han permitido identificar la organización ultraestructural de los desmosomas. Estos se dividen en 3 zonas morfológicamente identificables: la **región nuclear extracelular (desmoglea)**, la **placa densa externa (PDE)** y la **placa densa interna (PDI)** (Ver **Figura E**) (21).

La **desmoglea** contiene 2 glucoproteínas transmembrana, denominadas **desmogleínas** y **desmocolinas**; las cuales representan subfamilias separadas de la superfamilia de **Cadherina** de moléculas de adhesión dependientes de calcio. Los dominios extracelulares de las desmogleínas y desmocolinas median la adhesión intercelular, mientras que sus colas citoplasmáticas se asocian con las proteínas de la placa de anclaje desmosomal.

La **PDE** consiste en los extremos citoplasmáticos de las cadherinas, las cuales se unen a proteínas pertenecientes a las familias de proteínas enlazadoras armadillo y plakina. La **placoglobina (PG)**, miembro de la familia armadillo, se une directamente a las colas citoplasmáticas de las desmogleínas y desmocolinas.

El dominio N-terminal de la **desmoplaquina (DP)** (miembro de la familia plakina), interactúa tanto con la placoglobina como con las **placofilinas (PKP)**, las cuales también son miembro de la familia armadillo.

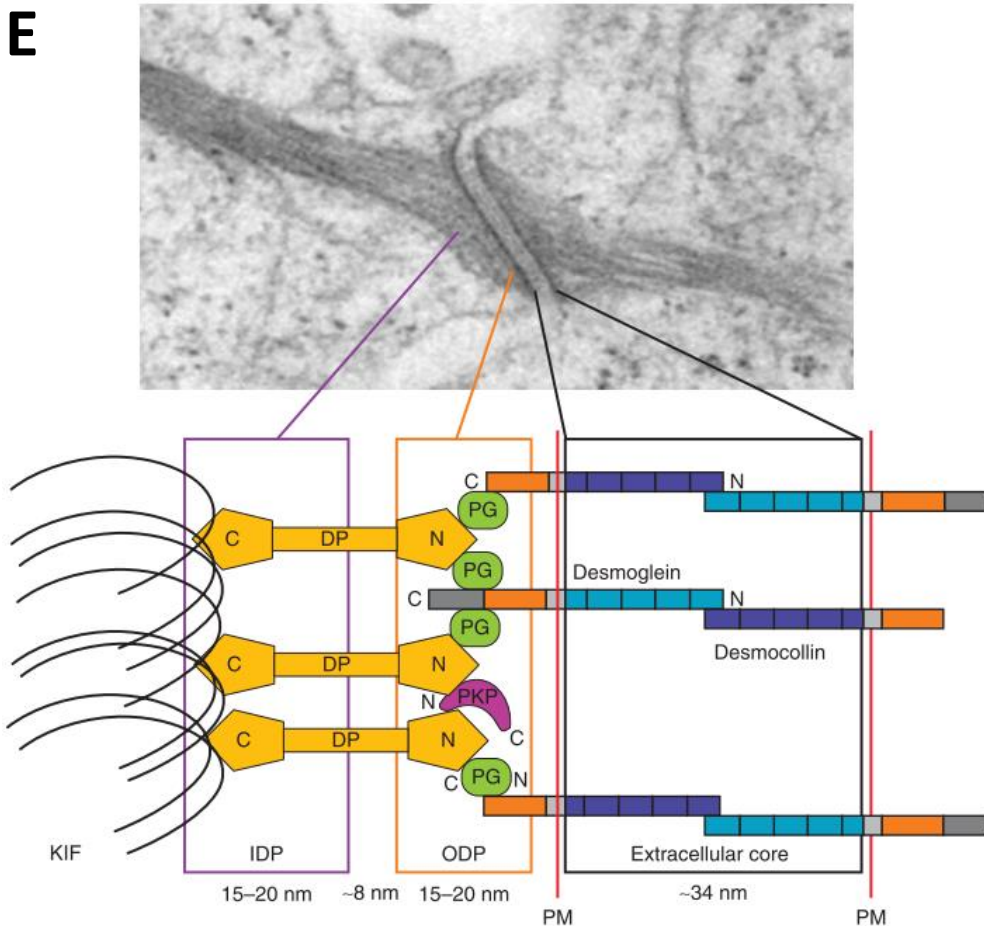


Figura E: Arriba: Microscopía electrónica de un desmosoma. Abajo: representación esquemática de las proteínas en cada zona del desmosoma.

Finalmente, el extremo C-terminal de la desmoplaquina, se une a los filamentos intermedios y forma la **placa densa interna (PDI)**, entrelazando la red del citoesqueleto con el complejo de adhesión intercelular.

En la epidermis se expresan todas las 7 cadherinas desmosomales, sin embargo, los genes se expresan diferencialmente a medida que los queratinocitos atraviesan el proceso de diferenciación terminal. **DSG2** y **DSG3** se distribuyen principalmente en las capas inferiores de la epidermis, mientras que **DSG1** se expresa en las capas superiores. **DSG4** se expresa principalmente en el folículo piloso y en la capa granular. Respecto a las

desmocollinas, **DSC2** y **DSC3** se expresan en la capa basal y espinosa, mientras que **DSC1** se expresa en la capa granular (Ver **Figura F**) (21).

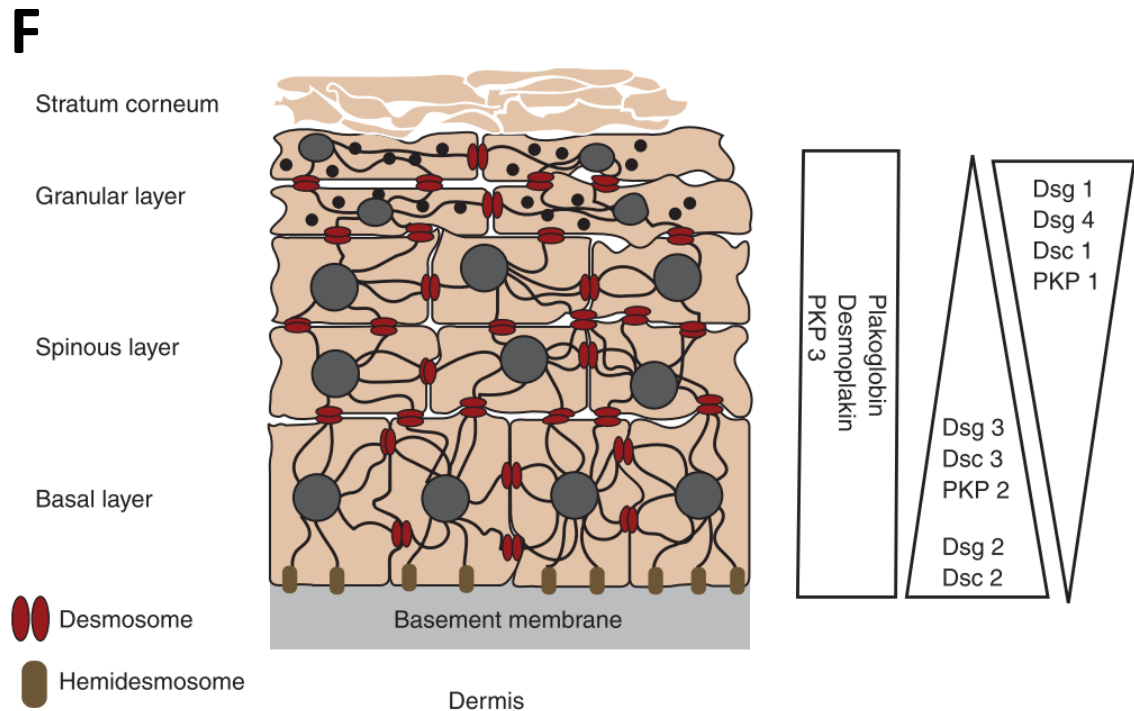


Figura F: Representación esquemática de las proteínas desmosomales expresadas en cada estrato.

El patrón de expresión diferencial de las cadherinas desmosomales implica que los desmosomas entre los diversos tejidos, son bioquímicamente y presumiblemente funcionalmente diferentes. Existen diversos estudios que analizan la relevancia de las cadherinas desmosomales en el proceso de diferenciación.

Otros componentes y precursores de la envoltura cornificada

La **envoltura cornificada** es una estructura entrecruzada covalentemente, que se forma por debajo de la membrana plasmática de los queratinocitos en desarrollo. Esta incluye **2 partes** funcionales: Una **estructura gruesa** insoluble de **15 nm**, la cual consiste en proteínas entrecruzadas covalentemente (filamentos intermedios de queratina, estabilizadas por

puentes disulfuro, rodeada de una envoltura de proteínas unidas covalentemente), la cual conforma la estructura de soporte de la envoltura; y una **porción de lípidos** unidos covalentemente (**5 nm** de grosor), los cuales cubren el exterior.

Diversas proteínas funcionan como sustratos y son incorporadas a esta estructura. Estos incluyen **proteínas solubles** (Involucrina, proteínas SPR o proteínas pequeñas ricas en prolina) e **insolubles** (Loricrina, periplaquina y envoplaquina). Diversos precursores solubles son inicialmente depositados para formar un soporte o andamiaje. Los precursores insolubles son subsecuentemente depositados en la superficie interna del andamiaje.

Las principales proteínas que componen la envoltura cornificada son:

- 1) **Loricrina**: Locus 1q21. 26 kDa. **80%** del total de proteínas (no queratina) de la envoltura
- 2) **Involucrina**: Locus 1q21. 65 kDa. **5%** del total.
- 3) **Proteínas SPR**: Locus 1q21. 5-26 kDa. **3-5%** del total.
- 4) **Cistatina A**: Locus 3cen-q21. 12 kDa. **2-5%** del total.
- 5) **Otras** que comprenden menos del 1% del total incluyen: proelafina, profilagrina, queratinas tipo 2, desmoplaquina, envoplaquina, periplaquina, anexina 1, cornifelina.

Involucrina

La **involucrina** fue el primer precursor descubierto. Se expresa en las capas suprabasales en **epitelios estratificados**, incluyendo epidermis, cérvix, esófago, córnea, tráquea y conjuntiva. La expresión de involucrina es controlada por los factores reguladores AP1, Sp1 y C/EBP.

La involucrina contiene **37 repetidos** de **10 aminoácidos**, conteniendo cada repetido 3 residuos de **glutamina** y 2 de **glutamato**. La proteína completa contiene 15% de glutamina y 20% de glutamato. Pese a que múltiples glutaminas en la involucrina son sustratos para **TGs (Transglutaminasas)**, estas actúan preferencialmente sobre el **residuo glutamina 496**.

La involucrina es una de los primeros precursores durante el entrecruzamiento de la envoltura cornificada y se cree que forma un andamio para el subsecuente entrecruzamiento de los precursores adicionales.

Loricrina

La loricrina es el **principal componente** de la envoltura cornificada en la epidermis. La expresión de loricrina se induce por diferentes agentes, incluido el **calcio** y se detecta en gránulos de la **capa granular**.

Durante la diferenciación terminal, en la zona de transición, la loricrina se libera y se entrecruza con la superficie interna de la envoltura cornificada en formación.

SPR

Las **SPR** (Proteínas ricas en prolina) comprenden una **familia multigénica de 14 miembros**, con 3 subgrupos: SPR1 (2 miembros), SPR2 (11 miembros) y SPR3 (1 miembro). La expresión de estos genes es inducida por el calcio y otros agentes como AP1, Sp1, entre otros.

La estructura de SPR incluye **8-9 repetidos** de aminoácidos ricos en **prolina**, flanqueados por extremos ricos en **glutamina-lisina** y **prolina**, respectivamente. Los residuos de glutamina-lisina se localizan en los extremos C-terminal y N-terminal de las proteínas SPR y participan en el entrecruzamiento. Se cree que estas proteínas funcionan como puentes que enlazan a otros precursores.

Cistatina y elafina

La **cistatina A** es un inhibidor de la **proteasa de cisteína**. Representa un componente menor de la envoltura cornificada. La expresión incrementa mediante el influjo de distintos agentes de la vía **MAPK cinasa**, incluidos Ras, MEKK1, MEK7 y JNK.

Una mutación en otro miembro de la familia de Cistatina, la **Cistatina M/E**, parece ser la causa subyacente de la alteración de la cornificación epidérmica observada en algunos tipos de **ictiosis arlequín**.

La **elafina** es un potente inhibidor de la elastasa y proteínasa 3. Esta se traduce inicialmente como **preproelafina**, la cual se corta resultando en proelafina y un péptido señal de 25 aminoácidos. La **proelafina** se corta, produciendo elafina y cementoína. La cementoína es codificada por el pro-dominio de la elafina y tal como esta última, sirve como sustrato de **TGs**.

Es posible que los miembros de la familia de cistatina y elafina funcionen regulando la actividad de proteasa requerida para la maduración de la envoltura cornificada.

Filagrina

Se sintetiza como **profilagrina**, la cual consiste en numerosas unidades de filagrina, flanqueadas por los dominios N-terminal y C-terminal.

Como otros precursores, la profilagrina contiene **2 dominios EF-hand** de unión a calcio. Adicionalmente a su rol en la envoltura cornificada, también funciona agrupando filamentos intermedios. Otra función puede ser facilitando respuestas apoptóticas debido a su habilidad para alterar la distribución de los filamentos intermedios de queratina.

Proteínas S100 y anexina 1

Las proteínas S100 son proteínas reguladas por calcio mediante sus **dominios EF-hand**. Los genes que las codifican están agrupados en el **complejo de diferenciación epidérmica** en el locus **1q21**.

S100A10 y **S100A11** se incorporan a la envoltura cornificada en los queratinocitos normales. En respuesta al incremento de calcio, S100A11 se mueve a la periferia celular mediante los filamentos dependientes de tubulina, indicando que estos se requieren para posicionar a este precursor en vecindad a la membrana plasmática.

S100A11 forma un complejo con **anexina 1**. Este es un heterotetrámero compuesto por 2 moléculas de cada uno de estos precursores. Se cree que este tetrámero funciona organizando los eventos de fusión de la membrana, regulado por calcio. Esta actividad

puede ser posible en condiciones oxidantes y con pH reducido, situaciones que ocurren durante la diferenciación terminal de queratinocitos.

Sitio de expresión de precursores

La capa **basal** expresa las queratinas K5 y K14. En las capas **espinosa** y **granular** se expresan los precursores de la envoltura (Involucrina, cornifina) y las queratinas K1 y K10. La loricrina y filagrina se expresan más tardíamente en la diferenciación, en la capa **granular** (Ver **Figura G**) (11).

G

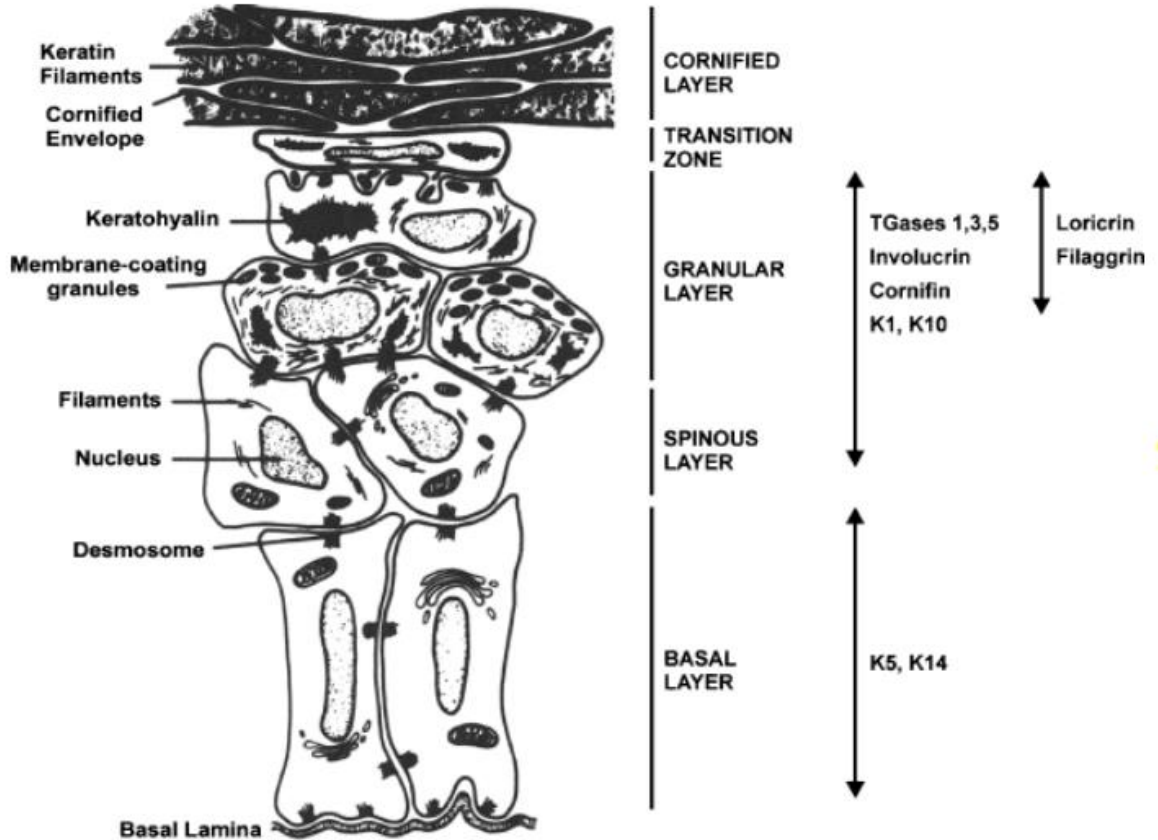


Figura G: Representación esquemática de la expresión de queratinas, precursores de la envoltura cornificada y transglutaminasas; en función de los diversos estratos epidérmicos.

La tasa de incorporación de precursores de la envoltura y la deposición de puentes covalentes acelera en la **zona de transición** a medida que incrementan los niveles de calcio libre, los cuales aumentan la actividad de las transglutaminasas.

El entrecruzamiento en la zona de transición finaliza con la producción de una capa cornificada compuesta de una superficie epidérmica de células muertas.

Transglutaminasas (TGs)

Este grupo de enzimas se especializan en catalizar **3 tipos de reacciones de modificación postraduccional** dependientes de **Ca²⁺** y **tiol** (grupo funcional formado por un átomo de azufre y un átomo de hidrógeno (-SH)): **Transaminación, esterificación e hidrólisis**.

Dichas reacciones son esenciales para diversos procesos biológicos como la coagulación sanguínea, formación de la barrera cutánea y el ensamblado de la matriz extracelular, sirven como andamiaje, mantienen la integridad de membrana, regulan la adhesión celular y modulan la transducción de señales (22), sin embargo, pueden contribuir también a la fisiopatología de algunas enfermedades inflamatorias, autoinmunes y degenerativas.

La primera TG descubierta fue la **TG2**, en el año de **1959**, a partir de extractos de hígados de cuyos. Se descubrió su habilidad para catalizar la incorporación de aminas primarias de bajo peso molecular a las proteínas (23).

Genética y clasificación

Existen **9 genes** de TGs en humanos, **8** codifican para enzimas catalíticamente activas y una es inactiva (Banda 4.2 de proteína de membrana eritrocitaria) (24).

Todas comparten una secuencia idéntica de aminoácidos en el sitio activo. El residuo catalítico de cisteína es parte del motivo conservado requerido para la reacción de transaminación. Este residuo se reemplaza por alanina en el único miembro catalíticamente inactivo de las TGs (Proteína banda 4.2) (Ver **Figura H**) (25).

H

361	LSYLRTGYSV	PYGQCWVFAG	VTITVLRCLG	TG1
263	RWKNHGCQRV	KYGQCWVFAA	VACTVLRCLG	TG2
259	NWKKSGFSPV	RYGQCWVFAG	TLNTALRSLG	TG3
254	QQYYNTKQAV	CFGQCWVFAG	ILTTVLRALG	TG4
269	QWHATGCQPV	RYGQCWVFAA	VMCTVMRCLG	TG5
260	KWLKGRYPV	KYGQCWVFAG	VLCTVLRCLG	TG6
265	QWSARGGQPV	KYGQCWVFAS	VMCTVMRCLG	TG7
301	LEYRSSETPV	RYGQCWVFAG	VFNTFLRCLG	FXIIIa
263	QMLTGRGRP	YDGAWVLA	VACTVLRCLQ	Band4.2

↑

Figura H: Secuencia de aminoácidos de las diversas transglutaminasas. Dentro del corchete se representan, resaltados en negritas, los aminoácidos contiguos a la cisteína catalítica. La flecha señala la sustitución de cisteína (catalítica) por alanina, que ocurre en la proteína Banda 4.2, lo cual ocasiona que esta carezca de función enzimática.

Algunos de sus miembros incluyen: **Factor XIIIa** (involucrado en la estabilización de coágulos de fibrina y cicatrización de heridas), **TG4** (Involucrada en el entrecruzamiento del líquido seminal), **Banda 4.2** (TGs inactiva. Representa una proteína estructural en eritroblastos y eritrocitos), **TG2** (Enzima expresada ubicuamente; presenta diversas funciones), **TG1** (TG específica de epidermis).

4 miembros de la familia TG se expresan en queratinocitos y/o tejidos epidérmicos: **TG1**, **TG2**, **TG3** y **TG5**. La **TG2** se expresa en el estrato basal, sin embargo, su rol específico es desconocido (26,27). **TG1/3/5** se producen en las células diferenciadas de los estratos espinoso y granular donde actúan sobre sus sustratos, ensamblando la envoltura cornificada (26,27). La expresión de **TG3** parece estar confinada a la capa granular (La función de TG3 también es desconocida).

Estructura proteica

Todos los miembros de la familia TG están compuestos de **4 dominios** secuenciales y estructuralmente distintos: Dominio **β -sándwich NH₂-terminal**, dominio **nuclear α/β catalítico** y **2 dominios β -barril COOH-terminal**. Estos dominios asumen una conformación compactada en ausencia de calcio (**Figura I**) (28).

Un gran cambio conformacional, pasando de la forma compacta a la estructura elipsoidal extendida, el cual expone el sitio activo de TG, acompaña la activación de TG2 (29,30) y posiblemente a otros miembros de la familia TG.

2 miembros de la familia TG, FXIII-A y TG1, poseen una **secuencia propeptídica adicional NH₂-terminal**, la cual necesita ser cortada para generar la enzima activa (Ver **Figura J**) (28).

Un elemento crítico de la actividad enzimática de las TG es la **tríada catalítica** del sitio activo, la cual consta de los residuos de **cisteína, histidina y aspartato**; además de un residuo de **triptófano** que estabiliza el estado transicional. Estos 4 residuos son esenciales para la reacción catalítica (**Figura J**) (31–36). Ninguno de estos 4 residuos está conservado en la proteína 4.2 (Sin actividad catalítica).

Bioquímica enzimática conocida

Pese a que el entrecruzamiento proteico es la reacción catalítica más frecuente de estas enzimas, estas realizan por lo menos **5 reacciones** de modificación postraduccional, las cuales pueden dividirse en **3 tipos: Transaminación, esterificación e hidrólisis**.

Las 5 reacciones involucran una proteína/péptido que contiene **glutamina**, la cual funge como sustrato inicial o aceptor.

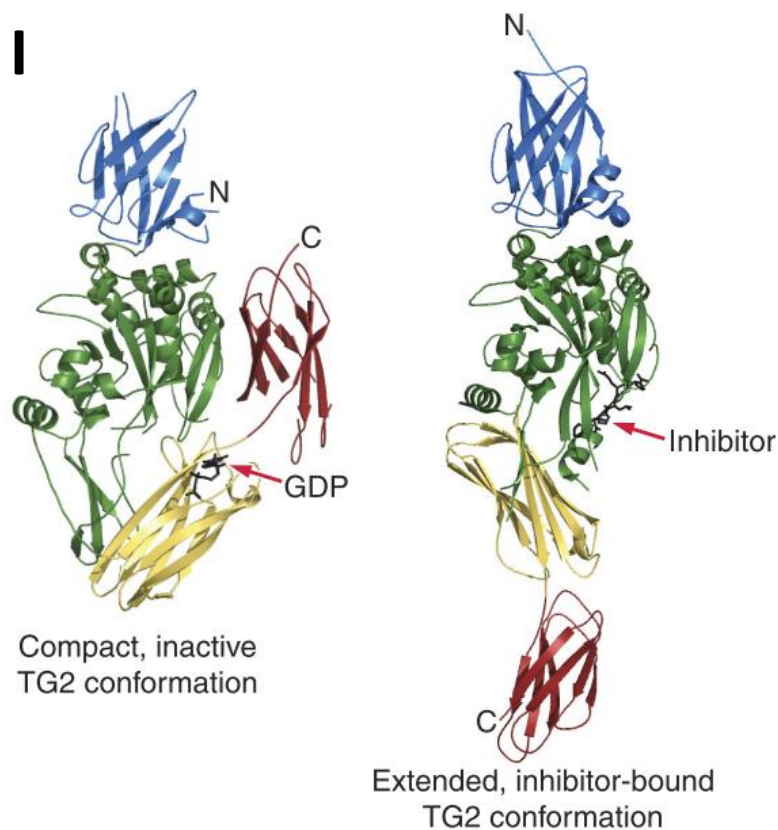


Figura I: Representación tridimensional de la estructura proteica de la transglutaminasa 1. Se representan, de N-terminal a C-terminal: en azul, el dominio de β-sándwich; en verde el dominio catalítico nuclear; en amarillo el dominio β-barril 1; en rojo el dominio β-barril 2. A la izquierda se representa la conformación compacta (inactiva), en ausencia de calcio. A la derecha se representa la conformación distendida (activa), en presencia de calcio.

La cisteína e histidina del sitio activo de las TGs forman un par iónico **tiolato-imidazol**, el cual se une a la glutamina del **primer sustrato o sustrato 1 (aceptor)**, mediante el ataque del grupo **γ-gama-carboxamida** del sustrato por parte del tiolato, formando un enlace covalente **γ-glutamiltioester** (Reacción de **acilación**) (Ver **Figura K**) (28). La reacción procede mediante la generación del intermediario de **oxianión 1**, el cual es estabilizado mediante enlaces de hidrógeno tanto al nitrógeno de la estructura base de la cisteína del sitio activo, como al nitrógeno Ne1 del triptófano estabilizante en estado transicional. En el siguiente paso de acilación, se libera NH₃ mientras se forma el **intermediario de acilenzima**. Una alta especificidad para el segundo sustrato se manifiesta entre el **sustrato**

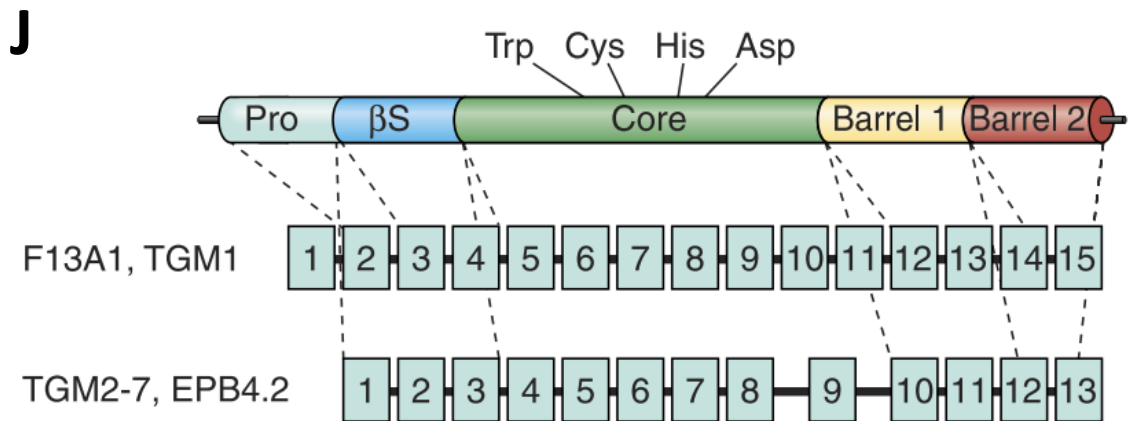


Figura J: Representación esquemática de la estructura secundaria de las transglutaminasas. Se correlacionan, mediante las líneas punteadas, los exones que codifican para cada uno de los dominios proteicos.

2 y el intermediario de acilenzima. El ataque nucleofílico del grupo amino del sustrato **2** conduce a la formación del **intermediario oxianión 2**, el cual es nuevamente estabilizado mediante puentes de hidrógeno, tanto al sitio activo de la cisteína como al triptófano estabilizante de estado transicional. En el paso final de **desacilación**, se libera un producto entrecruzado y la TG se regenera para participar en una nueva reacción.

Alternativamente, el paso inicial de la acilación puede ser seguido ya sea por un ataque de moléculas de agua (**Hidrólisis**) o por la unión de un segundo sustrato, el cual puede ser una amina (Reacción de **transaminación**) o un alcohol (**Esterificación**), generando un producto hidrolizado, un entrecruzamiento proteico o un producto esterificado, respectivamente (37). Alternativamente puede generarse la ruptura del enlace tioester recién formado (Reacción de **desacilación**).

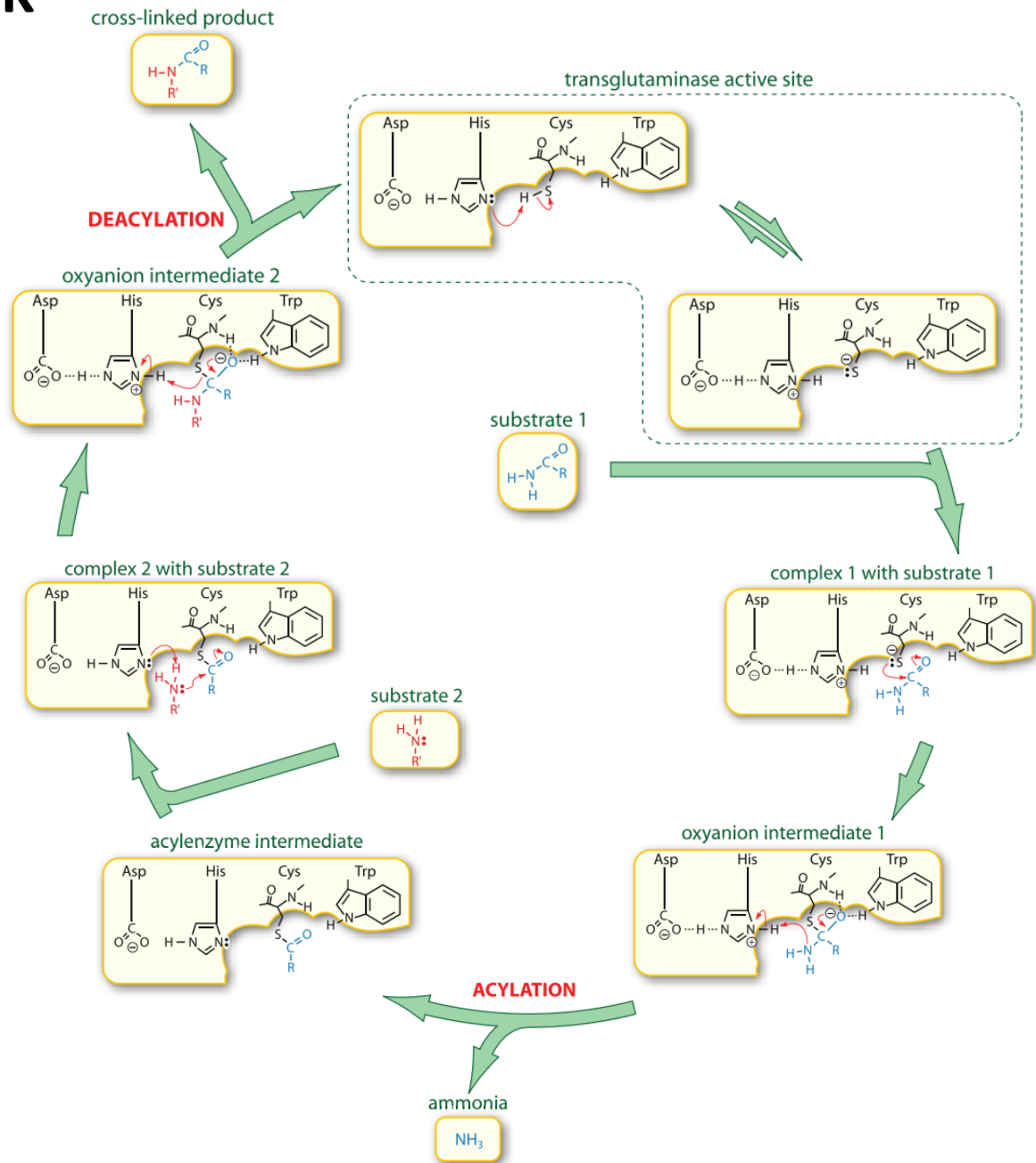
K

Figura K: Representación esquemática de las reacciones de acilación y desacilación, mediante las cuales, la enzima TG1, lleva a cabo el entrecruzamiento de proteínas a partir de un residuo de glutamina en el sustrato 1, y un residuo de lisina en el sustrato 2. El resultado de la reacción es la formación de puentes covalentes entre ambas proteínas; proceso que da lugar a la formación de la envoltura cornificada.

La **esterificación** resulta en la modificación de ácidos grasos en una glutamina de la cadena lateral de la proteína aceptora, mientras que la **hidrólisis** puede resultar en **desaminación** (La molécula de H₂O es donadora y el grupo -NH₂ en la cadena lateral de glutamina de la proteína aceptora es remplazado con un grupo -OH para formar glutamato) o en **corte isopeptídico** (Involucra a una molécula de H₂O que actúa como donadora, conduciendo a escisión del enlace isopeptídico que enlazaba a ambas proteínas).

Las reacciones de **transaminación** pueden resultar en:

- 1) **Entrecruzamiento proteico**, en el cual un residuo de **glutamina** se entrecruza con un residuo de **lisina** (De otra proteína/péptido) mediante un enlace isopeptídico **Nε-(γ-glutamil)-lisina**. Las reacciones de **entrecruzamiento por transaminación** requieren la presencia de **Ca²⁺** para unir covalentemente aminas primarias, incluyendo poliaminas, monoaminas y aminas unidas a proteínas; a residuos de glutamina en la proteína aceptora.
- 2) **Incorporación de aminas**, en las cuales una amina primaria se incorpora a una glutamina en la cadena lateral de la proteína aceptora.
- 3) **Acilación**, en la cual una lisina en la cadena lateral de la proteína donadora es acilada.

Las diversas TGs generalmente exhiben una destacable especificidad a sus sustratos. Pese a que el mismo sustrato proteico puede ser reconocido por distintas TGs, las enzimas presentan diferente afinidad/especificidad hacia las **glutaminas/lisinas** localizadas en diversos sitios de la proteína.

El entrecruzamiento covalente isopeptídico es estable y resistente a la proteólisis, incrementando la resistencia de la estructura supramolecular resultante.

Otras actividades de las TGs

Adicionalmente a las acciones enzimáticas bien estudiadas, algunos miembros de la familia TG participan en diversos procesos biológicos mediante acciones no relacionadas con su

actividad catalítica. Por ejemplo, **TG2** (38,39), **TG4** (40) y **TG5** (41) se unen e hidrolizan a **GTP**, lo cual causa una transición hacia la conformación inactiva de las TGs, con la consecuente inhibición de su actividad (30,42).

FXIII-A (43) y TG2 (44) funcionan como proteínas adaptadoras que facilitan las interacciones de la matriz durante la adhesión celular.

Finalmente, se ha reportado que **TG2** actúa como **cinasa de serina/treonina** (45–47), una proteína **disulfuro isomerasa** (48) y como un ligando extracelular para GPR56 (Pertenece a la familia de receptores acoplados a proteína G), involucrado en la supresión tumoral (49,50).

Adicionalmente al entrecruzamiento proteico y la función de andamiaje, las TGs catalizan la modificación postraduccional de proteínas mediante la **desaminación** e **incorporación de aminas** (Ver **Figura L**) (25). Por ejemplo, la desaminación de gliadina A (Con preferencia por las secuencias Gln-X-Pro; donde X representa cualquier aminoácido) dependiente de TG2, componente del trigo y otros cereales, está implicado en la patogénesis de enfermedad celiaca (51).

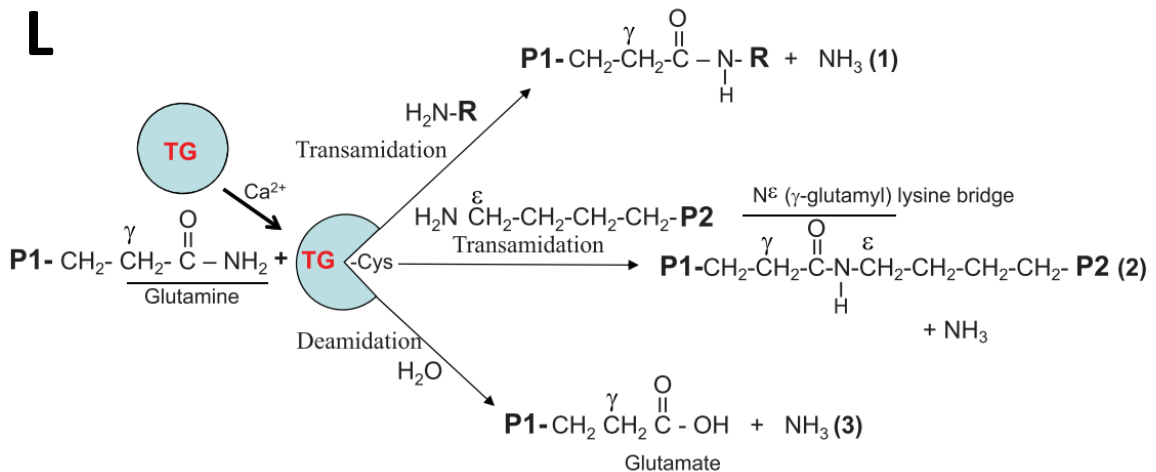


Figura L: Representación esquemática de las reacciones de transaminación, transamidación y de desaminación.

La incorporación de aminos catalizada por TGs, puede modificar la función, estabilidad e inmunogenicidad de los sustratos proteicos y contribuir a enfermedades autoinmunitarias (37).

Sitios de expresión y actividad

La **TG2** se expresa principalmente en la **capa basal** de la epidermis (52), mientras que la **TG1** y la **TG5** se expresan en los **estratos espinoso** y **granuloso** (26). **TG3** parece estar confinada al **estrato granuloso**.

La formación de la envoltura cornificada inicia en la **capa espinosa** de la epidermis mediante el entrecruzamiento de la **envoplaquina** y **periplaquina** a los desmosomas; acción mediada por **TG1** y **TG5** (10). En la **capa granular**, la **loricrina** y las **proteínas SPR** son entrecruzadas por **TG3**, formando oligómeros y, en las fases de reforzamiento final, se entrecruzan a la envoltura cornificada por **TG1** (53).

La formación de envoltura lipídica ocurre mediante el **entrecruzamiento de lípidos (ω -hidroxiceramidas)** mediado por **TG1**, a las ya entrecruzadas proteínas **envoplaquina**, **periplaquina** e **involucrina** (54).

TG2 desempeña un rol en la estabilización de la unión dermoepidérmica (52), pero no está involucrado en la cornificación.

Transglutaminasa 1

Genética

Esta enzima es codificada por el gen **TGM1**, localizado en el locus **14q11.2**. El gen contiene **15 exones**. El primer exón no es codificante, siendo el segundo el que codifica el propéptido en el extremo N-terminal (Ver **Figura J**).

El **promotor** de **TGM1** contiene 3 elementos de respuesta **AP2-like** activadores de proteína, localizados a .5 kb del sitio de inicio de transcripción (55). Estos sitios son receptores de factores de transcripción pertenecientes a la familia de AP2/EREBP, los cuales se cree que

modifican la respuesta de expresión génica en función del estrés e influencias hormonales (Ver **Figura M**) (55).

La actividad del promotor en cultivos de queratinocitos, parece requerir 2 sitios SP1 (Sitios aceptores de SP1, el cual pertenece a otra familia de factores de transcripción, relacionados con crecimiento celular, diferenciación, apoptosis y carcinogénesis) (56) y un sitio AP1 dentro de la región distal del gen.

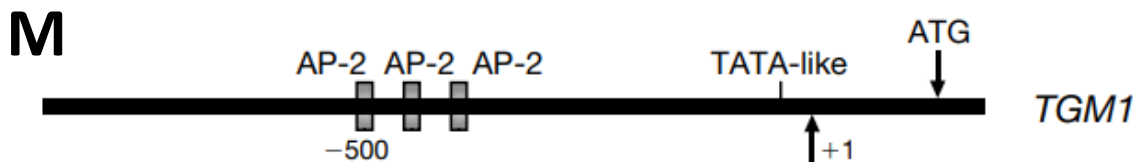


Figura M: Representación esquemática de los sitios receptores AP-2 like, los cuales regulan la expresión del gen *TGM1*.

Expresión y fisiología

TG1 se sintetiza como un zimógeno inactivo de 106 kDa. Posterior a la remoción de su **propéptido N-terminal**, pasa a tener un peso molecular de **90 kDa**. Se expresa en el epitelio escamoso estratificado de la piel. La expresión en epidermis es dependiente de diferenciación e inicia en los queratinocitos del **estrato espinoso**.

TG1 también se expresa en tracto digestivo superior, tracto genital femenino inferior, en las uniones adherentes de las células epiteliales en pulmón, riñón e hígado (57); y en las células endoteliales de la microvasculatura miocárdica (58).

La mayoría de la TG1 expresada en piel está anclada a la membrana plasmática de los queratinocitos a través de moléculas de **ácidos grasos (miristato y palmitato)** (59), las cuales son añadidas sobre **5 residuos de cisteína** (Cys47, 48, 50, 51 y 53) en el extremo N-terminal de TG1. La alteración de alguna de estas cisteínas reduce la asociación de TG1 con la membrana plasmática de los queratinocitos. Pese a que solo un residuo de cisteína se

requiere para que ocurre la adición de palmitato, más de 1 debe estar presente para dirigir la TG1 a la membrana. La **miristilación** parece ocurrir durante la traducción, mientras que la adición de **palmitato** ocurre postraduccionalmente.

Una fracción de la TG1 asociada a la membrana sufre **proteólisis** y da lugar a fragmentos de 10, 33 y 66 kDa (60). La génesis de estos productos de corte, incrementa con la diferenciación queratinocítica. Estudios in vitro sugieren que este corte incrementa la actividad de TG1.

Adicionalmente a la acilación lipídica y el corte proteolítico, la TG1 es **fosforilada** en residuos de serina en el extremo N-terminal, predominantemente en **Ser82**. Estos sitios de fosforilación de serina residen en una cercana proximidad a los sitios de acilación y anclaje a la membrana, sugiriendo que la fosforilación puede influenciar la unión a la membrana.

La actividad de TG1 requiere **calcio** como cofactor. Se han reportado niveles aumentados de calcio en los estratos suprabasales de la epidermis. Otros agentes como los esteres de forbol y el ácido retinoico, también influyen los niveles de TG1.

Simon y Green demostraron que la involucrina es un sustrato de TG cuando se incubaba con queratinocitos de membrana y que la **glutamina 496** es el sitio preferido para el entrecruzamiento. Estudios paralelos han revelado que residuos adicionales de glutamina pueden funcionar como sustratos para TG cuando la involucrina se fragmenta.

Steinert y colaboradores demostraron que la TG1 promueve la formación de **ésteres lipídicos** en los residuos de Gln 107, 118, 122, 133 y 496 de la **involucrina**; añadiendo otra función relacionada con el entrecruzamiento de lípidos a la envoltura.

Los esteres de forbol inducen la expresión de mRNA y proteínas TG1, mientras que el ácido retinoico reduce la expresión de ambas (11).

TG1 media entrecruzamientos entre ceramidas e involucrina, lo cual contribuye al mantenimiento de la barrera de permeabilidad epidérmica (54).

Aspectos clínicos y genéticos de las ictiosis congénitas autosómico recesivas (ICAR)

Definición

Comprende un grupo de padecimientos hereditarios, caracterizados por hiperqueratosis cutánea, producidos por mutaciones en genes esenciales para la correcta función de la piel, particularmente en su función de barrera.

Históricamente, el término “**ictiosis laminar**” se empleaba para describir a cualquier individuo con ICAR, incluso casos raros de ictiosis con patrón de herencia **autosómico dominante (AD)**, independientemente de que presentaran eritroderma. Durante la conferencia del **consenso internacional de ictiosis en 2009**, el término “**ictiosis congénita autosómico recesiva**” se designó para englobar los **3 tipos** principales de ictiosis congénita (**ictiosis arlequín, ictiosis laminar y eritroderma ictiosiforme congénito**) (61).

Epidemiología

Se ha reportado una prevalencia mundial baja, variando en función de las regiones geográficas. Sin embargo, puede ser más frecuente en ciertas regiones debido a ciertos factores como son: **efecto fundador, endogamia y consanguinidad**.

En estados unidos se presenta en **1 de cada 200,000-300,000** recién nacidos vivos (62). En España **1:139,000** (63). En Noruega se reporta una prevalencia de 1:91,000 (64). En Manabi (Ecuador) es de 1:50,000 (65,66). La prevalencia mundial más alta hasta la fecha se describe en un distrito costero de **Galicia**, en el cual se reporta una prevalencia de **1:33,000** (67).

Clínica

Estos pacientes suelen nacer prematuramente, pudiendo presentar altos niveles de **pérdidas líquidas transepidérmicas**, derivando en hiponatremia. Existe aumento de riesgo de **infección/sepsis** durante el periodo neonatal.

La mayoría presentan fenotipo de **bebé colodión**. Estos presentan una membrana cutánea tensa, brillante, translúcida u opaca, la cual cubre la totalidad del cuerpo y puede persistir durante días o semanas.

Sus principales manifestaciones incluyen: formación de **escamas cutáneas, hiperqueratosis, inflamación y dolor** (1,2). Los individuos con afección severa, pueden presentar **ectropión, eclabium, alopecia cicatrizal** (la cual involucra piel cabelluda y cejas) y queratodermia palmo-plantar.

Existen 3 fenotipos principales: **1) Ictiosis arlequín (IA)** (Forma más severa), **2) Ictiosis laminar (IL)** y **3) Eritroderma ictiosiforme congénito (EIC)** (no bulloso) (fenotipo menos agresivo) (68,69)

Pueden presentarse fenotipos intermedios, referidos como IL leve o EIC leve. Estos también suelen describirse como **ictiosis congénita con escamas finas/leves (ICEF)**.

Además de estas formas principales, se reconocen algunos subtipos raros de ICAR, los cuales incluyen:

- 1) **Ictiosis del traje de baño**: Presentación rara, predominantemente observada en **Sudáfrica**. Se debe a VPs en **TGM1**. Estos pacientes presentan escamas cafés o negro-grisáceas, en el tronco (área de traje de baño), respetando las extremidades y el centro de la cara. Se hipotetiza que las VPs ejercen un **efecto termo-dependiente** sobre la actividad de la enzima transglutaminasa 1, con una marcada disminución de la función enzimática a altas temperaturas (70).
- 2) **Ictiosis colodión con mejoría espontánea (*self-improving*)**: Se observa en el **10%** de los pacientes con ICAR. Se caracterizan por presentar fenotipo de bebé colodión, los cuales presentan una resolución casi completa de la ictiosis durante la infancia, presentando únicamente xerosis, escamas residuales leves o focales, hiperlinealidad palmar, mejillas enrojecidas o anhidrosis (71,72).

3) **Sx Ictiosis-prematurez**: Estos pacientes nacen prematuramente, entre las semanas 29-35 de gestación. Suelen presentar historia de **polihidramnios** y el ultrasonido fetal puede revelar **sedimento ecogénico** en el líquido amniótico. La piel al nacimiento es eritematosa, edematosa, con un engrosamiento masivo, hiperqueratosis extensa con tendencia a la descamación, simulando vérnix caseoso. La piel cabelluda suele presentar una mayor afección, a menudo con **hiperqueratosis verruciforme**. Los neonatos sufren de **asfixia severa** (ocasionalmente fatal), debido a reducción de la función pulmonar, secundaria a la aspiración intrauterina de líquido amniótico. Suelen presentar puntuaciones bajas de Apgar, requiriendo hospitalización prolongada y cuidados intensivos. A los pocos días la piel se descama, revelando un eritema subyacente, el cual eventualmente se resuelve, convirtiéndose en un fenotipo de ictiosis leve, el cual incluye piel seca, áspera, con hiperqueratosis en patrón de adoquinado, queratosis pilar y prurito. El pronóstico es excelente (73).

Etiología

Se heredan con **patrón autosómico recesivo (AR)**. Existen **12 genes** relacionados con ICAR, los cuales incluyen: **TGM1 (32-68%; 70-90% de IL)**, **ABCA12 (5-7% de ICAR; 93% de fenotipo arlequín)**, **ALOX12B (7-13%)**, **ALOXE3 (4-8%)**, **CASP14**, **CERS3**, **CYP4F22 (3-8%)**, **LIPN**, **NIPAL4 (5-16%)**, **PNPLA1 (3%)**, **SDR9C7**, **SLC27A4 (4%)**. Hasta 15% de las familias afectadas, no presentan alteración en alguno de estos genes.

Correlación genotipo-fenotipo

TGM1: La gran mayoría de individuos con VPs en este gen, presentan el fenotipo de **IL clásica**. Existen hasta la fecha, 117 VPs descritas en la literatura, las cuales incluyen 77 variantes de sentido equivocado (65%), 19 sin sentido (16%), 12 deleciones con corrimiento de marco de lectura (10%), 9 variantes del sitio de splicing (7%) (74). Algunas personas con fenotipos no eritrodérmicos, mucho más leves, también presentan VPs en este gen.

Se han descrito pacientes con **ictiosis del traje de baño** (75), al igual que pacientes con fenotipo de **ictiosis colodión con mejoría espontánea** (76,77), los cuales presentan VPs en *TGM1*.

Se han reportado individuos con formas de ICAR, en los que no se ha identificado el gen causal. Estos incluyen a individuos en quienes, mediante análisis de ligamiento, se ha identificado un locus en el **cromosoma 19**, el cual se relaciona con un fenotipo leve, no compatible con IL ni EIC (78). Se ha relacionado igualmente, un locus en el **cromosoma 12**, el cual se relaciona con el desarrollo de IEC sin precedente de membrana colodión (79).

ABCA12: Suelen condicionar un fenotipo de **IA** (80–82). La mayoría de VPs comprenden cambios sin sentido e inserciones/deleciones pequeñas resultando en una **proteína trunca**. Los defectos del sitio de splicing y VPs de sentido equivocado son menos frecuentes. Se han observado deleciones parciales, las cuales abarcan 1-35 exones.

La mayoría de los pacientes homocigotos para una VP que condicione pérdida de función, presentan un fenotipo severo y fatal de IA (83). Las **formas leves** de IA (con características de IL o EIC), suelen observarse en pacientes que presentan al menos un alelo con una VP de sentido equivocado.

Se han reportado algunos casos de pacientes con IL, procedentes de 10 familias (la mayoría en el norte de África) (84), los cuales presentan VPs en *ABCA12*. De igual manera, se han reportado 8 familias con EIC y con VPs en el mismo gen (85).

ALOX12B, ALOXE3: Típicamente presentan **EIC** o **fenotipos intermedios** (86), sin embargo, se han reportado pacientes con ictiosis colodión con mejoría espontánea (76).

CERS3: Algunos datos cutáneos consistentes con VPs bialélicas en este gen, incluyen membrana colodión al nacimiento, eritema y escamas finas en cara y tronco, escamas amplias de color marrón en MIs, e hiperlinealidad palmo-plantar. Una característica

distintiva de los pacientes con VPs en este gen es la **liquenificación queratolítica** y **piel** con apariencia prematuramente **envejecida** (87).

CYP4F22: Se han reportado VPs en familias consanguíneas con **IL** asociada con hiperlinealidad palmo-plantar, sin membrana colodión al nacimiento (88); así como en individuos con ictiosis colodión con mejoría espontánea (89).

LIPN: En contraste con otras formas de ICAR, los pacientes con VPs en este gen, no presentan ictiosis desde el nacimiento, sino que esta debuta en la **infancia tardía** con la aparición de escamas generalizadas finas y blanquecinas y datos mínimos de eritema (90).

NIPAL4: Los pacientes con VPs en este gen, presentan **EIC** o **fenotipos intermedios** (91,92). Existe una alta frecuencia de pacientes con VPs en este gen en **Escandinavia**, donde el 89% de los pacientes negativos para *TGM1*, las presentan (71,93). El fenotipo es de **eritroderma sin membrana colodión** al nacimiento.

PNPLA1: Los individuos con VPs en este gen, suelen presentar **membrana colodión** al nacimiento y posteriormente presentar una transición hacia fenotipo **EIC** con afección de piel cabelluda e hiperlinealidad palmo-plantar (94,95). También se han reportado casos con escamas generalizadas, marrón oscuro e hipohidrosis, o bien, enfermedad leve con exfoliación fina generalizada y placas hiperqueratósicas en rodillas.

SLC27A4: Los pacientes con VPs bialélicas en este gen, presentan el **Sx Ictiosis-prematurez**.

Diagnóstico

Clínicamente se establece en un caso con las **alteraciones cutáneas al nacimiento** o durante la **infancia**, con/sin historia de ictiosis arlequín, membrana colodión o piel gruesa e hiperqueratósica + el desarrollo posterior de uno de los siguientes: 1) Ictiosis laminar clásica, 2) Eritroderma ictiosiforme congénito, 3) Formas intermedias (con algunas características de IL o EIC) y/o identificación de VPs en algún gen responsable.

La biopsia cutánea no es necesaria para establecer el diagnóstico, debido a que es inespecífica. Se observa hiperqueratosis (engrosamiento del estrato córneo), con o sin paraqueratosis con acantosis subyacente.

El diagnóstico molecular de elección es un **panel multigén**, el cual comprenda todos los genes relacionados. Si no se dispone de esta alternativa, se puede considerar el análisis de gen único, iniciando con **ABCA12** (Secuenciación >95%; deleción/duplicación 4%) en pacientes con ictiosis arlequín, **TGM1** (Secuenciación >95%) en aquellos que no presenten fenotipo arlequín al nacimiento, y **SLC27A4** en aquellos con Sx ictiosis-prematurez.

Se puede optar por la realización de **estudios genómicos exhaustivos (secuenciación de exoma y secuenciación de genoma)**, en aquellos pacientes con ICAR que presenten afección orgánica adicional (presentación sindrómica), o en aquellos que los estudios previos no detecten alteración en ningún gen.

Tratamiento

En todos los pacientes se debe considerar proporcionar dieta hipercalórica.

En **neonatos**: proveer un entorno húmedo en incubadora, movilización higiénica para evitar infecciones y Tx de las mismas. Colocación de cremas basadas en petrolatum (Vaselina) para mantener la piel suave, flexible e hidratada. En caso de ser necesario, remover manualmente la membrana colodión para mantener la adecuada circulación y la correcta movilidad torácica/respiración.

Para **niños mayores**: humidificación cutánea con baños prolongados, lubricación y agentes queratolíticos como alfa hidroxí-ácidos o preparaciones con urea, para promover la descamación y el adelgazamiento del estrato corneo. Para aquellos con afección cutánea severa, uso cauteloso de retinoides.

JUSTIFICACIÓN

La ictiosis laminar es una patología compleja en torno a la cual existen diversas repercusiones, tanto funcionales, estéticas y psicosociales, por lo que es importante emprender estudios que permitan identificar la causa molecular subyacente en estos pacientes para poder brindar un asesoramiento genético adecuado, tanto a pacientes afectados como a portadores. Así como brindar una explicación clara de la fisiopatología y opciones terapéuticas de la enfermedad.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La ictiosis laminar es un subtipo del grupo de las ictiosis congénitas autosómico recesivas (ICAR). Esta es una enfermedad con un gran impacto sobre la calidad de vida de los individuos que la padecen.

Si bien la prevalencia mundial de la enfermedad es baja, durante la realización de un estudio previo por parte de nuestro equipo de trabajo, se logró detectar a un amplio grupo de familias con fenotipo compatible con ICAR, las cuales residen en la región de las Altas montañas del estado de Veracruz, México; en los municipios de Acultzingo (Acatla y otras comunidades), Soledad Atzompa (Atzompa, Mexcala, Huitzila y otras comunidades) y Nogales (El campanario y otras comunidades).

Para estudiar la causa de la alta prevalencia de pacientes en dicha comunidad, definir la expresividad variable, así como realizar un asesoramiento genético adecuado es necesario realizar un análisis molecular en cada caso, con la finalidad de definir la causa.

OBJETIVO GENERAL

Identificar la variante patogénica subyacente en una muestra de pacientes mexicanos residentes de la región de las Altas montañas de Veracruz, los cuales presentan características clínicas compatibles con ICAR, con la finalidad de dilucidar la causa de la alta prevalencia en la región.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar el diagnóstico molecular por medio de secuenciación de exoma completo y validación con secuenciación Sanger, para identificar la variante patogénica asociada con ICAR.
- Realizar el análisis funcional de la proteína mutada en comparación con la original.
- Realizar la entrega de los resultados de la prueba genética y proporcionar asesoramiento genético a los pacientes y sus familiares.
- Describir la prevalencia de la enfermedad dentro de la región y las distintas comunidades estudiadas.
- Realizar estudio de familiares para identificar portadores y establecer el riesgo de recurrencia de la enfermedad
- Identificar más pacientes afectados en la región estudiada y poblaciones vecinas

MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN: TRANSVERSAL DESCRIPTIVO

Identificación de pacientes y familiares

Previamente se ha conducido una investigación de casos durante 2 años (2017-2018) en 3 municipios de la región de las altas montañas de Veracruz, México (Fig. 1a). Contactamos médicos de la región, los cuales efectuaron el reclutamiento de pacientes con características clínicas compatibles de ICAR, así como de sus familiares no afectados, con la finalidad de realizar una valoración clínica y de realizar el análisis genético. Todos los pacientes cumplieron los criterios de ICAR definidos por las guías internacionales (100). Asimismo, se realizó una investigación genealógica de las familias estudiadas.

Se analizaron 100 voluntarios sanos no relacionados como grupo control, los cuales son procedentes de la misma región geográfica.

Secuenciación de exoma completo

Para la realización de la secuenciación de exoma completo se obtuvo material genómico a partir de muestras de 5 ml de sangre, procedentes de los pacientes, familiares y los voluntarios sanos no relacionados. Para esto se empleó el kit Gentra Puregene (Qiagen, Hilden, NRW, Germany).

Inicialmente, para la cohorte de identificación se seleccionaron 7 tríos familiares (Probando y ambos padres); un probando por familia.

Se prepararon las bibliotecas utilizando el Kit SureSelectXT Library Prep (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Realizamos la secuenciación de exoma completo con lecturas pareadas de 101 pares de bases en la plataforma HiSeq 2500 (Illumina, San Diego, CA, USA). Se analizaron los datos brutos para las variantes causales putativas de acuerdo a los protocolos estandarizados (93,101–103). Las regiones codificantes y los sitios de unión intrón-exón de 40 genes asociados con ictiosis fueron priorizados (93,102–104). Las secuencias génicas canónicas fueron obtenidas del buscador Ensembl Genome Browser

(https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000092295). Se seleccionaron variantes con una frecuencia de <0.01 en gnomAD (Genome Aggregation Database) (<https://gnomad.broadinstitute.org/>) para posterior análisis. Estudiamos la potencial patogenicidad de las variantes identificadas mediante el predictor de efecto de variantes (VEP; <https://www.ensembl.org/info/docs/tools/vep/index.html>) y el software de priorización de variantes Exomiser (<https://github.com/exomiser/Exomiser>).

Secuenciación Sanger

La variante homocigota candidata identificada por secuenciación de exoma completo se corroboró mediante secuenciación Sanger, evaluando a los 62 pacientes, 30 familiares y los 100 controles sanos.

Los cebadores se diseñaron utilizando el programa Primer Blast (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>). Las secuencias fueron: Secuencia sentido: 5'-TCCACTACCTGTGGTGGTCA-3' y secuencia reversa: 5'-GCAGGTGAACTCCCTGGATG-3'.

La PCR consistió en una desnaturalización inicial de 95 °C por 15 minutos, seguido por 35 ciclos a 95 °C por 30 segundos, 60 °C por 90 segundos, y 72 °C por 90 segundos; con una fase final de elongación a 72 °C por 10 minutos. Los productos de PCR se purificaron (QIAquick, Qiaquick, Qiagen, Hilden, NRW, Germany) y se secuenciaron bidireccionalmente (BigDyeTerminator v3.1, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Las secuencias se procesaron con el 3730xl analyzer (Thermofisher, Foster City, CA, USA) y los resultados fueron analizados con el Sequencing Analysis Software v5.3.1 (Thermofisher, Foster City, CA, USA).

Modelado molecular de la proteína TGM1 mutante

Obtuvimos la estructura tridimensional de TGM1 a partir del servidor I-TASSER (105). Empleamos PyMOL para construir la forma mutada, el cual consistía en un cambio de alanina por prolina en el residuo 352 (Pro352Ala). Realizamos las simulaciones de la dinámica molecular (DM) de las proteínas tridimensionales con la TGM1 silvestre (*wt*,

Pro352) y la mutante (*mut*, Ala352). El alineamiento 3D fue elaborado con UCSF Chimera (<http://www.rbvi.ucsf.edu/chimera>), mientras que la visualización se consiguió con el software VMD (Visual Molecular Dynamics) (106). Adicionalmente, empleamos el programa HOPE para obtener información estructural de la forma mutada (107).

Posteriormente, realizamos simulación DM usando NAMD 2.8 (108). Esta se realizó empleando al *forcé-field* CHARMM27 (109), el modelo TIP3, el software *psfgen* y el programa VMD.

Finalmente, el análisis estructural de la simulación de la DM, la raíz de la desviación cuadrática media (RDCM), la raíz de la fluctuación cuadrática media (RFCM), el radio de giro (Rg) y las fotos empleadas para la visualización fueron analizadas con el software Carma (110).

Finalmente se realizó un modelado molecular para investigar las posibles consecuencias funcionales producidas por la variante.

DESCRIPCIÓN DEL UNIVERSO DE TRABAJO

Pacientes con características clínicas compatibles con ICAR, residentes de distintas comunidades de los municipios de Acultzingo (Acatla, otras comunidades), Soledad Atzompa (Atzompa, Mexcala, Huitzila, otras comunidades) y Nogales (El campanario, otras comunidades), localizados dentro de la región de las Altas montañas del estado de Veracruz, México.

Portadores y controles de las mismas regiones.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes del sexo masculino o femenino residentes de las comunidades de la región de las Altas montañas de Veracruz, los cuales cumplan con los criterios clínicos de ICAR, según las guías internacionales.
- Edad entre 5-70 años
- Pacientes que deseen participar y firmen la carta de consentimiento informado

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes que no cumplan con los criterios clínicos para ICAR.
- Pacientes que no deseen participar en el estudio.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Pacientes que no cooperen para la realización de estudios
- Pacientes en quienes se produzca un error en el procesamiento de la muestra

RECURSOS MATERIALES

Extracción de DNA - kit Genra Puregene (Qiagen, Hilden, NRW, Germany).

Preparación de bibliotecas - Kit SureSelectXT Library Prep (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA).

Secuenciación de exoma - HiSeq 2500 (Illumina, San Diego, CA, USA).

Purificación de PCR - QIAquick, Qiaquick, Quigen, Hilden, NRW, Germany.

Secuenciación Sanger - BigDyeTerminator v3.1, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA.

Procesamiento de secuencias - 3730xl analyzer, Thermofisher, Foster City, CA, USA.

Análisis de secuencias - Sequencing Analysis Software v5.3.1 (Thermofisher, Foster City, CA, USA).

Alineamiento y visualización de estructura de TGM1 - USCF Chimera (<http://www.rbvi.ucsf.edu/chimera>); software VMD (Visual Molecular Dynamics).

RECURSOS HUMANOS

DR. EN C. Hernán Cortes Callejas – Asesor metodológico. Encargado de los análisis estadístico y molecular.

M. EN C. Norberto Leyva García – Asesor clínico.

Juan Carlos Morales Morfín – Realización de análisis clínico, árboles genealógicos, esquemas, entrega de resultados y consejo genético. Impartición de sesiones grupales comunitarias de asesoría general respecto al padecimiento.

Fundación Genes Latinoamérica A.C. – Fundación que facilitó permisos y acceso vehicular a los distintos municipios.

Médicos cirujanos de la Universidad Veracruzana – Detección de casos y realización de valoraciones clínicas y encuestas.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

62 pacientes con ICAR y 30 familiares sanos procedentes de 7 familias de los 3 municipios mencionados.

100 controles sanos de las mismas comunidades.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este protocolo de investigación fue aprobado por el comité de ética e investigación de la Universidad Veracruzana (035-2016-FMCM). Todos los procedimientos de esta investigación fueron conducidos siguiendo el código de ética de la declaración de Helsinki.

Previamente a su participación, se obtuvo consentimiento informado firmado para la investigación y publicación por parte de todos los participantes.

RESULTADOS

Características clínicas

Un total de 62 pacientes con ICAR y 30 familiares sanos procedentes de 7 familias no consanguíneas fueron reclutados. Los árboles familiares se representan en la **figura 1b**. Las edades de los pacientes oscilaban entre 5-70 años (Media 19.55, DS = 17.03). Todos los pacientes exhibían escamas aplanadas color café, las cuales cubrían la mayor parte de sus

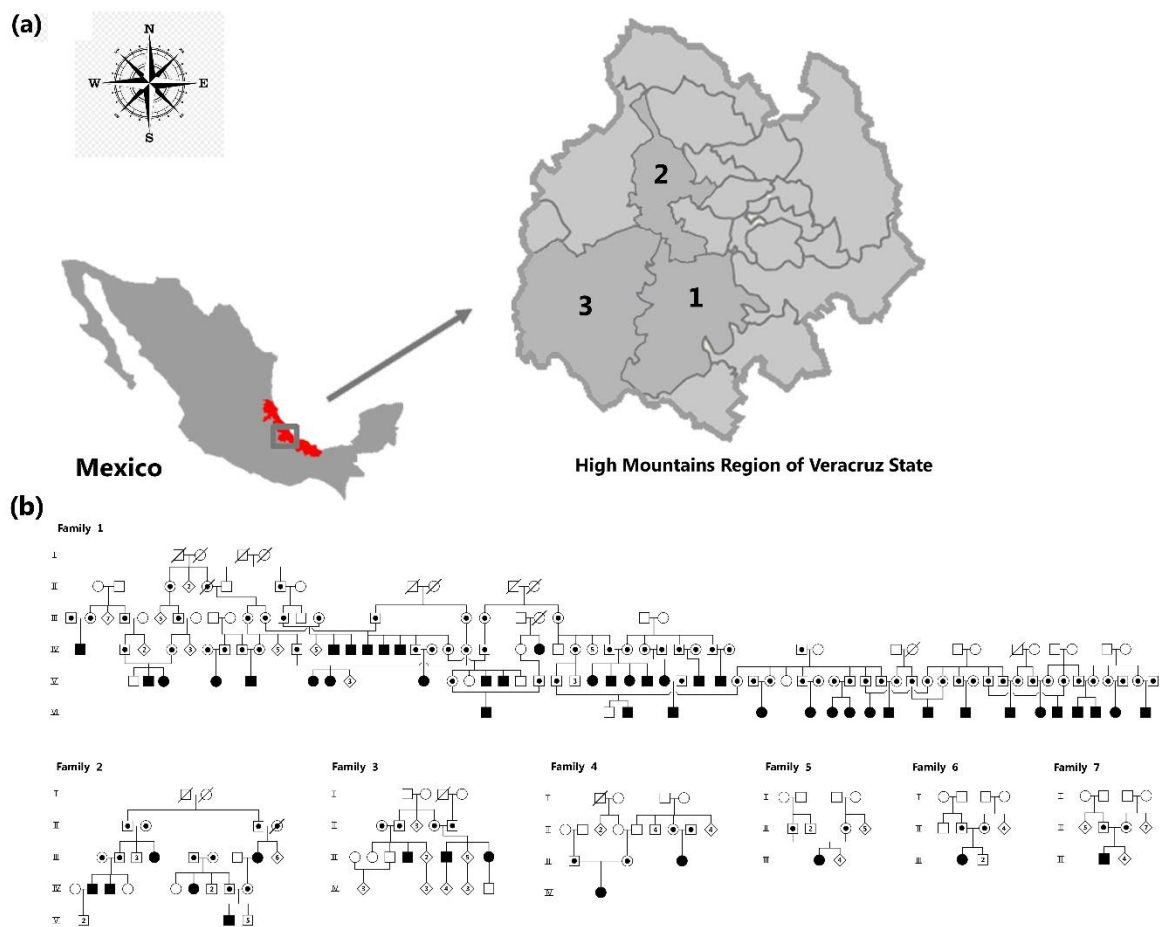


Figura 1: Localización geográfica y árboles genealógicos de los pacientes con ICAR. (a) Los pacientes fueron reclutados de 3 diferentes municipios de las Altas montañas del estado de Veracruz, México: (1) Acultzingo, (2) Soledad Atzompa, y (3) Nogales. (b) Todos los árboles genealógicos indican un patrón de herencia autosómico recesivo. Se puede apreciar una amplia consanguinidad dentro de los miembros de la familia 1. Los cuadrados y círculos oscuros indican los hombres y mujeres afectados, respectivamente.

cuerpos, e hiperqueratosis palmo-plantar; además, todos los pacientes refirieron membrana colodión al nacimiento (Ver **Figura 2**).



Figura 2: Características clínicas de los pacientes con ICAR. Todos los pacientes exhiben escamas aplanadas color marrón, las cuales cubren amplias regiones corporales. Las fotos presentan el torso y espalda de (a, b) un infante y (e, f) un adulto, respectivamente. Distintas características clínicas comunes observadas en estos pacientes, incluyen (c) alopecia, (d) escamas en cuello y (g, h) contracturas articulares y digitales.

Otras manifestaciones clínicas frecuentes incluyeron prurito (88%), hiperlinealidad palmo-plantar (88%), hipohidrosis (88%), ectropión (83.3%), alopecia (78.5%) y contracturas digitales (61.9%). Por otra parte, características clínicas observadas con menor frecuencia incluyeron hiperqueratosis subungueal (28.5%), onicogriposis (16.6%), queratosis pilar (9.5%) y malformación de la nariz y cartílago auricular (9.5%).

Identificación de la nueva mutación en *TGM1*

Para identificar la mutación causal, seleccionamos a los pacientes afectados y a sus parientes sanos, en cada una de las familias y realizamos secuenciación de exoma completo. Inicialmente identificamos **95,693 variantes** en todos los pacientes. Seleccionamos 166 variantes en genes relacionados a ictiosis. De esas variantes, excluimos aquellas con frecuencias de alelo menos común >0.01 y priorizamos aquellas con puntajes

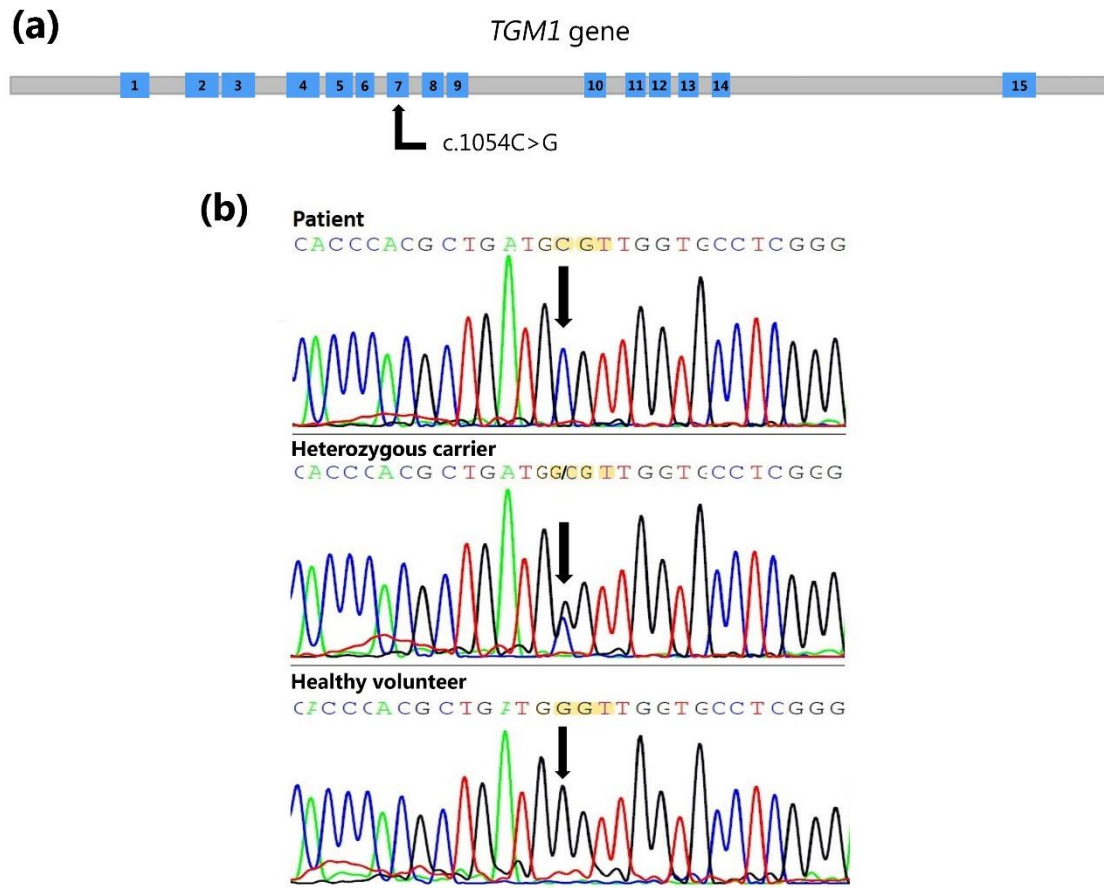


Figura 3. Localización de la variante patológica c.1054C>G (p.Pro352Ala). (a) Representación esquemática del sitio de la variante patológica en el gen *TGM1* detectada mediante el presente estudio. Los exones son representados como cajas de color azul. (b) Secuenciación del gen *TGM1*. La variante de sentido equivocado c.1054C>G (p.Pro352Ala) fue detectada en homocigosis en todos los pacientes afectados. La figura muestra la secuencia de electroferogramas del exón 7, procedentes de un paciente afectado (panel superior), un portador heterocigoto (panel intermedio), y un voluntario sano (panel inferior). Las flechas indican la posición del nucleótido número 1054.

más altos según Exomiser. Interesantemente, encontramos una variante homocigota localizada en el exón 7 de *TGM1* (c.1054G>C [p.Pro352Ala]) en todos los probandos (**Fig. 3a**).

En contraste, detectamos esta variante en sólo un alelo de los padres de los probandos. Por lo anterior, esta variante presenta la mayor correlación para la mutación genómica asociada con los pacientes con ICAR y los portadores asintomáticos en nuestra cohorte de descubrimiento.

Para validar este hallazgo, realizamos secuenciación Sanger en 62 pacientes y en 30 de sus padres (Portadores asintomáticos). Nuestros resultados revelaron que todos los pacientes fueron homocigotos para la variante, mientras que los padres fueron heterocigotos. Los electroferogramas representativos se muestran en la **Figura 3b**.

Realizamos una búsqueda bioinformática exhaustiva y encontramos que la variante c.1054G>C (p.Pro352Ala) no se ha reportado en ninguna base conocida, incluyendo ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) y Human Mutation Database (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>) (111). Además, de acuerdo a los resultados de VEP, no encontramos la variante en el proyecto de secuenciación de exoma NHLBI (<https://evs.gs.washington.edu/EVS/>), en el proyecto de los 1000 genomas (<https://www.internationalgenome.org/>), el Greater Middle East Variome Project (<http://igm.ucsd.edu/gme/>), y la Genome Aggregation Database (<https://gnomad.broadinstitute.org/>). Finalmente, para la validación de los antecedentes genéticos, realizamos secuenciación Sanger a 100 voluntarios de la misma región geográfica; notablemente, no encontramos la variante en ninguno.

Hallazgos epidemiológicos

Los pacientes con ICAR se agrupan en 3 municipios de las altas montañas de Veracruz, distribuidos en una región geográfica de aproximadamente 1,300 km² (**Fig. 1a**). La presente búsqueda identificó 62 pacientes con ICAR en la región; considerando el número de habitantes de dichos municipios, nuestros datos indican que la prevalencia general es de

74 casos por cada 100,000 habitantes (1:1,348). Sin embargo, la prevalencia incrementa notablemente en comunidades específicas como El campanario (2,352:100,000), Huitzila (843:100,000) y Acatla (550:100,000). La distribución de la prevalencia de ICAR en esta región se muestra en la **Tabla 1**.

Tabla 1: Distribución de pacientes con ICAR y tasa de prevalencia en la región de las Altas Montañas del estado de Veracruz, México.

Municipios y comunidades	Habitantes	Pacientes	Tasa de prevalencia ^a
Soledad atzompa	23,103	35	151.49
Atzompa	3,964	2	50.45
Mexcala	1,487	4	268.99
Huitzila	1,186	10	843.17
Other communities	16,466	19	115.38
Acultzingo	23,025	7	30.40
Acatla	1,272	7	550.31
Other communities	21,753	0	0.0
Nogales	37,478	20	53.36
El Campanario	850	20	2,352.94
Other communities	36,628	0	0.0
Total	83,606	62	74.15

^a (Número de casos/100,000 habitantes)

Posible participación de la variante c.1054 en la conformación de TGM1

Para investigar los posibles cambios estructurales en la proteína codificada por el gen mutado, analizamos la estructura tridimensional de TGM1^{wt} (Silvestre o no mutada) y de TGM1^{mut} (Proteína mutada) mediante simulación DM. La estructura 3D de TGM1 presenta 4 principales regiones (**Fig. 4a**). La proximidad del dominio catalítico y el residuo mutado en la estructura 3D se muestra en la figura 4b; cabe destacar que la mutación está posicionada solo a 25 residuos de distancia del residuo catalítico Cys377. La alineación

estructural de TGM1*wt* y TGM1*mut* se ilustra en la **Figura 4c**, mientras que la **figura 4d** ilustra una ampliación de los cambios estructurales en los residuos.

Por otro lado, la simulación DM a través de RMSD reveló que tanto la TGM1*wt* como la TGM1*mut* alcanzaron el equilibrio tras 40 nanosegundos de simulación DM (**Fig. 5a**). Los valores de Rg para TGM1*wt* indican expansión tras 20 nanosegundos y corresponden con los valores de RMSD tras 40 nanosegundos (**Fig. 5a y 5b**, color negro). Los valores de Rg para TGM1*mut* (**Fig. 5b**, color rojo) revelan una diferencia de 1 Å (Ángstrom) en los primeros 60 nanosegundos. En la **Figura 5c**, los valores de RMFS indican la fluctuación de cada aminoácido de TGM1*wt* (Negro) y TGM1*mut* (Rojo). Los residuos del sitio activo, Cys377, His436 y Asp459 no exhiben una diferencia en la fluctuación; sin embargo, los aminoácidos circundantes al dominio catalítico presentan una diferencia de 2.5 Å. Sorprendentemente, el residuo nativo (Pro352) exhibió un RMSF de 2.58 Å, mientras que la forma mutada (Ala352) reveló un RMSF de .86 Å. Finalmente, los resultados del servidor HOPE indicaron que el residuo mutante es más pequeño que el de la forma silvestre y que el de la forma silvestre está altamente conservado entre especies.

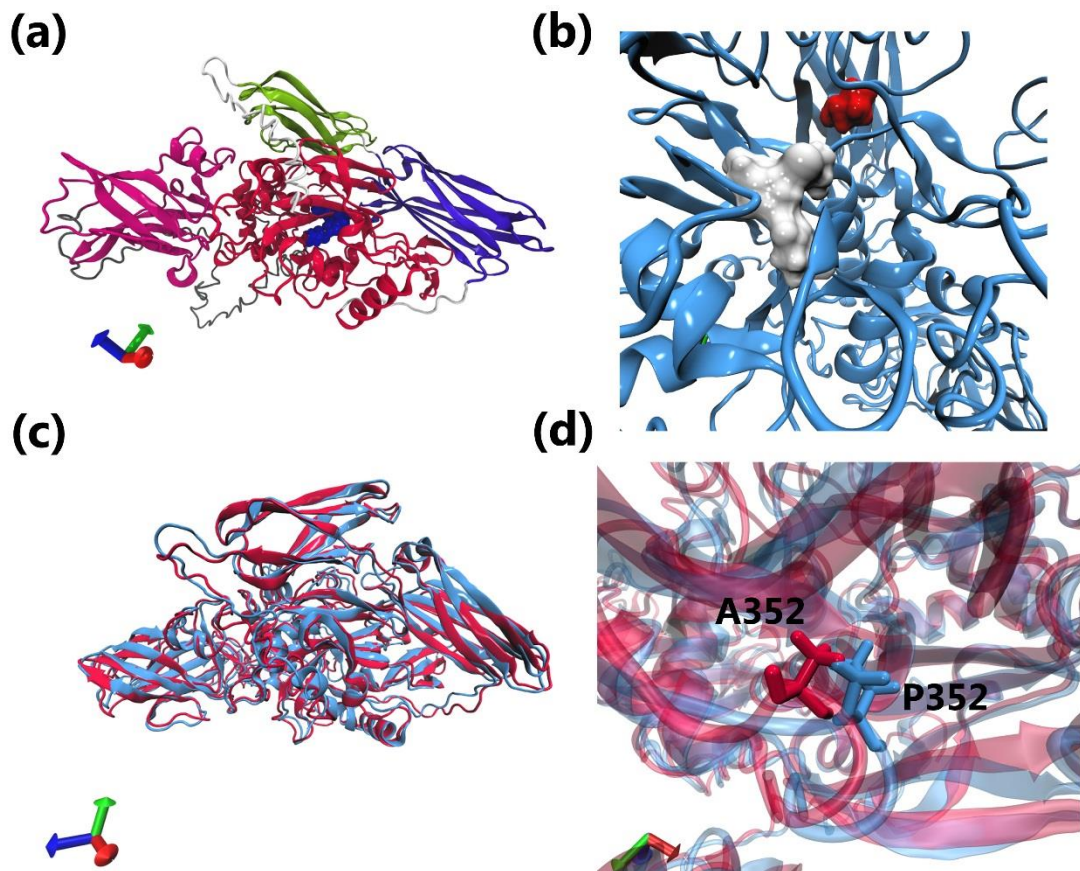


Figura 4. Estructuras 3D de TGM1wt y TGM1mut. (a) Estructura 3D de TGM1wt; de gris: la región sin estructura secundaria; de rosa: el dominio β -sandwich; de rojo: el núcleo catalítico; de violeta: el segundo β -barril carboxi-terminal. Los residuos localizados en sitios activos: Cys377, His436 y Asp459 se muestran de color azul. (b) Representación de la proximidad del dominio catalítico y el residuo con la variante patogénica; los residuos del sitio activo se representan de blanco; el residuo con la variante patogénica (352A) se representa de color rojo. (c) Alineamiento 3D de TGM1wt y TGM1mut, de color azul y rojo, respectivamente. (d) Acercamiento de los residuos 352; Pro352: azul, Ala352: rojo.

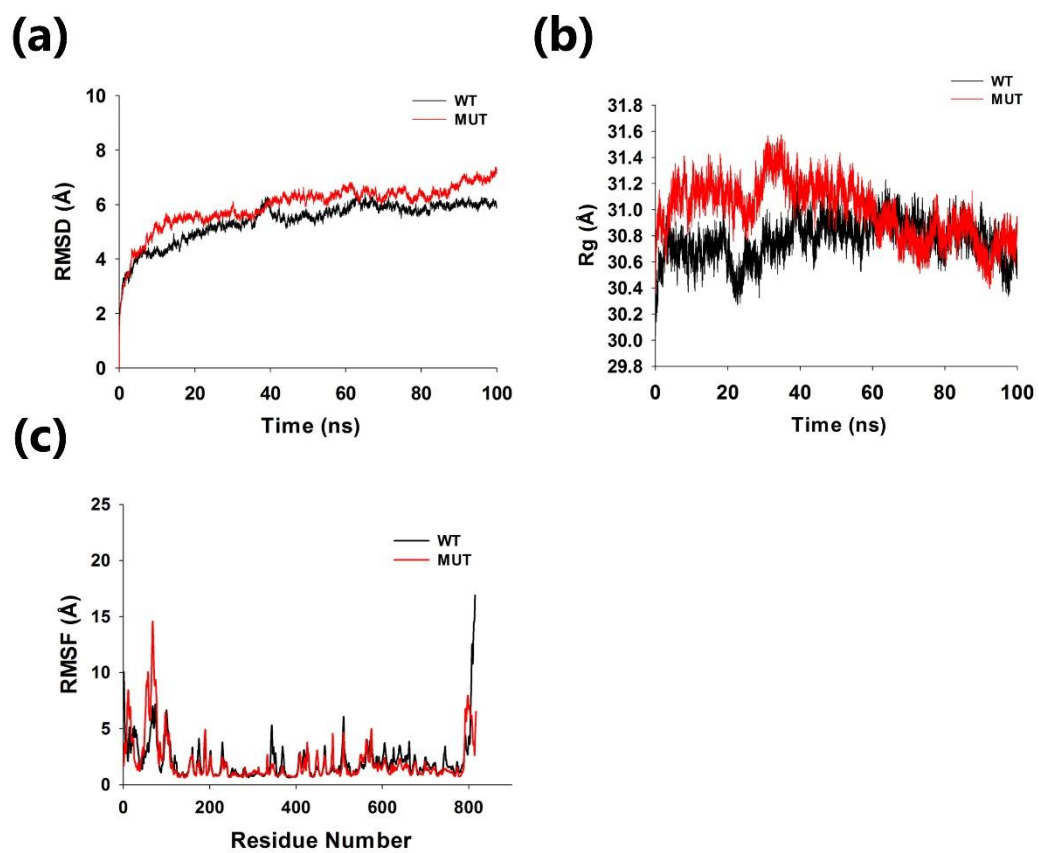


Figura 5. Análisis de dinámica molecular de TGM1wt y TGM1mut. La trayectoria de la simulación MD se realizó utilizando el software Carma, evaluando los siguientes parámetros: (a) RMSD, (b) Rg, y (c) RMSF. En negro: TGM1wt; en rojo: TGM1mut.

DISCUSIÓN

En este estudio identificamos una nueva mutación en una cohorte amplia de pacientes con ICAR, procedentes de una región geográfica pequeña del sudeste de México. Pese a que los pacientes pertenecen a familias aparentemente no relacionadas, todos ellos presentaron manifestaciones clínicas similares, asociadas a fenotipo de ictiosis laminar (112). Una explicación factible para esta alta similitud es que todos los pacientes compartían la misma mutación causal. Sin embargo, un pequeño número de pacientes exhibió algunos signos clínicos menos frecuentes. Esta variabilidad clínica puede explicarse por la influencia de la enfermedad, los antecedentes genéticos (Genes modificadores) derivados de la mezcla poblacional, o factores ambientales (113), los cuales representan la complejidad y variabilidad de las ICAR, incluso en pacientes con la misma mutación causal o en la misma familia (2,61,68,114).

Reportes recientes indican que la secuenciación de exoma completo es útil para la identificación de mutaciones causales en ICAR y otros desórdenes cutáneos (93,104,115–119). En consecuencia, empleamos una combinación de secuenciación de exoma completo con Exomiser y VEP, lo cual nos permitió identificar una nueva mutación homocigota en todos los pacientes. Determinamos que la variante patogénica de sentido equivocado c.1054C>G (p.Pro352Ala) se localiza en el exón 7 de *TGM1*. *TGM1* codifica para la enzima TGM1, la cual es esencial para la formación de la envoltura cornificada que rodea las células cutáneas. (120). Pese a que las variantes patogénicas en *TGM1* constituyen una causa significativa de ICAR (2,71), nuestra investigación reveló que la variante c.1054C>G (p.Pro352Ala) no se ha reportado como mutación ni como variante benigna. Además, los padres (no afectados) presentaron solo un alelo con la variante, la cual no fue encontrada en 100 individuos sanos no relacionados de la misma región. Por lo tanto, concluimos que la variante c.1054C>G (p.Pro352Ala) representa una nueva variante patogénica (Mutación). En consecuencia, registramos la información en la base de datos ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/694521/>; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/RCV000856581.1/>).

Subsecuentemente, realizamos un modelado molecular para investigar las probables consecuencias funcionales. Nuestro análisis reveló que esta variante patogénica conduce a una sustitución de aminoácido no conservativa, la cual es bastante probable que impacte en la estructura secundaria de la proteína TGM1 debido a que estos residuos difieren en algunas propiedades. Respecto a esto, el residuo silvestre es más grande que el mutante, lo cual puede crear un espacio en el centro o núcleo de la proteína mutada. Igualmente, el residuo silvestre es prolina, conociéndose por ser bastante rígido. Por esto, esto induce una conformación estructural particular que puede ser requerida para la función de TGM1 (121,122). Además, los valores de RMSF revelan que la trayectoria completa de TGM1 mut es menor que la de TGM1 wt , lo cual sugiere una pérdida de actividad de la proteína mutada. Por otra parte, nuestro análisis indicó que el residuo silvestre se localiza en una posición bastante conservada entre diversas especies, y los puntajes de conservación sugieren que esta mutación está probablemente dañando la estructura o función de la proteína. Respecto a esto, la mutación c.1054C>G se posiciona a solo 25 residuos del residuo catalítico Cys377. Además, diversos reportes han revelado mutaciones de sentido equivocado en los residuos cercanos p.Ser358Arg (123), p.Val359Met (77), p.Ala381Pro (104), e incluso en el mismo residuo (p.Pro352Leu; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/40460855/>) como una causa de ICAR. Esta evidencia sugiere que la variante c.1054C>G (p.Pro352Ala) se encuentra situada en una región que puede ser crucial para la función de TGM1. Por lo tanto, nuestros hallazgos sugieren una relevancia funcional del residuo mutado y apoyan la idea de que la variante c.1054C>G (p.Pro352Ala) está dañando la estructura/función proteica.

Por otra parte, pese a que nuestra investigación genealógica no encontró ningún parentesco entre las familias estudiadas, esto no puede descartarse del todo debido a que los pacientes pertenecen a comunidades rurales y la información respecto a muchos de sus ancestros finados no se encuentra disponible. Respecto a esto, las comunidades estudiadas se encuentran rodeadas de montañas y colinas escarpadas, y poseen pocas rutas de comunicación con otras poblaciones. Debido a esto, la condición geográfica puede limitar

la migración humana, facilitando el aislamiento geográfico de las comunidades y promoviendo los matrimonios consanguíneos y la endogamia, lo cual puede ayudar a explicar la inusualmente alta prevalencia de ICAR en la región. Por lo tanto, estos hallazgos pueden sugerir que esta alta prevalencia es un resultado de un efecto fundador, similar a las poblaciones previamente reportadas; sin embargo, se requieren análisis de haplotipos para confirmar el origen de la mutación (64,67,83,124–127). Respecto a esto, en nuestro conocimiento, la más alta prevalencia reportada en la literatura hasta la fecha es la de la costa del distrito de Galicia, la cual fue calculada como 1:33,000 (67,124). Notablemente, en el presente estudio, calculamos una prevalencia general de 1:1,348 (74:100,000) en estas comunidades, lo cual representa, en nuestro conocimiento, la prevalencia más alta de ICAR a nivel mundial hasta la fecha.

Finalmente, la identificación de la mutación causal de ICAR en esta población y el cálculo de la prevalencia fueron esenciales para brindar consejo genético a los pacientes. De igual manera, el conocimiento de la mutación causal será útil para determinar la frecuencia de portadores asintomáticos y el riesgo para la descendencia de los pacientes y sus familiares. Además, estos pacientes presentan la misma mutación causal, lo cual se traduce en una población homogénea adecuada para futuros análisis comparativos con pacientes de diferentes orígenes geográficos, y para una caracterización clínica y molecular exhaustiva de la enfermedad.

En resumen, en el presente trabajo reportamos una nueva mutación del gen *TGM1* en 62 pacientes mexicanos provenientes de la región de las Altas Montañas del estado de Veracruz. La inusualmente alta frecuencia de esta mutación sugiere un efecto fundador; sin embargo, futuros análisis de haplotipo se requieren para corroborar esta hipótesis. Finalmente, en nuestro conocimiento, la prevalencia de ICAR en estas comunidades representa la más alta observada a nivel mundial hasta la fecha.

CONCLUSIONES

Reportamos una nueva variante en el gen *TGM1* en 62 pacientes mexicanos. La inusualmente elevada frecuencia en esta región sugiere la ocurrencia de un efecto fundador; sin embargo, se requieren análisis de haplotipos para corroborar esta hipótesis.

Respecto a nuestro conocimiento, la prevalencia de ICAR encontrada en estas comunidades es la más elevada a nivel mundial.

REFERENCIAS

1. Cortés H, Del Prado-Audelo ML, Urbán-Morlán Z, Alcalá-Alcalá S, González-Torres M, Reyes-Hernández OD, et al. Pharmacological treatments for cutaneous manifestations of inherited ichthyoses. *Arch Dermatol Res.* 2020 May;312(4):237–48.
2. Vahlquist A, Fischer J, Törmä H. Inherited Nonsyndromic Ichthyoses: An Update on Pathophysiology, Diagnosis and Treatment. *Am J Clin Dermatol.* 2018 Feb;19(1):51–66.
3. Cui D. Atlas de histología. 1st ed. Wilkins LW&, editor. Barcelona: Wolters Kluwer; 2011. p. 163.
4. Eckert RL. Structure, function, and differentiation of the keratinocyte. *Physiol Rev.* 1989 Oct;69(4):1316–46.
5. Eckert RL, Crish JF, Robinson NA. The epidermal keratinocyte as a model for the study of gene regulation and cell differentiation. *Physiol Rev.* 1997 Apr;77(2):397–424.
6. Eckert RL, Green H. Structure and evolution of the human involucrin gene. *Cell.* 1986 Aug;46(4):583–9.

7. Eckert RL, Yaffe MB, Crish JF, Murthy S, Rorke EA, Welter JF. Involucrin--structure and role in envelope assembly. *J Invest Dermatol*. 1993 May;100(5):613–7.
8. Candi E, Melino G, Lahm A, Ceci R, Rossi A, Kim IG, et al. Transglutaminase 1 mutations in lamellar ichthyosis. Loss of activity due to failure of activation by proteolytic processing. *J Biol Chem*. 1998 May;273(22):13693–702.
9. Steinert PM. A model for the hierarchical structure of the human epidermal cornified cell envelope. *Cell Death Differ*. 1995 Jan;2(1):33–40.
10. Candi E, Schmidt R, Melino G. The cornified envelope: a model of cell death in the skin. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2005;6(4):328–40. Available from: <https://doi.org/10.1038/nrm1619>
11. Eckert RL, Sturniolo MT, Broome A-M, Ruse M, Rorke EA. Transglutaminase function in epidermis. *J Invest Dermatol*. 2005 Mar;124(3):481–92.
12. Moll R, Divo M, Langbein L. The human keratins: biology and pathology. *Histochem Cell Biol*. 2008 Jun;129(6):705–33.
13. Heid HW, Moll I, Franke WW. Patterns of expression of trichocytic and epithelial cytokeratins in mammalian tissues. I. Human and bovine hair follicles. *Differentiation*. 1988;37(2):137–57.
14. Langbein L, Rogers MA, Winter H, Praetzel S, Beckhaus U, Rackwitz HR, et al. The catalog of human hair keratins. I. Expression of the nine type I members in the hair follicle. *J Biol Chem*. 1999 Jul;274(28):19874–84.
15. Lane EB, McLean WHI. Keratins and skin disorders. *J Pathol*. 2004 Nov;204(4):355–66.
16. Parry DAD, Strelkov S V, Burkhard P, Aebi U, Herrmann H. Towards a molecular description of intermediate filament structure and assembly. *Exp Cell Res*. 2007

Jun;313(10):2204–16.

17. Geisler N, Weber K. The amino acid sequence of chicken muscle desmin provides a common structural model for intermediate filament proteins. *EMBO J.* 1982;1(12):1649–56.
18. Shetty S. Keratinization and its disorders. *Oman Med J.* 2012 Sep;27(5):348–57.
19. Vaidya MM, Kanojia D. Keratins: markers of cell differentiation or regulators of cell differentiation? *J Biosci.* 2007 Jun;32(4):629–34.
20. Gu L-H, Coulombe PA. Keratin function in skin epithelia: a broadening palette with surprising shades. *Curr Opin Cell Biol.* 2007 Feb;19(1):13–23.
21. Delva E, Tucker DK, Kowalczyk AP. The desmosome. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009 Aug;1(2):a002543.
22. Satchwell TJ, Shoemark DK, Sessions RB, Toye AM. Protein 4.2: a complex linker. *Blood Cells Mol Dis.* 2009;42(3):201–10.
23. SARKAR NK, CLARKE DD, WAELSCH H. An enzymically catalyzed incorporation of amines into proteins. *Biochim Biophys Acta.* 1957 Aug;25(2):451–2.
24. Grenard P, Bates MK, Aeschlimann D. Evolution of transglutaminase genes: identification of a transglutaminase gene cluster on human chromosome 15q15. Structure of the gene encoding transglutaminase X and a novel gene family member, transglutaminase Z. *J Biol Chem.* 2001 Aug;276(35):33066–78.
25. Eckert RL, Kaartinen MT, Nurminskaya M, Belkin AM, Colak G, Johnson GVW, et al. Transglutaminase regulation of cell function. *Physiol Rev.* 2014 Apr;94(2):383–417.
26. Candi E, Oddi S, Paradisi A, Terrinoni A, Ranalli M, Teofoli P, et al. Expression of transglutaminase 5 in normal and pathologic human epidermis. *J Invest Dermatol.* 2002 Sep;119(3):670–7.

27. Kim SY, Chung SI, Yoneda K, Steinert PM. Expression of transglutaminase 1 in human epidermis. *J Invest Dermatol.* 1995 Feb;104(2):211–7.
28. Iismaa SE, Mearns BM, Lorand L, Graham RM. Transglutaminases and disease: lessons from genetically engineered mouse models and inherited disorders. *Physiol Rev.* 2009 Jul;89(3):991–1023.
29. Pinkas DM, Strop P, Brunger AT, Khosla C. Transglutaminase 2 Undergoes a Large Conformational Change upon Activation. *PLOS Biol* [Internet]. 2007 Dec 18;5(12):e327. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050327>
30. Begg GE, Carrington L, Stokes PH, Matthews JM, Wouters MA, Husain A, et al. Mechanism of allosteric regulation of transglutaminase 2 by GTP. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2006 Dec 26;103(52):19683 LP – 19688. Available from: <http://www.pnas.org/content/103/52/19683.abstract>
31. Pedersen LC, Yee VC, Bishop PD, Le Trong I, Teller DC, Stenkamp RE. Transglutaminase factor XIII uses proteinase-like catalytic triad to crosslink macromolecules. *Protein Sci.* 1994 Jul;3(7):1131–5.
32. Murthy SNP, Iismaa S, Begg G, Freymann DM, Graham RM, Lorand L. Conserved tryptophan in the core domain of transglutaminase is essential for catalytic activity. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2002 Mar 5;99(5):2738 LP – 2742. Available from: <http://www.pnas.org/content/99/5/2738.abstract>
33. Folk JE, Cole PW. Identification of a functional cysteine essential for the activity of guinea pig liver transglutaminase. *J Biol Chem.* 1966 Jul;241(13):3238–40.
34. Iismaa SE, Holman S, Wouters MA, Lorand L, Graham RM, Husain A. Evolutionary specialization of a tryptophan indole group for transition-state stabilization by eukaryotic transglutaminases. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Oct;100(22):12636–41.

35. Lee KN, Arnold SA, Birckbichler PJ, Patterson MKJ, Fraij BM, Takeuchi Y, et al. Site-directed mutagenesis of human tissue transglutaminase: Cys-277 is essential for transglutaminase activity but not for GTPase activity. *Biochim Biophys Acta*. 1993 Sep;1202(1):1–6.
36. Micanovic R, Procyk R, Lin W, Matsueda GR. Role of histidine 373 in the catalytic activity of coagulation factor XIII. *J Biol Chem*. 1994 Mar;269(12):9190–4.
37. Lorand L, Graham RM. Transglutaminases: crosslinking enzymes with pleiotropic functions. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2003 Feb;4(2):140–56.
38. Begg GE, Holman SR, Stokes PH, Matthews JM, Graham RM, Iismaa SE. Mutation of a critical arginine in the GTP-binding site of transglutaminase 2 disinhibits intracellular cross-linking activity. *J Biol Chem*. 2006 May;281(18):12603–9.
39. Iismaa SE, Chung L, Wu MJ, Teller DC, Yee VC, Graham RM. The core domain of the tissue transglutaminase Gh hydrolyzes GTP and ATP. *Biochemistry*. 1997 Sep;36(39):11655–64.
40. Spina AM, Esposito C, Pagano M, Chiosi E, Mariniello L, Cozzolino A, et al. GTPase and transglutaminase are associated in the secretion of the rat anterior prostate. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999 Jul;260(2):351–6.
41. Candi E, Paradisi A, Terrinoni A, Pietroni V, Oddi S, Cadot B, et al. Transglutaminase 5 is regulated by guanine-adenine nucleotides. *Biochem J*. 2004 Jul;381(Pt 1):313–9.
42. Liu S, Cerione RA, Clardy J. Structural Basis for the Guanine Nucleotide-Binding Activity of Tissue Transglutaminase and Its Regulation of Transamidation Activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2002 Sep 13;99(5):2743–7. Available from: <http://www.jstor.org/stable/3058019>

43. Ueki S, Takagi J, Saito Y. Dual functions of transglutaminase in novel cell adhesion. *J Cell Sci.* 1996 Nov;109 (Pt 1):2727–35.
44. Akimov SS, Krylov D, Fleischman LF, Belkin AM. Tissue transglutaminase is an integrin-binding adhesion coreceptor for fibronectin. *J Cell Biol.* 2000 Feb;148(4):825–38.
45. Mishra S, Saleh A, Espino PS, Davie JR, Murphy LJ. Phosphorylation of histones by tissue transglutaminase. *J Biol Chem.* 2006 Mar;281(9):5532–8.
46. Mishra S, Murphy LJ. Tissue transglutaminase has intrinsic kinase activity: identification of transglutaminase 2 as an insulin-like growth factor-binding protein-3 kinase. *J Biol Chem.* 2004 Jun;279(23):23863–8.
47. Mishra S, Murphy LJ. The p53 oncoprotein is a substrate for tissue transglutaminase kinase activity. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006 Jan;339(2):726–30.
48. Hasegawa G, Suwa M, Ichikawa Y, Ohtsuka T, Kumagai S, Kikuchi M, et al. A novel function of tissue-type transglutaminase: protein disulphide isomerase. *Biochem J.* 2003 Aug;373(Pt 3):793–803.
49. Iismaa SE, Begg GE, Graham RM. Cross-linking transglutaminases with G protein-coupled receptor signaling. *Sci STKE.* 2006 Sep;2006(353):pe34.
50. Xu L, Begum S, Hearn JD, Hynes RO. GPR56, an atypical G protein-coupled receptor, binds tissue transglutaminase, TG2, and inhibits melanoma tumor growth and metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 Jun;103(24):9023–8.
51. Klöck C, Diraimondo TR, Khosla C. Role of transglutaminase 2 in celiac disease pathogenesis. *Semin Immunopathol.* 2012 Jul;34(4):513–22.
52. Aeschlimann D, Paulsson M. Cross-linking of laminin-nidogen complexes by tissue

transglutaminase. A novel mechanism for basement membrane stabilization. *J Biol Chem.* 1991 Aug;266(23):15308–17.

53. Candi E, Tarcsa E, Idler WW, Kartasova T, Marekov LN, Steinert PM. Transglutaminase cross-linking properties of the small proline-rich 1 family of cornified cell envelope proteins. Integration with loricrin. *J Biol Chem.* 1999 Mar;274(11):7226–37.
54. Nemes Z, Marekov LN, Fésüs L, Steinert PM. A novel function for transglutaminase 1: attachment of long-chain omega-hydroxyceramides to involucrin by ester bond formation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999 Jul;96(15):8402–7.
55. Mehta K. Mammalian transglutaminases: a family portrait. *Prog Exp Tumor Res.* 2005;38:1–18.
56. Vizcaíno C, Mansilla S, Portugal J. Sp1 transcription factor: A long-standing target in cancer chemotherapy. *Pharmacol Ther.* 2015 Aug;152:111–24.
57. Hiiragi T, Sasaki H, Nagafuchi A, Sabe H, Shen SC, Matsuki M, et al. Transglutaminase type 1 and its cross-linking activity are concentrated at adherens junctions in simple epithelial cells. *J Biol Chem.* 1999 Nov;274(48):34148–54.
58. Baumgartner W, Golenhofen N, Weth A, Hiiragi T, Saint R, Griffin M, et al. Role of transglutaminase 1 in stabilisation of intercellular junctions of the vascular endothelium. *Histochem Cell Biol.* 2004 Jul;122(1):17–25.
59. Steinert PM, Kim SY, Chung SI, Marekov LN. The transglutaminase 1 enzyme is variably acylated by myristate and palmitate during differentiation in epidermal keratinocytes. *J Biol Chem.* 1996 Oct;271(42):26242–50.
60. Kim SY, Chung SI, Steinert PM. Highly active soluble processed forms of the transglutaminase 1 enzyme in epidermal keratinocytes. *J Biol Chem.* 1995

Jul;270(30):18026–35.

61. Oji V, Tadini G, Akiyama M, Blanchet Bardon C, Bodemer C, Bourrat E, et al. Revised nomenclature and classification of inherited ichthyoses: results of the First Ichthyosis Consensus Conference in Sorèze 2009. *J Am Acad Dermatol*. 2010 Oct;63(4):607–41.
62. Bale SJ, Doyle SZ. The genetics of ichthyosis: a primer for epidemiologists. *J Invest Dermatol*. 1994 Jun;102(6):49S-50S.
63. Hernández-Martín A, Garcia-Doval I, Aranegui B, de Unamuno P, Rodríguez-Pazos L, González-Enseñat M-A, et al. Prevalence of autosomal recessive congenital ichthyosis: a population-based study using the capture-recapture method in Spain. *J Am Acad Dermatol*. 2012 Aug;67(2):240–4.
64. Pigg M, Gedde-Dahl TJ, Cox D, Hausser I, Anton-Lamprecht I, Dahl N. Strong founder effect for a transglutaminase 1 gene mutation in lamellar ichthyosis and congenital ichthyosiform erythroderma from Norway. *Eur J Hum Genet*. 1998;6(6):589–96.
65. Esperón-Moldes US, Pardo-Seco J, Montalván-Suárez M, Fachal L, Ginarte M, Rodríguez-Pazos L, et al. Biogeographical origin and timing of the founder ichthyosis TGM1 c.1187G > A mutation in an isolated Ecuadorian population. *Sci Rep [Internet]*. 2019;9(1):7175. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43133-6>
66. Zambrano H, Montalvan M, Cabezas J, Lu Y, Yang CS, Milstone LM, et al. Mutations in TGM1 in Ecuadorians with autosomal recessive congenital ichthyosis. Vol. 53, *International journal of dermatology*. 2014. p. e312-3.
67. Rodríguez-Pazos L, Ginarte M, Fachal L, Toribio J, Carracedo A, Vega A. Analysis of TGM1, ALOX12B, ALOXE3, NIPAL4 and CYP4F22 in autosomal recessive congenital

- ichthyosis from Galicia (NW Spain): evidence of founder effects. *Br J Dermatol*. 2011 Oct;165(4):906–11.
68. Takeichi T, Akiyama M. Inherited ichthyosis: Non-syndromic forms. *J Dermatol*. 2016 Mar;43(3):242–51.
69. Cortés H, Figueroa-González G, Reyes-Hernández OD, Magaña JJ, Leyva-García N, Cariño-Calvo L, et al. Non-invasive methods for evaluation of skin manifestations in patients with ichthyosis. *Arch Dermatol Res*. 2020 May;312(4):231–6.
70. Oji V, Hautier JM, Ahvazi B, Hausser I, Aufenvenne K, Walker T, et al. Bathing suit ichthyosis is caused by transglutaminase-1 deficiency: evidence for a temperature-sensitive phenotype. *Hum Mol Genet*. 2006 Nov;15(21):3083–97.
71. Pigg MH, Bygum A, Gånemo A, Virtanen M, Brandrup F, Zimmer AD, et al. Spectrum of Autosomal Recessive Congenital Ichthyosis in Scandinavia: Clinical Characteristics and Novel and Recurrent Mutations in 132 Patients. *Acta Derm Venereol*. 2016 Nov;96(7):932–7.
72. Vahlquist A, Bygum A, Gånemo A, Virtanen M, Hellström-Pigg M, Strauss G, et al. Genotypic and clinical spectrum of self-improving collodion ichthyosis: ALOX12B, ALOXE3, and TGM1 mutations in Scandinavian patients. *J Invest Dermatol*. 2010 Feb;130(2):438–43.
73. Khnykin D, Rønnevig J, Johnsson M, Sitek JC, Blaas H-GK, Hausser I, et al. Ichthyosis prematurity syndrome: clinical evaluation of 17 families with a rare disorder of lipid metabolism. *J Am Acad Dermatol*. 2012 Apr;66(4):606–16.
74. Herman ML, Farasat S, Steinbach PJ, Wei M-H, Toure O, Fleckman P, et al. Transglutaminase-1 gene mutations in autosomal recessive congenital ichthyosis: summary of mutations (including 23 novel) and modeling of TGase-1. *Hum Mutat*. 2009 Apr;30(4):537–47.

75. Hackett BC, Fitzgerald D, Watson RM, Hol FA, Irvine AD. Genotype-phenotype correlations with TGM1: clustering of mutations in the bathing suit ichthyosis and self-healing collodion baby variants of lamellar ichthyosis. *Br J Dermatol*. 2010 Feb;162(2):448–51.
76. Raghunath M, Hennies H-C, Ahvazi B, Vogel M, Reis A, Steinert PM, et al. Self-Healing Collodion Baby: a Dynamic Phenotype Explained by a Particular Transglutaminase-1 Mutation. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2003;120(2):224–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022202X15301494>
77. Mazereeuw-Hautier J, Aufenvenne K, Deraison C, Ahvazi B, Oji V, Traupe H, et al. Acral self-healing collodion baby: report of a new clinical phenotype caused by a novel TGM1 mutation. *Br J Dermatol*. 2009 Aug;161(2):456–63.
78. Fischer J, Faure A, Bouadjar B, Blanchet-Bardon C, Karaduman A, Thomas I, et al. Two new loci for autosomal recessive ichthyosis on chromosomes 3p21 and 19p12-q12 and evidence for further genetic heterogeneity. *Am J Hum Genet*. 2000 Mar;66(3):904–13.
79. Mizrachi-Koren M, Geiger D, Indelman M, Bitterman-Deutsch O, Bergman R, Sprecher E. Identification of a novel locus associated with congenital recessive ichthyosis on 12p11.2-q13. *J Invest Dermatol*. 2005 Sep;125(3):456–62.
80. Akiyama M, Sugiyama-Nakagiri Y, Sakai K, McMillan JR, Goto M, Arita K, et al. Mutations in lipid transporter ABCA12 in harlequin ichthyosis and functional recovery by corrective gene transfer. *J Clin Invest*. 2005 Jul;115(7):1777–84.
81. Kelsell DP, Norgett EE, Unsworth H, Teh M-T, Cullup T, Mein CA, et al. Mutations in ABCA12 underlie the severe congenital skin disease harlequin ichthyosis. *Am J Hum Genet*. 2005 May;76(5):794–803.

82. Thomas AC, Cullup T, Norgett EE, Hill T, Barton S, Dale BA, et al. ABCA12 is the major harlequin ichthyosis gene. *J Invest Dermatol.* 2006 Nov;126(11):2408–13.
83. Sakai K, Akiyama M, Yanagi T, McMillan JR, Suzuki T, Tsukamoto K, et al. ABCA12 is a major causative gene for non-bullous congenital ichthyosiform erythroderma. Vol. 129, *The Journal of investigative dermatology.* United States; 2009. p. 2306–9.
84. Lefèvre C, Audebert S, Jobard F, Bouadjar B, Lakhdar H, Boughdene-Stambouli O, et al. Mutations in the transporter ABCA12 are associated with lamellar ichthyosis type 2. *Hum Mol Genet.* 2003 Sep;12(18):2369–78.
85. Akiyama M. ABCA12 mutations and autosomal recessive congenital ichthyosis: a review of genotype/phenotype correlations and of pathogenetic concepts. *Hum Mutat.* 2010 Oct;31(10):1090–6.
86. Jobard F, Lefèvre C, Karaduman A, Blanchet-Bardon C, Emre S, Weissenbach J, et al. Lipoxygenase-3 (ALOXE3) and 12(R)-lipoxygenase (ALOX12B) are mutated in non-bullous congenital ichthyosiform erythroderma (NCIE) linked to chromosome 17p13.1. *Hum Mol Genet.* 2002 Jan;11(1):107–13.
87. Eckl K-M, Tidhar R, Thiele H, Oji V, Hausser I, Brodesser S, et al. Impaired epidermal ceramide synthesis causes autosomal recessive congenital ichthyosis and reveals the importance of ceramide acyl chain length. *J Invest Dermatol.* 2013 Sep;133(9):2202–11.
88. Lefèvre C, Bouadjar B, Ferrand V, Tadini G, Mégarbané A, Lathrop M, et al. Mutations in a new cytochrome P450 gene in lamellar ichthyosis type 3. *Hum Mol Genet.* 2006 Mar;15(5):767–76.
89. Noguera-Morel L, Feito-Rodríguez M, Maldonado-Cid P, García-Miñáur S, Kamsteeg E-J, González-Sarmiento R, et al. Two Cases of Autosomal Recessive Congenital Ichthyosis due to CYP4F22 Mutations: Expanding the Genotype of Self-Healing

Collodion Baby. *Pediatr Dermatol*. 2016;33(2):e48-51.

90. Israeli S, Khamaysi Z, Fuchs-Telem D, Nousbeck J, Bergman R, Sarig O, et al. A mutation in LIPN, encoding epidermal lipase N, causes a late-onset form of autosomal-recessive congenital ichthyosis. *Am J Hum Genet*. 2011 Apr;88(4):482–7.
91. Lefèvre C, Bouadjar B, Karaduman A, Jobard F, Saker S, Ozguc M, et al. Mutations in ichthyin a new gene on chromosome 5q33 in a new form of autosomal recessive congenital ichthyosis. *Hum Mol Genet*. 2004 Oct;13(20):2473–82.
92. Dahlqvist J, Klar J, Hausser I, Anton-Lamprecht I, Pigg MH, Gedde-Dahl TJ, et al. Congenital ichthyosis: mutations in ichthyin are associated with specific structural abnormalities in the granular layer of epidermis. *J Med Genet*. 2007 Oct;44(10):615–20.
93. Sitek JC, Kulseth MA, Rypdal KB, Skodje T, Sheng Y, Retterstøl L. Whole-exome sequencing for diagnosis of hereditary ichthyosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018 Jun;32(6):1022–7.
94. Grall A, Guaguère E, Planchais S, Grond S, Bourrat E, Hausser I, et al. PNPLA1 mutations cause autosomal recessive congenital ichthyosis in golden retriever dogs and humans. *Nat Genet*. 2012 Jan;44(2):140–7.
95. Fachal L, Rodríguez-Pazos L, Ginarte M, Carracedo A, Toribio J, Vega A. Identification of a novel PNPLA1 mutation in a Spanish family with autosomal recessive congenital ichthyosis. Vol. 170, *The British journal of dermatology*. England; 2014. p. 980–2.
96. Raghunath M, Tontsidou L, Oji V, Aufenvenne K, Schürmeyer-Horst F, Jayakumar A, et al. SPINK5 and Netherton syndrome: novel mutations, demonstration of missing LEKTI, and differential expression of transglutaminases. *J Invest Dermatol*. 2004

Sep;123(3):474–83.

97. Richard G, Rouan F, Willoughby CE, Brown N, Chung P, Rynnänen M, et al. Missense mutations in GJB2 encoding connexin-26 cause the ectodermal dysplasia keratitis-ichthyosis-deafness syndrome. *Am J Hum Genet.* 2002 May;70(5):1341–8.
98. Jan AY, Amin S, Ratajczak P, Richard G, Sybert VP. Genetic heterogeneity of KID syndrome: identification of a Cx30 gene (GJB6) mutation in a patient with KID syndrome and congenital atrichia. *J Invest Dermatol.* 2004 May;122(5):1108–13.
99. Wells RS, Kerr CB. Clinical features of autosomal dominant and sex-linked ichthyosis in an English population. *Br Med J.* 1966 Apr;1(5493):947–50.
100. Oji V, Preil M-L, Kleinow B, Wehr G, Fischer J, Hennies HC, et al. S1 guidelines for the diagnosis and treatment of ichthyoses - update. *J der Dtsch Dermatologischen Gesellschaft = J Ger Soc Dermatology JDDG.* 2017 Oct;15(10):1053–65.
101. Smedley D, Jacobsen JOB, Jäger M, Köhler S, Holtgrewe M, Schubach M, et al. Next-generation diagnostics and disease-gene discovery with the Exomiser. *Nat Protoc.* 2015 Dec;10(12):2004–15.
102. McLaren W, Gil L, Hunt SE, Riat HS, Ritchie GRS, Thormann A, et al. The Ensembl Variant Effect Predictor. *Genome Biol.* 2016 Jun;17(1):122.
103. Ji J, Shen L, Bootwalla M, Quindipan C, Tatarinova T, Maglinte DT, et al. A semiautomated whole-exome sequencing workflow leads to increased diagnostic yield and identification of novel candidate variants. *Cold Spring Harb Mol case Stud.* 2019 Apr;5(2).
104. Alallasi SR, Kokandi AA, Banagnapali B, Shaik NA, Al-Shehri BA, Alrayes NM, et al. Exome Analysis Identifies a Novel Compound Heterozygous Alteration in TGM1 Gene Leading to Lamellar Ichthyosis in a Child From Saudi Arabia: Case

Presentation. Vol. 7, *Frontiers in pediatrics*. 2019. p. 44.

105. Roy A, Kucukural A, Zhang Y. I-TASSER: a unified platform for automated protein structure and function prediction. *Nat Protoc*. 2010 Apr;5(4):725–38.
106. Humphrey W, Dalke A, Schulten K. VMD: Visual molecular dynamics. *J Mol Graph [Internet]*. 1996;14(1):33–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0263785596000185>
107. Venselaar H, te Beek TAH, Kuipers RKP, Hekkelman ML, Vriend G. Protein structure analysis of mutations causing inheritable diseases. An e-Science approach with life scientist friendly interfaces. *BMC Bioinformatics [Internet]*. 2010;11(1):548. Available from: <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-548>
108. Phillips JC, Braun R, Wang W, Gumbart J, Tajkhorshid E, Villa E, et al. Scalable molecular dynamics with NAMD. *J Comput Chem*. 2005 Dec;26(16):1781–802.
109. MacKerell AD, Bashford D, Bellott M, Dunbrack RL, Evanseck JD, Field MJ, et al. All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins. *J Phys Chem B*. 1998 Apr;102(18):3586–616.
110. Glykos NM. Software news and updates. Carma: a molecular dynamics analysis program. *J Comput Chem*. 2006 Nov;27(14):1765–8.
111. Stenson PD, Mort M, Ball E V, Evans K, Hayden M, Heywood S, et al. The Human Gene Mutation Database: towards a comprehensive repository of inherited mutation data for medical research, genetic diagnosis and next-generation sequencing studies. *Hum Genet*. 2017 Jun;136(6):665–77.
112. Akiyama M, Sawamura D, Shimizu H. The clinical spectrum of nonbullous congenital ichthyosiform erythroderma and lamellar ichthyosis. *Clin Exp Dermatol*. 2003 May;28(3):235–40.

113. Génin E, Feingold J, Clerget-Darpoux F. Identifying modifier genes of monogenic disease: strategies and difficulties. *Hum Genet.* 2008 Nov;124(4):357–68.
114. Sugiura K, Suga Y, Akiyama M. Very mild lamellar ichthyosis with compound heterozygous TGM1 mutations including the novel missense mutation p.Leu693Phe. Vol. 72, *Journal of dermatological science.* Netherlands; 2013. p. 197–9.
115. Taghavi-Basmenj M, Razipour M, Davoudi-Dehaghani E, Nasimi M, Abghari FZ, Karimipour M. Identification of a novel mutation in the ST14 gene in an Iranian family with ichthyosis and hypotrichosis. *Dermatol Online J.* 2019 Mar;25(3).
116. Takeichi T, Nanda A, Liu L, Salam A, Campbell P, Fong K, et al. Impact of next generation sequencing on diagnostics in a genetic skin disease clinic. *Exp Dermatol.* 2013 Dec;22(12):825–31.
117. Saito R, Boyce A, Hsu C-K, Rashidghamat E, Hide M, Wedgeworth EK, et al. Predictive phenotyping of inherited ichthyosis by next-generation DNA sequencing. Vol. 176, *The British journal of dermatology.* England; 2017. p. 249–51.
118. Ijaz A, Wolf S, Mandukhail SR, Basit S, Betz RC, Wali A. UV-sensitive syndrome: Whole exome sequencing identified a nonsense mutation in the gene UVSSA in two consanguineous pedigrees from Pakistan. *J Dermatol Sci.* 2019 Sep;95(3):113–8.
119. Lee E, Rahman OU, Khan MTM, Wadood A, Naeem M, Kang C, et al. Whole exome analysis reveals a novel missense PNPLA1 variant that causes autosomal recessive congenital ichthyosis in a Pakistani family. Vol. 82, *Journal of dermatological science.* Netherlands; 2016. p. 46–8.
120. Kárpáti S, Sárdy M, Németh K, Mayer B, Smyth N, Paulsson M, et al. Transglutaminases in autoimmune and inherited skin diseases: The phenomena of

epitope spreading and functional compensation. *Exp Dermatol*. 2018 Aug;27(8):807–14.

121. Huang Y, Gao M, Su Z. Exploring the Roles of Proline in Three-Dimensional Domain Swapping from Structure Analysis and Molecular Dynamics Simulations. *Protein J*. 2018 Feb;37(1):13–20.
122. Deepak RNVK, Sankararamkrishnan R. Unconventional N-H...N Hydrogen Bonds Involving Proline Backbone Nitrogen in Protein Structures. *Biophys J*. 2016 May;110(9):1967–79.
123. Zhang H, Ericsson M, Weström S, Vahlquist A, Virtanen M, Törmä H. Patients with congenital ichthyosis and TGM1 mutations overexpress other ARCI genes in the skin: Part of a barrier repair response? *Exp Dermatol*. 2019 Oct;28(10):1164–71.
124. Fachal L, Rodríguez-Pazos L, Ginarte M, Toribio J, Salas A, Vega A. Multiple local and recent founder effects of TGM1 in Spanish families. *PLoS One*. 2012;7(4):e33580.
125. Melin M, Klar J, Jr Gedde-Dahl T, Fredriksson R, Hausser I, Brandrup F, et al. A founder mutation for ichthyosis prematurity syndrome restricted to 76 kb by haplotype association. *J Hum Genet*. 2006;51(10):864–71.
126. Louhichi N, Hadjsalem I, Marrakchi S, Trabelsi F, Masmoudi A, Turki H, et al. Congenital lamellar ichthyosis in Tunisia is caused by a founder nonsense mutation in the TGM1 gene. *Mol Biol Rep*. 2013 Mar;40(3):2527–32.
127. Zaouak A, Abdessalem G, Mkaouar R, Messaoud O, Abdelhak S, Hammami H, et al. Congenital lamellar ichthyosis in Tunisia associated with vitamin D rickets caused by a founder nonsense mutation in the TGM1 gene. Vol. 58, *International journal of dermatology*. England; 2019. p. e135–7.

LISTA DE CUADROS

Tabla 1: Distribución de pacientes con ICAR y tasa de prevalencia en la región de las Altas Montañas del estado de Veracruz, México.

LISTA DE FIGURAS

Figura A: Corte histológico teñido con hematoxilina y eosina. Se visualizan las capas de la piel.

Figura B: Imagen de microscopía electrónica. Se ilustran las células presentes en los diversos estratos epidérmicos

Figura C: Representación esquemática de los loci que albergan a las diversas familias de queratina.

Figura D: Microscopía de fluorescencia en la que se observan el núcleo celular, los filamentos de queratina y la desmoplaquina.

Figura E: Arriba: Microscopía electrónica de un desmosoma. Abajo: representación esquemática de las proteínas en cada zona del desmosoma.

Figura F: Representación esquemática de las proteínas desmosomales expresadas en cada estrato.

Figura G: Representación esquemática de la expresión de queratinas, precursores de la envoltura cornificada y transglutaminasas; en función de los diversos estratos epidérmicos.

Figura H: Secuencia de aminoácidos de las diversas transglutaminasas.

Figura I: Representación tridimensional de la estructura proteica de la transglutaminasa 1.

Figura K: Representación esquemática de las reacciones de acilación y desacilación.

Figura L: Representación esquemática de las reacciones de transaminación, transamidación y de desaminación.

Figura M: Representación esquemática de los sitios receptores AP-2 like.

Figura 1: Localización geográfica y árboles genealógicos de los pacientes con ICAR.

Figura 2: Características clínicas de los pacientes con ICAR.

Figura 3. Localización de la variante patogénica c.1054C>G (p.Pro352Ala) y electroferograma de secuenciación Sanger.

Figura 4. Estructuras 3D de TGM1wt y TGM1mut.

Figura 5. Análisis de dinámica molecular de TGM1wt y TGM1mut.