

189
2e1

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA
ODONTOGENESIS Y LA INFLUENCIA DEL
ALCOHOL SOBRE ELLOS

257871

PRUEBA ESCRITA
PROGRAMA DE TITULACION POR ALTO
PROMEDIO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
CIRUJANO DENTISTA

PRESENTA :

MARIA DOLORES JIMENEZ FARFAN

Tutor:

DR. JUAN CARLOS HERNANDEZ GUERRERO

Vo. Bb.
H. Hernandez

México, D.F. 1998





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.

**Gracias mi Dios porque me diste padres, hermanos y amigos,
porque me diste cerebro y medios para moverme, pensar, sentir y expresar
lo que pienso y percibo. Gracias por la posibilidad que me has brindado
para crecer y vivir sabiendo y sintiendo que existes y que estás aquí conmigo
y con los seres que más amo.**

**Jaime e Irma, cómo expresarles en unas cuantas palabras la dicha que me causa el
tenerlos a mi lado después de 24 años de lucha y desvelo, donde han comenzado a ver el
fruto de su semilla florecer. Gracias... porque sin ustedes ¿cómo lograrlo?. Los amo.
Gracias papá.
Gracias mamá.**

**Irma, Javier, Fernando y Mireya. Por todos los años que hemos compartido
y explorado juntos ...gracias, porque todos hemos tenido que hacer un gran esfuerzo.
Los amo hermanos.**

**Gracias abuelita (Petra) porque tú sin saberlo eres una de las razones por las cuales
comprendo que estoy donde debo estar. Gracias por tus palabras, por esa voz que da la
experiencia de los años y que has querido compartir conmigo. Te quiero mucho.**

**Tu apoyo, dedicación, comprensión y sapiencia no sólo para la elaboración de esta tesis,
sino para conformar y pulir ese diamante en bruto, son de los grandes valores que guardo
conmigo...gracias Juan Carlos por ser buen equipo...por ser buen amigo...**

**No se requieren muchos años para llegar a descubrir a las personas valiosas.
Tú Andrea Astrid eres una persona valiosa porque tu sentido del trabajo como el de la
amistad siguen una misma pauta: la actividad sincrónica. Gracias porque sabes compartir.**

**Han sido muchas las vivencias, altas y bajas en el devenir de nuestra historia y
sin embargo aún estamos juntos. No cabe duda que allá arriba saben lo que
hacen. Gracias Gume... gracias por todo...**

**Gracias Rita, Agus y Cris por los años de amistad,
fraternidad y cariño que me han brindado.**

**Gracias a la Universidad Nacional Autónoma de México que a través de su
Facultad de Odontología un día me abrió sus puertas para dejarme
experimentar y crecer, y así forjar un camino de servicio y amor a mi gente
y mi Patria.**

INDICE	1
I. Introducción	3
II. Generalidades de los factores de crecimiento	5
2.1 Mecanismos de acción de los factores de crecimiento	7
2.2 Acciones ultraestructurales de los factores de crecimiento	9
2.3 Familias de factores de crecimiento	11
2.3.1 Familia del Factor de Crecimiento Transformante beta (TGFβ)	12
2.3.1.1 Proteína Morfogénica de Hueso (BMP)	15
2.3.2 Familia del Factor de Crecimiento Derivado de las Plaquetas (PDGF)	16
2.3.3 Familia del Factor de Crecimiento parecido a la Insulina (IGF)	19
2.3.4 Familia del Factor de Crecimiento de los Fibroblastos (FGF)	21
2.3.5 Familia Neurotropinas (NTF)	24
2.3.6 Familia del Factor de Crecimiento Epidermal (EGF)	26
2.3.6.1 Familia del Factor de Crecimiento Transformante alfa (TGFα)	29
III. Origen embrionario del órgano dentario	31
3.1 Fecundación	31
3.2 Cresta neural y sus derivados	33
3.3 Organogénesis dental	35
IV. Factores de crecimiento en la odontogénesis	41
4.1 Factor de Crecimiento Epidermal (EGF)	41

4.1.1 Factor de Crecimiento Transformante alfa (TGF α)	49
4.2 Factor de Crecimiento de los Fibroblastos. (FGF)	50
4.3 Familia Neurotropinas (NTF)	52
4.4 Factor de Crecimiento parecido a la Insulina (IGF)	56
4.5 Factor de Crecimiento Derivado de las Plaquetas (PDGF)	58
4.6 Factor de Crecimiento Transformante beta (TGF β)	59
4.7 Factor de Crecimiento Midkine (MK)	63
V. Farmacología del alcohol	65
5.1 Mecanismos de acción del alcohol	67
VI. Influencia del alcohol en el desarrollo embrionario	69
VII. Mecanismos de acción del alcohol durante la gestación	72
VIII. Efectos del alcohol sobre los factores de crecimiento en la odontogénesis	76
IX. Propuestas de investigaciones futuras	79
X. Bibliografía	81
XI. Glosario	98
XII. Apéndice	101

I. INTRODUCCION

El desarrollo craneofacial y dental representan dos de los variados procesos organogénicos que tienen un inicio temprano durante la vida prenatal entre los días 24 y 38.⁽¹⁷⁸⁾ No obstante, a pesar de que es en este período cuando comienzan a definirse las características fenotípicas craneofaciales humanas, la relevante participación de estructuras aún más primitivas como las células de la cresta neural, que representan elementos pluripotenciales con capacidad de diferenciarse en diversos tipos celulares dependiendo de su localización en el embrión, ha dado la pauta para intentar explicar en términos biomoleculares y genéticos la embriología maxilofacial.^(12,156)

La odontogénesis que comprende la cascada de eventos celulares que determinan las características dentales, es un proceso que inicia alrededor de la sexta semana de gestación cuando al mismo tiempo en otras estructuras embrionarias hay una gran actividad proliferativa y de diferenciación.⁽¹⁷⁸⁾

Conforme los mecanismos organogénicos avanzan, una inifinidad de sustancias se manifiestan para determinar procesos estimuladores, inhibitorios o sinérgicos en la gestación. Las diferentes moléculas de naturaleza y complejidad variable (hormonas, vitaminas, proteínas, etc.), interactúan en niveles y etapas diversas, siendo los factores de crecimiento modelos especiales por estudiar debido a su amplia distribución en los estadios embrionarios.^(78,168)

Los factores de crecimiento son sustancias de naturaleza proteica clasificadas en varias familias y que fueron descubiertas alrededor de los años 50's. Inicialmente se les atribuyó una participación limitada sólo a ciertas funciones de características proliferativas. De ahí que el nombre de factores de crecimiento se generalizó aún después del descubrimiento de otras moléculas con funciones más especializadas, tales como la estimulación para la secreción de matrices extracelulares.^(22,67,194)

Con el avance en la sensibilidad de los procesos inmunocitoquímicos, se han descubierto y determinado más miembros en las familias de factores de crecimiento durante la embriogénesis, lo que pone de manifiesto su extensa e importante participación en la conformación del genotipo y fenotipo humano.^(21,117)

Los factores de crecimiento representan un campo fértil para el estudio de la embriología craneofacial, ya que a partir de su descubrimiento se han realizado numerosas investigaciones en

estadios tempranos del desarrollo, algunas de las cuales han enfatizado la influencia de los factores de crecimiento sobre el desarrollo dental.⁽¹⁸⁵⁾ Debido a que el modelo odontogénico ofrece la posibilidad de observar diversas estructuras celulares, así como diferentes formas de diferenciación y secreción, resulta muy importante definir la participación de los factores de crecimiento en la odontogénesis, así como la posible alteración de sus funciones normales en presencia de sustancias teratogénicas como el alcohol.

En 1947, Smith identificó al etanol como una sustancia capaz de retardar el crecimiento humano *in útero*. Sucesivamente se descubrió que el alcohol provocaba diversas malformaciones en el embrión, las cuales fueron reconocidas como Síndrome Alcohólico Fetal en 1973 por Jones y Smith.

(187,203)

De las variadas aborraciones fenotípicas en el Síndrome Alcohólico Fetal, las relativas al entorno facial son muy significativas. El daño a la conformación facial evidencia la temprana influencia del alcohol sobre las múltiples células en proliferación y diferenciación. Los mecanismos a través de los cuales el etanol afecta al embrión todavía son muy poco claros, además de que es muy probable que la forma de daño no sea única.

Existen numerosas hipótesis acerca de la teratología del alcohol, sin embargo con respecto a su interacción con los factores de crecimiento se ha escrito muy poco. Algunos autores han encontrado una respuesta inhibitoria del factor de crecimiento epidermal (EGF) en presencia del alcohol,^(52,53) sin embargo la familia de los factores de crecimiento es sumamente amplia y los miembros relacionados con la odontogénesis son muy diversos, lo que incrementa la necesidad de investigar a nivel de otros factores de crecimiento. La expresión de los factores de crecimiento en la organogénesis dental varía entre las diferentes células y los diversos estadios, lo que resulta trascendental debido a que cada factor de crecimiento representa un conjunto de funciones muy específicas que, de acuerdo al momento en que el teratógeno actúe, determinará el efecto a nivel del desarrollo dentario.

II. GENERALIDADES DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO

El crecimiento y diferenciación celular que comprenden una serie de procesos a través de los cuales las células adquieren características propias del tejido que conforman, es mediada por una expresión selectiva de múltiples genes y moléculas que establecen mecanismos tanto a nivel intercelular como intracelular.

Antes del conocimiento de los factores de crecimiento, los esteroides y las hormonas eran los "únicos" reguladores fisiológicos potentes conocidos capaces de generar cambios en las células y tejidos. En la actualidad con el incremento en las investigaciones no sólo *in vitro* sino también *in vivo*, ha permitido ampliar el panorama que pone al descubierto una serie de respuestas y abre nuevas incógnitas sobre el maravilloso proceso organogénico.

La regulación en la producción de células normales en diversos tejidos ha generado gran interés desde la aparición de los cultivos celulares. Aunque todos los componentes esenciales de los medios de cultivo pueden ser llamados "factores de crecimiento", éstos se componen de proteínas que parecen ser las responsables de la proliferación y diferenciación de las células en tejidos específicos.⁽¹⁰⁾

Las células pueden comunicarse con otras directamente mediante interacciones moleculares de la superficie celular o por cooperación metabólica. También pueden interactuar indirectamente por liberación de moléculas tales como péptidos o esteroides, los cuales pueden actuar local o sistémicamente al influenciar la proliferación celular. Tales factores de crecimiento pueden regular la proliferación celular tanto en un forma positiva como negativa o por inducción de otros factores.⁽¹¹⁵⁾

Los factores de crecimiento representan un grupo relativamente amplio de polipéptidos que comparten la propiedad común de inducir la multiplicación celular o proliferación, tanto *in vivo* como *in vitro*,⁽⁶⁷⁾ así como la regulación del crecimiento y la diferenciación.⁽²²⁾ Son una clase de mediadores biológicos naturales que regulan la proliferación, diferenciación, motilidad y síntesis de matriz prácticamente en todos los tipos celulares.⁽¹⁰²⁾

No obstante el hecho de que las moléculas de los factores de crecimiento pueden funcionar como estimuladores o inhibidores del crecimiento y pueden a su vez modular las acciones de diferenciación de las células, se ha generalizado el nombre de factores de crecimiento.⁽¹¹⁵⁾

Se han encontrado al menos 20 diferentes familias de factores de crecimiento, incluyendo en tales muchos de los 130 factores individuales hallados.⁽¹¹⁵⁾ La designación de "familia" implica una homología estructural y esencial entre los diversos miembros.

Todos los factores de crecimiento ejercen sus efectos biológicos sobre las células a muy bajas concentraciones (comúnmente entre 10^{-9} - 10^{-11} M).⁽⁶⁷⁾ Muchos péptidos de los factores de crecimiento son activos en concentraciones picomolares y a menudo inactivos en su forma original.⁽²⁶⁾ Los factores de crecimiento pueden ser agrupados también por su funcionalidad ya que todos ellos estimulan la síntesis de ADN en cultivos celulares. Para algunos tejidos no sólo son necesarios para estimular la proliferación de las células inmaduras, sino también para la sobrevivencia de dichas células. Los factores de crecimiento no sólo se requieren para la viabilidad de las células progenitoras, sino también para incrementar la efectividad funcional de las células maduras tales como los macrófagos y neutrófilos.⁽¹⁰⁾

Es importante aclarar que además de los factores de crecimiento, los factores transformantes virales son los únicos otros agentes capaces de salvar a las células progenitoras de la muerte celular. Los factores de crecimiento tienen el potencial para inducir transformación celular si actúan en el tiempo o lugar equivocado. Los receptores de membrana para los factores de crecimiento y los componentes intracelulares que median su acción dividen su potencial.⁽¹⁰⁾

Algunas células exhiben receptores para una variedad de factores de crecimiento y la exposición a más de uno de estos factores puede provocar en algún momento la interacción de complejos y entonces respuestas celulares impredecibles o diferentes a las ya definidas.⁽¹¹⁵⁾

Los ensayos *in vitro* han demostrado que los factores de crecimiento juegan un papel importante en la regeneración de tejidos y órganos. Esto pone de manifiesto que existe una interrelación de las diferentes células en la división, migración, inflamación y remodelado de la matriz citoplasmática e intercelular, además de que cada uno de estos procesos puede ser influenciado por un número variable de otros factores de crecimiento.⁽¹¹⁵⁾

Los factores de crecimiento pueden ser susceptibles a antagonistas, inhibidores, proteínas ligadas, degradación proteolítica, receptores solubles y mutaciones, evitando su secreción.⁽¹¹⁵⁾

Algunos factores de crecimiento necesitan nitrógeno u oxígeno, o ambas formas de glucosilación para su actividad, mientras algunos requieren fosforilación.⁽¹¹⁵⁾

2.1 Mecanismos de acción de los factores de crecimiento.

Los factores de crecimiento difieren de las clásicas hormonas endógenas, tales como la insulina o la hormona del crecimiento en dos importantes aspectos:

1. las hormonas son típicamente sintetizadas en glándulas especializadas (p. ej. en el páncreas, la insulina), mientras que los factores de crecimiento pueden sintetizarse en múltiples tipos celulares y tejidos;

2. las hormonas son liberadas dentro de los fluidos corporales en el sitio en el que se sintetizan y son llevados a su tejido blanco por el torrente sanguíneo, es decir actúan a "larga distancia". Sin embargo, los factores de crecimiento actúan en general localmente dentro de los tejidos en los cuales ellos se forman. Es por eso que la mayoría de las veces es difícil detectarlos en la circulación o en otros fluidos corporales, debido a su acción local.

En 1980 Sporn y Todaro sugirieron que todas las actividades de los factores de crecimiento podían ser clasificadas en tres: endócrina, parácrina y autócrina.⁽¹¹⁶⁾ (Fig. 1)

La acción endócrina sugiere que los factores de crecimiento viajan a través de los vasos linfáticos o sanguíneos para actuar sobre células blanco que están mas allá del sitio donde fueron sintetizados.

La acción parácrina ocurre cuando el factor de crecimiento es secretado por una célula e interactúa con otra que se encuentra en la inmediata vecindad.

El mecanismo autócrino se presenta cuando el factor de crecimiento es expresado por y bajo la acción de alguna célula. De este modo las células que participan en un mecanismo autócrino, tanto secretan factor de crecimiento como expresan receptores en su membrana plasmática.⁽¹¹⁷⁾

Un cuarto mecanismo de acción ha sido considerado desde que se descubrió que los factores de crecimiento se insertaban en la membrana plasmática, pudiendo estimular la replicación de las células vecinas. Este mecanismo se denominó yuxtácrino.

La hipótesis autócrina de Sporn y Todaro establece que una vía de la célula cancerosa que puede cambiar el control inhibitorio del crecimiento externo, es por la síntesis de factores de crecimiento, para los cuales ésta posee receptores.

Numerosas investigaciones han demostrado que los factores que son elaborados en las células, pero son incapaces de ser secretados o de ser insertados en la membrana plasmática de células vecinas, inducen cambios fenotípicos en esas células.⁽²⁶⁾ Tal mecanismo de acción se ha denominado intrácrico. El factor interactúa con un receptor intracelular situado por ejemplo, en el aparato de Golgi.⁽¹¹⁷⁾

Un sexto modo de acción demostrado *in vivo*, es aquél en el que el factor de crecimiento tiene que ser primero ligado a una molécula de la matriz antes de su presentación a los receptores de la superficie celular, pudiendo ser considerado aparte o, como una subdivisión del modelo endócrino, autócrino y parácrino.⁽¹¹⁵⁾

Los mecanismos autócrino y parácrino se presentan como mecanismos reguladores primitivos; los sistemas endócrinos son probablemente un desarrollo reciente de la evolución.

La secreción autócrina de los factores de crecimiento puede ocurrir transitoriamente durante los procesos fisiológicos normales de reparación de tejidos dañados o, durante el desarrollo embrionario cuando el crecimiento particularmente rápido de las células es necesario.⁽¹¹⁷⁾ Así mismo, su papel es muy importante en el desarrollo craneofacial y dental.⁽¹⁸⁵⁾

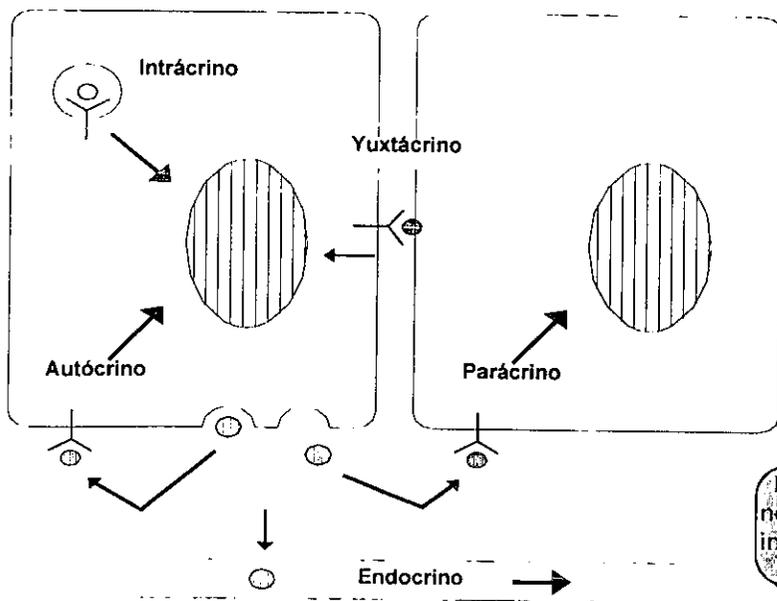


Fig. 1 Los factores de crecimiento (puntos negros) son producidos por las células e interactúan con receptores específicos.

2.2 Acciones ultraestructurales de los factores de crecimiento.

La habilidad para inducir la multiplicación celular es una función que depende tanto de la especie de factor de crecimiento como del fenotipo celular involucrado. Algunos factores de crecimiento exhiben un rango limitado de células blanco, mientras que otros pueden inducir la proliferación de diferentes tipos de células.⁽⁹⁷⁾

La proliferación celular depende de la topografía del citoesqueleto y/o de la matriz nuclear, y en particular de la asociación del factor de crecimiento con la membrana plasmática o la membrana nuclear.⁽¹⁰⁾ Los factores de crecimiento median la fosforilación de residuos de tirosina, sugiriendo ser esto importante para el mantenimiento del citoesqueleto.

De este modo, una continua y adecuada fuente de membrana asociada al ATP puede requerirse para mantener una topografía citoplasmática y nuclear dirigida a la división celular.⁽¹⁰⁾

Las células progenitoras normales pueden depender de su factor de crecimiento específico, simplemente porque el factor de crecimiento está íntimamente asociado con la producción de ATP. Las células sanguíneas maduras cesan su síntesis proteica si el factor de crecimiento es eliminado. Las reacciones de fosforilación de proteínas están íntimamente asociadas con la habilidad de las células para proliferar.⁽¹⁰⁾

Los efectos de los factores de crecimiento son siempre mediados por la unión del factor con los receptores específicos de la superficie celular. (Fig. 2) Un receptor es básicamente una estructura capaz de reconocer o interactuar con el mensajero o ligando, además de transmitir el mensaje para que se produzca la respuesta de la célula. La cascada de señales desde la superficie celular hacia el núcleo de la célula, es extremadamente complejo y constituye un muy activo campo de investigación.⁽¹⁸⁵⁾

El evento inicial en la acción de un factor de crecimiento es la unión a un receptor específico de alta afinidad, el cual se extiende sobre la membrana celular. El receptor es frecuentemente, pero no siempre, una proteína tirosina-quinasa específica. Los receptores del EGF, insulina, IGF-I y PDGF son tirosina-quinasa específicos. El receptor IGF-II no tiene actividad de este tipo.⁽¹¹⁸⁾

La unión de un factor de crecimiento por estos receptores solubles, inducen segundos mensajeros intracelulares que transmiten una señal hacia el núcleo. Estos segundos mensajeros

pueden ser fosfoproteínas, inositol fosfato, diacilglicol, nucleótidos cíclicos, iones monovalentes o divalentes. Pocos minutos después de la formación del complejo factor de crecimiento-receptor, pueden detectarse cambios en la expresión genética.⁽¹¹⁸⁾

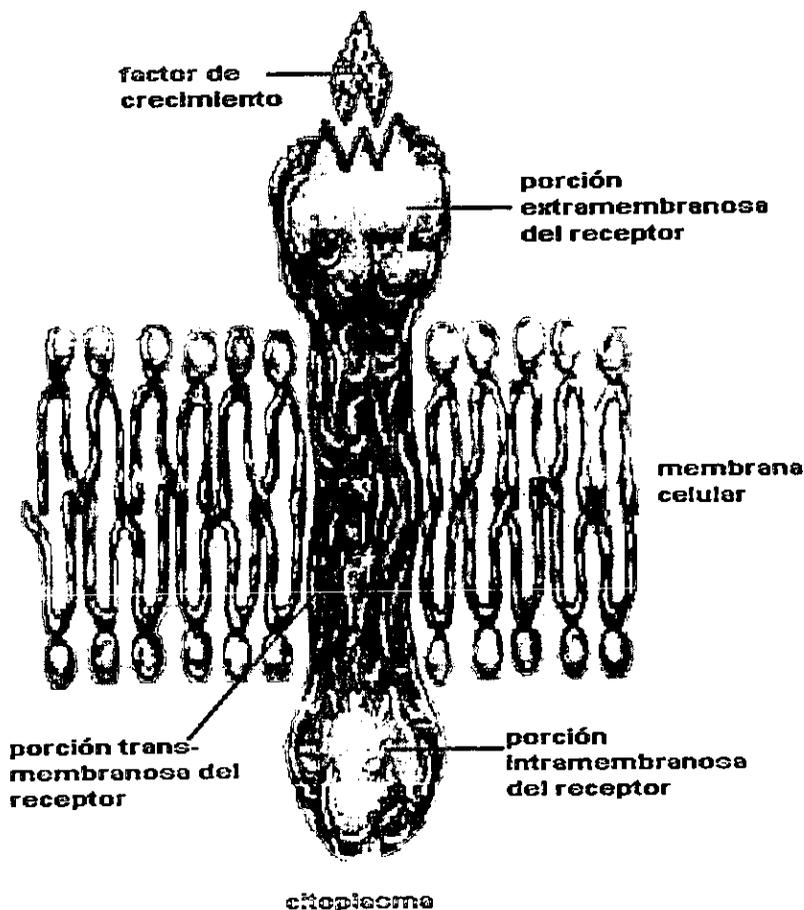


Fig. 2. Esquema de un receptor de factor de crecimiento en sus diferentes porciones intra y extracelulares.

Así, los diferentes tipos celulares pueden usar algún mecanismo interruptor para estimular diferentes respuestas. Esto puede explicar los efectos pleiotrópicos de los factores de crecimiento, tales como el TGF β y el EGF. De tal manera, un factor de crecimiento puede controlar un evento de diferenciación simplemente al gobernar la división celular.⁽¹¹⁸⁾

Los factores de crecimiento de las diferentes familias se unen a sus característicos receptores celulares de superficie, los cuales muestran también gran variedad. En algunos casos,

muchos factores de crecimiento en la familia usan el mismo receptor, mientras que otras familias de factores individuales pueden unirse a numerosos receptores diversos. En cierto momento, la unión adicional a receptores no señalados es también necesaria para señales de transducción. Esto crea obviamente gran variabilidad en la regulación de las respuestas celulares a los factores de crecimiento.⁽¹⁶⁵⁾

2.3 Familias de factores de crecimiento.

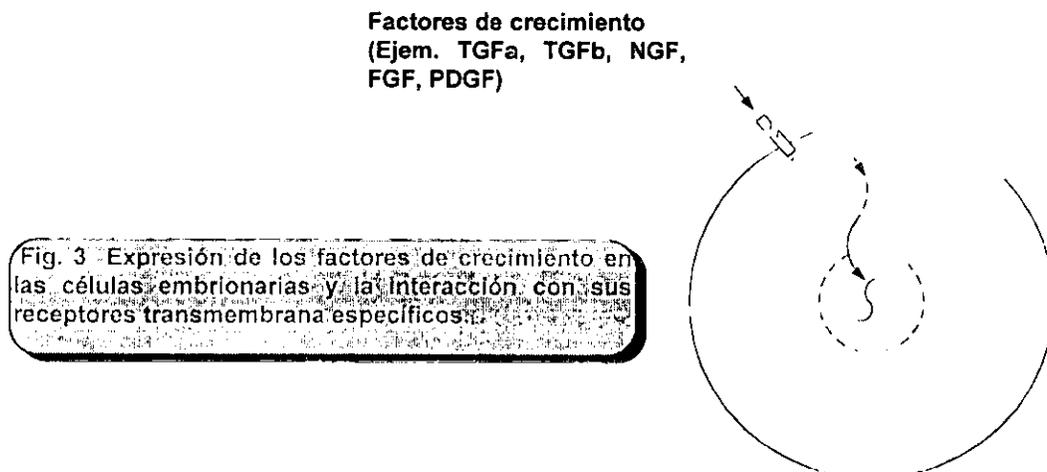
El creciente número de factores de crecimiento pueden agruparse dentro de superfamilias basadas sobre una homología nucleótida y secuencia aminoácida, así como por la similar actividad receptor-ligando.⁽¹¹⁸⁾

El papel de los factores de crecimiento como señales inductoras en la embriogénesis de vertebrados fue primariamente establecida en estudios sobre el mesodermo en formación de larvas de *Xenopus*.⁽¹⁶³⁾

Muchos estudios sobre factores de crecimiento indican que éstos regulan la diferenciación y morfogénesis. Lo anterior es muy importante para establecer cómo un péptido, por ejemplo el FGFb puede funcionar como un mitógeno en un contexto y promover la diferenciación en otro. Recientes datos indican que los factores de crecimiento regulan la expresión genética dentro de sus células blanco. Dos clases de genes son propuestos: 1) genes comunes, los cuales parecen ser componentes esenciales de una reacción del factor de crecimiento y, 2) genes que son característicos de una línea celular. La primera clase de genes pueden ser mediadores de la reacción del factor de crecimiento y pueden también influenciar la expresión genética, donde la segunda clase puede dictar en parte, la naturaleza de la respuesta.⁽¹¹⁸⁾

Durante el desarrollo embrionario muchos factores de crecimiento actúan como señales entre los diversos tejidos.^(Fig. 3) Un mecanismo por el cual los factores de crecimiento regulan el desarrollo es a través de la estimulación de los genes Homeobox. Los genes Hox fueron detectados primero en la mosca de la fruta (*Drosophila*) en la cual se definieron como el mayor patrón de formación genética.⁽¹⁶⁵⁾ En el ser humano por ejemplo, el Msx-1 (nueva terminología propuesta por Scott en 1992⁽⁷⁸⁾) fue recientemente hallado indispensable para el desarrollo normal de los precursores de la cresta neural, paladar secundario y dental. Es fuertemente expresado en las células mesenquimales de los procesos faciales y es muy intenso en el mesénquima dental durante la morfogénesis dentaria.^(78,104,113,185)

El papel de los genes en el desarrollo ha ido en aumento debido a la metodología de la biología molecular. Por ejemplo, la presencia de un ARNm particular puede detectarse en secciones histológicas a través de hibridación *in situ*. Gracias a ello, ahora se sabe que las estructuras moleculares de las familias TGF β , NGF y PDGF son muy similares, indicando ésto que se derivan de algun gen ancestral común. Además, las BMPs son ahora consideradas dentro de la familia TGF β y ellas funcionan en muchos aspectos del desarrollo.^(78,80,191)



La homeostasis celular, el delicado balance entre producción celular y remoción de células en diversos tejidos depende de una larga extensión sobre dos modos alternativos de existencia de células normales: la pasiva y la proliferativa. El crecimiento y la división de células normales es usualmente regulada por la acción de diversos estimulantes endógenos e inhibidores. De este modo, uno de los retos fundamentales en el estudio del crecimiento y desarrollo, es el determinar la naturaleza bioquímica y sitios de acción de los agentes que pueden desviar las células hacia un estadio o el otro.⁽¹⁰⁾

2.3.1 Familia del Factor de Crecimiento Transformante beta (TGF β).

La familia del Factor de Crecimiento Transformante beta (TGF β) fue reconocida por primera vez en la década de los 80's.⁽⁸⁴⁾ Este grupo de polipéptidos se estableció en un medio de cultivo de fibroblastos 3T3 viralmente transformados, y se caracterizó por su habilidad para inducir

reversiblemente al fenotipo transformado, en fibroblastos no transformados. Además se observó que el TGF β requería la concomitante unión del EGF o TGF α para inducir transformación.⁽¹¹⁷⁾

La familia es conocida como la "superfamilia TGF β " o factor de crecimiento transformante beta, nombre tomado del primer miembro de la familia aislado (TGF β_1). Este nombre es en cierta forma engañoso, porque el TGF β_1 tiene un gran número de efectos en diversos sistemas. Éste, inhibe actualmente la proliferación de muchas líneas celulares, y su original actividad "transformante" puede deberse a sus efectos secundarios sobre la producción de matriz y la síntesis de otros factores de crecimiento. Se conocen actualmente más de 20 miembros de la superfamilia TGF β con muchas actividades de importancia diversa.^(84,148)

Estructura.

Los diversos miembros de la familia TGF β (TGF β_1 -TGF β_6) son inicialmente sintetizados como una larga molécula precursora con una secuencia amino terminal y un prodominio de tamaño variable. Este precursor proteico es usualmente dividido en un sitio dibásico, liberando un segmento carboxiterminal maduro de 110 a 140 aminoácidos.⁽⁸⁴⁾ El precursor de TGF β_1 tiene 390 aminoácidos, y su segmento maduro posee 112 aminoácidos.^(103,115,157)

El TGF β_1 se purificó inicialmente de las plaquetas humanas.⁽²²⁾ El TGF β_2 se purificó primero de las plaquetas porcinas y del hueso bovino. De la clonación de ADN humano porcino y de pollo se identificó el gen TGF β_3 . Mientras tanto, el TGF β_4 se clonó de condrocitos de pollo, pero sus actividades biológicas no se conocen aún.⁽¹⁰³⁾

Las moléculas activas son heterodímeros (TGF $\beta_{1,2}$) u homodímeros (TGF β_1 , TGF β_2) de este segmento carboxiterminal.⁽⁸⁴⁾ Cada cadena polipeptídica es de 12 kDa, y se unen con bandas de disulfuro de 25 kDa.⁽⁶⁷⁾ El peso molecular de TGF β es de 25 000.⁽¹⁰⁾

El TGF β es secretado por las células de forma latente y como un complejo biológicamente inactivo, formado por una molécula de TGF β y una "proteína latente asociada".⁽⁶⁷⁾ La activación de TGF β es a través de proteólisis o mediante un pH bajo o ácido. Siete residuos de cisteína dentro de la región madura son casi invariables en los miembros de la familia, lo que ha facilitado su reconocimiento por el área llamada "grupo cisteína".⁽¹⁸⁵⁾

La proteína TGF β biológicamente activa resulta de la dimerización de los monómeros y se liberan de la porción péptida latente.⁽¹⁴⁰⁾

Acerca de los receptores TGF β durante el desarrollo, se sabe que prácticamente todas las células los expresan. Se sabe que hay receptores TGF β de alto y bajo peso molecular, sin embargo éstos últimos no reportan actividad quinasa.⁽¹⁰³⁾

La nomenclatura de los receptores TGF β se asocia con el tipo de proteína asociada a la célula, a la cual se unen los TGF β . Así el receptor tipo III es un proteoglicano asociado a la membrana, con un alto peso molecular conocido como betaglycan, mientras los receptores tipo I y II son proteínas transmembrana de mucho menor tamaño (53, 70 - 85 x 10³ Mr, respectivamente). Los receptores tipo I y II pertenecen a una novedosa familia de serina/treonina quinasa transmembrana. Los receptores I y II forman complejos heteroméricos, los cuales se unen a diferentes ligandos. Mientras tanto aunque los receptores tipo II son responsables de iniciar ciertas señales intracelulares, ellos se inactivan en este proceso si no se asocian con un receptor tipo I.⁽⁷⁰⁾

Actividades biológicas.

Los TGF β son los que mejor ilustran la multiplicidad de las respuestas generadas por la acción de los factores de crecimiento. Dependiendo del tipo de célula, el TGF β puede llegar a provocar o inhibir la división celular en cultivos, así como la diferenciación puede ser positiva o negativamente controlada. En los cultivos celulares el TGF β induce condrogénesis y diferenciación escamosa de las células del epitelio bronquial, mientras la miogénesis y la adipogénesis son inhibidas.⁽¹¹⁸⁾

Existen dos tipos de TGF, el TGF α (de la familia EGF) y el TGF β . Con la identificación de receptores celulares de TGF β se ha podido estudiar su modo de acción y su papel en la proliferación de células normales y malignas.⁽¹⁰⁾

Los TGF β también pueden suprimir las reacciones inmunes, una conclusión que está fuertemente soportada por los conocidos efectos del TGF β_1 en muchas células inmunitarias.⁽⁸⁴⁾

Estudios realizados sobre la expresión de los factores de crecimiento sugieren que los TGF β también juegan un papel importante durante la embriogénesis, soportado a su vez por la actividad de

TGF β presente en la placenta humana y murina. Además en medios de cultivo de calvaria fetal de rata está presente el TGF β que en presencia de las hormonas osteotrópicas incrementa su producción.⁽⁸⁴⁾

In vitro, los TGF β son mitógenos para las células derivadas de los tejidos de soporte como el hueso y el cartílago, pero son inhibitorias para muchos otros tipos celulares. La familia TGF β también regula la diferenciación (estimulación o inhibición dependiendo del tipo de célula); estimulan el depósito de la matriz extracelular, donde se ha demostrado que causan un incremento en la expresión de colágena, fibronectina y proteoglicanos, integrinas, decremento de proteasas (colagenasa) y transin, incrementa la expresión de proteasas inhibitorias, son quimiotácticos para ciertas células, e inducen la formación del mesodermo durante el inicio de la embriogénesis.^(37,102,139)

Mediante hibridación *in situ* se han localizado los ARNm de TGF β_1 , TGF β_2 y TGF β_3 en embriones de ratón. Se detectó que durante la embriogénesis tardía, el ARNm de los TGF β puede cambiar durante el progreso del desarrollo embrionario, y frecuentemente establece en los tejidos alteraciones morfogenéticas.⁽¹³⁹⁾

Con ayuda de los procedimientos inmunohistoquímicos se ha determinado la extensiva presencia de los TGF β en el organismo. Por ejemplo, el TGF β_2 se encuentra en el estrato submucoso del intestino, la pulpa dental y los odontoblastos, las meninges y la piel; el TGF β_3 , en el hígado, plexo coroideo y en los grandes vasos del embrión. Así, se considera que la matriz extracelular puede actuar como un reservorio de proteínas TGF β .⁽¹³⁹⁾ El TGF β_1 , específicamente contribuye a la producción y mantenimiento de la matriz extracelular. Induce la síntesis de fibronectina y ésta se incorpora dentro de la matriz de una gran cantidad de diversas líneas fibroblásticas. Estos efectos parecen estar ligados a la reparación de los tejidos dañados.⁽¹¹⁰⁾ En estudios *in vivo* el TGF β ha demostrado su participación en la angiogénesis.⁽³⁷⁾

Los TGF β son, probablemente elaborados por todas las células, pero sus efectos dependen del tipo de célula. Son mitogénicos para las células de origen mesenquimal, pero antimitogénicos para las células endoteliales y linfocitos T y B en cultivo.⁽¹¹⁰⁾

2.3.1.1 Proteína Morfogenética del Hueso (BMP).

La matriz ósea contiene factores capaces de iniciar la formación de hueso endocondral, demostrada por la inducción de nuevo hueso después de la implantación de matriz ósea desmineralizada en tejido blando.⁽²²⁾

El nombre de Proteína Morfogénica del Hueso (BMP) fue dado por la sustancia activa del hueso y dentina que estimulaba poderosamente la formación de nuevo hueso cuando se implantaba en el músculo,⁽¹⁸⁴⁾ es decir, que tiene la capacidad de inducir la formación ectópica de hueso.⁽¹⁹¹⁾

Los factores osteogénicos son llamados Proteínas Morfogénicas del Hueso (BMP) o, factores de osteoinducción (OIFs u osteogeninas).⁽²²⁾

Se han identificado 8 BMPs: BMP₁, una novedosa molécula con Mr= 30,000; BMP_{2A} (Mr=18,000) y BMP₃ (Mr= 16,000); BMP_{2A} a BMP₆ son miembros de la superfamilia TGFβ. Las BMPs son expresados por las células de osteosarcoma e inducen formación de nuevo cartilago.⁽²²⁾

Los BMPs son conocidos como señales inductoras entre los estratos tisulares en el embrión. Evidencias en este sentido se han establecidas mediante estudios sobre el desarrollo dental y facial.^(78,184)

Los receptores de la superficie celular para los BMP no se han identificado. La clonación de BMP₂ y BMP₄ (también llamado DVR-4) ha demostrado que se relaciona con la proteína dpp (proteína decapentaplégica).⁽¹⁹¹⁾

2.3.2 Familia del Factor de Crecimiento derivado de las Plaquetas (PDGF).

El Factor de Crecimiento Derivado de las Plaquetas (PDGF) fue el primer factor de crecimiento en aislarse de las plaquetas humanas.⁽¹⁰⁰⁾ Fue descubierto en 1974 como uno de las principales fuentes de actividad mitogénica para las células mesenquimales presentes en la totalidad del suero sanguíneo y ausente en el plasma.⁽¹⁵¹⁾

Su identificación surgió cuando un número variado de tipos celulares, preferentemente fibroblastos 3T3 y células del músculo liso, proliferaron en un medio enriquecido con suero, mientras su rango de proliferación se redujo marcadamente cuando las células se cultivaron en plasma.⁽⁶⁷⁾ Resultó que las plaquetas (en los gránulos α de los megacariocitos) tenían un factor de crecimiento en forma abundante y se le llamó Factor de Crecimiento Derivado de las Plaquetas.⁽¹¹⁷⁾

Aunque originalmente el PDGF se aisló de las plaquetas, puede sintetizarse y secretarse por diversos tipos celulares incluyendo muchas células neoplásicas, células endoteliales, células del músculo liso, macrófagos, monocitos, células gliales y, más recientemente descubierto en los

queratinocitos. Aunque primariamente es un factor de crecimiento para células derivadas del mesénquima, los PDGF actúan sobre otras células blanco, incluyendo algunos tipos de células epiteliales, células endoteliales, e incluso en los leucocitos.⁽¹⁰⁰⁾

Estructura.

El PDGF es un dímero de los productos de dos genes PDGF, PDGF A y B. Existen tres formas de PDGF maduro: un homodímero de cadena A, un homodímero de cadena B, y un heterodímero de cadena A y B (PDGF-AA, PDGF-BB y PDGF-AB). La isoforma PDGF-BB es más mitogénica que PDGF-AB, y ésta, más que PDGF-AA.⁽²²⁾

Las cadenas A y B son codificadas por los genes 7 y 22, respectivamente.^(118,205) Tienen un peso molecular aproximado de 16,000 daltones para la cadena A y 14,000 daltones para la cadena B.⁽¹⁰⁰⁾

El PDGF-A humano se sintetiza como un precursor de 211 aminoácidos y es procesado a una proteína madura de 125 aminoácidos; la cadena B precursora consta de 240 aminoácidos y se procesa como una proteína de 160 aminoácidos.⁽¹¹⁷⁾

Cada una de las cadenas tiene múltiples intra e intercadenas de disulfuro, importantes para mantener la bioactividad. Algunas células producen múltiples isómeros de PDGF, mientras otras sólo producen una isoforma particular. Las plaquetas, que son el mayor reservorio contienen las tres isoformas en cantidades aproximadamente iguales.⁽¹⁰⁰⁾

El PDGF es una molécula altamente catiónica, con un pH de 9.8-10.0 y una estructura hidrofóbica que le permite el transporte y secreción a través de las membranas celulares.⁽¹⁰⁰⁾

El PDGF actúa sobre las células blanco después de ligarse a sus receptores de alta afinidad. Se inician entonces una serie de eventos intracelulares, incluyendo la activación tirosina-kinasa, movilización del calcio intracelular, fosforilación de moléculas específicas intracelulares y, finalmente la síntesis de ADN y la división celular.⁽¹⁰⁰⁾

Se han demostrado dos tipos de receptores del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF-R) sobre la membrana celular. El receptor tipo α se une a PDGF-AA, -AB, y -BB con alta afinidad; mientras el receptor tipo β se une a PDGF-BB con alta afinidad, a PDGF-AB con baja

afinidad y, no se une a PDGF-AA. Westermarck y cols. mostraron evidencias de que los receptores tipo β median la respuesta quimiotáctica de los PDGF. El PDGF-BB ha demostrado ser el que más potencia quimiotáctica posee.⁽¹¹¹⁾

Actividades biológicas.

El PDGF tiene un efecto mitogénico directo sobre la mayoría de las células derivadas del mesénquima, así como algunas células de origen epitelial y endotelial. La respuesta de las células depende tanto del isotipo PDGF y del receptor expresado sobre la célula blanco. El PDGF puede tener también un efecto mitogénico indirecto, es decir, induce a las células blanco, por ejemplo los fibroblastos y células musculares lisas a secretar somatomedina C, la cual es mitogénica para estas células, amplificando así el efecto mitogénico. Puede también hacer que una célula blanco secrete a su vez PDGF, como en los fibroblastos.⁽¹⁰⁹⁾

Otras actividades biológicas incluyen la migración directa de células, modificación de los constituyentes de la matriz celular y vasoconstricción.⁽¹⁰⁰⁾ El PDGF es quimiotáctico para las células del tejido conectivo, tales como los fibroblastos, células del músculo liso, monocitos y neutrófilos. Puede indirectamente alterar la respuesta al crecimiento de células no directamente sensibles al PDGF. Por ejemplo, pequeñas cantidades de PDGF pueden parcialmente restaurar la respuesta proliferativa de las células T antígeno-específicas en cultivo, aunque el PDGF no es un mitógeno para las células T. Participa en la eritropoyesis al inducir la secreción de un factor que estimula la formación de colonias eritroides.⁽¹⁵¹⁾

El PDGF activa a las células mesenquimales para que secreten colágena y colagenasa, mediando así, procesos tales como la reparación de tejidos.⁽¹⁰⁰⁾ Estimula la síntesis de ADN y proteica, y puede regular el crecimiento esquelético de forma sistémica o local. Como factor de crecimiento sistémico, puede liberarse durante la agregación plaquetaria y tener importantes efectos en los estadios iniciales de la reparación de una fractura. Localmente puede interactuar con otros factores de crecimiento u hormonas.⁽²¹⁾

Así mismo, el PDGF estimula la replicación de células óseas, resorción del hueso y degradación de matriz colágena.⁽²²⁾ El PDGF se ha aislado de diversos tejidos normales y neoplásicos, incluyendo la matriz ósea y células de osteosarcoma.⁽²¹⁾

La síntesis o liberación del PDGF se asocia con la proliferación de diversos tipos de células tisulares en muchos procesos patológicos, incluyendo aterosclerosis, transformación oncogénica y respuesta tisular a la injuria.⁽¹⁶¹⁾

Los diferentes PDGF exhiben diversos patrones de expresión, por ejemplo, el PDGF-B es predominantemente encontrado en la placenta y diversos tejidos adultos, mientras que la expresión de PDGF-A se da principalmente en el cerebro y en los tejidos fetales.⁽⁶⁷⁾

La embriogénesis se ve influenciada por los PDGF, guiando a los investigadores a proponer que la producción regulada del desarrollo por el PDGF y sus receptores contribuye a la estimulación autócrina de proliferación en la embriogénesis. Esto se ha sustentado por la presencia de ARNm de PDGF-A y PDGF-B en la placenta humana durante el primero y segundo trimestre, así como en el endodermo, moléculas del músculo liso embrionario y citotrofoblasto.⁽¹⁰⁰⁾

Shatteman y cols., en un estudio realizado en células embrionarias de ratón detectaron que durante el desarrollo, principalmente todos los derivados mesodermales se ven afectados por la ausencia del receptor alfa del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF-R α), produciéndose defectos en el embrión e incluso ausencia de órganos.⁽¹⁶¹⁾

2.3.3 Familia del Factor de Crecimiento parecido a la Insulina (IGF).

El Factor de Crecimiento parecido a la Insulina (IGF), representa un ejemplo claro en el cual la distinción entre factores de crecimiento y hormonas endócrinas es muy dudosa.

La "familia insulina" incluye a la insulina, los factores de crecimiento parecidos a la insulina (IGFs), relaxina y NGF.⁽¹⁰⁾

Estructura.

Los IGF también llamadas "somatomedinas", son péptidos que fueron aislados por primera vez de fracciones de plasma humano.⁽¹¹⁷⁾ Son un par de factores de crecimiento con una estrecha secuencia aminoácida de similitud estructural a la proinsulina humana.⁽¹¹⁸⁾

Tanto el Factor de Crecimiento parecido a la Insulina tipo I (IGF-I) como el Factor de Crecimiento parecido a la Insulina (IGF-II) se secretan como prohormonas (9 kDa y 14 kDa, respectivamente) y requieren de la acción proteolítica para adquirir su forma de 6 kDa.⁽⁶⁷⁾

El IGF-I también conocido como somatomedina C, es una base secretada como prohormona con 156 aminoácidos, y la forma madura posee 70 aminoácidos. El sitio de producción del IGF-I fue inicialmente encontrado en el hígado, desde el cual se libera en respuesta a la hormona del crecimiento. Sin embargo, evidencias recientes indican que el IGF-I se produce en muchos sitios, si no en todos los tejidos.⁽¹¹⁷⁾

El IGF-II es más neutral, cuya secuencia aminoácida inmadura consta de 180 aminoácidos y la forma madura de 67 aminoácidos.⁽¹¹⁸⁾

El IGF-II es poco controlado por la hormona del crecimiento y es un importante factor de crecimiento fetal.⁽¹¹⁸⁾

Se han descrito dos tipos de receptores IGF: los receptores tipo I, que se unen a IGF-I de igual forma o con gran afinidad como con IGF-II, y se unen a la insulina con poca afinidad; mientras el receptor tipo II, se une a IGF-II con mas afinidad que a IGF-I, y no interactúa con la insulina. Los receptores tipo II tienen una actividad tirosina-quinasa.⁽¹¹⁸⁾

Actividades biológicas.

En forma particular, el IGF-I se expresa en la vida juvenil y es sintetizado exclusivamente en el hígado bajo el control de la hormona del crecimiento. En contraste, el IGF-II se expresa predominantemente en el embrión, y en los estadios fetales del desarrollo en una gran variedad de tejidos. La expresión del IGF-II persiste en la vida adulta de forma más limitada.⁽⁶⁷⁾

Hay evidencia de que el IGF-I es un potente modulador autócrino/parácrino de los procesos de remodelación ósea, así como adicionalmente participa en los procesos de resorción al estimular la formación y activación de osteoclastos. Las células de la línea osteoblástica producen grandes cantidades de IGF-I, y exhiben receptores para IGF-I. El IGF-I también es producido por las células óseas y estimula la proliferación y respuestas quimiotácticas de estas células por la interacción con receptores específicos. El IGF-I podría participar en las respuestas no proliferativas, tales como la quimiotaxis. El IGF-I es además un estimulador de las respuestas migratorias de diversos tipos

celulares, incluyendo las células endoteliales, linfocitos T y células del melanoma humano. Así mismo, puede participar en procesos tales como neurovascularización, respuestas inmunes y difusión de células metastásicas.⁽⁴⁹⁾

El ARNm de IGF-II predomina durante la gestación y declina pocas semanas después del nacimiento. El IGF-I sin embargo, muestra un patrón de expresión opuesto. A partir de estos resultados se considera que el IGF-II es primordialmente un mitógeno fetal involucrado en el desarrollo de los tejidos embrionarios.⁽¹¹⁸⁾

Una excepción al patrón de expresión del IGF-II en el desarrollo fetal es notado en el tejido neural. Altos niveles de IGF-II, ARNm y receptores son vistos en el cerebro adulto, donde el IGF-II puede estimular el sobrecrecimiento neural.⁽¹¹⁹⁾

La presencia de IGF en el líquido amniótico y blastocisto sugiere la acción temprana de los IGF.⁽¹¹⁸⁾

2.3.4 Familia del Factor de Crecimiento de los Fibroblastos (FGF).

El Factor de Crecimiento de los Fibroblastos (FGF) es una familia de polipéptidos que regulan la diferenciación y proliferación celular.⁽²⁰⁾

El origen científico de los FGF fue alrededor de 1940, cuando en cultivos de cerebro se reportó que ciertas sustancias estimulaban a los fibroblastos 3T3 a dividirse. La actividad fue extremadamente elevada en el SNC, especialmente en cerebro e hipófisis comparado con una gran variedad de órganos. Posteriormente se detectó que podía estimular una gran cantidad de células de origen mesenquimatoso, incluyendo células endoteliales vasculares, un fenotipo que previamente había sido difícil de propagar en cultivo.⁽¹⁰⁾

Estructura.

La purificación inicial del FGF se realizó en cerebro bovino, lo que reveló que no era una, sino dos moléculas estrechamente relacionadas, con propiedades bioquímicas y biológicas muy similares.⁽⁹⁷⁾

Los FGF tienen una masa molecular de 16,000-17,000 daltones. Su afinidad para unirse a la heparina y heparán sulfato⁽²⁰⁾ es una propiedad que ha sido usada para su purificación, clasificación⁽²²⁾ y determinación de su pH.^(23,67) Los más conocidos FGF son el Factor de Crecimiento de los Fibroblastos ácido (FGFa) que tiene un pH de 5.6 y el Factor de Crecimiento de los Fibroblastos básico (FGFb) que posee un pH mayor de 9.0.⁽¹⁴⁶⁾

El precursor del FGFa y FGFb tiene una secuencia de 155 aminoácidos, mientras que la proteína madura tiene 140 aminoácidos para FGFa y 146 aminoácidos para el FGFb.⁽¹¹⁷⁾

Los FGF están latentes, almacenados junto a la matriz extracelular unidos a los proteoglicanos.⁽²⁶⁾ Los receptores del factor de crecimiento de los fibroblastos (FGF-R) de baja afinidad contienen heparán sulfato y se sitúan también dentro de la matriz extracelular. Otras interacciones involucran colágeno tipo IV, laminina y fibronectina.⁽²⁰⁾

Se han identificado cuatro clases de receptores transmembrana FGF (FGF-R) con actividad tirosina-quinasa. Los receptores de alta afinidad dependen de las interacciones con la superficie celular ligada a los proteoglicanos heparán sulfato.

En común con otros receptores tirosina-quinasa los FGF-R pueden activarse por dimerización. La dimerización del receptor tirosina-quinasa resulta de su autofosforilación, y esto facilita generalmente su autoestimulación y el reclutamiento de las señales intracelulares proteicas.⁽¹¹⁰⁾

Son siete los FGF conocidos en mamíferos, ellos son: FGF ácido, FGF básico, Int-2, K-FGF/Hst-1, FGF-5, FGF-6/Hst-2, y el factor de crecimiento de los queratinocitos (KGF). Estos han sido renombrados FGF-1 hasta FGF-7, respectivamente.⁽¹⁰³⁾

En los mamíferos están presentes 7 genes que se han clasificado como miembros de la familia FGF, que se han designado numéricamente de fgf-1 a fgf-7. Cuatro de ellos son considerados productos de oncogenes: fgf-3, fgf-4, fgf-6 y fgf-8. Se ha especulado sobre su papel en la formación del mesodermo, así como su relevancia en la gastrulación y morfogénesis facial.^(79, 133)

Los factores de crecimiento ligados a la heparina (HBGF o FGF) son responsables de las actividades atribuidas a la casi docena de factores previamente identificados. Dichas moléculas se relacionan con los FGFa y FGFb, tal es el caso del factor de crecimiento de células endoteliales (ECGF reportándose dos formas de éste: ECGF α , de Mr 17,000 y ECGF β de Mr 20,000),⁽²¹⁾ el factor

II de crecimiento derivado del ojo, el factor I de crecimiento derivado de la retina y del factor de crecimiento aniónico derivado del hipotálamo para FGFa. Mientras tanto el FGFb se relaciona secuencial y enzimáticamente con el factor de crecimiento I derivado del ojo, el factor de crecimiento derivado de la retina, el factor de crecimiento II catiónico derivado del hipotálamo y el factor de crecimiento de los macrófagos.⁽¹¹⁹⁾

Actividades biológicas.

Los FGF son mitogénicos hacia las células de origen mesenquimal, neural y epidermal.⁽¹⁰⁰⁾ Actualmente numerosos tipos celulares han reportado ser estimulados para la síntesis de ADN y dividirse en presencia tanto de FGFa como FGFb, incluyendo fibroblastos 3T3, células endoteliales vasculares (estimulan su replicación y neovascularización) y corneales, condrocitos, osteoblastos, mioblastos, músculo liso y células gliales.⁽¹⁰⁾

El FGFb está ampliamente distribuido tanto en los tejidos adultos como fetales, tal como se ha establecido en células normales y neoplásicas. La expresión del FGFa en contraste, está restringido principalmente a las células del SNC y periférico.⁽⁶⁷⁾ Se considera que el FGFb es de 10 a 100 veces más potente que FGFa.⁽¹⁸⁴⁾

Los FGF pueden actuar como reguladores locales del metabolismo esquelético.⁽²²⁾ Incrementa la población de células óseas capaces de sintetizar proteínas colágenas (colágena tipo I). No tienen efectos sobre la resorción ósea, mientras que en ciertas condiciones inhiben directamente la función osteoblástica.⁽²¹⁾

Los FGF son quimiotácticos para las células endoteliales o inducen a estas células a expresar plasminógenos y colagenasas, enzimas proteolíticas que median la remodelación tisular. Además, los FGF se ligan a la heparina y aumentan la actividad mitogénica de las células en cultivos. Los FGF se unen al heparán sulfato, molécula importante de la matriz extracelular y se establece en gran cantidad en la matriz de las células cultivadas. Su presencia sugiere que median la proliferación de las células adyacentes a la membrana basal.⁽¹¹⁷⁾

Mühlhauser y colaboradores realizaron el primer estudio que muestra que el heparán sulfato y el FGFb son codistribuidos en determinadas áreas, jugando un papel importante en el desarrollo y diferenciación de los órganos.⁽¹³⁰⁾

Los FGFb estimulan la reparación y regeneración de los nervios, así como inducen la angiogénesis en cantidades muy pequeñas.⁽³¹⁾

El FGFb también se distribuye ampliamente en órganos, tales como glándulas adrenales, testículos y ovarios, tanto en embriones como en adultos. El FGFa se estableció en la sinovia de pacientes con artritis reumatoide, y el FGFb se libera de las células endoteliales de las heridas. Por lo tanto, los FGF participan en la inflamación y reparación de heridas.^(60,100)

Tanto FGFa como FGFb se han aislado del tejido cerebral⁽¹⁶⁴⁾ y de neuronas periféricas y centrales, incrementando su supervivencia *in vivo* o *in vitro*.⁽⁶⁰⁾

En resumen, las considerables evidencias sugieren que los miembros de la familia FGF tienen diversas funciones tanto en el desarrollo embrionario como posnatal, lo cual influye sobre la sobrevivencia celular, proliferación y migración y, dependiendo del contexto en el cual ellos son expresados, también inducen o reprimen la diferenciación celular.⁽¹³³⁾

2.3.6 Familia Neurotróficos (NTF).

Alrededor de los años 50's el único Factor Neurotrópico (NTF) relacionado con el desarrollo del cerebro durante las etapas embrionarias era el Factor de Crecimiento de los Nervios (NGF), que debía su nombre al limitado espectro de tipos neuronales en los cuales actuaba,⁽¹⁶⁴⁾ y el Factor Neurotrópico derivado del Cerebro (BDNF) que provenía del tubo neural.⁽¹⁶⁷⁾

Se ha comenzado a aclarar que el NGF es activo sobre muchas poblaciones celulares, además de las neuronas sensoriales y simpáticas. Estas nuevas poblaciones celulares incluyen las neuronas del SNC y células ajenas al SNC, como las células mastoides. La localización del NGF y su ARNm en secciones de tejidos ha provisto de mucha información acerca del papel fisiológico de estos factores en cada uno de los diversos tipos celulares.⁽¹⁶⁹⁾

Estructura.

La localización del NGF y su ARNm ha sido posible recientemente debido a las bajas concentraciones en tejidos adultos, aunque los métodos todavía requieren de mayor sensibilidad para detectar dicho factor de crecimiento en muchos otros tejidos.⁽¹⁵⁶⁾

El NGF es una proteína básica de 26.5 kDa. La liberación del NGF ocurre por proteólisis de moléculas precursoras de 35 kDa y 28 kDa.⁽¹²³⁾

Muchos de los efectos biológicos del NGF sobre las células blanco, dependen directamente de la inicial unión del NGF a sus receptores específicos de la membrana plasmática (NGF-R). Tal como sucede con otros factores de crecimiento, el NGF interactúa con células sensibles que poseen dos clases de receptores: uno con una baja afinidad (LNGF-R) y rápida descarga de NGF, y la otra con elevada afinidad (HNGF-R) y baja liberación de NGF. Las respuestas biológicas del NGF dependen de las interacciones con la alta afinidad del receptor.⁽¹²²⁾

El receptor de baja afinidad NGF es una glicoproteína de 75 kDa ($p75^{NGFR}$) común a todos los miembros de la familia neurotropinas. El producto del proto-oncogen *trk* es un receptor proteico tirosina-quinasa de 140 kDa ($p140^{prototrkt}$), involucrado con la unión de alta afinidad solo o junto al $p75^{NGF-R}$. El NGF induce autofosforilación de $p140^{prototrkt}$, el cual probablemente sirve como señal iniciadora de transducción. Datos recientes, demuestran que $p75^{NGF-R}$ está también involucrado en la fosforilación de $p140^{prototrkt}$, y que algunas respuestas celulares para NGF requieren del receptor de alta afinidad. Sin embargo el significado funcional de los receptores aún es poco claro.⁽¹²³⁾ Las respuestas no biológicas medidas solamente por el receptor de baja afinidad (LNGF-R) han observado que las células poseen solamente los receptores de baja afinidad, pero no responden al NGF. No obstante, se ha visto que los LNGF-R participan en la unión de alta afinidad.⁽¹²²⁾

Otros factores de crecimiento con actividad o potencial NGF son la insulina, IGF-I, IGF-II, EGF y FGF.⁽¹⁹⁴⁾

Actividades biológicas.

El NGF es esencial para el desarrollo, sobrevivencia y diferenciación de muchos derivados de la cresta neural, incluyendo neuronas periféricas simpáticas y sensoriales. Ahora se sabe que el NGF puede tener amplios efectos fisiológicos que regulan las funciones neuronales. Por ejemplo, el NGF eleva el número de células mastoides en ratas neonatas, promueve la diferenciación de granulocitos, linfocitos B humanos y células musculares, y finalmente, afecta la morfología y función de las células de Sertoli y de la lámina propia del testículo.⁽¹²²⁾ Se cree que el NGF está controlado por la testosterona y la tiroxina y que el NGF es más elevado en los machos de ratón que en las hembras.⁽⁹³⁾ También se ha identificado en glándulas salivales de ratón, cultivos de iris, nervios periféricos y tejidos embrionarios.⁽¹⁵⁶⁾

Recientes estudios inmunohistoquímicos revelaron que el NGF-R se localiza en una gran variedad de tejidos embrionarios, con conexiones no muy claras con el desarrollo neural, incluyendo poblaciones celulares reconocidas que juegan importantes papeles en la morfogénesis, tales como en los brotes de las extremidades, oositos y componentes del músculo liso y estriado.⁽¹²²⁾

2.3.0 Familia del Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF).

El Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF) fue el primer factor de crecimiento obtenido en forma pura y fue descubierto en una investigación sobre agentes neurotrópicos.⁽⁶⁷⁾

La separación del EGF de la sustancia promotora del crecimiento de los nervios, por Stanley Cohen en 1930 guio hacia el reconocimiento de que los factores tejido específicos son el centro de los procesos del crecimiento tisular y su reparación.⁽¹⁰³⁾

En 1932 Cohen inyectó EGF en glándulas submaxilares de ratones recién nacidos, lo que dió como resultado una maduración acelerada de diversos epitelios, generando una apertura prematura del párpado y erupción del incisivo. La glándula submaxilar resultó ser extremadamente rica en EGF.⁽⁶⁷⁾ Estas conclusiones demostraron ser relevantes en los procesos íntimamente ligados a la proliferación y diferenciación epidérmica.⁽¹⁰⁰⁾

El Factor de Crecimiento del Sarcoma (SGF) se considera una forma embrionaria de EGF; éste ha sido aislado de embriones de ratón de 12 a 17 días.⁽¹⁰¹⁾

Estructura.

El EGF aislado de la glándula submaxilar de ratón, es una proteína de 6 kDa con acciones mitogénicas sobre una gran variedad de células epiteliales en cultivos (p. ej. fibroblastos 3T3).⁽⁶⁷⁾

El EGFm (EGFm) es una particular cadena polipeptídica de 53 aminoácidos con un aparente peso molecular de 6045, conteniendo tres bandas disulfídicas intramoleculares que son requeridas para la actividad biológica.⁽¹¹⁷⁾ El EGF humano (EGFh) tiene un peso molecular de 6400 daltones y estimula el crecimiento de los fibroblastos en concentraciones aproximadas de 10^{-10} M.⁽²³⁾

La clonación molecular del gen del EGFh y de ratón revelaron que el polipéptido EGF es parte de un precursor proteico, el cual es una proteína transmembrana de aparente masa molecular de

128 kDa. La proteína madura EGF se separa de su precursor por las proteasas presentes en la glándula submaxilar.⁽⁶⁷⁾

El EGF es codificado por un gen estructural localizado en el cromosoma 4 de ratones,⁽⁷³⁾ mientras que el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF-R) se codifica en el cromosoma 7.⁽²⁰⁵⁾

Un gran avance en los estudios sobre factores de crecimiento, fue la demostración en 1979 de un efecto directo del EGF sobre una reacción química en un sistema celular independiente. Cuando el EGF se añadió en una preparación de membrana en presencia de ATP, la rápida activación de la fosforilación proteica ocurrió. Este sistema proporciona las herramientas bioquímicas que pueden aplicarse a los mecanismos de acción del EGF.⁽¹⁰⁾

Los receptores específicos de EGF han sido descubiertos utilizando ¹²⁵I-EGF en una gran variedad de tejidos y células en cultivo. El receptor proteico EGF (Mr 170,000) tiene un dominio tirosina-quinasa acoplado a este receptor. Esta es una singular cadena peptídica integral de membrana, de 1186 aminoácidos con dominios extracelulares, transmembranosos y citoplasmáticos.⁽¹¹⁷⁾ El dominio potencial o dominio transmembrana (residuos aminoácidos 1037-1063) sugirió que éste puede ser en algunos tipos celulares, una proteína integral de membrana. En este caso, los ocho repeticiones parecidas a EGF y EGF que están contenidos en los aminoácidos 26-1036, pueden ser extracelulares y, los residuos aminoácidos carboxiterminal 1064-1217 pueden localizarse en el citoplasma.⁽¹⁰³⁾ La unión del EGF a estos receptores activa una proteína quinasa en la parte intracelular del receptor, la cual fosforila los residuos de tirosina de las proteínas conduciendo hacia la respuesta celular. Después de unirse el EGF a su receptor, el complejo se internaliza en la célula y finalmente es degradado en los lisosomas.⁽¹⁰³⁾ La actividad tirosina-quinasa del dominio citoplasmático es considerado el principal efector de la respuesta de las señales de transmembrana.⁽¹¹⁷⁾

La actividad tirosina-quinasa del receptor EGF parece ser capaz de funcionar catalíticamente sin el resto de la estructura del receptor. La secuencia aminoácida tiene una muy elevada homología secuencial a la del oncogen *erb-B* del virus de la eritroblastosis del ave.⁽¹¹⁷⁾

Mientras el EGF humano parece ser biológicamente similar al EGF de ratón, las propiedades físicas y químicas de las dos moléculas no son idénticas. El EGFh tiene un muy bajo peso molecular y una gran carga negativa en un pH alcalino, comparado con el EGF de ratón. La composición

aminoácida de los dos polipéptidos indican ciertas similitudes, tales como la ausencia de fenilalanina y la presencia de una metionina y residuos de cisteína.⁽³⁰⁾

Cohen (1982) reportó un coeficiente de sedimentación de 1.25 para el EGF de ratón.⁽¹²⁹⁾

Carpenter y colaboradores (1980) demostraron que el EGF induce un rápido nucleótido cíclico independiente y fosforilación tirosina específica de las proteínas endógenas de la membrana.⁽¹⁴¹⁾

El incremento en el transporte de moléculas pequeñas y iones a través de la membrana plasmática, son algunas de las más rápidas respuestas biológicas del EGF ligadas a los receptores de la superficie celular.⁽¹²⁹⁾

Actividades biológicas.

Uno de los factores de crecimiento mejor caracterizados es el EGF, el cual se liga a los receptores de membrana y estimula mitogénicamente a una gran variedad de tejidos adultos.⁽¹⁴¹⁾ El efecto predominantemente biológico de la familia EGF es la estimulación de la proliferación celular.⁽¹²⁰⁾

Con el aislamiento del EGF humano de la orina en 1975, se demostró que el EGFh tiene una función similar a la β -urogastrona (hormona antisecretoria gástrica).⁽¹²⁰⁾

El EGF está presente en la mayoría de los fluidos humanos extracelulares y secreciones, incluyendo el plasma, saliva, líquido amniótico, leche y orina. Los niveles del EGF en los diversos fluidos corporales se han cuantificado por radioinmunoensayo, y rangos desde 1 a 800 ng/ml se han detectado en leche, saliva y orina (9-100 ng/ml) y bajas o casi indetectables concentraciones en plasma (1 ng/ml). El EGF humano está presente en muy bajas concentraciones (5-15 ng/ml) en la orina de recién nacidos, y esta concentración incrementa cinco veces más durante los dos primeros años de vida, indicando que el EGF puede ser importante en el desarrollo del neonato. El EGF causa respuestas mitogénicas en los tejidos epiteliales y epiteliales.⁽¹²⁰⁾

Los estudios embriológicos tempranos se han enfocado principalmente a los efectos del EGF administrado *in útero* sobre el desarrollo del pulmón y el páncreas.⁽¹¹³⁾

En embriones de ratón, los receptores EGF se han concentrado en etapas muy tempranas del desarrollo aproximadamente al tercer día en las células trofoblásticas.⁽⁴⁴⁾

Los efectos documentados del EGF sobre los tejidos en desarrollo, incluyen erupción de incisivos y apertura de párpados prematura, estimulación del crecimiento y diferenciación del epitelio pulmonar y, la regulación de la proliferación, fusión y envejecimiento del epitelio palatal.⁽⁴⁴⁾

Se ha reportado que el EGF estimula tanto la división celular y la producción de matriz extracelular, incluyendo laminina, ácido hialurónico, colágena y fibronectina en el paladar embrionario y en las líneas celulares de fibroblastos.⁽⁴⁴⁾

Erickson y colaboradores detectaron que el EGF altera la producción y división celular de las células de la cresta neural,⁽⁴⁴⁾ así como en amnios, trofoblasto, extremidades, tráquea y pulmón fetales.⁽⁸²⁾ También se han detectado receptores EGF en la placenta, la cual es una de las estructuras mas ricas en receptores de este tipo,⁽¹⁴¹⁾ así como en amnios, trofoblasto, extremidades, tráquea y pulmón fetales.⁽⁸²⁾

Los eventos tardíos inducidos por el EGF los cuales culminan en la división celular, incluyen la estimulación de proteínas, síntesis de ARN y ADN. La máxima estimulación de la síntesis de ADN radica en las concentraciones de EGF, el cual satura un 25% de los receptores del EGF y continuamente se liga a la membrana plasmática, requiriéndose para la estimulación de la síntesis de ADN. Los efectos del EGF en el organismo adulto son poco conocidos, pero incluyen efectos sobre la proliferación en los diversos tipos celulares, queratinización del ectodermo, alteración de la función gástrica y regulación del metabolismo celular hepático.⁽⁴⁴⁾

2.3.6.1 Factor de Crecimiento Transformante alfa (TGF α).

Los EGF son potentes factores de crecimiento para una variedad de líneas celulares fibroblásticas en cultivo, sin embargo se notó que la infección de éstas por retrovirus tumorigenos, tales como el virus sarcoma de ratón (MSV) resulta en células que son tanto capaces de formar tumores en huéspedes animales, así como capaces de sostener la proliferación en ausencia del EGF. Este factor se llamó Factor de Crecimiento Transformante alfa (TGF α) y poseía una idéntica acción biológica a la del EGF y la urogastrona.⁽⁶⁷⁾

El TGF α es una proteína de 50 aminoácidos que inicialmente forma parte de un precursor de 160 aminoácidos de donde es separado por proteólisis.^(103,117) El precursor del TGF α también es capaz de inducir una respuesta mitogénica si las células que expresan la molécula están en contacto físico con las células blanco.⁽⁶⁷⁾

El TGF α es un polipéptido de 6 kDa, que tiene un secuencia aminoácida similar de aproximadamente 33%-44% con el EGF humano y de ratón.⁽⁶⁷⁾ El TGF α es capaz de competir con los receptores EGF.^(103,181) En algunos estudios *in vivo* e *in vitro* se ha encontrado que el TGF α es más potente que el EGF, además es un poderoso estimulador del Ca²⁺ liberado, y a bajas concentraciones induce vascularización en contraste con el EGF.⁽¹⁰³⁾

El TGF α se encuentra en diversos animales, tales como carcinomas renales en el hombre, en el sarcoma virus felino, sarcoma virus de ratón, etc.⁽¹⁰⁸⁾

En algún momento el TGF α puede eliminarse por la orina, además de que el tejido renal normal adulto también lo expresa.⁽¹¹⁷⁾

El ARNm del TGF α se ha sugerido que está presente en el feto o en la decidua materna sólo durante los estadios tempranos de la embriogénesis y, ausente durante los estadios tardíos. La inmunoreactividad del TGF α (parece declinar con la edad), se ha detectado en órganos de rata neonata hasta el día 50 después del nacimiento. El TGF α se expresa en el sistema nervioso y esquelético del feto. El TGF α es un potente quimiotáctico y se expresa en diversos tejidos tales como páncreas, glándula mamaria y pulmón, además estimula la tubulogénesis renal *in vitro*.⁽¹⁵⁾

Por otra parte, ha sido demostrado que un cambio mutacional en el locus TGF α humano está correlacionado con una incrementada incidencia de hendiduras facial y palatal.^(78,188)

III. ORIGEN EMBRIONARIO DEL ORGANISMO DENTARIO

La embriogénesis que inicia con la fertilización, involucra la activación de un programa de desarrollo que gobierna finalmente eventos críticos tales como proliferación, diferenciación y función celular.

El desarrollo embrionario inicia durante el período de implantación y numerosos estudios han demostrado que en estadios muy tempranos el embrión es muy vulnerable.⁽¹⁵⁷⁾

La morfogénesis involucra una serie de eventos que determinan la forma y estructura de un organismo. A nivel celular, el avance del desarrollo se refleja predominantemente en su proliferación y diferenciación.⁽¹⁸⁰⁾

La proliferación celular consiste en la multiplicación de células similares a una célula progenitora, mientras que la diferenciación son los múltiples procesos por los cuales las células adquieren una estructura única y características propias de tejido⁽⁹⁴⁾ o, el proceso de adquisición de propiedades especializadas y rasgos fenotípicos característicos de las células maduras.⁽¹⁰⁵⁾

La diferenciación es mediada por una expresión selectiva de múltiples genes respecto a una serie interdependiente de mecanismos intercelulares e intracelulares.⁽⁹⁴⁾ El proceso que inicia la diferenciación se llama inducción.⁽¹⁷⁸⁾

En el desarrollo embrionario ocurren eventos morfogenéticos críticos, los cuales involucran la migración de las masas celulares, la fusión de los procesos faciales y la diferenciación de los tejidos. Basados sobre un determinado plan genético, los procesos del crecimiento conducen eventualmente hacia una apariencia adulta. Con el incremento, ocurren cambios importantes en la talla, forma, posición y composición de todos los tejidos, incluyendo huesos, músculos, nervios y órganos sensoriales.⁽¹⁴²⁾

3.1 Fecundación.

La célula somática humana contiene 46 cromosomas, dos de los cuales son sexuales y los 44 restantes son autosomas. Los cromosomas sexuales designados como X e Y se aparean XX en la hembra y XY en el macho.⁽¹⁷⁸⁾

La fecundación implica la fusión de las células germinales (óvulo y espermatozoide) para formar el cigoto. El huevo formado tendrá una carga genética de 46 cromosomas puesto que las células germinales son haploides, es decir, contienen la mitad de cromosomas que las células somáticas. El proceso por el cual el número de cromosomas en la célula germinal se reduce se llama meiosis.⁽¹⁷⁸⁾

El genotipo puede ser afectado por el medio en el cual se desarrolla el embrión; el resultado final del desarrollo se denomina fenotipo. Factores ambientales adversos pueden originar una desviación excesiva de una conformación estructura y funcional aceptada, dando por resultado defectos congénitos.⁽¹⁷⁸⁾

Después de la fertilización, existe una fase de activa proliferación celular, en la cual hay poca o ninguna diferenciación. Esta fase proliferativa dura hasta que se forman las tres hojas o capas germinativas. De las rápidas divisiones se forma una pequeña estructura celular maciza llamada mórula. Se introduce líquido dentro de la mórula, formándose una esfera celular hueca llena de líquido llamada blastocisto.⁽¹⁷⁸⁾

Dentro del blastocisto se reconocen dos poblaciones celulares: las que bordean la cavidad (saco vitelino primitivo) llamadas células trofoblásticas y, una pequeña agrupación celular dentro de la cavidad llamada macizo celular interno o embrioblasto. El trofoblasto ayuda a la implantación del embrión y posterior formación de la placenta. El embrioblasto formará al embrión propiamente dicho.⁽¹⁷⁸⁾

El embrioblasto se diferencia en dos hojas o capas (aproximadamente ocho días), originando una hoja ectodérmica y otra endodérmica, denominándose disco germinativo bilaminar. La cavidad amniótica se forma por la separación de las células de la capa ectodérmica, de las células trofoblásticas. Las células del endodermo migran, y se forma así el saco vitelino secundario.⁽¹⁷⁸⁾

El eje del embrión se ve como un engrosamiento de células ectodérmicas y endodérmicas fuertemente unidas en el extremo cefálico del embrión, en lo que se conoce como lámina procordal. (segunda semana).⁽¹⁷⁸⁾

En el ectodermo se desarrolla una estructura llamada línea primitiva, que forma el piso de la cavidad amniótica. Esta línea es un estrecho surco con zonas de ectodermo ligeramente sobreelevadas. El extremo cefálico de esta línea termina en una pequeña depresión llamada nódulo o

fosita primitiva. Aquí, las células ectodérmicas se dividen y migran entre el ectodermo y el endodermo formando una columna celular que empuja hacia adelante en la línea media. Esta cuerda celular se canaliza formando la notocorda, que sostiene al embrión primitivo.⁽¹⁷⁸⁾

A lo largo del resto de la línea primitiva, las células ectodérmicas se dividen y migran hacia la línea, invaginándose y esparciéndose entre el ectodermo y el endodermo para formar así, una tercera capa celular: el mesodermo.⁽¹⁷⁸⁾ Los factores de crecimiento TGF β y FGF están involucrados en la inducción de las células mesodermales.⁽⁷⁸⁾ Esta capa también se sitúa rodeando la notocorda y la placa procordal, formando en esta última, la placa cardíaca (primordio del corazón).⁽¹⁷⁸⁾

Durante las próximas tercera y cuarta semanas del desarrollo se diferencian los tejidos y órganos principales.

3.2 Cresta neural y sus derivados.

La diferenciación del sistema nervioso, inicia mediante un engrosamiento ectodérmico en la porción cefálica del embrión, lo que se conoce como placa neural. Ésta, forma rápidamente unos márgenes elevados llamados pliegues neurales, los cuales se engloban y delinean una depresión media llamada surco neural. Los pliegues se unen rápidamente formando un tubo neural que será el piso de la cavidad amniótica.^(113,178)

A partir del tubo neural se forma el cerebro y la médula espinal. Cuando aparecen los pliegues neurales se puede distinguir un grupo celular en su cresta; éstas se separan del pliegue y se les conoce como células de la cresta neural (CCN).⁽¹⁷⁸⁾

La cresta neural es una población de células neuroepiteliales que es única para vertebrados y cordados superiores que empiezan a reconocerse durante la neurulación.^(12,113,169)

Una característica muy importante de las células de la cresta neural es su pluripotencialidad, es decir, tienen la capacidad de diferenciarse en diversos tipos celulares dependiendo de su localización en el embrión. Sin embargo, no todas las células de la cresta neural son pluripotenciales, algunas de ellas pueden ser más específicas que otras. Dichas células forman o contribuyen significativamente en el proceso embrionario, por ello se les ha llegado a considerar como una cuarta hoja o capa embrionaria.⁽¹⁵⁷⁾ Las CCN migran para formar una variedad de tipos celulares neuronales y no neuronales.⁽¹²⁾ Durante o casi después de la migración, las CCN responden al ambiente local y

finalmente producen diversos tipos de células de acuerdo a su localización terminal. Numerosos factores de crecimiento se han encontrado como protagonistas en la proliferación y sobrevivencia de las CCN jóvenes. Por ejemplo, El FGFb promueve la sobrevivencia de las células no neuronales en los cultivos de cresta neural; el NT-3 actúa como mitógeno para las CCN en aves; el EGF puede actuar como mitógeno de las CCN y puede regular la producción de moléculas de la matriz extracelular (glucosaminoglucano no sulfatado, glucosaminoglucano sulfatado, heparán sulfato).⁽¹⁶⁴⁾ En embriones mamíferos, las células de la cresta neural migran antes de que el tubo neural se cierre y ascienden hacia las células mesenquimales faciales.⁽¹⁶²⁾

La migración adecuada de las CCN es esencial para el desarrollo de la cara y de los dientes lo que es importante debido a que todos los tejidos dentales derivan directamente del ectomesénquima de la cresta neural.⁽¹⁷³⁾ En 1893, Platt observó que parte de las CCN emigran hacia la cabeza mezclándose con su mesénquima y que de ellas derivan los cartílagos de los arcos branquiales.⁽⁶⁸⁾

Las CCN no migran casualmente a través del cuerpo; al contrario, siguen vías precisas que, aunque no se conocen ciertamente parecen estar controladas por el sustrato sobre el cual ellas viajan. Algunas evidencias mencionan sobre la importancia de la matriz extracelular en dirección a la migración de las CCN. La migración celular comienza cuando la tendencia a la adhesión de célula-matriz excede la de la unión célula-célula.⁽¹⁵⁸⁾ Las células en sus migraciones necesitan llegar a la región idónea para diferenciarse en una determinada estructura; si no llegan a ella, la estructura no se formará.⁽⁶⁹⁾

El embrión se pliega en dos planos a lo largo de los ejes cefalocaudal y lateral. Con el plegamiento de la cabeza se forma el estomodeo (depresión pequeña que señala dónde se ubicará la boca); el ectodermo bordea el estomodeo y se separa del intestino anterior mediante la membrana bucofaríngea, que se perfora con el crecimiento de la cabeza estableciendo una comunicación entre el intestino y la boca primitiva.⁽¹⁷⁸⁾

El estomodeo se delimita cefálicamente por la placa neural, mientras que en la región caudal se encuentra la placa cardíaca. Lateralmente se delimita por el primer par de arcos branquiales o faríngeos. Estos arcos se forman en la pared faríngea debido a una proliferación del mesodermo de la placa lateral de esta región reforzado por las CCN. Se forman seis engrosamientos cilíndricos que se expanden desde la pared lateral de la faringe, pasan por debajo del piso de ella, y se aproximan a sus contrapartes anatómicas. Con esta migración se separa cada vez más el estomodeo del corazón primitivo.⁽¹⁷⁸⁾

Los arcos branquiales se hallan separados por fuera por pequeñas depresiones, los surcos branquiales; por dentro, por las bolsas faríngeas. Los arcos branquiales primero (mandibular), segundo (hioideo) y tercero juegan un importante papel en el desarrollo de la cara, la boca y la lengua. La boca primitiva en el piso, se delimita por el epitelio de estos arcos.⁽¹⁷⁸⁾

La cara se desarrolla entre los días 24 y 38 embrionarios. A los 24 días se forman los procesos maxilares a partir del primer arco. A los 28 días se desarrollan engosamientos localizados dentro del ectodermo de la prominencia frontal, llamadas plácodas nasales, de las cuales se derivan los procesos nasales laterales y el proceso nasal medio.⁽¹⁷⁸⁾

Sobre el borde inferior del proceso maxilar, el borde superior del arco mandibular y la porción lateral del proceso nasal medio, el epitelio comienza a proliferar y a formar un engrosamiento epitelial (epitelio odontogénico).

3.3 Organogénesis dental.

Aunque los mecanismos moleculares exactos involucrados en las interacciones tisulares que regulan el desarrollo dental no se conocen plenamente, hay evidencia de que las moléculas de la matriz extracelular y los factores de crecimiento, así como sus receptores pueden jugar un papel central.⁽¹⁹¹⁾

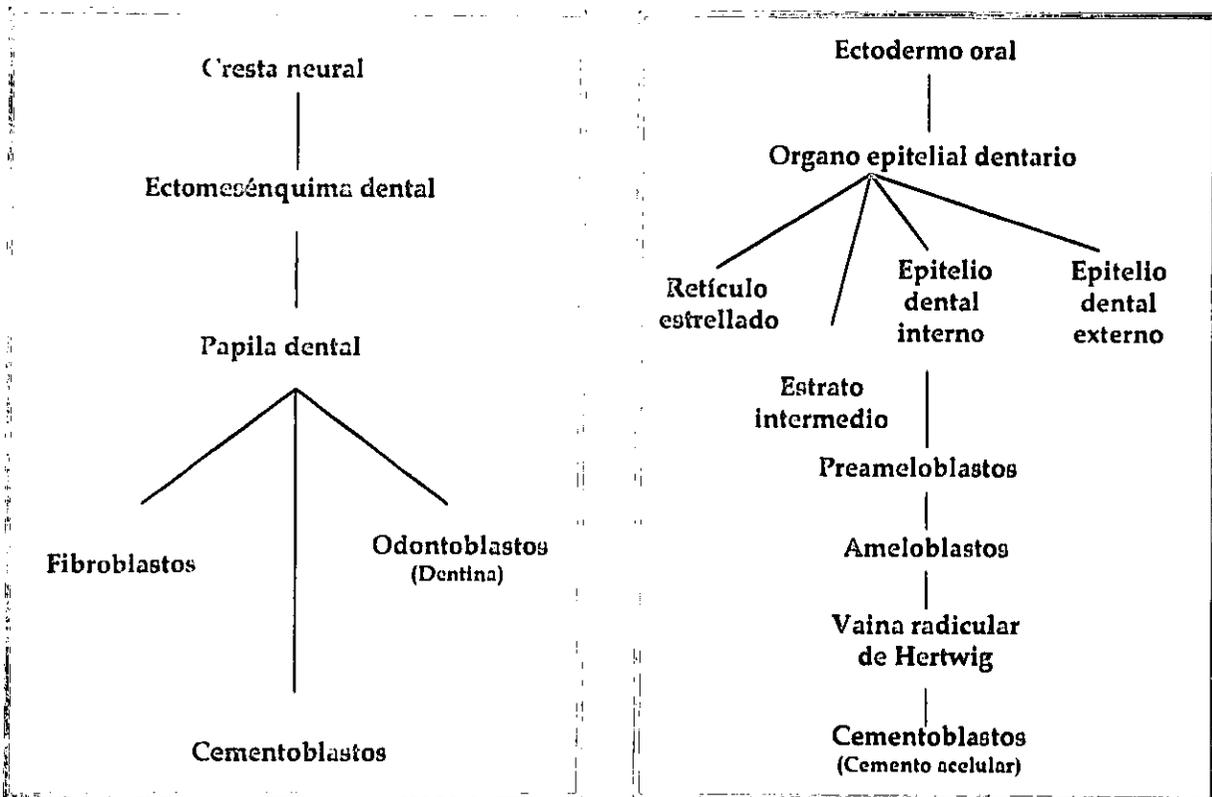
Durante la morfogénesis de algunos órganos ocurren numerosos contactos entre los tejidos que interactúan. En las interacciones epitelio-mesenquimales, el mesénquima influye en el epitelio.⁽¹⁵⁷⁾ El desarrollo de un diente, se caracteriza por una extensa serie de interacciones epitelio-mesenquimales recíprocas, las cuales conducen al rudimentario origen hacia la iniciación, siguiendo hacia la morfogénesis, y por último la citodiferenciación.⁽¹⁰¹⁾

Cuando las CCN llegan al arco mandibular se encuentran en un estado "no comprometido", y requieren de una señal local desde el epitelio para activar su participación en la odontogénesis.⁽¹⁰¹⁾ El desarrollo dental anormal en relación a las numerosas malformaciones, involucra diversas anomalías, tales como número, talla, forma de los dientes y composición química, como la amelogénesis imperfecta.⁽⁷⁹⁾ Sin embargo, muchas de las variadas alteraciones tienen su origen en factores extrínsecos que al actuar sobre estructuras celulares tempranas, alteran irreversiblemente su forma, estructura y función normal.

Aproximadamente hacia el día 37 de gestación en el humano, hay una intrusión del epitelio hacia el mesénquima, formándose así la lámina dentaria. El inicio del estadio de brote corresponde al primer crecimiento epitelial que se hace dentro del ectomesénquima de los maxilares, durante el cual no hay cambios morfológicos ni funcionales en las células involucradas.⁽¹⁷⁸⁾

Poco después inicia la proliferación celular en el ectomesénquima, marcando el inicio del estadio de capuchón. En este momento el gérmen dental comienza a definirse y pueden identificarse estructuras tales como: el órgano dental, la papila dental y el folículo dental.

El órgano epitelial dentario u órgano dental es avascular y de origen ectodérmico que en estadios más avanzados formará el esmalte. Así mismo, induce la forma de la corona, inicia la formación de dentina y establece la unión dentogingival. La papila dental formará la pulpa dental y la dentina, mientras el folículo dentario formará los tejidos de sostén: cemento y ligamento periodontal.⁽¹⁷⁸⁾



La forma del futuro diente se define a partir del plegamiento del epitelio dental interno y la lámina dental que une al germen dental al epitelio bucal. El epitelio se rompe separando a éste del diente en desarrollo.⁽¹⁷⁸⁾

El estadio de campana comprende la histodiferenciación y morfodiferenciación del germen dentario. La superficie inferior del órgano del esmalte está bordeado en su parte externa por una línea de células cúbicas con pocos ribosomas libres, escaso retículo endoplásmico, mitocondrias y tonofilamentos, llamado epitelio dental externo.⁽¹⁷⁸⁾

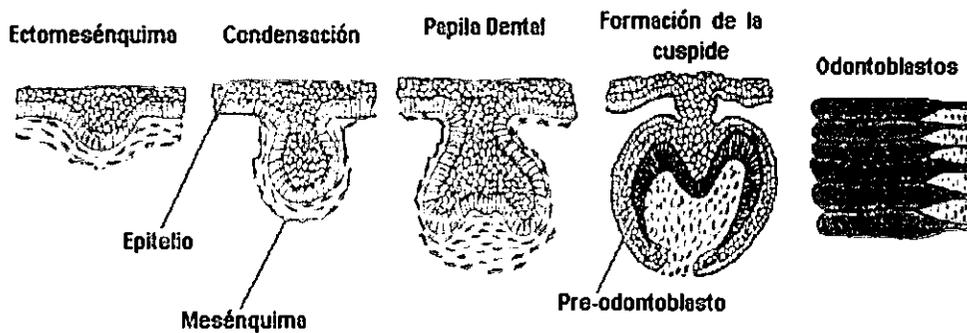


Fig. 5: Estadios del desarrollo del órgano dentario.

En su porción inferior, el órgano dentario se limita por una capa de células cilíndricas cortas, con un alto contenido de glucógeno, núcleo central, ribosomas libres, escaso retículo endoplásmico rugoso, mitocondrias dispersas, algunos tonofilamentos y un complejo de Golgi polarizado. Esta línea celular se llama epitelio del esmalte o epitelio dental interno (estadio morfogenético).⁽¹⁷⁸⁾

La parte central del órgano del esmalte corresponde al retículo estrellado, cuya característica es la forma asteriforme de sus células, debido a que al segregar éstas glucosaminoglucanos atraen el agua hacia el órgano dental obligando a las células a separarse, aunque sus uniones desmosómicas las mantienen, adquiriendo una forma estrellada. Mantienen uniones desmosómicas también en el epitelio del esmalte externo y epitelio del esmalte intermedio.⁽¹⁷⁸⁾

El epitelio del esmalte intermedio son células aplanadas situadas entre el epitelio dental interno y el retículo estrellado. Poseen una elevada actividad de fosfatasa alcalina y mantienen uniones desmosómicas con el epitelio dental interno y el retículo estrellado.⁽¹⁷⁸⁾

Por otra parte, la papila dental formada de células ectomesenquimatosas indiferenciadas, está separada del órgano dental por una lámina basal que extiende una masa de fibrillas aperiódicas delgadas hacia la zona libre de células o zona acelular.⁽¹⁷⁸⁾

El folículo o saco dental formado de células ectomesenquimatosas, posee muchas fibras colágenas ubicadas radialmente.⁽¹⁷⁹⁾

La inervación inicia en el estadio de brote y casquete dirigiéndose hacia el folículo dental; se ramifica y forma un plexo alrededor del germen dentario. Las fibras penetran la papila hasta la dentinogénesis. La irrigación se ubica alrededor del germen dental y folículo dental y, posteriormente penetra la pulpa. La vascularización aumenta durante la histodiferenciación.⁽¹⁷⁸⁾

La formación de dentina comienza en el estadio tardío de campana, siendo la diferenciación de los odontoblastos precedida a la de los ameloblastos.⁽¹⁸⁰⁾

Las células del epitelio dental interno se encuentran en división constante, deteniéndose el ciclo celular en los citos de los futuros extremos cuádruplos. En esta zona se depositarán los primeros componentes de la dentina (predentina). Las células anteriormente cilíndricas y cortas se alargan, situando sus núcleos polarizados hacia el estrecho intermedio.^(32, 63, 103, 154, 155, 177)

Se considera que la modificación composicional y estructural de la lámina basal situada por debajo del epitelio del esmalte interno es instrumental para la citodiferenciación de los preodontoblastos hacia odontoblastos funcionales.⁽¹⁸¹⁾ La membrana basal que incluye la lámina basal y la lámina reticular puede actuar como un sustrato específico o como un reservorio de factores parácrinos y autócrinos.^(10, 63, 119, 154)

Ruch y cols. han propuesto que *in vivo* los proameloblastos secretan TGF β , estos factores son atrapados y activados por la membrana basal (membrana basal ameloblástica) asociando otros componentes, pudiendo iniciar la diferenciación terminal de los odontoblastos.^(51, 155)

La formación de los tejidos duros corresponde al estadio de corona del desarrollo dentario. Las células ectomesenquimatosas de la papila dental situadas cerca de la zona acelular (preodontoblastos) se agrandan rápidamente y se diferencian en odontoblastos. Sus núcleos se polarizan hacia la papila dental; el incrementado crecimiento hace que la zona acelular sea cada vez

menor debido a que ese espacio lo ocupan los odontoblastos en crecimiento. Subyacente a los odontoblastos en la papila dental, se diferencia una capa de células subodontoblásticas.

A medida que se diferencian, los odontoblastos (odontoblastos secretores) comienzan a producir una matriz orgánica, colágena y sustancia fundamental, la cual posteriormente se mineraliza. Conforme se deposita la matriz orgánica, los odontoblastos migran hacia el centro de la papila dental, dejando detrás una extensión citoplasmática (proceso odontoblástico) alrededor de la cual se depositará dentina (túbulo dentinario).^(71 98 178) El proceso odontoblástico participa en el transporte de las vesículas secretorias (matriciales) y su liberación hacia el espacio extracelular, lo que les confiere un papel relevante en la mineralización de la dentina.⁽⁷¹⁾ Se ha calculado que los odontoblastos humanos tienen un período dentinogénico aproximado de 750 días.⁽⁶⁸⁾

La dentinogénesis de la raíz es iniciada por las células de la vaina radicular epitelial o vaina de Hertwig. Estas células se forman a partir de la unión del epitelio dental interno y externo cuyas células proliferan desde el borde cervical del órgano dental, formando una doble capa celular que crece alrededor de la papila dental, entre ésta y el folículo dental, rodeando todo excepto la porción basal papilar que conformará el foramen apical. No hay vasos sanguíneos en la dentina, aunque se sitúan terminaciones capilares por debajo de la línea odontoblástica a nivel pulpar, importantes para la difusión de precursores y nutrientes.⁽¹⁷⁶⁾

Se han detectado numerosos factores de crecimiento tales como BMP, IGF-I y II, SGF y TGFβ, atrapados dentro de la matriz dentinaria, sin embargo, su papel en la mineralización se desconoce claramente. Tal vez actúen como citoquinas o simplemente pudieran ser fosilizadas durante la formación de la dentina.^(177 178)

Después que se ha formado la primera capa de dentina, las células del epitelio dental interno se diferencian adquiriendo una actividad secretoria al producir matriz orgánica sobre la superficie dentinaria recientemente formada. Esta matriz se mineraliza y forma el esmalte coronario (estado cooperativo). Los ameloblastos adquieren su característico morfología columnar y sus procesos de Thomas, que son proyecciones cónicas cortas dejados por el ameloblasto al alejarse de la superficie dentinaria. Hay depósito de fluoruro, calcio y esmalte.^(149 179)

En el estado final de la dentinogénesis los ameloblastos se aproximan hacia los límites de la superficie del esmalte, mientras la producción de matriz va disminuyendo. El agua incrementa dramáticamente, lo

que genera gran porosidad dentro del tejido permitiendo el acceso a los iones magnesio y flúor. Hay un incremento en la mineralización y en el crecimiento de los cristales.⁽¹⁴⁹⁾

Durante el estadio de maduración, ya que se ha formado todo el espesor del esmalte, los ameloblastos sufren cambios ultraestructurales: reducen su tamaño y volumen, así como el contenido de organelos, mientras la membrana plasmática se pliega aumentando la superficie de transporte de material a través de la membrana citoplásmica. Hay un rápido flujo de calcio, magnesio, fósforo y fluoruro.^(149,178)

El estadio de protección comprende la pérdida del borde estriado del ameloblasto y la unión firme a su membrana basal que permitirá establecer la unión dentogingival.⁽¹⁷⁸⁾

El EGF, TGF α , TGF β , FGF, IGF-I y II y PDGF son expresados a través de la serie de estadios de diferenciación de los ameloblastos.⁽²⁰⁶⁾

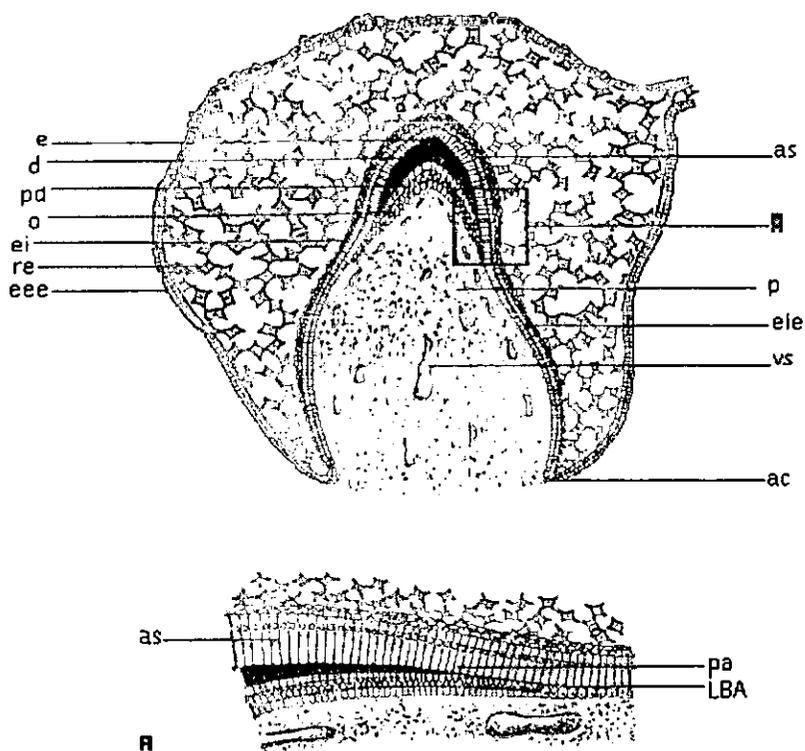


Fig.6 Diferentes estructuras que conforman el órgano dentario
 e. esmalte; d. dentina; pd. predentina; o. odontoblasto; ei. epitelio interno; re. retículo estrellado; eee. epitelio externo del esmalte; as. ameloblastos secretadores; A. AUMENTO; p. papila dental; ele. epitelio del esmalte intermedio; ac. ansa cervical; pa. preameloblastos; LBA. Línea Basal Ameloblástica.

IV. FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA ODONTOGENESIS

La odontogénesis es un buen ejemplo de los procesos del desarrollo que se relaciona con interacciones que involucran la acción temporal y espacial de las matrices celulares, primero como un sustrato que interactúa con los receptores de la membrana plasmática y segundo, como reservorios potenciales de moléculas difusibles, tales como los factores de crecimiento.⁽²⁰⁾

Basados en los estudios de cultivos de órganos en diferentes modelos animales *in vitro* y en menor proporción *in vivo*, se puede asumir que la morfogénesis dental, la citodiferenciación, la formación de la matriz extracelular de dentina y esmalte, e incluso la biomineralización son mecanismos que también son regulados por los factores de crecimiento. Los factores de crecimiento tales como el EGF, TGF, FGF e IGF, pueden ser producidos por los tejidos odontogénicos y, son capaces de mediar señales intercelulares durante el desarrollo embrionario.

4.1 Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF).

La odontogénesis depende tanto de las interacciones célula-matriz como del movimiento específico de las células. La circulación y los factores de crecimiento con sus receptores específicos pueden proveer un control epigenético de la odontogénesis *in vitro* e *in vivo* por modulación del crecimiento celular y de las interacciones celulares.⁽¹⁹⁾

A partir del trabajo de Stanley Cohen en 1962 cuando reportó que un polipéptido, ahora conocido como EGF, aislado de la glándula salival submandibular de ratón aceleraba la erupción del incisivo y la apertura prematura del párpado en el ratón neonato, se han generado una serie de cuestionamientos sobre el papel de este factor de crecimiento en el proceso odontogénico.

El EGF estimula la proliferación de las células embrionarias tanto en cultivos de una sola línea celular, así como durante la morfogénesis *in vivo* e *in vitro*.^(12,139) Por otra parte, se ha demostrado que el *oncogen v-erbB* de la eritroblastosis de ave, está relacionado con el EGF y muy probablemente se deriva del gen del EGF-R. Estas observaciones han establecido al EGF-R como producto protooncogénico generador de una cascada de eventos intracelulares que conducen a aumentar la mitogénesis.⁽¹⁰⁹⁾

Steidler y cols. (1981) realizaron estudios *in vitro*, en cultivos de órganos dentarios bovinos, observando que el EGF podía afectar la proliferación de las células odontogénicas. En cuanto a los

efectos mitogénicos del EGF hay un retraso en la respuesta celular antes que exista una consecuencia inmediata en la membrana plasmática ligada al receptor.^(7,168) Se ha evidenciado que el EGF se une al EGF-R invocando procesos de señales de transducción, los cuales regulan la morfogénesis dental. El EGF aumenta la proliferación celular, pero altera la formación de las cúspides en molares de ratón.⁽⁷³⁾

El EGF a concentraciones elevadas de 1×10^{-5} g/ml fue poco mitogénica, tanto para el epitelio odontogénico como para el mesénquima dental. A concentraciones de 1×10^{-4} la reacción es muy similar. Tal vez el número o afinidad de los EGF-R no se restablece cuando la concentración del EGF en el medio de cultivo es mayor a 10^{-5} g EGF/ml. Existe la posibilidad de que a concentraciones elevadas el EGF pueda tener un efecto tóxico, limitando la proliferación celular.⁽¹⁶⁸⁾

A concentraciones de 10^{-9} g EGF/ml en cultivos dentarios bovinos, hay una incrementada proliferación en el epitelio oral y, a 10^{-3} g EGF/ml existe una máxima respuesta proliferativa en el mesénquima oral.⁽¹⁶⁸⁾ Es importante señalar que la respuesta mitogénica estuvo ligada a la presencia de pequeñas cantidades de suero bovino, observando mejor respuesta de 5% - 20% v/v que a 1% - 5% v/v. Kronmiller y cols. demostraron que en los días 9 y 10 de gestación coincidentes con la expresión del ARNm de EGF, el epitelio mandibular juega un importante papel en la inducción de la odontogénesis. Cabe recordar que la primera señal morfológica de la odontogénesis es la formación de la lámina dental (día 11-12 en el ratón) como una discreta proliferación epitelial en la región del incisivo y molar y, que el epitelio odontogénico expresa EGF-R.⁽⁸⁷⁾

El origen potencial del EGF durante el desarrollo dental puede incluir la vía materna de la placenta (el EGF en las mujeres embarazadas aumenta), leche materna (en el ratón contiene 200-400 ng EGF/ml) y finalmente, la producción endógena de EGF. El EGF se ha encontrado en suero murino a concentraciones de 1-2 ng EGF/ml similares al humano.⁽¹⁶⁸⁾ Cuando las células odontogénicas fueron expuestas a EGF exógeno se incrementó el contenido de ADN, así como la cantidad de ADN sintetizado nuevamente. Indujo división celular, incremento en el número total de células, aumento en el ARN total y proteico, mientras decrecía el volumen total de las muestras, tal vez por la reducción en la secreción del contenido de carbohidratos de la matriz extracelular.^(24,73)

La aparente relación del suero con la efectividad aumentada del EGF en cultivos celulares sugirió a Partanen, Ekblom y Thesleff, retomar el bien conocido papel regulador de las interacciones epitelio-mesenquimales en la morfogénesis y diferenciación dental. Dichas señales locales célula-célula son al parecer mediadas por moléculas que se encuentran presentes en la superficie celular y en la matriz extracelular. Se determinó que había "mitógenos solubles" en suero capaces de actuar en

el proceso odontogénico. De tales mitógenos esenciales, la transferrina fue la principal.⁽¹³⁸⁾ Las bajas concentraciones de EGF pueden estimular el crecimiento y/o secreción de la matriz extracelular e inhibir estas actividades a elevadas concentraciones.⁽⁷³⁾ Además este mitógeno estimula el transporte de nutrientes, la síntesis de macromoléculas celulares y la división celular.⁽²⁴⁾

Encontraron que el EGF estimula la proliferación celular del epitelio dental, pero inhibe la proliferación de las células del mesénquima dental. Esta inhibición sugiere que las interacciones tisulares controlan las respuestas al EGF. El estudio demostró que el EGF inhibe la morfogénesis dental cuando se aplicó durante los estadios tempranos del desarrollo, por tanto, el efecto inhibitorio del EGF sobre la morfogénesis dental disminuye progresivamente conforme avanza el desarrollo. Así mismo, se demostró que los requerimientos de transferrina disminuyen también, precisamente en los mismos estadios del desarrollo.^(138, 181) La inhibición o expresión baja de EGF en el estadio 9 (E9) en mandíbula de ratón en un medio bajo en suero resultó en anodoncia, mientras que en el estadio 10 (E10) resultó hipodoncia. La baja regulación del EGF-R dió también hipodoncia con retraso en la morfogénesis y diferenciación ameloblástica.⁽²⁰⁶⁾ A concentraciones de 20 ng/ml de EGF se provocó inhibición dramática de la morfogénesis y diferenciación el día 14 del gérmen dental, mientras que la misma dosis adicionada los días 16 y 17 no afectó la morfogénesis. Lo mismo sucedió a concentraciones de 40-60 ng/ml EGF, aunque las cúspides fueron mas bajas.^(40,138,181)

Dos años después en 1987, Partanen y Thesleff encontraron que en el día 14 dental, el EGF estimula la proliferación del epitelio dental e inhibe la proliferación del mesénquima dental, el cual aparentemente conduce a la inhibición de la morfogénesis y diferenciación. Demostraron que el epitelio dental posee pocos EGF-R, y éstos se localizaron en el epitelio externo, mientras que las células epiteliales que circundan el mesénquima estaban totalmente desprovistas de receptores. Las células del mesénquima dental del día 14 tienen receptores EGF ampliamente distribuidos en la papila dental.⁽¹³⁹⁾

Snead y cols (1989) encontraron que en medios de cultivo enriquecidos con transferrina, el EGF exógeno estimula la proliferación epitelial, pero inhibe la síntesis de ADN en el ectomesénquima de la papila dental.⁽¹⁸⁶⁾

El EGF está presente en extractos de tejido embrionario de ratón desde los días 10 y 11; la cantidad máxima se ha medido entre el día 15 y 17 de gestación. Por otra parte los EGF-R se han detectado máximamente alrededor de los días 13 y 14 embrionarios, lo cual coincide con el estadio en que responde el diente al EGF.⁽¹³⁸⁾ En el estadio de yema (día 13) sólo el epitelio dental tienen EGF-R.

mientras en el estadio temprano de capuchón (día 14) el mesénquima posee EGF y, el epitelio dental pierde los receptores.⁽¹³⁹⁾

Irma Thesleff en 1987 realizó un estudio en premolares incluidos extraídos en niños de 10 años de edad y determinó la presencia elevada de EGF-R en los restos epiteliales de Malassez. Su importancia en los procesos patológicos, donde dichas células se activan y proliferan pueden estar relacionados con el aumento de EGF en su ambiente, sea por una síntesis local o del EGF proveniente de la saliva.⁽¹⁸⁴⁾

Un interesante estudio *in vivo* realizado por L. Rihniemi e I. Thesleff sobre el efecto del EGF sobre la proliferación de las células en la erupción de los incisivos de ratón demostró que la erupción dental se asocia con la estimulación de la proliferación celular. Determinaron que la vaina radicular de Hertwing no es el principal blanco tisular del EGF. Estrictamente ni los preameloblastos, los tejidos pulpares y los odontoblastos de los dientes en erupción del ratón y del humano se unen al ¹²⁵I-EGF indicando que tal vez no posean EGF-R, aunque se estimula la división celular en el preameloblasto y preodontoblasto en la región de la vaina radicular, pero por un efecto indirecto. El EGF-R abundó en el folículo dental, vasos sanguíneos y las células de los restos epiteliales de Malassez, siendo los principales blancos del EGF en el diente en erupción. Afectó también la síntesis de proteínas y prostaglandinas y, la resorción del hueso.⁽¹⁴⁷⁾

En 1993, Fan Lin y G.E. Wise concluyeron que el EGF puede incrementar la producción de ARNm de TGF- β_1 por el retículo estrellado, lo que se traduce en una señal molecular para la formación del ligamento periodontal. Por lo pronto, hipotéticamente han establecido que la inyección de EGF estimula la erupción dental, pero debe ser inyectado tempranamente (0-3 días postnatales) para iniciar la erupción dental prematura. Así, las señales moleculares de la erupción parecen ocurrir en los días postnatales tempranos.^(19/ 202)

Por su parte, Thesleff y cols. demostraron la presencia de EGF no sólo en gérmenes dentales de ratón sino también de humanos. Localizaron el EGF en el epitelio dental en el estadio de brote mientras que en el estadio de capuchón el EGF predominó en el mesénquima dental. En el estadio de campana el EGF-R desapareció del mesénquima y epitelio del esmalte, concentrándose en el saco dental. La unión a EGF no se observó en la pulpa dental, excepto en vasos sanguíneos.⁽¹⁸²⁾ Los fibroblastos del ligamento periodontal y preosteoblastos unen en un alto grado el EGF, comparado al presentado con otros tejidos.⁽²⁹⁾

En el mismo año, J.A.Rodhes y cols. compararon el efecto *in vitro* e *in vivo* del EGF sobre la erupción dental. Consideraron que si el EGF era un mitógeno de las células dentales en cultivo, parecía razonable esperar una respuesta proliferativa *in vivo*, con un consecuente incremento en la talla del diente. Sin embargo, el resultado fue muy peculiar al compararlo con los resultados obtenidos por Partanen (1985), que relacionó el efecto de elevadas concentraciones con la morfogénesis. Concluyeron que *in vivo* el EGF no es un mitógeno, aunque sí acelera la erupción mediante el incremento de la resorción ósea al elevar la actividad osteoclástica y estimular el ligamento periodontal. Por tanto, induce erupción precoz pero hay una reducción en el tamaño del diente.⁽¹⁴⁵⁾ El EGF estimula la resorción ósea en cultivos a través de la vía mediadora prostaglandina, y esto también afecta la diferenciación de los osteoblastos.⁽¹⁸³⁾

Moon-IL y cols. encontraron una pequeña cantidad unida a la piel y fibroblastos del epitelio oral por lo que al existir una elevada cantidad asociada a los fibroblastos del ligamento periodontal (2.1% μm^2) y los preosteoblastos (1.9% μm^2), despertó gran interés. Considerando que las fibras colágenas son un producto de los fibroblastos y que su organización y reorganización son manipulados por los fibroblastos, pudieron concluir que el EGF influye en la velocidad de la erupción dental debido a sus efectos sobre el ligamento periodontal. Así mismo, un efecto mitogénico sobre los preosteoblastos puede incrementar la velocidad de formación de hueso alveolar, lo cual puede contribuir a la erupción dental.⁽²⁹⁾

Así mismo afirmaron que en por lo menos el desarrollo mandibular, la biogénesis del EGF coincide con las células ricas en EGF-R sugiriendo que estas regiones pueden contribuir a la morfogénesis mandibular. Más aún, la desigual distribución de las células que expresan ARNm precursor del EGF observado en su estudio, encabeza la hipótesis de que las células que lo producen pueden no derivar únicamente de células precursoras del órgano en el cual son detectados, sino más bien derivar de células migratorias las cuales son reclutadas en el primordio del órgano.⁽¹⁶⁶⁾

Resulta interesante resaltar que en estudios comparativos de riñón y diente embrionario, la cantidad de sitios de unión a EGF decrece significativamente conforme avanza la diferenciación de estos órganos. Sin embargo, las células foliculares que rodean el diente, incrementan los sitios de unión con el EGF durante el desarrollo embrionario. Así mismo, tanto en el diente como en el riñón, sus sitios de unión con el EGF están en el mesénquima durante la morfogénesis avanzada.⁽¹³⁹⁾

Thesleff reportó que la distribución de los EGF-R en el diente de ratón, era marcadamente variado, expresándose en gran número en los estadios de brote y en el mesénquima. En el estadio de

campana los receptores desaparecen de los tejidos dentales, excepto en el folículo dental tanto en la porción apical como coronal, donde su densidad está dramáticamente elevada. Además, las células del músculo liso de pequeños vasos arteriales en el folículo dental y en el mesénquima apical de la pulpa dental se ligan abundantemente al EGF, así como a las células del epitelio basal de la mucosa oral y epitelio bucal.⁽¹⁸³⁾ La respuesta de los tejidos dentales al EGF se relaciona con la cantidad y distribución de los receptores EGF en el órgano dentario.⁽¹³⁹⁾

También se ha reportado evidencia de que los efectos de muchas hormonas son mediados por los factores de crecimiento. Stanley Cohen sugirió en su primer trabajo sobre el EGF, que posiblemente se relacionaba con los efectos hormonales de la tiroxina y cortisona. Además se ha evidenciado que los efectos de la hormona tiroidea, hormona del crecimiento, insulina y corticosteroides están involucrados con el EGF. La hormona tiroidea incrementa las concentraciones del EGF en la orina y en numerosos tejidos de ratón, incluyendo la glándula submaxilar, ojo y piel. Hay evidencia de que la hormona tiroidea afecta los niveles del EGF-R en las glándulas mamarias y pulmón.⁽¹⁸³⁾

Rall y cols. localizaron los sitios de síntesis del precursor EGF (prepro EGF) en secciones longitudinales de ratones adultos y demostraron que los sitios de mayor síntesis fueron las glándulas submandibulares, riñones y el ápice radicular de los incisivos en erupción.⁽¹⁸³⁾ Por otra parte, mediante técnicas de hibridación *in situ* y técnicas de inmunodetección se han encontrado en la glándula mamaria lactante, pulmón, páncreas, bazo, cerebro, intestino delgado y ovario, elevados niveles de expresión del precursor EGF. El precursor EGF se acumula en el riñón, pero es proteolíticamente separado del EGF maduro en la glándula submandibular y posiblemente también en la glándula mamaria, páncreas e intestino delgado.⁽¹⁶⁸⁾

Por su parte, Partanen y Thesleff identificaron EGF sintetizado ampliamente también en piel y pulmón. Se ha determinado que el número de sitios de unión del EGF se eleva en el estadio de mayor actividad proliferativa de cada órgano. Sugirieron que el EGF u otros factores de crecimiento parecidos al EGF pueden tener una participación en la morfogénesis embrionaria y que tanto la expresión de los receptores y la respuesta EGF son localmente controlados y específicos para el estadio del desarrollo de cada órgano. Por ejemplo, el estadio de capuchón del molar de ratón, se afectó por el EGF *in vitro*, pero los dientes que alcanzaron el estadio de campana se diferenciaron en presencia de EGF. El EGF estimula la proliferación de las células del epitelio dental y alrededor de las células mesenquimales no dentales, mientras la proliferación de las células mesenquimales de la papila dental es inhibida, lo cual al parecer lleva a la inhibición de la morfogénesis.⁽¹³⁹⁾

Hata y cols. demostraron que el EGF induce la síntesis de proteínas durante el estadio tardío de capuchón del órgano dental, mientras decreció el colágeno tipo I y la producción de proteína del esmalte.⁽⁷³⁾

El EGF aumenta la proliferación celular, pero altera la formación de las cúspides en molares embrionarios de ratón. *In vivo*, en el estadio de capuchón (E15), hay un incremento progresivo en la cantidad de ARNm de EGF en los órganos dentales. Slavkin y cols. (1992) reportaron que el EGF está presente *in vitro* en el mismo estadio, durante el acompletamiento de la corona y el inicio de la formación radicular.⁽⁷³⁾

Una conclusión importante del estudio realizado por Partanen y Thesleff mediante la localización de EGF con yodo tritiado, fue que la distribución de los EGF-R en los órganos embrionarios y la respuesta al EGF son controlados localmente y que la aparición de los EGF-R en los tejidos embrionarios se relaciona con el estadio de desarrollo de cada órgano específico y no con la edad del embrión.⁽¹³⁹⁾

El EGF administrado *in vivo* se une a las células del órgano del esmalte en el diente en desarrollo (13 días en ratas). Resulta llamativo que las células papilares tienen el número mas elevado de sitios de unión al EGF (5.5% μm^2 unidad de área de volumen celular), excediendo el nivel de las células basales del epitelio oral (3.4% $200 \mu\text{m}^2$).⁽¹²⁷⁾

En el diente en desarrollo la proteína precursora del EGF está presente en el epitelio del esmalte interno del órgano del esmalte, mientras el ARNm se detecta en las células ectodermales del órgano del esmalte, así como en las células ectomesenquimales de la papila dental.^(19 166)

Martineu-Doizé y cols. (1991) demostraron por autoradiografía el papel directo del receptor EGF en la formación del esmalte. La mayor función colectiva del órgano del esmalte es la producción de esmalte mediante un doble proceso esencialmente de secreción, seguido por la maduración. Los sitios específicos para ^{125}I -EGF se observaron en todo el epitelio dental externo de la zona presecretoria, las líneas de células papilares de las zonas secretoria y de maduración y los ameloblastos de la zona de maduración, no así en las etapas de proliferación y diferenciación ameloblástica. Finalmente, todo el órgano del esmalte reveló activación quinasa del receptor EGF, evaluado mediante técnicas inmunocitoquímicas con anticuerpos monoclonales para el EGF-R.⁽¹⁰⁹⁾

El epitelio dental externo del órgano del esmalte está en contacto directo con una membrana basal y en muy estrecha su relación con extensos plexos de capilares. Se ha propuesto que la línea papilar extiende la influencia EGF hacia los ameloblastos por un mecanismo similar al parácrino.⁽¹⁰⁹⁾

Se ha establecido un efecto significativo del EGF sobre la morfología del retículo estrellado de molares e incisivos cultivados. Así, los estudios con marcadores antigénicos establecieron EGF en el retículo estrellado, mesénquima dental y peridental. La expresión de EGF-R y TGF β ₁, se vió en el retículo estrellado del primer molar inferior a los 17 días en adelante y, en el mesénquima dental al nacimiento, lo que sugiere su participación como regulador de la diferenciación celular y el metabolismo.⁽¹¹⁹⁾

Un efecto directo del EGF sobre las células del retículo estrellado es la estimulación de la expresión de ARNm del TGF β ₁ en estas células. Probablemente el EGF no se liga a todas las células reticulares, tal como se ha visto *in vitro* e *in vivo* cuando por métodos inmunohistoquímicos muchas células revelan marcados niveles de EGF-R en su superficie, mientras que algunas no lo expresan.⁽⁹⁷⁾

Durante el estadio de capuchón las células del retículo estrellado secretan niveles elevados de proteoglucanos principalmente hialuronato, el cual se une al agua y forma una región contra la cual se forman las cúspides del molar. Así, el retículo estrellado puede funcionar con él, en el control y soporte del tamaño y forma de las cúspides por medio de la regulación de su contenido de matrices extracelulares. Se ha sugerido que el retículo estrellado es particularmente sensible a los niveles del EGF y responde con una reducción significativa en volumen si el EGF es atacado o reducido, lo que puede reflejarse en una alteración irreversible de la morfogénesis cuspídea.⁽⁷³⁾

Por otra parte, el EGF junto con el SGF (10 μ g/ml) ejercen un efecto sobre la proliferación de los elementos vasculares; ambos inhiben la morfogénesis dental y subsecuentemente la diferenciación celular. El SGF es más potente inhibidor que el EGF sobre todo a nivel del mesénquima de la papila dental. Por autoradiografía se encontró que a pesar de que el SGF es un mitógeno muy potente, inhibe preferentemente a las células del mesénquima dental y preodontoblastos.⁽¹⁸¹⁾

Se han realizado numerosos estudios para tratar de inhibir los efectos del EGF durante el desarrollo embrionario y dental. Kronmiller, Upholt y Kollar emplearon oligómeros (oligodeoxinucleótidos EAS-1 y EAS-2) en cultivos de mandíbulas de ratón de 9 días para impedir la iniciación del código ARNm de EGF, resultando en una inhibición total de la odontogénesis así como daño irreversible y supresión del desarrollo del cartílago de Meckel y del hueso adyacente, así como

del epitelio lingual especialmente con EAS-1. El ARNm del EGF se expresa antes del inicio de la formación de la lámina dental en la mandíbula de ratón. El ARNm de EGF se expresó solo en los días 9 y 10 y no en los días 11-14 cuando las yemas dentales ya se han formado.⁽⁸⁷⁾

Ching-Chun Hu y cols. emplearon oligómeros además de tirfostina (inhibidor kinasa del EGF-R) cuya especificidad al EGF-R fue 2500 veces mayor que la insulina o los PDGF-R, provocando una inhibición del EGF dependiente de la autofosforilación de los EGF-R.⁽⁷³⁾

Por otra parte, la expresión del ARNm del EGF puede alterarse por la presencia de retinol en cultivos de órganos de 9-12 días aumentando su expresión casi al triple, similar al presentado normalmente en el día 14 del desarrollo dental, lo que genera inhibición de la odontogénesis. Así también existe un efecto proliferativo sobre los tejidos mandibulares por una expresión prolongada de ARNm de EGF traducido en yemas epiteliales supernumerarias en regiones asociadas con incisivos supernumerarios *in vivo*.^(88,89)

Carpenter y Cohen observaron la influencia de la baja temperatura y ciertos anestésicos locales en la unión celular al EGF humano. La baja temperatura inhibe la endocitosis, y la cocaína, procaína, lidocaína y cloruro de amonio inhibieron la degradación del EGF humano.⁽²⁴⁾

4.4.1 Factor de Crecimiento Transformante alfa (TGF α).

L. Shum y cols. estudiaron la presencia de TGF α y EGF-R en mandíbulas de ratón en el estadio 10 (E10), cultivados por 3, 6 y 9 días. Localizaron ambos factores en la lámina dental y células miogénicas de la lengua. A concentraciones de 10 y 20 ng/ml de TGF α , aumentó la síntesis de ARNm, mientras que a 40 ng/ml la respuesta fue la misma. Se evidenció una reducción significativa de la talla del molar en desarrollo y hubo un incremento considerable en el número de células mesenquimales dentro de la lengua. Por tanto, concluyeron que el TGF α es capaz de alterar el crecimiento del diente y de la lengua.⁽¹¹⁴⁾

Tam en 1985 determinó que el TGF α unido al receptor EGF acelera la erupción. Sin embargo, recientemente se ha demostrado que la ausencia de TGF α no detiene la erupción si el EGF está presente.⁽¹⁰⁷⁾

4.2 Factor de Crecimiento de los Fibroblastos (FGF).

Las considerables evidencias sugieren que los miembros de la familia FGF tienen diversas funciones tanto en el desarrollo embrionario como posnatal, lo cual incluye influencias sobre la supervivencia celular, proliferación y migración y, dependiendo del contexto en el cual ellos son expresados también inducen o reprimen la diferenciación celular.⁽¹³³⁾

Así mismo, tanto los factores de crecimiento como la matriz extracelular juegan un papel primordial en la morfogénesis, y la actividad de estos factores es en su momento regulado por sus interacciones con la matriz extracelular.⁽¹³⁰⁾

Elevadas concentraciones son purificadas y caracterizadas a partir de diversos tejidos como hipófisis, cartílago, hueso, placenta, cuerpo lúteo, riñón, suprarrenales, corazón, músculo, ojo y retina. Debido a su amplia distribución y a su elevada afinidad a la heparina se ha postulado que el FGFb se almacena y estabiliza en la matriz extracelular. A.M. González y cols. demostraron la amplia distribución del FGFb predominantemente en áreas donde el epitelio y el mesénquima están en yuxtaposición.⁽⁵⁹⁾

Se ha postulado que el EGF, FGF y somatomedinas entre otros, pueden estimular el crecimiento intrauterino. Se ha demostrado que estimulan la proliferación mesenquimal fetal *in vitro*, por ejemplo, en las células de las yemas de extremidades en cultivo donde pueden inducir proliferación, similar a lo que sucede *in vivo*.⁽⁸²⁾

El FGF es un factor de crecimiento pluripotencial mitogénico para diversos tipos celulares derivados del mesodermo y neuroectodermo, así como células tumorales.⁽⁵⁹⁾

La placenta humana es un órgano que crece rápidamente y ha mostrado niveles elevados de expresión de FGF, lo que deja ver una vez más el papel del FGF en el desarrollo *in útero*⁽¹³⁰⁾ así como en mioblastos fetales bovinos, células epiteliales humanas del fluido amniótico y células adrenales del feto humano.⁽⁸²⁾

En forma particular, el gen *fgf-4* se ha detectado por hibridación *in situ* en células de teratocarcinoma y en células de estirpe embrionaria, tales como células del blastocisto, arcos branquiales, somitas, ectodermo de extremidades de dientes, etc, a partir del día 0 hasta el día 14 del desarrollo embrionario.⁽¹³³⁾

Se cree que el FGF interactúa con otros factores de crecimiento en los procesos del desarrollo como lo demostraron Kikelman y Kirschner con el TGF β , el cual moduló los efectos del FGFb durante el desarrollo.⁽⁵⁹⁾

La expresión de los genes FGFa y FGFb han sido reportados por Hobert y cols. (1990) en embriones de ratón de 11-17 días de gestación, sin embargo, el FGFb se expresó más abundantemente que el FGFa en los tejidos faciales y extremidades. Se detectó que los FGF-R de baja afinidad favorecen la unión del FGF a los receptores de alta afinidad gracias a su contenido de heparina.⁽²⁰⁾

El gen *fgf-4* se expresa tanto en el ectodermo del arco mandibular, como en el endodermo faríngeo, mientras el *fgf-3* se expresa un día después del *fgf-4*, pero sólo en el endodermo faríngeo. Por otra parte, el *fgf-4* se ha detectado en el ectodermo de la yema dental y en el estadio de capuchón, mientras que *fgf-3* se encontró en el mesénquima. Se estableció así la importancia de la interacción de un miembro de la familia en el epitelio y otro en el mesénquima, para enviarse señales.⁽¹³³⁾

El FGFa fue localizado por inmunofluorescencia o histoquímica inmunoperoxidasa en órganos dentarios de ratas de la siguiente manera:

- ° Día 12: lámina dental y mesénquima oral.
- ° Día 14: retículo estrellado y epitelio oral.
- ° Estadio de campana: estrato intermedio y, polos basal y apical de los proameloblastos.
- ° Después del nacimiento (día 20-22): área de predentina-dentina, estrato intermedio y polo secretor de los ameloblastos.

Mientras tanto, el FGFb se encontró así:

- ° Estadio de brote: membranas basales y retículo estrellado (abundantemente).
- ° Estadio de capuchón: membranas basales, mesénquima dental en incisivos y retículo estrellado.
- ° Estadio de campana: mesénquima de la papila dental en molares y retículo estrellado.
- ° Después del nacimiento (día 20-22): estrato intermedio y polo secretorio de los ameloblastos.

Se considera que como FGFa es una proteína ácida puede contribuir al proceso de mineralización de la matriz de dentina, tal como sucede con otros factores de crecimiento, por ejemplo el IGF-I, IGF-II y TGF β que se han extraído de la dentina humana.⁽²⁰⁾ Así mismo se ha hipotetizado que el FGFa puede incrementar la talla del diente.⁽¹¹⁴⁾

4.3 Familia Neurotrofinas (NTF).

El mejor caracterizado miembro de la familia neurotrofinas es el factor de crecimiento de los nervios (NGF). Numerosos estudios han demostrado que el p75^{NGF-R} está presente en tejidos embrionarios de pollo y rata antes de su inervación. Además, la expresión de p75^{NGF-R} es requerida para la morfogénesis del riñón. Estas observaciones indican que el NGF y/o moléculas relacionadas (neurotrofinas) pueden jugar un papel importante en el desarrollo embrionario temprano que puede ser distinto al de sus funciones neurotróficas.⁽¹²³⁾

La inmunoreactividad del NGF sobre el desarrollo epitelial dental y el mesénquima no ocurre exactamente en las mismas zonas de proliferación, sino más bien tiene patrones específicos para cada tejido. Los efectos del NGF puede depender del tipo de célula blanco y su estadio de desarrollo, así como de otras señales del ambiente.⁽¹²³⁾

El NGF-R se ha detectado en músculo y tejido conectivo en el desarrollo, y en diversos tejidos conectivos de adulto y epitelio usando autoradiografía para mostrar la unión de ¹²⁵I-NGF o inmunohistoquímica con diversos anticuerpos monoclonales de NGF-R. Esto sugiere que el NGF puede tener funciones como una importante señal reguladora entre el epitelio en desarrollo y su mesénquima asociado.⁽¹⁷⁾

Se ha encontrado que el NGF induce la transcripción del TGFβ₁. Se ha demostrado mediante cultivos de órganos de ratón, que a concentraciones de 50-100 ng/ml no se afecta la morfogénesis y citodiferenciación, pero los dientes son más pequeños de lo normal.⁽¹²⁵⁾

Estudios *in vivo* o *in vitro* sobre diversos tipos celulares demostraron un efecto mitogénico del NGF sólo o en combinación con otros factores de crecimiento, sugiriendo que el factor puede mediar la migración celular y la proliferación.⁽¹²²⁾

Numerosos experimentos usando cultivos de órganos y recombinación de injertos han demostrado una secuencia compleja de interacciones epitelio-mesenchimales. Por ejemplo, el epitelio del esmalte interno estimula la diferenciación de los odontoblastos y, los odontoblastos estimulan la conversión del epitelio del esmalte hacia preameloblastos.⁽¹⁷⁾

Así, el NGF ha sido propuesto como importante en las interacciones epitelio-mesenquimales que gobiernan la morfogénesis dental y la citodiferenciación del molar e incisivo de rata en desarrollo.⁽¹²³⁾

Byers y cols. encontraron inmunoreactividad NGF-R por parte de algunas fibras dentales nerviosas, sus células de Schwann y células pulpares de la corona de molares de rata. Además la inmunoreactividad NGF-R fue especialmente intensa sobre células adyacentes a los odontoblastos.⁽¹⁷⁾

Mediante la administración de suero anti-NGF en ratas neonatas se reduce el número de axones en la papila dental.⁽¹²⁵⁾

La inmunoreactividad de gp75^{NGF-R} se localiza en partes restringidas del epitelio dental (epitelio del esmalte interno), y papila dental (odontoblastos polarizados posmitóticos y línea subodontoblástica).^(17,122) Las células del epitelio dental interno expresan NGF y moléculas proNGF, mientras p75^{NGF-R} está ausente tanto en las células proliferativas como diferenciadas.⁽¹²³⁾

Se ha postulado sobre la importancia de la estrecha proximidad de las fibras nerviosas hacia la yema dental, indicando posiblemente una influencia de dichas fibras sobre su crecimiento. Así mismo, la expresión de NGF-R se presentó en el epitelio de la yema dental próximo al mesénquima.⁽¹⁷⁾ Sin embargo, el gp75^{NGF-R} estuvo ausente en el estadio de brote del molar de rata.⁽¹²⁵⁾

El ARNm del NGF y la proteína proNGF no se expresan en las células proliferantes del epitelio dental, mientras que las moléculas del NGF se unen a estas células, indicando un modo de acción parácrino del NGF en células mitóticas. Sin embargo, el p75^{NGF-R} se expresa en una población restringida de células proliferativas (epitelio del esmalte interno), el cual se diferencia en células ameloblásticas responsables de la expresión de la proteína del esmalte.^(123,124) La síntesis de proNGF y NGF primero ocurre en los preameloblastos y se correlaciona con la secreción de la proteína del esmalte.^(123,124)

También es posible que el p140^{prototrk} puede mediar los efectos del NGF en otras poblaciones celulares proliferativas sin el p75^{NGF-R} (células del epitelio dental externo, estrato intermedio y retículo estrellado).⁽¹²³⁾

En el estadio de copa (E17 en rata) el NGF se localiza en el epitelio dental, probablemente influyendo en eventos que gobiernan el patrón de la corona dental. Datos previos demuestran la

presencia de fibras nerviosas en el folículo dental y su ausencia en el mesénquima de la papila dental.^(122, 124) El gp75^{NTF-R} se localizó en el epitelio dental interno, estrato intermedio, retículo estrellado, papila dental y mesénquima folicular.⁽¹²⁵⁾

En el estadio de campana del primer molar de ratón (E21), el NGF-R está presente en los preameloblastos, especialmente en la porción apical, mientras en el epitelio del esmalte interno hay un decremento del receptor NGF.⁽¹²²⁾

La proliferación epitelial ocurre a lo largo de todo el epitelio del esmalte interno y dentro de la zona preameloblástica, así como en el pliegue cervical y las células del epitelio del esmalte externo, sin embargo el NGF-R estuvo confinado al epitelio del esmalte en estudios inmunocitoquímicos e hibridación *in situ*. La proliferación en la línea odontoblástica se detiene antes de iniciarse la dentinogénesis. En los preameloblastos iniciales la expresión del NGF fue débil y aumentó al inicio de la calcificación de la dentina; mientras tanto, el pliegue cervical está desprovisto de NGF-R.⁽¹⁷⁾

A partir del día 21 prenatal y primer día posnatal en rata, el gp75^{NTF-R} se detectó en el epitelio dental interno y en algunas células del estrato intermedio; hubo ausente inmunoreactividad en preameloblastos antes de su diferenciación terminal en ameloblastos. Los odontoblastos polarizados exhiben reactividad gp75^{NTF-R} mientras los odontoblastos funcionales localizados en la punta de la cúspide fueron negativos a gp75^{NTF-R}.⁽¹²⁵⁾ El p75^{NGF-R} desaparece de los odontoblastos cuando ellos llegan a la diferenciación terminal. Esto coincide con datos previos que muestran que la expresión de los receptores NGF en las células de la cresta neural coinciden con el momento en que estas células adquieren sus características fenotípicas, y es perdida cuando su diferenciación terminal es alcanzada.⁽¹²³⁾ Los resultados indican que la aparición del NGF y los procesos de diferenciación parecen estar relacionados también con el odontoblasto.⁽¹²²⁾

Así, el NGF puede mediar las modificaciones citoesqueléticas que ocurren en odontoblastos polarizados posmitóticos, por ejemplo, acumulación apical de vimentina, actina, a-actina y vinculina, los cuales parecen importantes en el establecimiento de la forma odontoblástica.⁽¹²²⁾

Los odontoblastos muestran una localización intracelular del p75^{NGF-R}.⁽¹²³⁾ El marcaje se situó en las cúspides libres de esmalte, sugiriendo que estas células son capaces de sintetizar y/o internalizar al receptor NGF.⁽¹²²⁾

La diferenciación terminal de los ameloblastos inicia con las interacciones de los preameloblastos con la predentina. El marcaje de NGF está presente en la zona apical de los ameloblastos, pero no se observa reacción detectada de NGF-R, estando p75^{NGF-R} ausente en los ameloblastos funcionales.⁽¹²²⁾

El depósito de predentina-dentina estabiliza la forma de la corona dental. En el inicio de la mineralización de la dentina, los ameloblastos sintetizan y secretan proteínas del esmalte. Los odontoblastos funcionales muestran intensa inmunoreactividad NGF especialmente en sus procesos. En contraste, el marcaje NGF-R desaparece de los odontoblastos funcionales pero se expresa en la línea subodontoblástica.⁽¹²²⁾

La inmunoreactividad NGF-R de las células de la papila dental estuvo muy relacionada con los odontoblastos diferenciados, pero en la zona cercana a los NGF-R preodontoblásticos o el epitelio del esmalte interno no se expresó. Así como sucede en el diente maduro, la inmunoreactividad de NGF-R persistió en la zona pulpar coronal, pero no tuvo una extensión muy distante dentro de la pulpa radicular y estuvo ausente en la zona cubierta por dentina reparativa. Por tanto, si existe daño que estimule la formación de dentina reparativa, la pulpa adyacente presenta depleción focal de inmunoreactividad NGF-R.⁽¹⁷⁾

Los ameloblastos postsecretorios (etapa inicial de formación de la raíz -4º día posnatal del primer molar de rata) demostraron un débil marcaje de NGF. El gp75^{NTF-R} se localizó en la línea subodontoblástica y células del epitelio dental interno.⁽¹²⁵⁾ Los odontoblastos de la corona tienen intensa inmunoreactividad NGF y ausente marcaje de NGF-R.⁽¹²²⁾

El p75^{NGF-R} está presente en el folículo dental, correspondiente a los sitios de alta inervación.⁽¹²³⁾ Sin embargo, la ausencia de gp75^{NTF-R} en las células epiteliales de la raíz en formación coincide con su inhabilidad para sintetizar proteínas de la matriz de esmalte.⁽¹²⁵⁾

Así mismo, el inicio de la síntesis de NGF en los fibroblastos pulpares parece coincidir con el arribo de las poblaciones neuronales que inervan la papila dental, similar a lo que sucede en otros tejidos corporales que muestran altos niveles de ARNm de NGF en tejidos densamente inervados. Sin embargo, la presencia de transcriptores NGF en la papila dental cuando la inervación no se ha establecido, sugiere que la síntesis de NGF en los tejidos en desarrollo es un resultado intrínseco independiente de la inervación.⁽¹²³⁾

Por otra parte, estudios *in vitro* demuestran que las fibras nerviosas selectivamente crecen sólo en un ambiente local que contenga NGF; así, el NGF se localiza en los odontoblastos pudiendo ser el ligando necesario para la atracción de las neuronas dentro de la papila dental y así ser responsable de la rica innervación del órgano dental maduro.⁽¹²²⁾

Se puede hablar entonces de dos funciones mayores del NGF en el desarrollo dental: 1) afectan la cinética de las células dentales y la diferenciación en los estadios tempranos del desarrollo y, 2) se relaciona con la quimiotaxis neuronal y eventos de homeostasis que ocurren en la vida posnatal.⁽¹²²⁾

La entrada de las fibras nerviosas sensoriales dentro de la predentina y dentina, parecen estar controlados por las características químicas del tejido que difieren de la localización del NGF-R mesenquimal. Sin embargo, el NGF-R está también involucrado en la neurobiología dental desde que el microscopio electrónico permitió localizar el NGF-R sobre las fibras desmielinizadas de los dientes con un patrón similar al que se reportó para otras neuronas periféricas.⁽¹⁷⁾

Todas estas observaciones sugieren que el NGF y probablemente otras neurotrofinas tales como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), neurotrofina-3 (NT-3), neurotrofina-4 (NT-4) y neurotrofina-5 (NT-5) median importantes funciones durante el desarrollo dental.⁽¹²³⁾

4.4 Factor de Crecimiento parecido a la Insulina (IGF).

A.M. Parfeno y cols. establecieron en 1984 que la insulina causa efectos inhibitorios en la morfogénesis dental, sin embargo, dichos resultados no han podido ser aplicados a la familia del IGF.

A pesar de la escasa información de los dos miembros conocidos de la familia IGF, el IGF-I es el que más investigaciones ha generado. Del IGF-II sobre la embriología craneofacial y dental hay muy poca evidencia.

Cada vez más, numerosas investigaciones convergen hacia la relación de la hormona de crecimiento con la producción *in vitro* no sólo de EGF (asociada disfunción del EGF al enanismo hipofisario), sino de IGF-I (asociado decremento de IGF-I con el enanismo tipo Laron) a partir de células cultivadas. Muchos de los efectos *in vivo* de la hormona del crecimiento sobre la diferenciación y crecimiento del cartilago y hueso son mediados por el IGF-I circulante derivado del riñón y está bajo el control de la hormona del crecimiento. Por su parte, la hormona del crecimiento regula la producción

de IGF-I. Así, muchos de los efectos de la hormona del crecimiento o del IGF-I sobre los cultivos de células son muy parecidos.^(62,204)

Se ha determinado la participación del IGF-I en el crecimiento de cartílago. Estimula la replicación de las células preosteoblásticas; consecuentemente incrementa el número de osteoblastos capaces de sintetizar matriz ósea. Además tiene un efecto estimulador directo sobre la función de las células osteoblásticas diferenciadas.^(21,105)

Existe evidencia *in vivo* que demuestra la expresión de IGF-I por inmunohistoquímica en las poblaciones de células odontogénicas que también expresan receptores de la hormona del crecimiento, estableciendo una incrementada reacción de IGF-I con un anticuerpo monoclonal en el epitelio y mesénquima del germen del molar en desarrollo y de la proteína que liga IGF-I en el órgano del esmalte y mesénquima de la papila dental.^(9,204)

Por estudios *in vitro* de cultivos de fibroblastos de ligamento periodontal de rata, se ha comprobado que el IGF-I estimula la proliferación (potente mitógeno) a partir de concentraciones de 0.1 ng/ml de IGF-I, hasta alcanzar un máximo efecto a 100 ng/ml IGF-I. Además, estimula la síntesis de proteínas no colágenas y produce una elevación pequeña de colágena; es a su vez, un potente quimiotáctico. Adicionado a otros factores de crecimiento, incrementa la formación de cemento y hueso alveolar.⁽¹¹¹⁾

Estos resultados sugirieron suponer a W.G. Young y cols. (1995) si los mismos efectos podrían encontrarse *in vitro*, en molares de rata de 16 días prenatales. Utilizando IGF-I, hormona del crecimiento y suero fetal de ternera, los resultados fueron que se requiere la presencia de suero para que el IGF-I y la hormona del crecimiento actúen plenamente. La ausencia de suero fetal demostró una falta de actividad y gérmenes de pequeño volumen. Por otra parte, tanto el IGF-I como la hormona del crecimiento fueron necesarios para la diferenciación de la matriz dentinaria. La hormona del crecimiento aumenta la cantidad de IGF-I *in vitro* en odontoblastos, evidenciado por inmunohistoquímica (no se ha confirmado por hibridación *in situ*), lo que eleva la síntesis de matriz debido a su participación en la sulfación de los proteoglicanos de la predentina.⁽²⁰⁴⁾

El IGF-I tiene significativos efectos sobre el crecimiento volumétrico (tamaño) del germen dental debido al aumento de la diferenciación, desarrollo de los odontoblastos e incrementada producción de matriz dentinaria, comparado con la hormona del crecimiento y el suero fetal de ternera.

La actividad mitótica no se elevó demasiado y la densidad celular en la papila dental fue la mas baja comparada con los otros dos factores.⁽²⁰⁴⁾

En cultivos de órgano dental de 18 días prenatal, el IGF-I e IGF-II incrementan la producción de matriz de esmalte y la biomineralización, variando su expresión en los diferentes estadios fenotípicos del ameloblasto.^(74,81)

Luyten y cols. (1988) han sugerido que la mayor parte del IGF-I presente en los tejidos deriva de la circulación (mecanismo endócrino), es decir, su producción no es significativamente local (autócrino o parácrino). Esto tal vez aclara la razón del por qué en ausencia de suero la respuesta del IGF-I y hormona del crecimiento no son importantes; además se aclaró por qué los niveles locales de IGF-I son insuficientes para imitar la respuesta de crecimiento fisiológico del IGF-I sérico (a 200 ng/ml de IGF-I adicionado, se produce gran diferenciación).⁽²⁰⁴⁾

Se ha reportado que el receptor IGF-I está presente en el epitelio y mesénquima de los incisivos mandibulares de rata.⁽⁸¹⁾

4.5 Factor de Crecimiento Derivado de las Plaquetas (PDGF).

Poco se conoce acerca de la expresión celular específica del PDGF y sus receptores durante la embriogénesis. Sin embargo, el PDGF se ha detectado en embriones de ratón entre el día 6.5 y 8.5 de gestación, e incluso durante estadios avanzados (día 18) sugiriendo que sus isoformas son importantes en el desarrollo, posiblemente en estadios finales de la embriogénesis, estimulando la proliferación de las células mesenquimales y epiteliales. Alrededor del día 21 la expresión del PDGF y PDGF-R declinan.⁽¹⁵⁾

El PDGF tiene gran participación en los fibroblastos del ligamento periodontal, en funciones tales como la proliferación, quimiotaxis y síntesis de proteínas colágenas. Las estrechas observaciones sugieren que los fibroblastos del ligamento periodontal poseen predominantemente receptores tipo beta de PDGF, a los que se les atribuye una gran potencia quimiotáctica. Así mismo, la combinación de PDGF-AB ó PDGF-BB con IGF-I incrementa la potencia mitogénica y proliferativa de los fibroblastos periodontales.^(102,111)

Y. Chain, K. Robbins y H.C. Slavkin han sugerido que debido a que las interacciones epitelio-mesenquimales son esenciales para la morfogénesis dental, podría ser que el PDGF-A y su receptor

estén involucrados en la regulación del desarrollo dental. En su estudio encontraron que en el estadio de brote el PDGF-A se localizó en la lámina dental y, el PDGF-R en el mesénquima circundante. Durante el estadio de copa, el PDGF-A se expresó en el epitelio del órgano del esmalte y en el mesénquima circundante, mientras que el PDGF-R permaneció en el mesénquima. También evidenciaron que a concentraciones de 200 ng/ml de PDGF-A hay un incremento sustancial del tamaño dental en el estadio de copa. Así mismo, hubo un incremento en la proliferación celular en el epitelio del órgano del esmalte y células mesenquimales.⁽¹²⁷⁾

4.6 Factor de Crecimiento Transformante beta (TGF β).

Todos los miembros de la superfamilia TGF β , de los cuales hay poco más de 24 miembros, son sintetizados como una larga molécula prepro precursora.⁽⁷⁰⁾ El TGF β es una familia de cinco subtipos estrechamente relacionados (TGF β_1 a TGF β_5) dentro de una superfamilia de otros numerosos factores reguladores implicados en procesos críticos dentro del desarrollo. El TGF β_1 , TGF β_2 y TGF β_3 se han identificado en mamíferos incluyendo humanos, mientras el TGF β_4 y TGF β_5 sólo han sido encontrados en especies de aves y anfibios.⁽⁶⁸⁾ El TGF β_1 es expresado en células mesenquimales de la cresta neural.^(27,68)

Pelton y cols. demostraron que en el día 16 dental en el ratón hay elevados niveles de ARNm de TGF β primariamente en el odontoblasto y células del mesénquima pulpar. Sin embargo, las proteínas TGF β en el día 17 dental se localizaron en estructuras adicionales. Por ejemplo, mientras el ARNm del TGF β_1 fue muy abundante en las células de la pulpa, el marcaje de anticuerpo TGF β_1 se vió en altas concentraciones en la línea ameloblástica.⁽¹⁴⁰⁾ A los 12 días hay una localización del TGF β_1 en mesénquima dental y peridental de ratón y a los 14 días, hay una localización especial de ARNm de TGF β_1 en las células del epitelio dental. Así mismo, los receptores TGF β_1 se pueden observar en el mesénquima dental y el retículo estrellado los días 16 y 17 dentales.⁽¹⁹⁾ Adicionalmente, mientras el ARNm del TGF β_2 se estableció en altos niveles en la línea odontoblástica y en menor cantidad en las células de la pulpa, la proteína TGF β se observó en niveles elevados tanto en los odontoblastos como en las células pulpares. El TGF β_3 se marcó en niveles bajos tanto en las células pulpares como en los ameloblastos, pero no se vió en los odontoblastos.⁽¹⁴⁰⁾

Se conoce que el TGF β_1 puede funcionar como un mitógeno indirecto al inducir la expresión de PDGF. Así, la expresión de TGF β_1 en el epitelio dental puede regular la proliferación celular en el mesenquima dental subyacente y contribuir a la determinación de la morfología dental. Otra posible

función del TGF β_1 , durante la morfogénesis dental es la regulación del depósito de matriz debido a que el TGF β_1 promueve la síntesis de matriz extracelular, modificación de los receptores de la matriz de la superficie celular y prevención de la degradación de la matriz extracelular.⁽¹⁹¹⁾

Numerosos investigadores han examinado la localización de TGF β en gérmenes dentarios durante el desarrollo embrionario por medio de inmunohistoquímica e hibridación *in situ*.⁽¹³¹⁾ La localización más intensa ocurrió durante los eventos de morfogénesis, histogénesis y citodiferenciación.⁽³⁷⁾

Durante el estadio de brote en ratones (día 11-13 prenatales), se detectaron bajos niveles de TGF β_1 . Sin embargo a nivel de hueso mandibular en desarrollo (cartilago de Meckel), altos niveles de ARNm de TGF β_1 se determinaron.^(19,27,191)

En los días 14 y 15 prenatales en ratón (estadio de copa) hay una intensa expresión de TGF β_1 en el epitelio dental y epitelio dental interno^(39,101) y externo.⁽¹⁹⁾

Durante el estadio de campana el TGF β_1 se localizó en el retículo estrellado,^(19,38,201) donde el EGF estimula la expresión de TGF β_1 ⁽⁹⁷⁾ y región central y apical de la papila dental (angiogénesis).⁽³⁷⁾ El ARNm del TGF β_1 se detectó en la papila dental y odontoblastos maduros, pero no en preodontoblastos antes de la formación de matriz dental.^(27,37,97,131,191,200) Así mismo, se localizó adyacente a los ameloblastos presecretores, secretores y en proceso degenerativo, ésto último sugiere la participación del TGF β_1 en la muerte celular programada de ellos.⁽³⁷⁾ Su expresión disminuye en el epitelio dental y epitelio del esmalte interno (día 16 y 17). El día 18 desaparece del epitelio dental y se localiza en el mesénquima (odontoblastos polarizados).⁽¹⁹⁾ En el día 19, hasta el nacimiento se localiza en el epitelio del estrato intermedio, transitoriamente durante la diferenciación de los ameloblastos.⁽¹⁹¹⁾ Además se ha sugerido su participación en los estadios secretorios y de maduración durante la amelogénesis, ya que inhibe la degradación de matriz al incrementar la síntesis de inhibidores de proteasas e inhibir proteasas.⁽³⁷⁾

Hasta los días 1 y 2 posnatales, el retículo estrellado continúa expresando TGF β_1 , lo que resulta importante para atraer monocitos hacia el folículo dental, que es adyacente al retículo estrellado.⁽²⁰⁰⁾ El TGF β_1 estimula la secreción de matriz extracelular en el folículo dental, lo que contribuye a la formación del ligamento parodontal.⁽⁹⁷⁾

El influjo de monocitos al folículo dental se eleva hacia los 3 días posnatales, lo que influye en los osteoclastos (como quimiotáctico) pudiendo participar en la resorción ósea. Además, para este momento el $TGF\beta_1$ se ha acumulado especialmente en el folículo dental⁽³⁷⁾ y por tanto puede participar en los eventos celulares importantes de la erupción dental.^(19,107,202) Durante el movimiento dental, el $TGF\beta_1$ participó durante el remodelado óseo,⁽⁶⁴⁾ ya que en estadíos posnatales su expresión más abundantemente a nivel peridental está en el hueso.⁽¹⁹¹⁾

El 4o. día posnatal cuando se ha completado la corona de los molares de ratón, los ameloblastos no secretores continúan expresado $TGF\beta_1$.⁽¹⁹¹⁾

En el cemento y ligamento periodontal, hay una expresión importante de factores de crecimiento incluyendo la familia $TGF\beta$, que participan en la migración, adhesión y crecimiento de las células involucradas y su síntesis de matriz.^(103,132,179)

In vitro, en el estadío de brote de gérmenes dentales humanos, el $TGF\beta$ expresó en el mesénquima peridental, epitelio dental y membrana basal de éste. Durante el estadío de copa (13 semanas), el ARNm de $TGF\beta_2$ se concentró en el folículo dental, lámina dental y órgano del esmalte.^(27,68)

En el estadío de campana temprano e intermedio, el $TGF\beta$ se concentró en el folículo dental y mesénquima peridental, mientras en etapas tardías se expresó en el órgano del esmalte, lámina dental, epitelio oral, epitelio del esmalte interno y externo, retículo estrellado y preameloblastos. Posteriormente, durante la fase de aposición el $TGF\beta_2$ se localizó en ameloblastos, lámina dental, retículo estrellado y epitelio del esmalte externo. Bajos niveles se detectaron en hueso alveolar, folículo dental, papila dental y odontoblastos.⁽⁶⁸⁾

La localización de $TGF\beta_3$ se encuentra en el epitelio oral y el ectomesénquima durante el desarrollo dental embrionario de ratones, así como en el cartílago de Meckel. Durante el día 16, alcanzó su mayor expresión.^(16,27) Los factores de crecimiento aislados de tejido osteogénico, pueden también influir en el desarrollo dental, debido a que la formación del hueso en la mandíbula está temporalmente relacionada con la morfogénesis dental.⁽¹³⁷⁾

La Proteína Morfogénica del Hueso (BMP) que también es un miembro importante de la familia $TGF\beta$ tiene su expresión durante el proceso organogénico craneofacial y dental, pues contribuyen a la determinación del patrón óseo y morfogénico; además, en forma particular, los BMP

parecen regular la iniciación y morfogénesis dental. El BMP induce la formación de hueso en el sustrato colágeno preexistente, lo que resalta su papel específico en la regulación del desarrollo de los tejidos duros como la dentina.^(160,185)

C. Bègue-Kirn y cols. demostraron la influencia del TGF β_1 y BMP sobre la diferenciación de los odontoblastos de ratones *in vitro*. Detectaron que el ARNm de BMP₂ se encuentra en las células de la papila dental y línea odontoblástica. Así mismo, evidenciaron que tanto el TGF β_1 como el BMP₂ pueden unirse a los componentes de la matriz de dentina y entonces tener un papel inductor de la polarización citológica y funcional de los odontoblastos.^(8,69,131,193)

Durante el estadio de copa (E14 de ratón), el BMP₂ se expresó en el epitelio interno del esmalte en la región cuspal. Mientras que en el estadio de campana (E17-E18), el ARNm del BMP₂ se localizó en células de la papila dental. La expresión persistió hasta la diferenciación terminal de odontoblastos y ameloblastos.⁽¹⁹²⁾

Se ha encontrado que el BMP₂ y BMP₄ estimulan la actividad fosfatasa alcalina en células preodontoblásticas, así como la estimulación de síntesis de osteocalcina. El BMP₃ estimuló la fosfatasa alcalina en células pulpares en estadios de formación de la matriz.⁽¹³¹⁾

Mientras tanto, el BMP₄ se ha localizado por hibridación *in situ* en el día 9 y 9.5 de ratón en los arcos branquiales y procesos faciales.⁽⁷⁰⁾

Durante el día 10, la expresión del BMP₄ se localiza en el mesénquima y borde inferior de los procesos maxilares y, borde superior de los procesos mandibulares. En el estadio de brote, el mesénquima dental condensado alrededor de la yema dental expresa BMP₄. Por su parte, el ARNm de BMP₄ se localiza en las células mesenquimales de la papila dental y preodontoblastos subyacentes al epitelio del esmalte durante el estadio de copa. En la etapa de campana el BMP₄ se encuentra en los odontoblastos diferenciados y en los ameloblastos antes de su diferenciación. El BMP₂ y BMP₄ se expresan simultáneamente en los odontoblastos.⁽¹⁹²⁾

En cultivos de órganos dentarios bovinos, se ha determinado que la presencia del BMP₄ estimula la expresión de ARNm de la colágena tipo I.⁽¹³¹⁾

El BMP₆ se ha encontrado distribuido en el epitelio dental y, en los preodontoblastos y odontoblastos, así como durante la formación de la dentina.⁽⁶⁹⁾

Recientemente C.A. Nosrat y cols. publicaron el papel de un novedoso factor de crecimiento durante el desarrollo embrionario llamado factor neurotrópico derivado de las células gliales (GDNF), que es un miembro distante de la familia TGF β . Su expresión en diversas estructuras embrionarias incluyendo estructuras craneofaciales y órganos dentarios, ha despertado interés. El ARNm de GDNF se estableció tanto en el mesénquima como en la yema dental en embriones de rata. Se expresó a partir del día 15 prenatal hasta la primera semana posnatal, teniendo en ésta su mayor localización. La pulpa expresó una gran cantidad de ARNm de GDNF. Dedujeron que la alteración en el patrón de expresión del GDNF podía provocar disturbios en el desarrollo embrionario y, específicamente a nivel craneofacial podía alterar el sistema trigeminal y el desarrollo morfogenético e invervación del órgano dentario.⁽¹³⁴⁾

4.7 Factor de Crecimiento MK (Midkine).

El Midkine (MK) es un novedoso factor de crecimiento/diferenciación ligado a la heparina, codificado por el gen responsable de la síntesis del ácido retinoico. Las forma secretadas de MK (13 kD), son extraordinariamente ricas en residuos de cisteína y aminoácidos básicos.⁽¹²⁶⁾

Recientemente se ha asociado con la condensación de las células mesenquimales en muchos órganos incluyendo los dientes.⁽¹⁶⁸⁾ Mediante hibridación *in situ* se demostró la expresión de los transcriptores MK tanto en el epitelio oral como en el mesénquima de los maxilares y mandíbula, en los Estadios 10-Estadio 12 (E10-E12) de embriones de ratón.⁽¹²⁶⁾

En el Estadio 13 (E13) embrionario murino, el epitelio dental expresó débilmente MK, mientras que en el mesénquima condensado de la papila dental hubo una manifestación muy elevada. En el Estadio 16 (E16) a nivel del órgano del esmalte hubo una expresión moderada, mientras que la expresión en los Estadio 18-Estadio 19 (E18-E19) la punta de las cúspides con los odontoblastos en diferenciación, estuvo regulada por las células mesenquimales suprayacentes a ellos, sugiriendo que el MK puede estar involucrado en los eventos de citodiferenciación. El epitelio dental intermedio, papila dental y preameloblastos tuvieron una débil expresión en este estadio.⁽¹²⁶⁾

Por otra parte se ha demostrado que el MK puede actuar sinérgicamente con otros factores de crecimiento, por ejemplo el FGF-2. En los estadios E13-E14, el MK tuvo un efecto antiproliferativo en el mesénquima dental. Sin embargo, el MK aparece como estimulante de la proliferación celular cuando se adiciona FGF-2, sugiriendo que los efectos del MK pueden ser tanto positivos como

negativos, de acuerdo con la presencia de otros factores de crecimiento en el microambiente de las células blanco.⁽¹²⁶⁾

Se han adicionado a dientes cultivados anticuerpos anti-MK, observándose una reducción en la talla dental, lo que puede explicarse por la obstaculización de los efectos positivos del MK sobre la estimulación de la proliferación celular por los factores de crecimiento endógenos, o por una alteración en las interacciones epitelio-mesenquimales que pueden conducir a inhibir el desarrollo y, secundariamente también el crecimiento.⁽¹²⁸⁾

V. FARMACOLOGIA DEL ALCOHOL

El etanol o alcohol etílico es un compuesto químico que representa la bebida más consumida por la sociedad contemporánea.⁽¹⁵⁷⁾ Para comprender la farmacología del alcohol es fundamental conocer los mecanismos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación del mismo en el organismo.

Existe una relación ente la dosis de alcohol y la respuesta obtenida, de manera que por debajo de determinadas concentraciones no se producen efectos visibles. Además, a medida que aumenta la dosis aparecen alteraciones progresivamente más graves. Es decir, al aumentar la concentración de un agente determinado en los receptores, aumenta la acción provocada desde el punto de vista cuantitativo.⁽⁴⁵⁾

El alcohol es rápidamente absorbido en el estómago e intestino, pero una importante ruta de abсорción puede ser la vía pulmonar en casos de exposición a vapores de alcohol. El principal factor que afecta la absorción es la presencia de alimento en el estómago, aunque el intestino delgado representa el principal y rápido sitio de absorción.^(45,176)

La oxidación del etanol en el hígado genera la formación de acetaldehído, un metabolito muy volátil más tóxico que el etanol.^(34,85,114)

La distribución del alcohol a través del cuerpo en un equilibrio de difusión, se aproxima demasiado a la del agua. El rango de entrada de alcohol en los diversos tejidos varía de acuerdo al abasto sanguíneo. Más del 90% del alcohol absorbido dentro del cuerpo es metabolizado preferentemente en el hígado. Sin embargo, en individuos no alcohólicos se pueden detectar pequeñas cantidades de etanol, y por tanto de acetaldehído, probablemente como resultado de fermentación en el intestino.⁽³⁴⁾ El alcohol no metabolizado por el hígado se excreta sin grandes cambios en la orina y en el aire expirado. Pequeñas cantidades pueden también estar en saliva, sudor, heridas, heces fecales y leche.^(45,176)

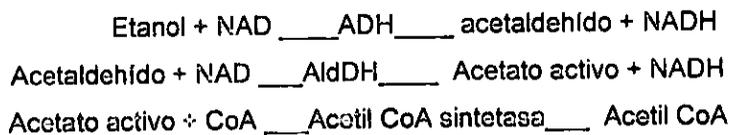
El alcohol se difunde con facilidad, por lo que se distribuye rápidamente en todos los tejidos en concentraciones aproximadamente iguales; de acuerdo con su contenido acuoso la solubilidad del alcohol en el agua es una 30 veces mayor que en las grasas,⁽⁴⁵⁾ por lo que órganos corporales que tienen mayor contenido en agua presentan la mayor cantidad de alcohol. El alcohol puede alcanzar la circulación materna, pudiendo ser capaz de atravesar la placenta.

Por el metabolismo y la excreción urinaria se elimina aproximadamente la mitad del índice de absorción.

El metabolismo del alcohol etílico consiste en la oxidación a acetaldehído a través de la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) y de la enzima dinucleótido de adonina y nicotinamida (NAD), el cual es posteriormente oxidado a acetato. La oxidación del acetaldehído es catalizado por la aldehído deshidrogenasa (AldDH) en el hígado y otros tejidos, que convierte el aldehído a ácido acético, cuya reacción es virtualmente irreversible. En el adulto el alcohol es oxidado en un rango aproximado de 120 mg/kg.⁽¹⁷⁶⁾

El acetaldehído, se une covalentemente a diversas proteínas, además de alterar la función y estructura hepática, estimula producción de colágena en cultivos de miofibroblasto, es un estimulante de la producción vascular de prostaciclín, un potente vasodilatador y agente antiagregante plaquetario.⁽⁸³⁾

Las dos primeras etapas de oxidación del alcohol, tienen lugar casi exclusivamente en el hígado; los productos obtenidos de estas reacciones se incorporan a la ruta energética normalmente utilizada para muchos tejidos.



Mediante las reacciones anteriores, el alcohol pasa a formar parte de la molécula de acetil CoA. La acetil-CoA es el compuesto encargado de introducir el acetato en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos. Este ciclo es la vía final común de oxidación de todas las moléculas energéticas en las células aerobias. Otro mecanismo que oxida el alcohol es a través Sistema Microsómico Oxidante del Etanol (SMOE), que es un sistema enzimático ligado a la membrana, que oxida el etanol mediante un citocromo.⁽⁴⁵⁾ Una tercera vía del metabolismo del alcohol es el sistema catalasa, que actúa en presencia de peróxido de hidrógeno.⁽¹⁴⁴⁾

En el alcoholismo crónico, los niveles sanguíneos de etanol usualmente no exceden los 300 mg/dl. El acetaldehído, el mayor metabolito circulante usualmente no excede los 50 μM .⁽⁴⁷⁾

5.1 Mecanismos de acción .

Las características físico-químicas de la molécula de alcohol, favorecen su transporte a través de las membranas. Es una molécula relativamente pequeña y sin carga, completamente soluble en agua, pero sólo parcialmente soluble en grasas. La velocidad con que el alcohol atraviesa la membrana depende tan sólo de su gradiente de concentración a ambos lados de la membrana. El único mecanismo que interviene es la difusión a favor del gradiente de concentración.⁽⁴⁵⁾

Muchos procesos intracelulares son iniciados por interacción de un mensajero químico, por ejemplo un neurotransmisor o una hormona con un sitio específico sobre la superficie de la célula o dentro de su citoplasma. Es evidente por numerosas investigaciones que muchos de los efectos diversos del etanol son mediados por diversos receptores y que la administración de etanol afecta la función del receptor. Los efectos del alcohol pueden no interferir directamente con la función del receptor, pero puede ser que altere el ambiente en el cual el receptor trabaja.⁽³⁾

El etanol difiere de muchas drogas psicoactivas en que sus efectos no dependen de la unión a receptores específicos. Aunque numerosos canales, receptores y enzimas de membranas son afectados por relativamente bajas concentraciones de etanol, no hay evidencia de que el alcohol interactúe con sitios de unión específicos sobre estas proteínas.^(45,152)

Se ha establecido que el etanol altera la fluidez de las membranas biológicas en una forma bifásica. El primer efecto es incrementar la fluidez de las membranas (y posiblemente alterar la exposición de la superficie-receptor de unión a sus ligandos), lo cual es seguido de readaptación hacia el grado original de fluidez.^(3,28)

Esta fluidización afecta la función de la membrana, lo que llega a producir intoxicación. Sin embargo, el daño celular está muy relacionado con la sensibilidad y la tolerancia. Además, la edad de los humanos y animales está generalmente relacionada con la capacidad para responder al etanol *in vivo* cuando se compara con sujetos jóvenes. Las evidencias indican que la membrana lipídica puede adoptar una forma no bicapa. Así mismo, el alcohol tienen efectos directos sobre algunas, pero no todas las proteínas.⁽⁵⁵⁾

Por otra parte, Rottenberg estableció que la interacción del etanol con la bicapa lipídica y las membranas biológicas no está bien caracterizada, debido a que la naturaleza hidrofílica del etanol no permite que una cantidad suficiente de alcohol unido a la membrana pueda ser detectado por muchos métodos.⁽¹⁵²⁾

El consumo de alcohol puede afectar a muchas células del cuerpo, haciendo a los tejidos más sensibles a los carcinógenos al incrementar la permeabilidad de la membrana celular. En cavidad oral, la expresión de diversos factores de crecimiento tales como el EGF o el factor de crecimiento epitelial en alcohólicos, estimula la proliferación celular pudiendo estar asociado con la transformación oral maligna.⁽¹⁴⁴⁾

Se han propuesto numerosos sitios de acción del alcohol, incluyendo los receptores GABA, adrenales, opiáceos (benzodiazepinas, endorfinas, encefalinas), hormonas sexuales, muscarínicos, colinérgicos, dopaminérgicos, glutamato, los canales de Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{++} , las señales transmembrana, la proteína kinasa C, fosfolipasa, fosfatidilinositol, etc.^(3,28)

Las proteínas de los receptores son formados dentro de una magnífica estructura biológica, por un efecto hidrofóbico. La excitación de la membrana es una propiedad integral de la maquinaria de excitación compuesta de proteínas y lípidos. La fuerza fundamental que forma este sistema es el efecto hidrofóbico. Estas estructuras son soportadas por las moléculas de agua. Algo que atenúa la fuerza hidrofóbica, estabiliza las estructuras macromoleculares generando desorden y se expande el volumen. El alcohol desorganiza el control de la membrana fosfolípida (incrementa la fluidez), pero ordena la superficie de la membrana (fluidez disminuida). El decremento en la fluidez de la membrana indica un movimiento impedido en la molécula de membrana, mientras que la viscosidad incrementa. Las membranas no pueden formarse fuera del agua. Además las membranas lipídicas están formadas por el efecto hidrofóbica (anfipático), el mecanismo preciso de este efecto se desconoce.⁽²⁸⁾

VI. INFLUENCIA DEL ALCOHOL EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO

El desarrollo de un organismo es una compleja orquestación de divisiones celulares, migración celular, interacciones celulares, regulación genética y diferenciación.

Si algún agente interfiere con estos procesos puede causar malformación en el embrión.⁽¹⁵⁷⁾ El cultivo y desarrollo de las poblaciones celulares derivadas de la cresta neural y las plácotas ganglionares constituyen uno de los mejores resultados sobre el desarrollo craneofacial y anterior del cuello. Las anomalías de estas poblaciones celulares son responsables de un gran porcentaje de malformaciones craneofaciales.^(78,101) En realidad, se estima que aproximadamente la mitad del total del número de concepciones humanas no logra sobrevivir. La mayoría de estos embriones expresan su anomalía tempranamente, afectando su implantación en el útero. Otros se implantan, pero fracasa su estabilidad en el progreso del embarazo. Así, la mayoría de los embriones son espontáneamente abortados antes de que la mujer conozca que está embarazada. Los defectos en los pulmones, extremidades, cara o boca, aunque no pueden ser dañinos para los fetos pueden afectar severamente la vida una vez que el bebé ha nacido. Aproximadamente el 5% de todos los humanos natos tienen una malformación reconocida, algunas de éstas benignas, otras muy serias.⁽¹⁵⁷⁾

No hay duda de que el genoma celular contiene instrucciones específicas que influyen en el patrón de desarrollo. Pero, adicionalmente las células también responden a las señales ambientales. Muchos de los sistemas en desarrollo pueden ser simultáneamente alterados por influencias teratogénicas, las cuales operan bajo un largo período de la morfodiferenciación.⁽¹⁴²⁾

El estudio de estas anomalías congénitas (al nacimiento) se llama teratología y los agentes responsables de causar estas malformaciones se llaman teratógenos ("formadores de monstruos"). Los teratógenos actúan durante ciertos períodos críticos. El mayor tiempo crítico para el organismo es cuando está creciendo y formando sus estructuras particulares. Los diferentes órganos tienen períodos de vulnerabilidad variados, aunque el tiempo desde el día 15 al 60 es crítico para muchos órganos, por ejemplo el esqueleto y el cerebro que son siempre sensibles desde el inicio de la tercera semana hasta el final del embarazo y aún después.^(6,88,157)

La naturaleza del daño teratogénico lleva una serie de factores interrelacionados, tales como el estadio de sensibilidad, la relación dosis-respuesta, umbral de efectos, variabilidad genética e infecciones. Durante la etapa comprendida desde la fertilización hasta estadios tempranos post-implantación, el embrión tiene relativamente pocas células y una gran capacidad para reemplazar las células omnipotentes. El segundo estadio, el período de organogénesis (desde el día 18 hasta el día

60 de la gestación humana) es el período de gran sensibilidad a los insultos teratogénicos y el período donde las malformaciones anatómicas pueden ser inducidas. El tercer estadio, el período fetal se caracteriza por una depleción celular y crecimiento retardado, resultado de la exposición a agentes teratogénicos; después de que la mayoría de los tejidos y órganos se han diferenciado puede producirse la muerte celular.⁽⁶⁾

La dependencia de alcohol aumenta el riesgo de muchos pronósticos médicos y sociales negativos, algunos de los cuales parecen afectar más a las mujeres que a los varones.⁽⁷⁵⁾

El alcohol tiene muchos efectos sobre el metabolismo celular. La cantidad de alcohol necesaria para producir un daño significativo en el feto no ha sido bien establecida. Sin embargo, se dice que seis o más vasos de alcohol (3 onzas) pueden afectar la morfogénesis fetal.^(43,198)

En 1947, Smith observó que el etanol retardaba el crecimiento humano *in útero*. En 1973, Jones y Smith dieron el nombre de Síndrome del Feto Alcoholizado (SFA) a los efectos causados por el consumo de alcohol materno durante la gestación.^(167,203)

Bajas cantidades de ingesta de alcohol por parte de la madre pueden conducir al llamado "efecto del alcohol fetal" (EAF), una forma baja de severidad del SFA, pero una condición que disminuye las habilidades funcionales e intelectuales de las personas.⁽¹⁵⁷⁾ En 1980, el Fetal Alcohol Study Group of the Research Society on Alcoholismo propuso los criterios mínimos para reconocer y diagnosticar el SFA, y sugirió que el término EAF se aplicara cuando grados leves o expresión parcial de éste criterio se observaran.⁽⁴³⁾

Para diagnosticar SFA se requiere demostrar el alcoholismo o abuso alcohólico materno.⁽⁴⁵⁾ Tres características fueron inicialmente consideradas para definir SFA: deficiencia del crecimiento prenatal, microcefalia y fisuras palpebrales cortas. Después se comprobó que el SFA inducía otras anomalías. Actualmente las tres características requeridas para diagnóstico de SFA son: retardo en el crecimiento, ciertas anomalías faciales y disfunciones del SNC.⁽⁷²⁾

El etanol con un peso molecular de 600 a 1000, atraviesa la barrera placentaria: se ha encontrado en la leche materna^(45,203) y líquido amniótico⁽¹³⁶⁾ El alcohol puede ejercer efectos en la eyección de leche al inhibir la liberación de oxitocina.^(45,203) Aunque la placenta es permeable al etanol, el embrión no tiene la enzima alcohol-deshidrogenasa. Por tanto, si la madre se expone a cierta cantidad de alcohol los niveles disminuirán horas después en la madre, no así en el feto donde las concentraciones seguirán elevadas. El acetaldehído sin embargo, es rápidamente metabolizado en la

placenta y ésto ha demostrado que después del tercer mes de gestación el acetaldehído no puede ser detectado en el feto, sin embargo se aclara que el alcohol por sí mismo sí puede tener un efecto a nivel fetal.⁽¹⁵⁶⁾

Por otra parte mucho se ha especulado acerca de si el alcohol por sí mismo es citotóxico, mutagénico, o teratogénico. Pratt reportó que, aunque es teratogénico, su metabolito el acetaldehído es 10 veces más nocivo. Niveles de 35 µg de acetaldehído causan daño al feto.⁽¹⁶³⁾

El alcohol etílico provoca disturbios en el desarrollo embrionario (retardo del crecimiento del blastodermo, pliegue cefálico, capuchón auditivo, somitas, así como anomalías en las vesículas cerebrales). Los disturbios se reflejan por mortalidad, malformaciones y cambios tempranos en la morfogénesis (crecimiento y diferenciación). Sus resultados puntualizan la posibilidad de daño alcohólico en el embrión en etapas muy tempranas.⁽¹⁵⁸⁾ Cuando los individuos son expuestos a alcohol durante la vida fetal hay una incrementada mortalidad perinatal.⁽¹³⁵⁾

La gran variedad de anomalías encontradas en las etapas prenatales y posnatales en los hijos de madres alcohólicas cada vez crece más. No todas las alteraciones mencionadas se presentan en todos los casos, sin embargo, el daño a diversas estructuras vitales y no vitales es una realidad que debe ser considerada.

Las alteraciones dento-craneofaciales del SFA suelen atenuarse con la edad e incluyen: frente protruyente, hipoplasia facial media (hipoplasia maxilar), micrognatia, retrognatia (leve prognatismo en la adolescencia), fisuras palpebrales cortas, pliegue epicántico, puente nasal plano, nariz corta (crecimiento nasal posnatal), filtrum largo y plano, borde bermellón delgado, labio superior estrecho.^(6,11,45,57,91,135,136,171,169,203)

Áreas específicas.

Ojos. Microftalmia, ^(57,135,136,163,203) estrabismo, ptosis, miopía, colobomas, ^(57,166,203) blefarofimosis, asimetría ocular, hipertelorismo e hipotelorismo.⁽¹⁷⁴⁾

Orejas. Oreja en forma de concha, rotación posterior de la oreja.^(45,203)

Boca. Labio y/o paladar hendido, maloclusiones, rugas palatinas prominentes, dientes pequeños con fallas en el esmalte, arco palatino elevado.^(57,91,203)

VII. MECANISMOS DE ACCION DEL ALCOHOL DURANTE LA GESTACION

La muerte celular programada (apoptosis) es un mecanismo comúnmente usado en el desarrollo normal para eliminar células indeseables. En los embriones, la apoptosis normalmente es un mecanismo "escultor", es decir como una forma de eliminación celular para evitar errores en la diferenciación.⁽⁷⁸⁾

La muerte celular es un resultado común visto en embriones después de exponerse a una variedad de teratógenos que conducen a malformaciones craneofaciales. Está bien establecido que los sitios de muerte celular varían dependiendo del teratógeno y el tiempo de exposición. Sin embargo, la cuestión de por qué en respuesta a agentes citotóxicos algunas células mueren y otras no, todavía no se ha aclarado.⁽¹⁷⁵⁾

En 1972, Waltman e Iñiguez establecieron que la barrera placentaria parecía ser un mito. Determinaron que los mecanismos de transferencia del alcohol no sólo incluían la difusión (simple y facilitada), sino probablemente la filtración Starling-Landis, filtración a través de los poros, pinocitosis, fagocitosis y vesiculación. Además, concluyeron que el paso de la droga a través de las membranas celulares depende de su coeficiente de partición lípido-agua, a la unión de no proteínas y ionización, así que, las propiedades fisicoquímicas de un compuesto, permiten un grado de pronóstico con respecto al comportamiento biológico.^(78,195)

La ingestión materna de alcohol puede alterar la estructura de la membrana vellosa de la placenta, o la actividad ATP-asa dependiente de Na y K. Ambos factores son necesarios para el transporte de aminoácidos y azúcares en la placenta, que es un proceso dependiente de energía. Además, el transporte de aminoácidos requiere también la interacción con proteínas acarreadoras de la membrana. El etanol y/o el acetaldehído pueden alterar la síntesis de las células vellosas de las proteínas asociadas a la membrana. La privación de sustancias esenciales, tales como aminoácidos o zinc, pueden afectar el estado nutricional de la madre resultando en una selectiva malnutrición fetal.^(47,72)

Edwards y Dow-Edwards en 1991, demostraron que la exposición prenatal al alcohol induce un desbalance hormonal y nutricional que genera un patrón anormal de síntesis de proteínas, tanto en los mismos osteoblastos como en el neurópilo, produciendo así un patrón anormal de crecimiento craneal.⁽⁴⁰⁾

Se ha demostrado que el etanol afecta las células óseas, así como al hueso embrionario *in vitro* al incrementar la fluidez de la membrana, tanto *in vivo* como *in vitro*, y los cambios en la fluidez se asocian con cambios en la producción de AMPc y PGE₂, incremento en la resorción colágena, bloqueo de los efectos del NaF, PTH y SGFh al incrementar la proliferación celular y/o formación de hueso.^(46,72)

En gérmenes dentales de feto porcino expuestos a etanol, éste se estableció en la mitocondria de los ameloblastos. Los cambios mitocondriales son en general considerados como un fenómeno de degeneración, que obviamente afecta la formación del esmalte.⁽¹¹²⁾

Otro mecanismo propuesto como inductor de teratogénesis por el etanol es el que involucra el etanol es el que involucra el metabolismo de las prostaglandinas. El alcohol causa liberación de prostaglandinas en diversos tejidos, así como interferencias con las principales enzimas catabólicas. La elevación de prostaglandinas estimula la producción de AMPc. El AMPc en niveles elevados causa un aumento en la velocidad de la división celular. Así mismo, un incremento del AMPc a nivel cerebral puede dañar el desarrollo del SNC.⁽⁷²⁾

Existen evidencias del papel importante del AMPc en el crecimiento y desarrollo normal del paladar secundario en mamíferos. El AMPc regula la proliferación celular y la síntesis de matriz extracelular en el tejido palatal. Tales procesos pueden verse afectados en presencia de etanol, debido a las alteraciones en el receptor que media la producción de AMPc, ocasionando anomalías craneofaciales. Por tanto, el alcohol puede afectar las señales de transducción del AMPc.⁽¹⁹⁷⁾

Los embriones cultivados en presencia de etanol, demuestran una marcada reducción en el crecimiento. Se altera la síntesis total de proteínas y ADN, generando una proliferación celular reducida en la fase de organogénesis.^(13,193)

El EGF es un mitógeno que estimula el crecimiento maxilofacial y la síntesis de ADN. El etanol se ha reportado como inhibidor *in vivo* e *in vitro*, y produce disminución del desarrollo maxilofacial en el SFA. Se ha propuesto que al existir una alteración o perturbación en la membrana celular por el alcohol, hay cambios metabólicos que afectan al EGF en etapas embrionarias.^(52,53)

Abel y Billitzke (1990) establecieron que el alcohol afecta el peso molecular del ADN en espermatozoides, lo que sugirió una posible mutación inducida por el etanol. El alcohol podría tener un efecto selectivo reduciendo la motilidad o la muerte de algunos espermatozoides, dejando una población

selecta intacta, la cual fertiliza al óvulo llevando los genes alterados para los cambios ocurridos en los neonatos de alcohólicos.⁽¹⁾

Stephens y cols. (1996) estudiaron la interacción del alcohol sobre los fibroblastos en pacientes traumatizados, encontrando que la exposición aguda al alcohol induce un liberación de TGF β mayor a partir de los monocitos, esperando así una reparación más rápida del daño. Sin embargo, notaron que en los fibroblastos hay una inhibición de la proliferación celular y de la síntesis colágena inducida por el TGF β . Tal respuesta puede ser el resultado de la inhibición de la interacción ligando TGF β /receptor, causando alteraciones primarias en la expresión del ARNm colágeno del fibroblasto o, secundariamente puede deberse a alteraciones en la degradación colágena.⁽¹⁷⁰⁾ Los anteriores resultados deberán ser considerados también a nivel craneofacial.

El etanol también puede causar teratogénesis a través del desarrollo anormal de los filamentos musculares. La exposición al alcohol durante la embriogénesis muestra miocitos más pequeños de lo normal, núcleo centralmente localizado y miotubos. Así, el SFA y EAF pueden en parte ser el resultado de una anomalía estructural en las proteínas del citoesqueleto si el movimiento celular es inhibido durante el desarrollo fetal. Sin embargo, el movimiento celular puede ser sólo un factor contribuyente y no el mecanismo particular que resulta en SFA o EAF.⁽⁷²⁾

Se ha demostrado que el etanol interfiere con diversos procesos morfogenéticos, incluyendo la migración celular glial y neuronal, elongación neurítica, distribución axonal, ramificación dendrítica y la forma de fusión de las células del pliegue neural. Hassler y Moran compararon lo que sucede con la actina en asociación con la miosina, que produce una fuerza móvil para la migración celular y para la diferenciación morfológica, determinando que los defectos inducidos por el alcohol sobre los derivados de la cresta neural pueden ser similares al daño a nivel de la actina del citoesqueleto, acompañado por cambios en el entorno celular y contacto célula-célula. Además, sugirieron que las malformaciones inducidas por el etanol pueden ser resultado de la inhabilidad de las aberrantemente formadas células de la cresta neural para interactuar normalmente con los tejidos primordiales que forman las estructuras craneofaciales.^(85,78)

La hipoxia fetal también se ha sugerido como una causa de aberraciones en estructura, fisiología y biología del SFA y EAF. Cuando el alcohol se encuentra en la circulación hay un incremento en el consumo normal de oxígeno (más del 100%). Si el flujo sanguíneo no incrementa para otros tejidos, la privación de oxígeno se efectuará para tratar de contrarrestar la elevada demanda de oxígeno. Además, la liberación de catecolaminas que ocurre después de la ingesta de alcohol, causa una vasoconstricción que exacerba la deficiencia de oxígeno. De hecho, se ha

demostrado que a nivel de cordón umbilical hay una acentuada respuesta contráctil arterial y venosa en presencia de etanol.⁽⁷²⁾

VIII EFECTOS DEL ALCOHOL SOBRE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA ODONTOGÉNESIS

Una "ventana de vulnerabilidad" del feto al alcohol comienza muy tempranamente y continúa a lo largo del embarazo. A pesar de que se ha documentado que el etanol ocasiona daños durante las primeras semanas de gestación, los estudios en animales y humanos indican que la serie de alteraciones provocadas continúan durante todo el embarazo, es decir, se puede hablar de un riesgo constante de daño al producto, lo cual subraya la importancia de detectar a las embarazadas con problemas de alcoholismo.

Por otra parte, aunque si bien han sido identificados un conjunto de alteraciones sistémicas y específicamente craneofaciales en lo que se ha llamado Síndrome del Feto Alcohólico (SFA), no se puede descartar que no todas las estructuras celulares responden de la misma forma a los estímulos externos (proceso de adaptación). Es así que al considerar "consumo de alcohol" o "exposición a alcohol" no nos refiere únicamente a madres gestantes alcohólicas, sino a mujeres que en un momento crítico del embarazo consumieron alcohol.

Puesto que el feto es vulnerable antes de que muchas mujeres se presenten para el cuidado prenatal, el sólo detectarlas es ya demasiado tarde como para evitar algunos efectos adversos del alcohol. Sumado a esto, debido a que el alcoholismo crónico puede alterar el patrón menstrual, las bebedoras podrían darse cuenta de su embarazo hasta después que las no bebedoras. Por ello es importante que las mujeres que estén planeando embarazarse o son sexualmente activas y que no utilizan un anticonceptivo efectivo, deberán disminuir su consumo de alcohol a mínimas cantidades o idealmente abstenerse de éste.

Debido a los evidentes cambios que se presentan a nivel dentofacial en los individuos con SAF y EAF, se plantea la necesidad de buscar el (los) mecanismo (s) a través de los cuales el alcohol ejerce sus efectos teratógenos. Así mismo, se plantea la necesidad de investigar si el etanol a concentraciones consideradas bajas (tales que no produzcan alteraciones tan características como el SFA) pueden también ejercer un efecto en las estructuras orales. Surge así la inquietud de investigar si algunas de las alteraciones denominadas idiopáticas y que ocasionalmente pudieran ser observadas durante la práctica dental, no tienen su origen en este punto. Debido a que la preocupación por los efectos aberrantes del alcohol sobre el feto se han enfocado más específicamente hacia alteraciones en sistemas vitales, cognoscitivos o conductuales, se ha dejado a un lado la posibilidad de daño en

estructuras que también forman parte del entorno biológico, aunque no sean vitales como es el caso de los órganos dentarios.

Existen diversas teorías que intentan explicar el mecanismo teratogénico del alcohol, algunas de las cuales señalan el daño a partir de las células germinales de los progenitores. A nivel dentofacial existen muchas incógnitas al respecto, por lo que las estructuras faciales y, particularmente el germen dentario, ofrecen la posibilidad de ser buenos modelos organogénicos para el estudio del comportamiento celular, proliferación, morfogénesis y diferenciación.

Gerhart en 1988 evidenció el efecto inhibitorio in vivo del alcohol sobre el factor de crecimiento epidermal (EGF), sin embargo, debido a que las investigaciones en torno al papel del etanol sobre los factores de crecimiento que participan en el desarrollo craneofacial embrionario son prácticamente nulos, se pueden formular una serie de planteamientos que de acuerdo a las referencias sobre los efectos del alcohol en otras estructuras, puedan interrelacionarse con el desarrollo dental.

El alcohol afecta la estructura y fluidez de las membranas celulares. Los receptores de los factores de crecimiento son receptores transmembranosos con actividad quinasa. Esta característica se refiere a una porción extrínseca que reconoce al factor de crecimiento y se une a él, mientras que con la unión se transmite una señal a través de la región catalítica (intrínseca). Significa que la señal para que la célula se divida puede transmitirse desde el receptor una vez ocupado, hacia el interior de la célula vía fosforilación de tirosina o serina/treonina quinasa en una o varias proteínas del interior celular.

Al considerar a los factores de crecimiento como miembros de una gran familia, se supone una interrelación constante entre ellos, sea de inhibición, estimulación o sinergismo. El TGF β estimula la transcripción del ARNm del EGF-R y por tanto aumenta en el número de dichos receptores. El EGF estimula la erupción precoz; si el TGF α aumenta, estimula a las células blanco a incrementar sus EGF-R. Más aún, entre los miembros de la misma familia, existe una marcada relación, tal que si se afecta el TGF-R tipo II, puede inhibir la respuesta del TGF-R tipo I, lo que ocasiona una reacción disminuida o inhibida de ambos receptores y entonces un daño durante el proceso organogénico.

Por otra parte, el alcohol afecta el AMPc de la matriz extracelular que durante la embriogénesis es muy importante para el crecimiento y desarrollo normal de diversas estructuras. Particularmente el TGF β y sus receptores se encuentran en forma abundante durante el desarrollo embrionario en la matriz extracelular estimulando a su vez más síntesis de matriz. Si existe una falla en la bioquímica

extracelular, las estructuras dentarias, específicamente durante los estadios secretores podrían verse afectadas. Se ha determinado que el alcohol provoca procesos degenerativos en los ameloblastos secretores, lo que se traduce en una estructura adamantina alterada. Así mismo, se ha detectado TGF β en el cartílago de Meckel, lo que hace suponer una interrelación con su crecimiento y diferenciación, así como un blanco especial del etanol en estadios tempranos del desarrollo. Los estudios en hueso han encontrado una relación de los cambios en la membrana plasmática con el AMPc y PGE₂.

El etanol al alterar la actividad ATPasa y la estructura proteica de las membranas celulares, desequilibra el paso de nutrientes que requieren de energía para su transportación. La producción de factores de crecimiento a partir de los aminoácidos celulares puede verse afectada al no existir suficiente ARNm que señale su producción. Asociado a ello, si la madre ingiere alcohol crónicamente existe un desequilibrio nutricional y hormonal que produce un patrón anormal de síntesis proteica, que igualmente repercutirá en los niveles de producción de los precursores de los factores de crecimiento, incluso en estadios previos a la organogénesis craneofacial.

De hecho, con el establecimiento de que el etanol afecta la síntesis de ADN, se ha propuesto que tiene efectos en las células germinales que formarán al embrión, las cuales ya han sufrido alteraciones y llevarán la información genética con los cambios que se manifestarán en el fenotipo embrionario. Adicionalmente, la relación de los factores de crecimiento con determinados locus génicos, plantea la posibilidad de investigar su participación con respecto a cierto tipo de alteraciones estructurales de tejidos duros dentales (p. ej. amelogénesis). En el caso del EGF es codificado en el cromosoma 4, mientras que la amelogénesis imperfecta ha sido mapeada en el mismo cromosoma.

Debido a que el etanol causa efectos en estadios tempranos del desarrollo a nivel de migración celular, puede generar aberraciones en las células de la cresta neural, las cuales no podrán interactuar normalmente con las estructuras craneofaciales afectando a su vez el desarrollo dentario.

Aunque la serie de efectos a nivel metabólico materno que genera la ingesta de alcohol (llámese crónico o agudo, pues no se ha determinado aún si a concentraciones bajas es inocuo), podrían considerarse un proceso de causa-efecto, la realidad es que la causa se conoce, más los efectos y las diferentes vías para llegar a éstos permanecen desconocidas. El etanol es el agente disparador, la serie de cambios genéticos, morfológicos, funcionales, bioquímicos, etc., dependerán de la variabilidad y susceptibilidad de la madre y el embrión a éste.

IX. PROPUESTAS DE INVESTIGACIONES FUTURAS

Los factores de crecimiento, sustancias consideradas de reciente descubrimiento han venido a amplificar el panorama de la embriogénesis humana. Su extensa expresión en las diferentes estructuras embrionarias, así como su variada manifestación en los estadios del desarrollo ha permitido reconocer su relevancia para la conformación del genotipo y fenotipo humano. Con el avance en las técnicas de identificación de proteínas se han descubierto estructuras sobre las membranas celulares embrionarias que corresponden a factores de crecimiento que en su momento se consideró no tenían participación en el desarrollo embrionario. Ahora se sabe que en menor o mayor proporción los factores de crecimiento son expresados en el embrión humano y, que los diversos órganos se ven influenciados por ellos, así como determinados por su presencia o ausencia.

En la organogénesis dental, los incrementados estudios sobre los factores de crecimiento han descubierto esenciales funciones para la conformación de la arquitectura dentaria. Sin embargo, aunque algunos factores de crecimiento han sido identificados en las superficies celulares dentales, aún no se conoce su acción sobre ellos. Por tanto, se plantea la necesidad de esclarecer la participación de los factores de crecimiento en la odontogénesis en cuanto a:

1. identificar a los factores de crecimiento y sus receptores expresados en las estructuras dentarias y en los diferentes estadios del desarrollo;
2. identificar las acciones inhibitorias, estimuladoras o sinérgicas de los factores de crecimiento en las células dentarias;
3. determinar cuáles son las interacciones entre los factores de crecimiento para la realización de sus funciones específicas sobre las células dentarias.

Por otra parte, existiendo el antecedente de la influencia inhibitoria del alcohol sobre el factor de crecimiento epidermal (EGF), surgen nuevos planteamientos para intentar comprender uno de los mecanismos por los cuales el etanol podría afectar la embriogénesis normal dento-craneofacial. Debido a que el alcohol ejerce sus efectos en estadios muy tempranos del desarrollo, sugiriendo algunos autores un daño incluso a nivel de células germinales, las futuras investigaciones podrían enfocarse a:

1. mapear genéticamente los diferentes factores de crecimiento especialmente expresados en las estructuras crenofaciales y germen dentario, debido a que las posibles alteraciones tal vez no sean sólo de inhibición de alguna porción de la estructura proteica o entorno celular, sino una

alteración en los locus encargados de señalar la síntesis de los diferentes aminoácidos que conforman las cadenas polipeptídicas de los factores de crecimiento;

2. identificar el (los) sitio (s) de daño genético en presencia del alcohol;

3. realizar estudios prenatales y posnatales *in vitro* e *in vivo*, en modelos animales a diferentes concentraciones de etanol e identificar los factores de crecimiento y sus receptores, así como la identificación de la interacción factor de crecimiento-alcohol en las estructuras dentarias;

4. identificar el daño morfológico, estructural y volumétrico del gérmen dentario en presencia de etanol;

5. mediante estudios ultraestructurales y moleculares identificar el daño intercelular e intracelular y, los mecanismos bioquímicos de alteración celular dental.

La génesis craneofacial también se ve determinada por los factores de crecimiento mientras que el alcohol tiene claros efectos sobre el fenotipo facial embrionario, lo que resalta la importancia de realizar estudios *in vivo* e *in vitro* para identificar los factores de crecimiento, receptores y precursores de ellos expresados en los diversos estadios del desarrollo maxilofacial y, la adición de diferentes concentraciones de alcohol en estadios tempranos del desarrollo.

Por otra parte, para intentar aclarar el panorama acerca de las múltiples alteraciones faciales embrionarias generadas por los agentes teratogénicos, el alcohol representa un modelo excepcional que abre las puertas para buscar los mecanismos de acción de otras sustancias teratógenas que también alteran gravemente el entorno embrionario.

X. BIBLIOGRAFIA

1. Abel EL, Billitzke P. Paternal alcohol exposure: paradoxical effect in mice and rats. *Psychopharmacology* 1990; 100:159-64.
2. Astley SJ, Clarren SK. A fetal alcohol syndrome screening tool. *Alcoholism: Clin Exp Res* 1995; 19(6):1565-71.
3. Bannister P, Losowsky MS. Cell receptors and ethanol. *Alcoholism: Clin Exp Res* 1986; 10(6):50s-54s.
4. Barbacid M, Lamballe F, Pulido D, Klein R. The *trk* family of tyrosine protein kinase receptors. *Biochimica et Biophysica Acta* 1991; 1072:115-27.
5. Bauer-Moffett C, Altman J. The effect of ethanol chronically administered to preweanling rats on cerebellar development: a morphological study. *Brain Research* 1977; 119:249-68.
6. Beckman DA, Brent RL. Mechanisms of teratogenesis. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1984; 24:483-500.
7. Beeman CS, Kronmiller JE. Temporal distribution of endogenous retinoids in the embryonic mouse mandible. *Arch Oral Biol* 1994; 39(9):733-9.
8. Bégue-Kirn C, Smith AJ, Ruch JV, et.al. Effect of dentin proteins, transforming growth factor β_1 (TGF β_1) and bone morphogenetic protein 2 (BMP $_2$) on the differentiation of odontoblast in vitro. *Int J Dev Biol* 1992; 36:491-503.
9. Bellone C, Barni T, Pagni L, Balboni GC, Vanelli GB. Growth factors in human tooth development. *Boll Socc Ital Biol Sper* 1990; 66(3):231-8.
10. Bradshaw RA, Ralph A, Steve P. *Oncogenes and growth factors*. England, Elsevier, 1987:123-95.
11. Bratton RL. Fetal alcohol syndrome. How you can help prevent it. *Postgraduate Medicine* 1995; 98(5):197-200.
12. Bronner-Fraser M. Mechanisms of neural crest cell migration. *BioEssays* 1993; 15(4):221-30.

13. Brown NA, Goulding EH, Fabro S. Ethanol embryotoxicity: direct effect on mammalian embryos in vitro. *Sciences* 1979; 206(2):573-5.
14. Burgen AMC, Katchburian E. Morphological types of epithelial-mesenchymal cell contact in odontogenesis. *J Anal* 1982; 135(3):577-84.
15. Burton BBJ, Quirke P, Sorensen CM, Nehlsen-Cannarella SL, Bailey LL, Knight DE. Growth factor expression during rat development: a comparison of TGF β 3, TGF α , FGFb, PDGF and PDGF-R. *Int J Exp Path* 1993; 74:87-96.
16. Butter WT, Ritchie H. The nature and functional significance of dentin extracellular matrix proteins. *Int J Dev Biol* 1995; 39(1):169-79.
17. Byers MR, Schatteman GC, Bothwell M. Multiple functions for NGF receptor in developing, aging and injured rat teeth are suggested by epithelial, mesenchymal and neural immunoreactivity. *Development* 1990; 109:461-71.
18. Byers MR, Mecifi KB, Iadarola MJ. Focal c-fos expression in developing rat molars: correlations with subsequent intradental and epithelial sensory innervation. *Int Dev Biol* 1995; 39:181-9.
19. Cam Y, Neumann MR, Ruch JV. Immunolocalization of transforming growth factor β , and epidermal growth factor receptor epitopes in mouse incisors and molars with a demonstration of in vitro production of transforming activity. *Archs Oral Biol* 1990; 35(10):813-22.
20. Cam Y, Neumann MR, Oliver L, Raulais D, Janet T, Ruch JV. Immunolocalization of acidic and basic fibroblast growth factors during mouse odontogenesis. *Int J Dev Biol* 1992; 36:381-9.
21. Canalis E, McCarthy T, Centrella M. Growth factors and the regulation of bone remodeling. *J Clin Invest* 1988; 81:277-81.
22. Canalis E, McCarthy L, Centrella M. Growth factors and cytokines in bone cell metabolism. *Annu Rev Med* 1991; 42:17-24.
23. Carpenter G, Cohen S. Human epidermal growth factor and the proliferation of human fibroblast. *J Cell Physiol* 1975; 88:227-38.
24. Carpenter G, Cohen S. 125 I-labeled human EGF. *The Journal of Cell Biology* 1976; 71:159-71.

25. Cartwright MM, Smith SM. Stage-dependent effects of ethanol on cranial neural crest cell development: partial basis for the phenotypic variations observed in fetal alcohol syndrome. *Alcoholism: Clin Exp Res* 1995; 19(6):1454-62.
26. Cauchi J, Alcorn D, Cancilla B, Berka JL, et al. Light-microscopic immunolocalization of fibroblast growth factor-1 and -2 in adult rat kidney. *Cell Tissue Res* 1996; 285:179-87.
27. Chai Y, Mah A, Crohin C, Groff S, Bringas Jr, Le T, Santos V, Slavkin HC. Specific transforming growth factor- β subtypes regulate embryonic mouse Meckel's cartilage and tooth development. *Dev Biol* 1994; 162:85-103.
28. Chiou JS, Krishna PR, Kamaya H, Veda I. Alcohols dehydrate lipid membranes: an infrared study on hydrogen bonding. *Biochimica et Biophysica Acta* 1992; 1110:225-33.
29. Cho MI, Garan PR, Lee YL. Periodontal ligament fibroblast, preosteoblasts and prechondrocytes express receptors for epidermal growth factor in vivo: A comparative radioautographic study. *J Periodont Res* 1988; 23:287-94.
30. Cohen S, Carpenter G. Human epidermal growth factor: isolation and chemical and biological properties. *Proc Nat Acad Sci* 1975; 72(4):1317-21.
31. Cordon-Cardo C, Vlodavsky Y, Haimovitz-Friedman A, Hicklin D, Fuks Z. Expression of basic fibroblast growth factor in normal human tissue. *Lab Inv* 1990; 63(6):832-40.
32. Couve E. Ultrastructural changes during the life cycle of human odontoblast. *Archs Oral Biol* 1986; 31(10):643-51.
33. Cummings EG, Bringas P, Grodin MS, Slavkin HC. Epithelial-directed mesenchyme differentiation in vitro. Model of murine odontoblast differentiation mediated by quail epithelia. *Differentiation* 1981; 20:1-9.
34. Dannecker JR, Shaskan EG, Phillips M. A new highly sensitive assay for breath acetaldehyde: detection of endogenous levels in humans. *Analytical Biochemistry* 1981; 114:1-7.

35. Day NL, Robles N, Richardson G, Geva D, Taylor P, Scher M, Stoffer D, Cornelius M, Golsschmidt L. The effect of prenatal alcohol use on the growth of children at three years of age. *Alcoholism: Clin Exp Res* 1991; 15(1):67-71.
36. Desroches D, Ryan K, Vleck E, Benno RH. Effects of acute in utero, alcohol exposure on growth and electrolyte metabolism in male offspring of C57BL/10J mice. *Alcohol and Drug Research* 1987; 7:415-22.
37. D'Souza RN, Happonen RP, Ritter NM, Butler WT. Temporal and spatial patterns of transforming growth factor- β 1 expression in developing rat molars. *Archs Oral Biol* 1990; 35(12):957-65.
38. D'Souza RN, Happonen RP, Flanders KC, Butler WT. Histochemical localization of transforming growth factor β 1 in developing rat molars using antibodies to different epitopes. *J Biol Buccale* 1990; 18(4):299-306.
39. D'Souza RN. Analysis of tooth development in mice bearing a TGF β 1 null mutation. *Connect Tiss Res* 1995; 32(1-4):41-6.
40. Edwards HG, Dow-Edwards DL. Craniofacial alterations in adult rats prenatally exposed to ethanol. *Teratology* 1991; 44:373-8.
41. Ekblom P, Ekblom M, Fecker L, et al. Role of mesenchymal nidogen for epithelial morphogenesis in vitro. *Development* 1994; 120:2003-14.
42. Elder JT. Transforming growth factor α and related growth factors. In: Luger TA, Schwarz T. *Epidermal growth factors and cytokines*. USA, Dekker, 1994:205-75.
43. Epstein DL, Sucheston ME. Morphometric analysis of the craniofacial development of the CD-1 mouse fetus exposed to alcohol on gestational day eight. *J Craniof Gen Dev Biol* 1987; 7:267-83.
44. Erickson CA, Turley EA. The effect of epidermal growth factor on neural crest cells in tissue culture. *Exp Cell Res* 1987; 169:267-79.
45. Estes NJ. *Alcoholismo: desarrollo, consecuencias y tratamiento*. España, Interamericana, 1989:97-210.

46. Farley JR, Fitzsimmons R, Taylor AK, Jorch UM, Lau KHW. Direct effects of ethanol on bone resorption and formation in vitro. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1985; 238(1):305-14.
47. Fisher SE, Atkinson M, Van Thiel DH, Rosonblum E, Ron David, Holzman Y. Selective fetal malnutrition: the effect of ethanol and acetaldehyde upon in vitro uptake of alpha amino isobutyric acid by human placenta. *Life Sciences* 1981; 29(12):1283-8.
48. Fisher SE. Ethanol and fetal/postnatal growth. *Alcoholism: Clin Exp Res* 1991; 15(6):903-4.
49. Formigli L, Fiorelli G, Benvenuti S, et al. Insulin-like growth factor-I stimulates in vitro migration of preosteoclast across bone endothelial cells. *Cell Tiss Res* 1997; 288:101-10.
50. Gans C. Craniofacial growth, evolutionary questions. *Development Suppl* 1988; (103):3-15.
51. Garbarsch C, Matthiesson ME, Olson BE, Mio D, Kirkoby S. Immunohistochemistry of the intercellular matrix components and the epithelio-mesenchymal junction of the human tooth germ. *Histochemical Journal* 1994; 26:110-8.
52. Gerhart MJ, Reed BY, Vooch RL. Ethanol inhibits some of the early effects of epidermal growth factor in vivo. *Alcoholism: Clin Exp Res* 1988; 12(1):116-8.
53. Gerhart MJ, Reed BY, Vooch RL. Epidermal growth factor binding in the presence of ethanol. *Alcohol Research from Bench to Bedside*:209-11.
54. Geva D, Goldschmidt L, Stoffer D, Day NL. A longitudinal analysis of the effect of prenatal alcohol exposure on growth. *Alcoholism: Clin Exp Res* 1993; 17(6):1124-9.
55. Gibson W, Schroeder F. Membrane effects of ethanol: bulk lipid versus lipid domains. *Life Sciences* 1988; 43(6):467-75.
56. Giese AC. *Fisiología celular y general*. México, Interamericana, 1973.
57. Gir AV. A cephalometric assessment of children with fetal alcohol syndrome. *Am J Orthod Dentof Orthop* 1989; 95:319-26.
58. Goldberg M, Septier D, Lècolle S, et al. Dental mineralization. *Int J Dev Biol* 1995; 39(1):93-110.

59. González, AM, Buscaglia M, Ong M, Andrew B. Distribution of basic fibroblast growth factor in the 18-day rat fetus: localization in the basement membranes of diverse tissues. *The Journal of Cell Biology* 1990; 110:753-65.
60. Gorski JP. Current concepts of the biology of tooth eruption. *Critical Reviews in oral Biology and Medicine* 1992; 3(3):185-206.
61. Gorter De Vries I, Quartier E, Boute P, Wisse E, Coomans D. Immunocytochemical localization of osteocalcin in developing rat teeth. *J Dental Res* 1987; 66(3):784-90.
62. Green H, Morikawa M, Nixon T. A dual effector theory of growth-hormone action. *Differentiation* 1985; 29:195-8.
63. Green T, Ernhart CB, Sokol RJ, Martier S, Boyd TA, Ager J. Prenatal alcohol exposure and preschool physical growth: a longitudinal analysis. *Alcoholism: Clin Exp Res* 1991; 15(6):905-13.
64. Griffiths JC. The effect of TGF β 1 on the mortality of osteoblast like cells. *Am J Orthod Dentof Orthop* 1992; 102 (4):389.
65. Hassler JA, Moran DJ. The effects of ethanol on embryonic actin: A possible role in teratogenesis. *Experientia* 1986; 42:575-7.
66. Hay MF. The development in vivo and in vitro of the lower incisor and molars of the mouse. *Archs Oral Biol* 1961; 3:86-109.
67. Heath JK. *Growth factors*. England, IRL Press, 1993.
68. Heikinheimo K, Happonen RP, Miettinen PJ, Rittvos O. Transforming growth factor β_2 in epithelial differentiation of developing teeth and odontogenic tumors. *J Clin Invest* 1993; 91:1019-27.
69. Heikinheimo K. Stage-specific expression of decapentaplegic-Vg-related genes 2, 4 y 6 (bone morphogenetic proteins 2, 4 and 6) during human tooth morphogenesis. *J Dent Res* 1994; 73(3):590-7.
70. Hogan BLM, Blessing M, Winnier GE, Suzuki N, Jones M. Growth factors in development: the role of TGFbeta related polypeptide signalling molecules in embryogenesis. *Development Suppl* 1994; 53-60.
71. Holland GR. The odontoblast process: form and function. *J Dent Res* 1985; 64(Spec Iss):499-514,

72. Hoyseth KS, Jones PJH. Minireview: ethanol induced teratogenesis: characterization, diagnostic approaches. *Life Science* 1989; 44(10):643-9.
73. Hu CC, Sakakura Y, Sasano Y, et al. Endogenous epidermal growth factor regulates the timing and patterns of embryonic mouse molar tooth morphogenesis. In *J Dev Biol* 1992; 36:505-15.
74. Hu CC, Bringas P, Chu T, Santos V, Slavkin HC. Growth-promoting effect of insulin and insulin-like growth factors on embryonic mouse molars (Abstract). *J Dent Res* 1993; 54:110.
75. Hungerford DW, Hymbaugh KJ, Floyd RL. Alcoholismo durante el embarazo. *Mundo Médico* 1995; 39-50.
76. Hunter T. Proteínas de oncogenes. *Investigación y Ciencia* 1984; 97:48-58.
77. Jacobson JL, Jacobson SW, Sokol RJ. Effects of prenatal exposure to alcohol, smoking and illicit drugs on postpartum somatic growth. *Alcoholism: Clin Exp Res* 1994; 317-23.
78. Johnston MC, Bronsky PT. Prenatal craniofacial development: new insights on normal and abnormal mechanisms. *Crit Rev Oral Biol Med* 1995; 6(4):368-422.
79. Jones CM, Lyons KM, Hogan BLM. Involvement of bone morphogenetic protein-4 (BMP₄) y Vgr-1 en la morfogenesis y neurogenesis en el ratón. *Development* 1991; 111:531-42.
80. Joseph BK, Savage NW, Young WG, Waters MJ. Prenatal expression of growth hormone receptor/binding protein and insulin-like growth factor-I (IGF-I) in the enamel organ. Role for growth hormone and IGF-I in cellular differentiation during early tooth formation?. *Anat Embryol Berl* 1994; 189(6):489-94.
81. Joseph BK, Savage NW, Young WG, Waters MJ. Insulin-like growth factor-I receptor in the cell biology of the ameloblast: an immunohistochemical study on the rat incisor. *Epithelial Cell Biol* 1994; 3(2):47-53.
82. Kaplowitz PB, D'Ercole AJ, Underwood LE. Stimulation of embryonic mouse limb bud mesenchymal cell growth by peptide growth factors. *Journal of Cellular Physiology* 1982; 112:353-9.
83. Keller M. A historical overview of alcohol and alcoholism. *Cancer Research* 1979; 39:2822-9.

- 84.Kingsley DM. The TGF β superfamily: new member, new receptors and new genetic tests of function in different organisms. *Genes and development* 1994; 8:133-46.
- 85.Korsten MA, Matsuzaki S, Feinman L, Lieber CS. High blood acetaldehyde levels after ethanol administration. Difference between alcoholic and nonalcoholic subjects. *The New England Journal of Medicine* 1975; 292(8):386-9.
- 86.Kronick JB. Teratogenic effects of ethyl alcohol administered to pregnant mice. *Am J Obstet Gynecol* 1976; 124(7):676-80.
- 87.Kronmiller JE, Upholt WB, Kollar EJ. EGF antisense oligodeoxynucleotides block murine odontogenesis in vitro. *Dev Biol* 1991; 147:485-8.
- 88.Kronmiller JE, Upholt WB, Kollar EJ. Alteration of murine odontogenic patterning and prolongation of expression of epidermal growth factor mRNA by retinol in vitro. *Arch Oral Biol* 1992; 37(2):129-38.
- 89.Kronmiller JE. The effects of retinoids and growth factors on first branchial arch development. *Am J Orthod Dentof Orthop* 1992; 102(4):390.
- 90.Kronmiller JE. Spatial distribution of epidermal growth factor transcripts and effects of exogenous epidermal growth factor on the pattern of the mouse dental lamina. *Arch Oral Biol* 1995; 40(2):137-43.
- 91.Leichter J, Lee M. Effect on maternal ethanol administration on physical growth of the offspring in rats. *Growth* 1979; 43:288-97.
- 92.Leichter J. Effect of paternal alcohol ingestion on fetal growth in rats. *Growth* 1986; 50:228-33.
- 93.Levi-Montalcini R. The nerve growth factor 35 years later. *Science* 1987; 237:1154-62.
- 94.Lian JB, Stein GS. The developmental stages of osteoblast growth and differentiation exhibit selective responses of genes to growth factors (TGF β 1) and hormones (vitamin D and glucocorticoids). *Journal of Oral Implantology* 1993; XIX(Two):95-105.
- 95.Lieber CS. Biochemical and molecular basis of alcohol-induced injury to liver and other tissues. *The New England Journal of Medicine* 1988; 319(25):1639-49.
- 96.Lieber CS. Metabolic effects of acetaldehyde. *Biochemical Society Transactions Meeting, London* 1980; 16:241-6.

97. Lin F, Wise G. Effect of epidermal growth factor on expression of transforming growth factor- β 1 mRNA in stellate reticulum cells of rat mandibular molars. *Developmental Dynamics* 1993; 198:22-7.
98. Linde A, Goldberg M. Dentinogenesis. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 1993; 4(5):679-728.
99. Llorca, OF, *Cómo somos al nacer*. España, Doyma, 1990.
100. Luger T, Shwarz T. *Epidermal growth factors and cytokines*. USA, Dekker, 1994.
101. Lumsden AGS. Spatial organization of the epithelium and the role of neural crest cells in the initiation of the mammalian tooth germ. *Dev Suppl* 1988; 103:155-69.
102. Lynch SE, Williams RC, Polson AM, et al. A combination of platelet-derived and insuline-like growth factors enhances periodontal regeneration. *J Clin Periodontol* 1989; 16:545-8.
103. Lyons, RM, Moses HL. Transforming growth factors and the regulation of cell proliferation. *Eur J Biochem* 1990; 187:467-73.
104. Mackenzie A, Leeming GL, Jowett AK, Ferguson WJ, Sharpe PT. The homeobox gene Hox 7.1 has specific regional and temporal expression patterns during early murine craniofacial embryogenesis, especially tooth development in vivo and in vitro. *Development* 1991; 113:269-85.
105. Mac Neil, RL, Somerman MJ. Molecular factors regulating development and regeneration of cementum. *J Period Res* 1993; 28:550-9.
106. Marks SC. Tooth eruption and bone resorption: experimental investigation of the ia (osteopetrotic) rat as a model for studying their relationships. *J Oral Pathology* 1976; 5:149-63.
107. Marks SC, Gorski JP, Wise GE. The mechanisms and mediators of tooth eruption-Models for developmental biologists. *Int J Dev Biol* 1995; 39(1):223-30.
108. Marquardt H, Hunkapiller MW, Todaro GJ. Rat transforming growth factor type 1: structure and relation to epidermal growth factor. *Science* 1983; 223:1079-82.
109. Martineau-Doizé B, Warshawsky KD, Lai WH, Bergeron JJ. Localization of epidermal growth factor receptors in cells of the enamel organ of the rat incisor. *Dev Biol* 1991; 148:590-601.
110. Mason IJ. The ins and outs of fibroblast growth factors. *Cell* 1994; 78:547-52.

111. Matsuda N, Lin WL, Kumar NM, Cho MI, Genco RJ. Mitogenic, chemotactic, and synthetic responses of rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro. *J Periodontol* 1992;63(6):515-25.
112. Matthiessen ME, Romert P. Changes of secretory ameloblast in mini-pig fetus exposed to ethanol in vivo. *J Dent Res* 1988; 67(11):1402-4.
113. Mayo M, Bringas P, Chen L, et al. Morphogenetic effects of acidic fibroblast growth factor on mouse molars. *J Dent Res (Abstract)* 1993; 53:110.
114. Mayo ML, Akiyama N, Shum L, et al. Effects on TGF α on tongue and tooth development (Abstract). *J Dent Res* 1994; 73:179.
115. Mc Kay Y, Leight Y. Growth factors. Great Britain, A practical approach, 1993.
116. Mehl, LE, Manchanda S. Use of chaos theory and complex systems modeling to study alcohol effects on fetal condition. *Computers and Biomedical Research* 1993; 26:424-48.
117. Mendley SR, Toback FG. Autocrine and paracrine regulation of kidney epithelial cell growth. *Annu Rev Physiol* 1988; 51:33-50.
118. Mercola M, Stiles CD. Growth factor superfamilies and mammalian embryogenesis. *Development* 1988; 102:451-60.
119. Meyer JM, Ruch JV, Kobbler MD, Kupferle C, Leson H. Cultured incisors display major modifications in basal lamina deposition without further effect on odontoblast differentiation. *Cell Tiss Res* 1995; 279:135-47.
120. Miller MW. Migration of cortical neurons is altered by gestational exposure to ethanol. *Alcoholism: Clin Exp Res* 1993; 17(2):304-14.
121. Mitsiadis T, Magloire H. Epidermal growth factor in tooth development. *Actual Odontostomatol Paris* 1990; 44(170):257-70.
122. Mitsiadis TA, Dicou E, Joffre A, Magloire H. Immunohistochemical localization of nerve growth factor (NGF) and NGF receptor (NGF-R) in the developing first molar tooth of the rat. *Differentiation* 1992; 49:47-61.

123. Mitsiadis, TA, Couble P, Dicou E, Rudkin BB, Magloire H. Patterns of nerve growth factor (NGF), proNGF and pro75^{NGF} receptor expression in the rat incisor: comparison with expression in the molar. *Differentiation* 1993; 54:161-75.
124. Mitsiadis TA, Maquin D, Dicou E, Magloire H. Localization on NGF its p75 receptor in developing human teeth (Abstract). *J Dent Res* 1993; 58:111.
125. Mitsiadis TA, Luukko K. Neurotrophins in odontogenesis. *Int J Dev Biol* 1995; 39:195-202.
126. Mitsiadis TA, Muramatsu T, Muramatsu H, Thesleff I. Midkine (MK), a heparine-binding growth factor is regulated by retinoic acid and epithelial-mesenchymal interactions in the developing mouse tooth and affects cell proliferation and morphogenesis. *The Journal of Cell Biology* 1995; 129(1):267-81.
127. Moon-II , Lee YL, Garant PR. Radioautographic demonstration of receptors for epidermal growth factor in various cells of the oral cavity. *The Anatomical Record* 1988; 222:191-200.
128. Moore KL. *Embriología clínica. México, Interamericana, 1988:1-97.*
129. Mroczkowski B, Ball R. Epidermal growth factor: biology and properties of its gene and protein precursor. In: Habenicht A. *Growth factors, differentiation factors and cytokines.* Berlin, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1990:18-21.
130. Mühlhauser J, Marzioni D, Morrioni M, Vuckovic M, Crescimanno C, Castellucci M. Codistribution of basic fibroblast growth factor and heparan sulfate proteoglycan in the growth zones of human placenta. *Cell Tiss Res* 1996; 285:101-7.
131. Nakashima M, Nagasawa H, Yamada Y, Reddi AH. Regulatory role of transforming growth factor- β , bone morphogenetic protein-2, and protein -4 on gene expression of extracellular matrix proteins and differentiation of dental pulps cells. *Dev Biol* 1994; 162:18-28.
132. Narayanan SA, Yonemura K. Purification and characterization of a novel growth factor from cementum. *J Periodont Res* 1993; 28:563-5.
133. Niswander L, Martin GR. Fgf-4 expression during gastrulation, myogenesis, lumb and tooth development in the mouse. *Dev* 1992; 114:755-68.

134. Nosrat CA, Tomac A, Lindquist E, et al. Cellular expression of GDNF mRNA suggests multiple functions inside and outside the nervous system. *Cell Tiss Res* 1996; 286:191-207.
135. Oullette EM, Rossett HL, Rosman NP, Weiner L. Adverse effects on offspring of maternal alcohol abuse during pregnancy. *The New England Journal of Medicine* 1977; 297: 528-30.
136. Oullette EM. The fetal alcohol syndrome. *Journal of Dentistry for Children* 1984; May-Jun:222-4.
137. Partanen AM, Thesleff I, Ekblom P. Transferrin is required for early tooth morphogenesis. *Differentiation* 1984; 27:59-66.
138. Partanen AM, Ekblom P, Thesleff I. Epidermal growth factor inhibits morphogenesis and cell differentiation in cultured mouse embryonic teeth. *Dev Biol* 1985; 111:84-94.
139. Partanen AM, Thesleff I. Localization and quantitation of ¹²⁵I-epidermal growth factor binding in mouse embryonic tooth and other embryonic tissues at different development stages. *Dev Biol* 1987; 120:186-97.
140. Pelton RW, Saxena B, Jones M, Moses HL, Gold LI. Immunohistochemical localization of TGF β_1 , TGF β_2 , and TGF β_3 in the mouse embryo: expression patterns suggest multiple roles during embryonic development. *The Journal of Cell Biology* 1991; 115(4):1091-105.
141. Popliker M, Shatz A, Avivi A, Ullrich A, Schlessinger J, Webb C. Onset of endogenous epidermal growth factor in neonatal mice. *Dev Biol* 1987; 119:38-44.
142. Poswillo D. The etiology and pathogenesis of craniofacial deformity. *Dev Suppl* 1988; 103:207-12.
143. Rakowick-Szokynska EM. Nuclear localization of growth factor and of monoclonal antibodies.
144. Ress TD. Oral effects of drugs abuse. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 1992; 3(3):163-84.
145. Rhodes JA, Fitzgibbon DH, Macchiarulo PA, Murphy RA. Epidermal growth factor-induced precocious incisor eruption is associated with decreased tooth size. *Dev Biol* 1987; 121:247-52.
146. Rifkin DB, Moscatelli D. Recent developments in the cell biology of basic fibroblast growth factor. *The Journal of Cell Biology* 1989; 109:1-6.

147. Rihniemi L, Thesleff I. An autoradiographic study on the effect of epidermal growth factor on cell proliferation in erupting mouse incisors. *Archs Oral Biol* 1987; 32(12):859-63.
148. Roberts AB, Lamb LC, Newton DL, Sporn MB, De Larco JE, Todaro G. Transforming growth factors: isolation of polypeptides from virally and chemically transformed cells by acid/ethanol extraction. *Proc Natl Acad Sci* 1980; 77(6):3494-8.
149. Robinson C, Kirkham J, Brookes SJ, Bonass WA, Shore RC. The chemistry of enamel development. *Int J Dev Biol* 1995; 39(1):145-52.
150. Rosenblum IY, Heyner S. Growth factors in mammalian development. USA, CRS Press, 1989.
151. Ross R, Raines EW. Platelet-derived growth factor and cell proliferation. In: Sara VK, et al. *Growth Factors. From genes clinical application*. New York, Raven Press, 1990:193-4.
152. Rottenberg H. Probing the interactions of alcohol with biological membranes with the fluorescent probe prodant. *Biochemistry* 1992; 31:9473-81.
153. Ruch JV, Karcher-Djuricic V, Thiebold J. Cell division and cytodifferentiation of odontoblast. *Differentiation* 1976; 5:161-9.
154. Ruch JV. Odontoblast differentiation and the formation of the odontoblast layer. *J Dent Res* 1985; 64(Spec Iss):489-98.
155. Ruch JV, Lesot H, Bègue-Kirn C. Odontoblast differentiation. *Int J Dev Biol* 1995; 39(1):51-68.
156. Rush RA, Williams R, Wilson PA, Vahaviolos J, McGowan R. Histological identification of nerve growth factor and its mRNA. In: Rush RA. *Nerve Growth Factors*, John Wiley & Sons Ltd, 1989:171-90.
157. Russo VEA. *Development: the molecular genetic approach*. Berlin, Springer, 1992:1-605.
158. Sandor SE. The influence of ethyl-alcohol on the development of the chick embryo. *Rev roum Embryol Cytol-Série Embryol*; 8/1:51-76.
159. Sandor S, Doina A. The action of ethanol on the prenatal development of albino rats. *Rev roum Embryol Cytol-Série Embryol*; 8/1:105-17.

- 160.Sasano Y, Ohtani E, Narita K, et al. BMPs induce direct bone formation in ectopic sites independent of the endochondral ossification in vivo. *The Anatomical Record* 1993; 236:373-80.
- 161.Schatteman GC, Morrison-Graham K, Van Koppen A, Weston JA, Bowen-Pope DF. Regulation and role of PDGF receptor α -subunit expression during embryogenesis. *Development* 1992; 115:123-31.
- 162.Selleck MAJ, Scherson TY, Bronner-Fraser M. Origins of neural crest cell diversity. *Dev Biol* 1993; 159:1-11.
- 163.Slavkin HC. Gene regulation in the development of oral tissues. *J Dent Res* 1988; 67(9):1142-9.
- 164.Slavkin HC, Snead ML, Zeichner-David M, et al. Factors influencing the expression of dental extracellular matrix biomineralization. *Cell and molecular biology of vertebrate hard tissues* 1988;136:22-41.
- 165.Slavkin HC. Antisense oligonucleotides: an experimental strategy to advance a causal analysis of development. *Int J Dev Biol* 1995; 39(1):123-6.
- 166.Snead ML, Luo W, Oliver P, et al. Localization of epidermal growth factor precursor in tooth and lung during embryonic mouse development. *Dev Biol* 1989; 134:420-9.
- 167.Spohr HD, Wilms J, Steinhausen HC. Prenatal alcohol exposure and long-term developmental consequences. *The Lancet* 1993; 341(8850):907-10.
- 168.Steidler EN, Reade PC. Epidermal growth factor and proliferation of odontogenic cells in culture. *J Dent Res* 1981; 60(12):1977-82.
- 169.Stemple DL, Anderson DJ. Lineage diversification of the neural crest: in vitro investigations. *Development Biology* 1993; 159:12-23.
- 170.Stephens P, Al-Khateeb T, Davies KJ, Shepherd JP, Thomas DW. An investigation of the interaction between alcohol and fibroblast in wound healing. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1996; 25:161-4.
- 171.Streisguth AP, Aase JM, Clarren SK, Randels SP, LaDue RA, Smith DF. Fetal alcohol syndrome in adolescents and adults. *JAMA* 1991; 265(15):1961-7

172. Suga H, Kuma K, Iwabe N, et al. Intermittent divergence of the protein tyrosine kinase family during animal evolution. *FEBS Letters* 1997; 412:540-6.
173. Sulik KK, Malcolm CJ, Webb MA. Fetal alcohol syndrome: embryogenesis in a mouse model. *Science* 1981; 214(20):936-8.
174. Sulik KK. Craniofacial defects from genetic and teratogen-induced deficiencies in presomite embryos. *Birth Defects* 1984; 20(3):79-98.
175. Sulik KK, Cook CS, Webster WS. Teratogens and craniofacial malformations: relationships to cell death. *Development Suppl* 1988; 103:213-32.
176. Tagliaro F, Lubli G, Ghilmi S, Franchi D, Marigo M. Chromatographic methods for blood alcohol determination. *Journal of Chromatography* 1992; 580:161-90.
177. Ten Cate AR. Odontoblast. *J Dent Res* 1985; 64 (Spec Iss):549-51.
178. Ten Cate AR. *Histología oral. Desarrollo, estructura y función*. Argentina, Panamericana, 1986.
179. Terranova VP, Wilkesjö UME. Extracellular matrices and polypeptide growth factors as mediators of function of cells of the periodontium. *J Periodontol* 1986; 58(6):371-7.
180. Thesleff I, Lehtonen E, Wartiovaara J, Saxón L. Interference of tooth differentiation with interposed filters. *Dev Biol* 1977; 58:197-203.
181. Thesleff I, Ekblom P, Kesk-Oja J. Inhibition of morphogenesis and stimulation of vascular proliferation in embryonic tooth cultures by a sarcoma growth factor preparation. *Cancer Res* 1983; 43:5902-9.
182. Thesleff I, Partanen AM, Rithniemi L. Localization of epidermal growth factor receptors in mouse incisors and human premolars during eruption. *Eur J Orthod* 1987; 9:24-32.
183. Thesleff I. Does epidermal growth factor control tooth eruption?. *Journal of Dentistry for Children* 1987; Sep-Oct.:321-8.
184. Thesleff I. Epithelial cell rosts of Melessoz bind epidermal growth factor intensely. *Journal of Periodontal Research* 1987; 22:419-21.

185. Thesleff I. Homeobox genes and growth factors in regulation of craniofacial and tooth morphogenesis. *Acta Odontol Scand* 1995; 53:129-34.
186. Thesleff I, Vaahtokari A, Partanen AM. Regulation of organogenesis. Common molecular mechanisms regulating the development of teeth and other organs. *Int J Dev Biol* 1995; 39:35-50.
187. Thesleff I, Vaahtokari A, Kettunen P, Aberg T. Epithelial-mesenchymal signalling during tooth development. *Connect Tissue Res* 1995; 32(1-4):9-15.
188. Thorogood P, Ferrettis P. Heads and tails: recent advances in craniofacial development. *Br Dent J* 1992; 173:301-6.
189. Topham RT, Chiego DJ, Gattone VH, Hinton DA, Klein RM. *Dev Biol* 1987; 124:532-43.
190. Tsuzuki H, Kitamura H. Immunohistochemical analysis of pulpal innervation in developing rat molars. *Archs Oral Biol* 1991; 36(2):139-46.
191. Vaahtokari A, Vainio S, Thesleff I. Associations between transforming growth factor β_1 RNA expression and epithelial-mesenchymal interactions during tooth morphogenesis. *Development* 1991; 113:985-94.
192. Vainio S, Karavanova I, Jowett A, Thesleff I. Identification of BMP₄ as a signal mediating second induction between epithelial and mesenchymal tissues during early tooth development. *Cell* 1993; 75:45-58.
193. Vainio S, Karavanova I, Thesleff I. Bone morphogenetic protein (BMP 2 and 4) and epithelial-mesenchymal signalling during tooth morphogenesis. *J Dent Res (Abstract)* 1993; 53:110.
194. Walicke PA. Novel neurotrophic factors, receptors and oncogenes. *Ann Rev Neurosci* 1989; 12:103-26.
195. Waltman R, Iniquez ES. Placental transfer of ethanol and its elimination at term. *Obstetrics and Gynecology* 1972; 40(2):180-5.
196. Webb S, Hochberg MS, Sher MR. Fetal alcohol syndrome: report of case. *JADA* 1988; 116:196-8.
197. Weston WM, Greene RM. Effects of ethanol on cAMP production in murine embryonic palate mesenchymal cells. *Life Sciences* 1991; 49:489-94.

198. Weston WM, Greene RM, Uberti M, Pisano M. Ethanol effects on embryonic craniofacial growth and development: implications for study of the fetal alcohol syndrome. *Alcoholism: Clin Exp Res* 1994; 18(1):177-82.
199. Wiener SG, Shoemaker WJ, Koda LY, Bloom FE. Interaction of ethanol and nutrition during gestation: influence on maternal and offspring development in the rat. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1981; 216:572-9.
200. Wise GE, Fan W. Immunolocalization of transforming growth factor β in rat molars. *J Oral Pathol Med* 1991; 20:74-80.
201. Wise GE, Lin F, Wu ZG. Effects of EGF on TGF β 1 mRNA (Abstract). *J Dent Res* 1993; 61:111.
202. Wise GE, Lin F. The molecular biology of initiation of tooth eruption. *J Dent Res* 1995; 74 (1): 303-6.
203. Wood N, Turner JW. Fetal alcohol syndrome: a review. *Journal of Dentistry for Children* 1981; May-Jun:198-200.
204. Young WG, Ruch JV, Stevens MR, et al. Comparison of the effects of growth hormone, insulin-like growth factor -I and fetal calf serum on mouse molar odontogenesis in vitro. *Archs Oral Biol* 1995; 40(9):789-99.
205. Tze WJ, Lee M. Adverse effects of maternal alcohol consumption on pregnancy and foetal growth in rats. *Nature* 1975; 257:479-80.
206. Zeichner-David M, Diekwisch T, Fincham A, et al. Control of ameloblast differentiation. *Int J Dev Biol* 1995; 39(1):69-92.

XI. GLOSARIO

Autoradiografía. Fotografía de tejidos o secciones de tejidos inyectados con sustancias radioactivas y cubiertos con una emulsión gelatinosa fotográfica que se revela después de una exposición suficiente a los rayos emitidos por la sustancia radioactiva.

BDGF. Factor de crecimiento derivado del cerebro.

BMP. Proteína morfogenética del hueso.

Dalton. Unidad de masa atómica equivalente a $1/16$ de la masa del átomo de oxígeno.

dpp. Proteína decapentapléctica.

EGF. Factor de Crecimiento epidermal.

EGF-R. Receptor del factor de crecimiento epidermal.

Epigenético. Teoría de Wolff que supone que el desarrollo avanza de una célula sin estructura y consiste en la función y adición sucesiva de nuevas parte.

Fenotipo. Es el conjunto de caracteres hereditarios (genotipo) adquiridos o condicionales (paratipo) que determinan la constitución particular de cada individuo.

FGFa. Factor de crecimiento de los fibroblastos ácido.

FGFb. Factor de crecimiento de los fibroblastos básico.

FGF-R. Receptor del factor de crecimiento de los fibroblastos.

Genotipo. Es el conjunto de genes que determinan las características hereditarias de un individuo.

GDNF. Factor neurotrópico derivado de las células gliales.

IGF-I. Factor de crecimiento parecido a la insulina tipo I.

IGF-II. Factor de crecimiento parecido a la insulina tipo II.

IGF-R. Receptor del factor de crecimiento parecido a la insulina.

Micrómetro (μm). Micrón o micra. Millonésima parte de 1 m (1×10^{-6}) ó milésima parte de un milímetro.

Mitógeno. Que produce o genera mitosis.

Mitkine. Factor de crecimiento del gen MK.

Mol. Molécula-gramo. Peso molecular en gramos.

Molar (M). Molécula-gramo de un soluto en un volumen definido de solución, ordinariamente 1 litro.

NGF. Factor de crecimiento neurotrópico.

NGF-R. Receptor del factor de crecimiento neurotrópico.

NTF. Factor neurotrópico.

NTF-R. Receptor del factor neurotrópico.

PDGF. Factor de crecimiento derivado de las plaquetas.

PDGF-R. Receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas.

Picomolar. Unidad de peso equivalente a 10^{-12} molar.

Quinasa (cinasa). Enzima que transfiere el grupo fosfato terminal de los trifosfatos de nucleótidos (ATP, GTP, etc.) al correspondiente sustrato.

Relaxina. Hormona del cuerpo lúteo, que genera la relajación de los ligamentos de la pelvis en el embarazo.

Replicación. Proceso por el cual una molécula de ADN origina otra idéntica a la preexistente.

SGF. Factor de crecimiento del sarcoma.

TGF α . Factor de crecimiento transformante alfa.

TGF β . Factor de crecimiento transformante beta.

TGF β -R. Receptor del factor de crecimiento transformante beta.

Timidina tritlada. Marcador bioquímico de moléculas proteicas o esteroides.

Transcripción. Síntesis de ARNm, ARNt o ARNr de acuerdo con la plantilla de ADN correspondiente.

Transferrina. Globulina β , presente en el plasma, que se combina con el hierro y sirve como vehículo de éste.

VV El porcentaje del volumen total contribuido por el volumen de la especie adicionada a la solución.

XII. APENDICE

Cuadro 1 Expresión de los factores de crecimiento en los estadios de iniciación y brote del gérmen dentario.

Epitelio oral	*			*	*					
Mesénquima oral				*	*			*		
Membrana basal					*					
Lámina dental	*		*	*	*	*	*	*		
Yema dental	*			*	*	*	*		*	

EGF	SGF	TGF α	FGF α	IGF-I	NGF	PDGF	TGF β	BMP	GDNF
EGF-R			FGF β	IGF-II	NGF-R	PDGF-R			

- EGF. Factor de crecimiento epidérmico.
- EGF-R. Receptor del factor de crecimiento epidérmico.
- SGF. Factor de crecimiento del sarcoma.
- TGF α . Factor de crecimiento transformante alfa.
- FGF α . Factor de crecimiento de los fibroblastos ácido.
- FGF β . Factor de crecimiento de los fibroblastos básico.
- IGF-I. Factor de crecimiento parecido a la insulina tipo I.
- IGF-II. Factor de crecimiento parecido a la insulina tipo II.
- NGF. Factor de crecimiento neurotrópico.
- NGF-R. Receptor del factor de crecimiento neurotrópico.
- PDGF. Factor de crecimiento derivado de las plaquetas.
- PDGF-R. Receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas.
- TGF β . Factor de crecimiento transformante beta.
- BMP. Factor de crecimiento morfogenético del hueso.
- GDNF. Factor neurotrópico derivado de las células gliales.

Cuadro 2 Factores de crecimiento expresados en el estadio de campana del górmén dentario.

Organo dental					*		*	*		
	*							*	*	
Epitelio externo	*				*			*		
						*				
Epitelio interno	*				*	*		*		*
						*				
Epitelio intermedio				*						
	*			*		*		*		
Reticulo estrellado			*	*		*		*	*	
	*									
Lámina basal	*									
	*				*	*		*		
Papila dental	*	*			*	*		*	*	*
	*			*		*		*		
Folículo dental						*		*		
	*					*				

EGF			FGFa	IGF-I	NGF	PDGF	TGFβ		
EGF-R	SGF	TGFα	FGFb	IGF-II	NGF-R	PDGF-R	TGFβ-R	BMP	GDNF

- EGF. Factor de crecimiento epidermal.
- EGF-R. Receptor del factor de crecimiento epidermal.
- SGF. Factor de crecimiento del sarcoma.
- TGFα. Factor de crecimiento transformante alfa.
- FGFa. Factor de crecimiento de los fibroblastos ácido.
- FGF b. Factor de crecimiento de los fibroblastos básico.
- IGF-I. Factor de crecimiento parecido a la insulina tipo I.
- IGF-II. Factor de crecimiento parecido a la insulina tipo II.
- NTF. Factor de crecimiento neurotrópico.
- NTF-R. Receptor del factor de crecimiento neurotrópico.
- PDGF. Factor de crecimiento derivado de las plaquetas.
- PDGF-R. Receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas.
- TGFβ. Factor de crecimiento transformante beta.
- TGFβ-R. Receptor del factor de crecimiento transformante beta.
- BMP. Factor de crecimiento morfogénico del hueso.
- GDNF. Factor neurotrópico derivado de las células glíicas.

Cuadro 3 Expresión de los factores de crecimiento en el estadio de corona del desarrollo dental.

Preodontoblasto	*		*							*	
Odontoblasto secretor (funcional)					*	*		*	*		
Capa sub- odontoblástica					*	*					
Preameloblasto	*			*	*	*		*	*		
Ameloblasto secretor	*			*	*	*		*	*		
Ameloblasto post-secretor						*		*			
Valna radicular de Hertwig	*					*					
Restos epiteliales de Malassez	*										
Ligamento periodontal	*				*		*	*			

EGF	EGF-R	SGF	TGF α	TGF β	TGF β -R	NGF	NGF-R	PDPF	PDPF-R	TGF β	BMP	GDNF
-----	-------	-----	--------------	-------------	----------------	-----	-------	------	--------	-------------	-----	------

- EGF. Factor de crecimiento epidérmico.
- EGF-R. Receptor del factor de crecimiento epidérmico.
- SGF. Factor de crecimiento del cerebro.
- TGF α . Factor de crecimiento transformante α .
- TGF β . Factor de crecimiento de las fibroblastos ácido.
- TGF β . Factor de crecimiento de las fibroblastos básico.
- TGF β -I. Factor de crecimiento parecido a la insulina tipo I.
- TGF β -II. Factor de crecimiento parecido a la insulina tipo II.
- NGF. Factor de crecimiento neurotrófico.
- NGF-R. Receptor del factor de crecimiento neurotrófico.
- PDPF. Factor de crecimiento derivado de las plaquetas.
- PDPF-R. Receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas.
- TGF β . Factor de crecimiento transformante beta.
- BMP. Factor neurotrófico morfogenético del hueso.
- GDNF. Factor de crecimiento derivado de los células gliales.