

Displasia ectodérmica hipohidrótica ligada al cromosoma X de novo por variante recurrente en un paciente mexicano

Miguel A. Noriega-Juárez¹, Constanza García-Delgado¹, América Villaseñor-Domínguez¹, Carlos A. Mena-Cedillos², Mirna Toledo-Bahena², Adriana Valencia-Herrera², Patricia Baeza-Capetillo¹, Alicia Cervantes³, Verónica F. Morán-Barroso¹ y Nancy Monroy-Jaramillo^{4*}

¹Departamento de Genética; ²Departamento de Dermatología. Hospital Infantil de México Federico Gómez, Ciudad de México; ³Servicio de Genética, Hospital General Dr. Eduardo Liceaga, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México; ⁴Departamento de Genética, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, Ciudad de México. México

Resumen

Introducción: Las displasias ectodérmicas son un grupo de genodermatoses que se caracterizan por distrofia de las estructuras derivadas del ectodermo. De ellas, la variedad más común es la hipohidrótica, con una incidencia de 7/100,000 nacidos vivos observada en todos los grupos étnicos. La displasia ectodérmica hipohidrótica tiene distintas etiologías. La presentación más frecuente es la asociada a un patrón de herencia ligado al cromosoma X, causada por variantes patogénicas del gen EDA en Xq13.1. EDA codifica a la ectodisplasina A, una molécula de señalización que participa en la comunicación epitelio-mesénquima durante el desarrollo de la piel y los anexos. **Caso clínico:** Varón de 6 años con las características clínicas cardinales de la displasia ectodérmica hipohidrótica ligada al cromosoma X (DEHLX), que incluyen hipotrichosis, oligodoncia e hipohidrosis. El análisis del gen EDA por secuenciación directa mostró la presencia de la variante patogénica c.466C>T, p.Arg156Cys, rs132630313 con presentación de novo en el paciente. Esta variante ya ha sido reportada en diferentes poblaciones, incluyendo familias mexicanas, y constituye un punto caliente para mutación en EDA. Se analizaron los hallazgos clínicos, la etiología y el manejo de la DEHLX, en la que de manera reciente se ha planteado la posibilidad de otorgar tratamiento prenatal para prevenir sus manifestaciones clínicas. **Conclusiones:** Se pone de relevancia que el análisis molecular en pacientes con DEHLX corrobora el diagnóstico clínico y permite brindar asesoramiento genético con bases moleculares.

Palabras clave: Displasia ectodérmica hipohidrótica ligada al X. Gen EDA. Genodermatosis.

X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia by a de novo recurrent variant in a Mexican patient

Abstract

Background: Ectodermal dysplasias are a group of genodermatoses characterized by dystrophy of ectodermal derived structures. The most frequent presentation of the ectodermal dysplasias is the hypohidrotic type, which has an incidence of 7/100,000 newborns and has been described in all ethnic groups. The hypohidrotic ectodermal dysplasia (HED) has different

Correspondencia:

*Nancy Monroy-Jaramillo

E-mail: nancy97@unam.mx

1665-1146/© 2020 Hospital Infantil de México Federico Gómez. Publicado por Permanyer. Este es un artículo open access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Fecha de recepción: 18-12-2019

Fecha de aceptación: 24-03-2020

DOI: 10.24875/BMHIM.19000209

Disponible en internet: 17-07-2020

Bol Med Hosp Infant Mex. 2020;77(4):212-217

www.bmhim.com

etiologies, and it is more frequently associated with an X-linked pattern of inheritance caused by pathogenic variants of the EDA gene in Xq13.1. EDA encodes the protein ectodisplasin A, a signal molecule which participates in epithelium and mesenchymal development of the skin. Case report: A 6 year-old male patient with the main clinical characteristics of the X-linked HED including hypotrichosis, hypodontia and hypohidrosis. The direct sequencing analysis of EDA in our patient detected a de novo pathogenic variant, c.466C>T, p.Arg156Cys, rs132630313. This variant has been previously described in different ethnic groups, including Mexican families, and is considered a mutational hotspot. The clinical characteristics, etiology and management of the X-linked HED, including the possibility of prenatal therapy in order to avoid the clinical manifestations are discussed. Conclusions: The molecular analysis in patients with X-linked HED is of relevance, as it enables to confirm the clinical diagnosis and also, it allows a genetic assessment with molecular bases.

Key words: X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. EDA gene. Genodermatoses.

Introducción

Las displasias ectodérmicas son genodermatoses caracterizadas por distrofia de las estructuras derivadas del ectodermo, incluyendo la piel, el pelo, las uñas, los dientes y las glándulas de secreción exocrina. La variedad más común es la displasia ectodérmica hipohidrótica (DEH), con una incidencia de 7/100,000 nacidos vivos^{1,2}. La presentación más frecuente de las DEH es la ligada al cromosoma X (DEHLX, MIM#305100), causada por variantes patogénicas del gen *EDA* en Xq13.1 (MIM*300451). Este gen codifica la ectodisplasina A, una molécula de señalización que participa en la comunicación epitelio-mesénquima durante el desarrollo de la piel²⁻⁵. Otros genes autosómicos asociados con DEH son *EDAR* (MIM*604095), *EDARADD* (MIM*606603) y *WNT10A* (MIM*606268), con un patrón de herencia recesivo o dominante, según la variante implicada⁶.

Se describe el caso de un paciente de 6 años con las características clínicas cardinales de la displasia ectodérmica hipohidrótica ligada al cromosoma X (DEHLX), su diagnóstico molecular y las implicaciones que este tiene para su manejo y asesoramiento genético.

Caso clínico

Varón de 6 años, hijo de padres jóvenes, sanos y no consanguíneos; dos hermanos mayores sanos y un hermano menor con retraso global del desarrollo y paresia corporal izquierda (**Figura 1A**). El paciente nació a las 38 semanas de gestación vía cesárea por desproporción céfalopélvica, con un peso de 2800 g (percentil 15-50), una talla de 50 cm (percentil 50) y Apgar 9 a los 5 minutos. Mostró adecuado desarrollo psicomotor. El paciente fue referido por presentar hipotrichosis, ausencia de piezas dentarias y episodios recurrentes de hipertermia no asociada a procesos infecciosos. A la exploración física, la edad cronológica era mayor que

la aparente; peso de 13.5 kg (percentil 10-25), talla de 93 cm (percentil 5-10) y perímetrocefálico de 50 cm (percentil 15-50). Presentó cráneo con disminución del diámetro bitemporal, cabello ralo y escaso con implantación adecuada; las cejas arqueadas, escasas, casi ausentes en el tercio medio. Las líneas de expresión de ambos párpados (superior e inferior) se mostraron marcadas en ambos ojos y con pestañas escasas. Se detectó la raíz nasal ancha con puente nasal elevado, hipoplasia de la región facial media, *filtrum* corto y semiborrado, labios gruesos con eversión e hipodoncia e incisivos centrales cónicos (**Figuras 1B y 1C**). El resto de la exploración fue normal y el diagnóstico clínico fue DEH ligada al cromosoma X (DEHLX).

Previo consentimiento informado y autorización institucional, se obtuvo una muestra de sangre periférica del paciente y su madre, y se extrajo el ADN. La secuenciación del gen *EDA* identificó un cambio de citosina por timina en el exón 2 (NM_001005609.1:c.466C>T, rs132630313) (**Figura 2**), que cambia el aminoácido 156 arginina por cisteína (p.Arg156Cys) en el gen *EDA*. Las variantes en este residuo han sido descritas como patogénicas en diferentes poblaciones, incluyendo familias mexicanas⁵⁻⁹ y en la base de datos ClinVar. La madre del paciente resultó negativa para la variante.

Discusión

El paciente presentó los datos característicos de DEHLX: hipotrichosis, hipohidrosis, dientes cónicos, fiebre sin causa aparente y dismorfias. El diagnóstico clínico de DEHLX suele realizarse en el lactante mayor o en edad preescolar por las manifestaciones clínicas aparentes¹⁰. En algunos casos, el diagnóstico puede hacerse al nacimiento si se presenta una dermatosis descamativa similar a la de la ictiosis¹¹. La expresión fenotípica completa de la DEHLX se observa en el sexo masculino; las mujeres heterocigotas (o portadoras)

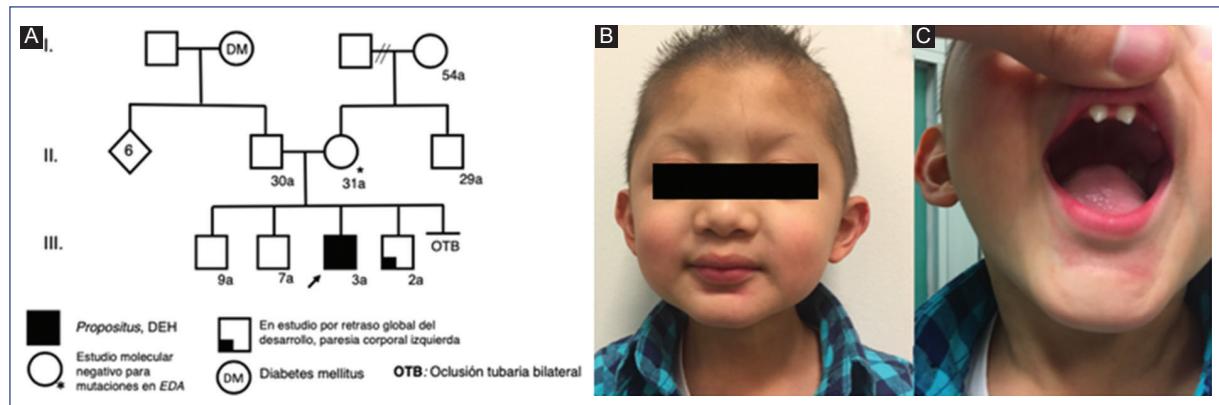


Figura 1. A: Árbol genealógico del *propositus*. B: Fenotipo del *propositus*. Se observa frontal amplio, implantación del cabello alta, cabello escaso y ralo, y cejas escasas. C: Forma anormal de los dientes.

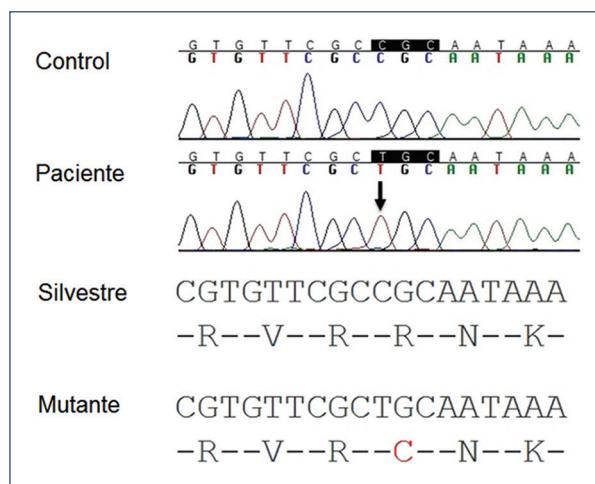


Figura 2. Electroferograma del exón 2 de *EDA*. Secuencia parcial de un control (panel superior) y del paciente con DEHLX, donde la flecha señala el cambio de citosina por timina (c.466C>T). En la parte inferior de la figura se comparan las secuencias parciales silvestres y mutantes del transcripto y de la proteína EDA. En letra roja se señala la sustitución de la arginina 156 por una cisteína en la proteína.

pueden presentar o no datos clínicos debido a la penetrancia incompleta por inactivación sesgada del cromosoma X, con gravedad variable^{12,13}.

En la DEH se presentan los siguientes datos clínicos cardinales²: en primer lugar, hipotricosis, con cabellos delgados y escasos, pigmentación anormal y tasa de crecimiento lenta; suele aparecer calvicie prematura, y el pelo de la región axilar o genital puede ser normal¹⁴. En segundo lugar, hipohidrosis, que puede llevar a episodios de hipertermia, con una tasa de mortalidad de hasta el 30% durante la infancia

temprana¹⁵; aparecen intolerancia al calor y xerosis de la piel. También se ha descrito xeroftalmia por disfunción de las glándulas de Meibomio¹⁵. Por último, oligodoncia o hipodoncia grave, con ausencia de seis o más piezas dentarias; los dientes suelen ser pequeños y displásicos, con morfología cónica hasta en el 80% de los pacientes¹⁶.

Se han descrito dismorfias faciales en la DEH², como en el presente caso (Figura 1B). La prevalencia de rinitis alérgica es del 44% y hasta el 43% de los pacientes presentan otitis media recurrente⁴; alteraciones no observadas en el paciente. Los pacientes con DEH tienden a presentar un peso menor que el esperado para su edad^{17,18}, la estatura y el desarrollo psicomotor, en general, no se ven afectados¹⁷. Sin embargo, este paciente presentó una talla de 93 cm (percentil 5-10) y un peso de 13.5 kg (percentil 10-25).

Se ha documentado que la DEH puede asociarse con retraso del crecimiento, posiblemente debido a condiciones nutricionales, a cuidados médicos deficientes o al inicio tardío del tratamiento de las alteraciones dentales¹⁸.

El gen *EDA* tiene ocho exones⁹ y su secuenciación detecta las variantes presentes en más del 80% de los pacientes con DEH^{19,20}. La proteína codificada por este gen está compuesta por 391 aminoácidos y seis dominios funcionales²¹; es miembro de la familia del factor de necrosis tumoral alfa y presenta dos isoformas principales: EDA-A1 y EDA-A2^{15,21}. La vía de señalización de EDA-EDAR es crítica para la formación y el desarrollo de los anexos cutáneos, con conservación alta entre especies. EDA-A1 se une al receptor EDAR y EDA-A2 se une al receptor XEDAR, que no está implicado en la DEH. Se ha propuesto que EDA ejerce su función al

modular la expresión de activadores e inhibidores de la formación de la plácoda, y controla la formación de los folículos pilosos y el desarrollo de las glándulas sudoríparas^{22,23}.

Las variantes patogénicas de *EDA* afectan a distintas regiones de la proteína, con implicaciones funcionales diferentes según el sitio alterado^{22,24}. En la proteína, el residuo 156 forma parte de una secuencia consenso que permite a la furina escindir a *EDA* para ser liberada al espacio extracelular y unirse a *EDAR*. Este dominio contiene aminoácidos básicos (153-159) que permiten el reconocimiento del sitio de corte. La variante de sentido erróneo p.Arg156Cys impide el corte y la solubilización de *EDA*, lo que evita la señalización adecuada e interrumpe el desarrollo de los anexos cutáneos^{20,22}.

El 60% de las variantes de *EDA* se localizan en los exones 6-8 y no existe una correlación precisa genotipo-fenotipo^{2,24}. En pacientes mexicanos, la mayoría de las mutaciones reportadas son variantes de nucleótido único con cambio de sentido, sin que se haya establecido una correlación entre las variantes y el cuadro clínico^{5,10}. Sin embargo, la afección en pacientes de sexo masculino parece ser mayor en las variantes sin proteína funcional²⁵. La variante patogénica *de novo* identificada en el paciente de este caso ya había sido reportada en pacientes mexicanos con fenotipo similar⁵. Las variantes del exón 2 en el residuo 156, p.Arg156Cys/His/Ser/Leu/Gly, sitio de corte por furina, y en los residuos vecinos necesarios para su reconocimiento, se han reportado en diferentes poblaciones^{6-9,13,18}, con frecuencia *de novo*, por lo que se consideran sitios «calientes» para mutación⁶.

En un estudio previo se determinó que la tasa de mutaciones *de novo* para *EDA* es inferior al 10%²⁶. La frecuencia de madres portadoras de la mutación (17.3 en 100,000) parece obedecer a una prevalencia alta de mutaciones ocurridas durante la espermatogénesis en sus padres. Este fenómeno fue descrito incluso antes de la identificación de *EDA*, con una tasa de mutación en la espermatogénesis de 3.5:1 con respecto a la ovogénesis²⁷. En los estudios realizados en mujeres de familias con DEHLX se describe una frecuencia alta de mujeres heterocigotas, quienes en su mayoría presentan la sintomatología^{4,5,25,28-30}.

La secuenciación de *EDA* en los pacientes con DEHLX identifica un porcentaje alto de variantes patogénicas, dado que la mayoría de los casos corresponden a variantes de nucleótido único². El resto de los pacientes se asocia con variantes estructurales detectables por métodos de análisis de delección-duplicación,

como la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa, la amplificación de sondas múltiples dependiente de ligación o los microarreglos dirigidos a exones específicos².

Existen diagnósticos diferenciales para DEHLX, ya que, si bien se considera que la DEH afecta a todos los derivados ectodérmicos, cuando existe onicodistrofia se debe sospechar, por ejemplo, un síndrome de hipodoncia-displasia ungueal², entre otros diagnósticos. Además, algunos síndromes de displasias ectodérmicas se caracterizan por ectrodactilia, fisura de labio/paladar, polidactilia u otras alteraciones de los miembros; ante la presencia de cualquiera de estas características se debe pensar en otro tipo de displasia ectodérmica³.

Los pacientes con DEH requieren un manejo multidisciplinario para optimizar el desarrollo psicosocial, mejorar la función oral y prevenir la hipertermia. El tratamiento dental y ortodóntico debe iniciarse en el primer año de vida para favorecer una alimentación adecuada, así como para mejorar el aspecto estético y la calidad de vida². El diagnóstico prenatal se puede realizar en embarazos de riesgo en los que el producto presente DEHLX por un método no invasivo, como la ultrasonografía, que permite la medición del número de yemas dentarias presentes entre las semanas 18 y 28 de gestación³¹.

En modelos murinos y caninos se ha aplicado tratamiento posnatal y prenatal. La molécula utilizada, conocida como Fc-EDA, es una proteína recombinante de fusión que incluye el dominio de unión al receptor de *EDA* (100% conservado entre los ratones y los humanos) y el dominio constante de la IgG1 humana (EDI200, Edimer Pharmaceuticals). La molécula actúa en forma directa por unión al receptor *EDAR*, reemplazando a la molécula *EDA* ausente o defectuosa del feto. Solo con el tratamiento prenatal se logró un desarrollo normal de las glándulas sudoríparas y de las yemas dentales^{21,32-34}.

Se han reportado tres casos de tratamiento *in utero* en pacientes con diagnóstico ultrasonográfico de DEHLX de dos familias (un embarazo gemelar y un embarazo con producto único). En estas familias, la mutación en *EDA* en la madre era conocida debido a que existía un hermano afectado. La administración de la molécula Fc-EDA se realizó por amniocentesis en las semanas 26 y 31 de gestación en el embarazo gemelar, y solo en la semana 26 en el feto único. Posnatalmente, el diagnóstico fue corroborado por análisis molecular en los tres pacientes, y se observó la recuperación de la capacidad normal de sudoración, una mayor cantidad de glándulas de Meibomio en el

párpado y una mayor cantidad de yemas dentarias en comparación con sus hermanos afectados³⁵.

El diagnóstico clínico y molecular de DEHLX tiene implicaciones para el asesoramiento genético; en el caso de los varones afectados, todas sus hijas serán heterocigotas para la variante patogénica, mientras que ninguno de sus hijos varones estará afectado por la enfermedad (siempre que la madre no presente una variante patogénica de *EDA*)².

Por otra parte, en las mujeres heterocigotas, con o sin datos clínicos de la enfermedad, sus hijos varones tienen un 50% de riesgo de estar afectados y sus hijas un 50% de riesgo de ser heterocigotas. En las mujeres heterocigotas, la afección clínica dependerá de la penetrancia que presente la variante, condicionada por el patrón de inactivación del cromosoma X, con variabilidad interfamiliar e intrafamiliar en la expresión fenotípica^{2,15}.

En este caso, se ha presentado un paciente varón de 6 años con las características clínicas cardinales de DEHLX: hipotricosis, oligodoncia e hipohidrosis. Se identificó la variante patogénica c.466C>T, p.Arg156Cys de novo, ya reportada previamente en la población mexicana.

El estudio molecular en los pacientes masculinos con DEH, además de corroborar el diagnóstico clínico, permite brindar un asesoramiento genético con bases moleculares y abre la posibilidad de identificar mujeres heterocigotas para brindarles un manejo temprano, incluyendo el tratamiento prenatal en embarazos futuros para prevenir las manifestaciones de DEHLX.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Financiamiento

Estudios realizados con apoyo de Fondos Federales de la Secretaría de Salud, México, registro protocolo HIM/2013/011-SSA 1066.

Bibliografía

- Pagnan NA, Visinoni AF. Update on ectodermal dysplasias clinical classification. Am J Med Genet A. 2014;164A:2415-23.
- Wright T, Grange D, Richter M. Hypohidrotic ectodermal dysplasia. En: Adam MP, editor. Gene reviews. Seattle: University of Washington; 2019.
- Visinoni A, Lisboa-Costa TP, Pagnan NA, Chautard-Freire-Maia E. Ectodermal dysplasias: clinical and molecular review. Am J Med Genet A. 2009;149A:1980-2002.
- Cambiaggi S, Restano L, Paakkonen K, Caputo R, Kere J. Clinical findings in mosaic carriers of hypohidrotic ectodermal dysplasia. Arch Dermatol. 2000;136:217-24.
- Monroy-Jaramillo N, Abad-Flores JD, García-Delgado C, Villaseñor-Domínguez A, Mena-Cedillos C, Toledo-Bahena ME, et al. Mutational spectrum of *EDA* and *EDAR* genes in a cohort of Mexican mestizo patients with hypohidrotic ectodermal dysplasia. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2017;31:e321-4.
- Monreal AW, Zonana J, Ferguson B. Identification of a new splice form of the *EDA1* gene permits detection of nearly all X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia mutations. Am J Hum Genet. 1998;63:380-9.
- Cluzeau C, Hadj-Rabia S, Jambou M, Mansour S, Guigue P, Masmoudi S, et al. Only four genes (*EDA1*, *EDAR*, *EDARADD* and *WNT10A*) account for 90% of hypohidrotic/anhidrotic ectodermal dysplasia cases. Hum Mutat. 2011;32:70-7.
- Burger K, Schneider AT, Wohlfart S, Kiesewetter F, Huttner K, Johnson R, et al. Genotype–phenotype correlation in boys with X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. Am J Med Genet A. 2014;164A:2424-32.
- Salas-Alanis J, Woźniak E, Mein C, Duran-McKinster C, Ocampo-Canadián J, Kelsell DP, et al. Mutations in *EDA* and *EDAR* genes in a large Mexican Hispanic cohort with hypohidrotic ectodermal dysplasia. Ann Dermatol. 2015;27:474-7.
- Bergendal B. Oro dental manifestations in ectodermal dysplasia — a review. Am J Med Genet A. 2014;164A:2465-71.
- Reyes-Real J, Mendoza-Ramos MI, Garrido-Guerrero E, Méndez-Catalá CF, Méndez-Cruz AR, Pozo-Molina G. Hypohidrotic ectodermal dysplasia: clinical and molecular review. Int J Dermatol. 2018;57:965-72.
- Dobyns W, Filauro A, Tomson BN, Chan A, Ho AW, Ting NT, et al. Inheritance of most X-linked traits is not dominant or recessive, just X-linked. Am J Med Genet A. 2004;129A:136-43.
- Martínez-Romero MC, Ballesta-Martínez MJ, López-González V, Sánchez-Soler MJ, Serrano-Antón AT, Barreda-Sánchez M, et al. *EDA*, *EDAR*, *EDARADD* and *WNT10A* allelic variants in patients with ectodermal derivative impairment in the Spanish population. Orphanet J Rare Dis. 2019;14:1-10.
- Fete M, Hermann J, Behrens J, Huttner K. X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia (XLHED): clinical and diagnostic insights from an international patient registry. Am J Med Genet A. 2014;164A: 2437-42.
- Sadier A, Viriot L, Pantalacci S, Lauden V. The ectodysplasin pathway: from diseases to adaptations. Trends Genet. 2014;30:24-31.
- Nascimento De Aquino S, Ribeiro Paranaíba LM, Oliveira Swerts MS, Barbosa Martelli D, Monteiro de Barros L, Martelli Júnior H. Orofacial features of hypohidrotic ectodermal dysplasia. Head Neck Pathol. 2012;6:460-6.
- Motil KJ, Fete TJ, Fraley JK, Schultz RJ, Foy TM, Ochs U, et al. Growth characteristics of children with ectodermal dysplasia syndromes. Pediatrics. 2005;116:e229-34.
- Wohlfart S, Meiller R, Hammersen J, Park J, Menzel-Severing J, Melichar VO, et al. Natural history of X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia: a 5-year follow-up study. Orphanet J Rare Dis. 2020;15:1-11.
- Bayés M, Hartung AJ, Ezer S, Pispa J, Thesleff I, Srivastava AK, et al. The anhidrotic ectodermal dysplasia gene (*EDA*) undergoes alternative splicing and encodes ectodysplasin-A with deletion mutations in collagenous repeats. Hum Mol Genet. 1998;7:1661-9.
- Chen Y, Molloy SS, Thomas L, Gambee J, Bächinger HP, Ferguson B, et al. Mutations within a furin consensus sequence block proteolytic release of ectodysplasin-A and cause X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001;98:7218-23.
- Margolis CA, Schneider P, Huttner K, Kirby N, Houser T, Wildman L, et al. Prenatal treatment of X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia using recombinant ectodysplasin in a canine model. J Pharmacol Exp Ther. 2019;370:806-13.
- Kowalczyk-Quintas C, Schneider P. Ectodysplasin A (EDA)–EDA receptor signalling and its pharmacological modulation. Cytokine Growth Factor Rev. 2014;25:195-203.

23. Garcin CL, Huttner KM, Kirby N, Schneider P, Hardman MJ. Ectodysplasin A pathway contributes to human and murine skin repair. *J Invest Dermatol.* 2016;136:1022-30.
24. Savasta S, Carbone G, Castagnoli R, Chiappe F, Bassanese F, Piras R, et al. X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia: new features and a novel EDA gene mutation. *Cytogenet Genome Res.* 2017;152:111-6.
25. Han Y, Wang X, Zheng L, Zhu T, Li Y, Hong J, et al. Pathogenic EDA mutations in Chinese Han families with hypohidrotic ectodermal dysplasia and genotype-phenotype: a correlation analysis. *Front Genet.* 2020;11:1-11.
26. Gaczkowska A, Abdalla EM, Dowidar KM, Elhady GM, Jagodzinski PP, Mostowska A. *De novo* EDA mutations: variable expression in two Egyptian families. *Arch Oral Biol.* 2016;68:21-8.
27. Zonana J, Jones M, Clarke A, Gault J, Muller B, Thomas NS. Detection of *de novo* mutations and analysis of their origin in families with X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. *J Med Genet.* 1994;31:287-92.
28. Freire-Maia N, Pinheiro M. Carrier detection in Christ-Siemens-Touraine Syndrome (X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia). *Am J Hum Genet.* 1982;34:672-4.
29. Yin W, Ye X, Fan H, Bian Z. Methylation state of the EDA gene promoter in Chinese X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia carriers. *PLoS One.* 2013;8:1-8.
30. Anbouba GM, Carmany EP, Natoli JL. The characterization of hypodontia, hypohidrosis, and hypotrichosis associated with X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia: a systematic review. *Am J Med Genet A.* 2020;182:831-41.
31. Hammersen J, Wohlfart S, Goecke TW, Königer A, Stepan H, Gallinat R, et al. Reliability of prenatal detection of X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia by tooth germ sonography. *Prenat Diagn.* 2019;39:796-805.
32. Gaide O, Schneider P. Permanent correction of an inherited ectodermal dysplasia with recombinant EDA. *Nat Med.* 2003;9:614-8.
33. Mauldin EA, Gaide O, Schneider P, Casal ML. Neonatal treatment with recombinant ectodysplasin prevents respiratory disease in dogs with X-linked ectodermal dysplasia. *Am J Med Genet A.* 2009;149A:2045-9.
34. Hermes K, Schneider P, Krieg P, Dang A, Huttner K, Schneider H. Prenatal therapy in developmental disorders: drug targeting via intra-amniotic injection to treat X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. *J Invest Dermatol.* 2014;134:2985-7.
35. Schneider H, Faschingbauer F, Schuepbach-Mallepell S, Körber I, Wohlfart S, Dick A, et al. Prenatal correction of X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. *N Engl J Med.* 2018;378:1604-10.