

| Caminos genéticos desde el comienzo de la vida hasta el odontoblasto.

| Genetic roads from the beginning of life to the odontoblast.

"Sin conflicto de interés"

Facultad de Odontología - UNLP
Calle 50 e/ Av. 1 y 115 La Plata (1900). Bs. As. Argentina

- Basal R, Butler T, Bander M, Paggi R, Astudillo L, Degaetano S, Suarez S, Serrano V, Paleo MA, Pilone L, Mayocchi K, Blasetti N, Merino G. -

| RESUMEN

El propósito del presente trabajo es realizar una revisión de la literatura vinculada con la acción de factores moleculares que inducen la cascada de genes que actúan desde la primera célula de la formación del individuo hasta las células madre multipotentes de la pulpa dental implicadas en la diferenciación hacia odontoblastos. Se realizó una revisión de la literatura en diferentes bibliotecas acreditadas como PubMed, Dentistry & Oral Sciences Source, Science Direct y Scielo. La diferenciación celular es un proceso que comienza con la concepción del individuo, donde dos células se unen para mantener el número cromosómico de la especie. Previo a esto los genes de efecto materno acumulados en el ovocito permiten los primeros pasos de la activación génica del genoma del cigoto. Continuando con estas interacciones, las células totipotenciales reducirán su potencialidad a pluripotentes con el silenciamiento de algunos genes y la activación de otros. Por el mismo mecanismo derivarán las células multipotentes. Estas últimas darán origen a células especializadas como ocurre con las precursoras de tejidos dentarios con la acción de diferentes factores podrían diferenciarse en tejido óseo, conjuntivo y odontoblastos. Cuyos procesos biológicos implicados, aun son motivo de estudio.

Palabras clave: GENES - DIFERENCIACIÓN - MULTIPOTENCIA

| SUMMARY

The purpose of this paper is to review the literature related to the action of molecular factors that induce the cascade of genes that act from the first cell of the individual's formation to the multipotent stem cells of the dental pulp involved in the differentiation towards odontoblasts. A literature review was conducted in different accredited libraries such as PubMed, Dentistry & Oral Sciences Source, Science Direct and Scielo. Cellular differentiation is a process that begins with the conception of the individual, where two cells join to maintain the chromosomal number of the species. Prior to this, the maternal effect genes accumulated in the oocyte allow the first steps of gene activation of the zygote genome. Continuing with these interactions, totipotential cells will reduce their potential to pluripotents with the silencing of some genes and the activation of others. By the same mechanism multipotent cells will be derived. The latter will give rise to specialized cells as occurs with precursors of dental tissues with the action of different factors could be differentiated into bone, connective tissue and odontoblasts. Whose biological processes involved are still a subject of study.

Keywords: GENES - DIFERENCIATION - MULTIPOTENT

OBJETIVO

- Realizar una revisión de la literatura vinculada con la acción de factores moleculares que inducen la cascada de genes que actúan desde la primera célula de la formación del individuo hasta las células madre multipotentes de la pulpa dental implicadas en la diferenciación hacia odontoblastos.

MÉTODO

Se realizó una revisión de la literatura en diferentes bibliotecas acreditadas como PubMed, Dentistry & Oral Sciences Source, Science Direct y Scielo.

INTRODUCCIÓN

A partir del descubrimiento realizado por Robert Hooke, quien durante sus investigaciones describió espacios vacíos denominados células, marcó un hito en el estudio de la citología. Posteriormente, otros investigadores como Leeuwenhoek describieron células libres, habiendo detectado en ellas una organización interna representada por núcleo y citoplasma; la fisiología aportó las relaciones entre ellos como así también el conocimiento de los procesos metabólicos celulares. La zona nuclear contiene estructuras denominadas cromosomas, los que albergan ADN que junto a proteínas poseen la capacidad de codificar caracteres al contener genes con diferentes alternativas de expresión, siendo influidos por factores ambientales que inciden sobre ellos (epigénesis). El número de cromosomas es constante para cada especie, en este caso en particular abordaremos la temática correspondiente a la especie humana. Cada célula del individuo posee 46 cromosomas cuyo número queda constituido por el aporte en partes iguales de las gametas denominadas ovocito secundario y espermatozoide. La carga cromosómica de estos últimos es consecuencia de un tipo de división reductora del número cromosómico, denominada meiosis. Durante la formación del ovocito y a medida que aumenta de tamaño, se incorporan en su citoplasma transcritos de genes de efecto materno (MEG) cuya traducción se encuentra inhibida hasta la fusión de ambos gametos que da como resultado la primera célula del individuo con el máximo nivel de potencial genético. Los transcritos de MEG están implicados en el desarrollo temprano e irán desapareciendo gradualmente dando paso a la transición materno-cigótica en el estadio de cuatro células (48 hs). Sus funciones están vinculadas con el bloqueo de la polispermia; remodelación de histonas que son fundamentales para el empaquetamiento del ADN y el control epigénico; la acción del complejo materno subcortical por ser modulador de los procesos celulares en la transición materno-cigótica; degradación de transcritos favorables en la etapa de meiosis pero que son perjudiciales tras la fecundación⁽¹⁾. El resultado de esta transición implica la activación del genoma del cigoto, genes y transcritos del embrión: regulan alrededor de 200 genes relacionados con la biosíntesis y modificación de proteínas⁽¹⁾. A partir de aquí y durante todo el desarrollo del individuo incluyendo mecanismos reparativos, las células madre poseen un rol protagónico basado en su potencial de diferenciación. Dicho nivel de potencialidad se irá acotando a lo largo del desarrollo permitiendo de ese modo

generar los distintos tipos celulares del organismo adulto⁽²⁾. Las células madre pueden ser clasificadas según su origen o según su potencialidad. Considerando su origen se dividen en células madre embrionarias y células madre adultas. Las embrionarias (ESCs) están presentes en la masa celular interna del blastocisto o de la cresta gonadal del feto las cuales se denominan células madre germinales embrionarias (GSCs). Las células madre adultas (ASCs) son multipotentes derivan de tejidos adultos maduros y poseen características distintas según las circunstancias⁽³⁾. Teniendo en cuenta sus capacidades de diferenciación o potencialidad, se dividen en Totipotentes: son aquellas que tienen condiciones de producir tejido embrionario y extraembrionario. Se encuentran únicamente en el cigoto y provienen de sus dos primeras divisiones Pluripotentes: las células de la masa celular interna derivadas de las células totipotenciales son aquellas que tienen la habilidad de diferenciarse en tejidos de las tres capas que se desarrollan en el embrión, siendo las mismas ectodermo, mesodermo y endodermo. Están presentes tanto en el embrión como en algunos órganos adultos. Para ser consideradas como tal es necesario que reúnan dos condiciones:

A) Una célula deberá poder diferenciarse en una célula especializada derivada de cualquiera de las tres capas embrionarias.

B) Ser capaz de sostener su funcionalidad in vitro e in vivo en relación a los tejidos en los cuales se implanta estén o no dañados⁽⁴⁾.

Multipotentes, también denominadas órgano específico, pueden originar células de un tejido u órgano en particular⁽³⁾. Unipotentes Se denominan unipotentes a células que pueden detectarse en piel, en mucosa bucal dispuestas en la zona basal constituida por una capa única de células de forma cúbica o cilíndrica, con figuras mitóticas donde comienza el proceso de renovación epitelial a partir de células madre con capacidad de dar origen a un solo tipo celular⁽⁵⁾. De la clasificación basada en las potencialidades de las células madre, se desprende que aquellas que poseen el máximo nivel de potencialidad están ubicadas en el cigoto durante los cuatro primeros días. A partir del cuarto o quinto día en etapa embrionaria, un grupo de células que constituyen la masa interna celular dan origen a los 200 tipos celulares que componen al cuerpo humano adulto, son denominadas pluripotentes⁽⁶⁾. En este contexto resulta interesante mencionar a aquellas que conservan la pluripotencialidad por tener implicancias en la terapéutica en cuanto a la regeneración de tejidos. Pero debido a las dificultades que se presentan para su obtención por encontrarse en células de embriones humanos, los últimos avances científicos permitieron la reprogramación de células somáticas diferenciadas a células pluripotentes denominándose *células pluripotentes inducidas* (iPS)⁽⁷⁾. Hasta el año 2006 estas células se obtenían de embriones o a partir de tejidos de fetos, de recién nacidos o de adultos. Posteriormente Takahashi y Yamanaka lograron por adición de un reducido número de genes posibilitar la transformación de células somáticas a células troncales pluripotentes iPS en ratones. Si bien en los comienzos se han utilizado un grupo de 24 genes, se arribó por descarte de que solo 4 de ellos Oct3/4, Sox2, Klf4 y C-Myc posibilitan la reprogramación. Yamanaka y Thomson obtuvieron las primeras células iPS a partir de fibroblastos humanos empleando los genes OCT 3/4, SOX2, Nanog y LIN 28, las cuales se inyectaron en ratones con inmunodeficiencia y se obtuvieron teratomas con lo cual comprobó la aparición de tipos celulares correspondientes a las

tres hojas embrionarias. Estudios posteriores en humanos Takahashi y col demostraron que utilizando los genes OCT 4, SOX 2, KFL4 y C-MYC para la inducción de fibroblastos se obtuvieron iPS (akahayi 2007)). Siguiendo la misma línea de investigación Yamanaka y col. reprogramaron células provenientes de fetos, de neonatales y células de adultos sanos trabajando solo con tres de los genes mencionados excluyendo al C-MYC con lo cual se evitaba la tumorigénesis⁽⁸⁾. La pérdida de la pluripotencia, y la diferenciación a linajes celulares específicos se debe a la incidencia de tres factores:

- a- Silenciamiento de genes que codifican factores de transcripción claves para el mantenimiento de la pluripotencia.
- b- La expresión de genes inductores de la diferenciación.
- c- Cambios epigenéticos de la cromatina⁽³⁾.

A continuación se describirán los sucesos más importantes implicados en la genética del desarrollo.

Genética del desarrollo

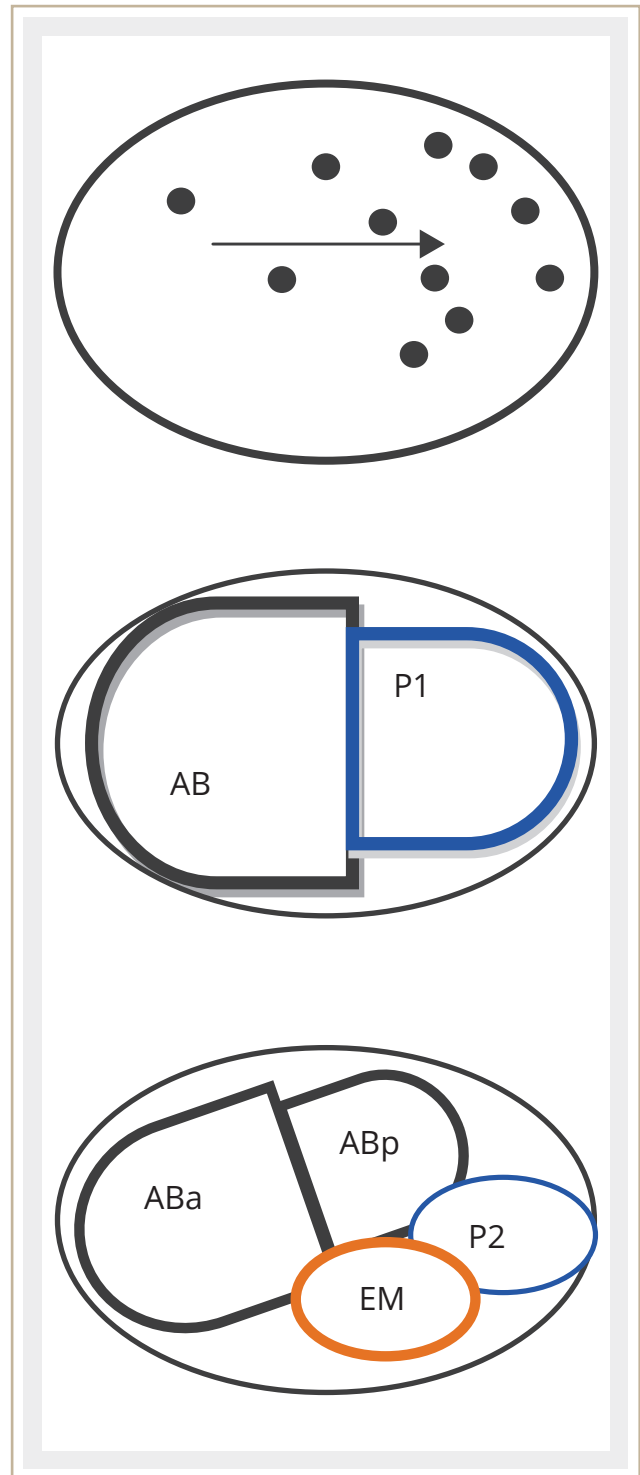
El genoma de las células totipotenciales se conserva durante todo el desarrollo del individuo. Las células que lo han completado poseen la misma información genética que la célula madre de la cual procede. Durante las distintas etapas se van a ir generando los diferentes tipos celulares del organismo adulto, esto indica que las células embrionarias pasan por sucesivas etapas reduciendo su potencialidad al irse comprometiendo con diferentes destinos. La etapa previa a la diferenciación es la *determinación*, que es un compromiso irreversible, pero no se manifiesta externamente en ese momento. La determinación consiste en modificaciones de los patrones de expresión génica de las células mediante diferentes mecanismos que se apoyan en:

- Existencia de factores citoplasmáticos.
- Interacciones celulares.

Factores citoplasmáticos: también denominados determinantes citoplasmáticos, están representados por proteínas o ARN mensajero ubicados en forma polarizada en el citoplasma, motivo por el cual cuando se realiza la división celular estos elementos se ubican solo en el citoplasma de una de las dos células hijas. Si es un factor transcripcional (ARN) incidirá sobre la expresión génica de forma diferente al de su célula hermana. Los factores citoplasmáticos son fundamentales en el comienzo del desarrollo embrionario, y se encuentran representados por un grupo de genes conocidos como genes de efecto materno. Estos genes que se expresan solo en tejidos maternos, acumulan sus productos en el oocito durante su crecimiento.

Interacciones celulares: son procesos mediante los cuales una célula expresa en su membrana plasmática una proteína denominada delta (señal inductora). Esta se vincula con otra proteína de una célula adyacente receptora denominada NOTCH. Cuando ambas proteínas entran en contacto, lo hacen por sus dominios externos y se pone en marcha una ruta de transducción. Como producto final se genera un factor transcripcional, que en su forma activa penetra en el núcleo y así regula el factor de expresión génica de la célula receptora activando o inhibiendo genes. Para el desarrollo de la totalidad del organismo, así como de sus estructuras, debe producirse una organización a través de tres ejes: dorso - ventral, antero - posterior, y eje izquierdo - derecho. Los ejes se determinan a través de diferentes mecanismos en función de la especie. En nematodos (*Caenorhabditis elegans*) la formación de los ejes antero - posterior y dorso - ventral es consecuencia de los genes de efecto

materno y de interacciones celulares. El extremo posterior del embrión se define por el punto de entrada del espermatozoide en el huevo. En ese momento se generan flujos citoplasmáticos que se distribuyen asimétricamente los componentes citoplasmáticos, entre ellos proteínas y ARNm sintetizados en tejidos maternos y acumulados en el oocito que se van a encontrar polarizados. La distribución de estos componentes se traduce en una asimetría en una primera división del cigoto dando como consecuencia dos células hijas de diferente tamaño. Cada célula ha perdido su totipotencia al recibir componentes citoplasmáticos distintos. Estas primeras células se denominan AB y P1 las cuales han recibido componentes citoplasmáticos diferentes y han perdido su totipotencia, las AB dan dos células Aba y ABp, mientras que la P1 da dos células: P2 y EMS.



La célula ABp está en contacto con P2, esto es crucial ya que P2 envía señal a ABp, que rompe la equipotencia existente entre ABA y ABp y ambas células quedan determinadas diferencialmente. La ABp marcará el extremo dorsal del eje dorso - ventral. El eje izquierdo - derecha es más tardío, cuando el embrión tiene doce células aquí una de las células provenientes de EMS interactúa con células que provienen de ABA y queda determinado el lado izquierdo del embrión. Las señales procedentes de las células P2 y EMS están activando la ruta NOTCH en las correspondientes células receptoras y así se desencadenan diferentes programas de expresión génica genética⁽²⁾. Otros genes llamados Hox, son complejos (compuestos por varios genes) que se encargan de dar sentido al eje antero-posterior. En el ratón existen cuatro complejos y cada uno de ellos se localiza en un cromosoma distinto. Los complejos se han nombrado en el ratón como Hoxa (11 genes), Hoxb (10 genes), Hoxc (9 genes), Hoxd (9 genes) situados del primero al último en los cromosomas 6, 11, 15 y 2, siendo en humanos en los cromosomas 7, 17, 12 y 2. Según su ubicación, los complejos de genes hox, expresan diferentes zonas del cuerpo, por eje. En los ratones, los genes hox 3, 4 y 5 de vertebrados especifican entre otras cosas el tipo de vertebras cervicales; los del grupo 6, 7, 8 y 9 las torácicas; las del grupo 9 y 10 las lumbares; las del grupo 10 y 11 las sacras y los 12 las caudales. Los genes hox codifican factores transcripcionales que tienen en común una secuencia de 60 aminoácidos conocida como homeodominio, éstos de los distintos genes hox están muy conservados, ya que son las regiones por las cuales se unen a secuencias concretas de los genes cuya transcripción regulan. Habiéndose logrado la determinación de los ejes, las células pluripotenciales se organizan para dar origen a las tres capas embrionarias: ectodermo, endodermo y mesodermo. El ectodermo dará origen al tubo neural, del cual al cerrarse, se originan las crestas neurales. En la región del rombencéfalo las células de las crestas neurales disminuyen la expresión génica de la proteína cadherina permitiendo la separación entre ellas con lo cual comienza el proceso de migración hacia la región cefálica. Este recorrido está dirigido por proteínas de membrana que las células irán reconociendo a medida que avanzan llegando a destino y habiendo silenciado ciertos genes se denominan ahora células multipotentes^(9- 10). Esta relación epitelio - mesénquima modulada por la membrana basal se presenta durante toda la diferenciación dental. En efecto, al inicio, la BMP2 y la BMP4, se expresan en el epitelio dental interno; cambiando su sitio de expresión en la etapa de brote, al mesénquima. Durante la etapa de casquete la expresión de BMP2 y BMP4 vuelve a situarse en la capa epitelial, específicamente en el nudo del esmalte. Posteriormente, en la etapa de campana, la BMP2 y la BMP4 se producen nuevamente en la papila dental, derivada del mesénquima. Al final del proceso, como consecuencia de la actividad de los distintos factores de crecimiento entre epitelio y mesénquima, se diferencian los odontoblastos.

CONCLUSIONES

Los procesos de diferenciación celular comienzan con los factores de efecto materno en el ovocito fecundado y continúan durante todo el desarrollo del individuo. El estudio de los factores que participan en el desarrollo y especialización celular del embrión es de vital importancia para el abordaje de trabajos sobre diferenciación celular in vitro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- T., Ismael Henarejos *Influencia de los genes de efecto materno y transición materno-cigótica*. Vol. 23, N° 2, 2018, págs. 31-37.
- 2- Benito Jiménez César y Espino Francisco Javier Nuño. *Genética: conceptos esenciales*. Médica Panamericana, Madrid, 2012.
- 3- Chaparro O, Beltrán O. *Reprogramación nuclear y células pluripotentes inducidas*. *Rev. Med.* 2009;17:252-63.
- 4- Prósper F, Herreros J. *Células madre adultas*. *Rev Argent Cardiol* 2004; 72: 68-73
- 5- Mata-Miranda Maribel, Vázquez-Zapién Gustavo J, Sánchez-Monroy Virginia. *Generalidades y aplicaciones de las células madre*. *Perinatol. Reprod. Hum.* 2013 Ene; 27(3): 194-199
- 6- Laporta, G; Steinberg, S. y Dewey, R. *Células madre de sangre de cordón umbilical. ¿quién tiene la palabra? Derecho y Ciencias Sociales*. Octubre 2014. N°11 .Pgs.40-57
- 7- Chaparro O. *Reprogramación nuclear y células pluripotentes inducidas*. 2009. 17 (2): 252-263.
- 8- Nakahawa M, Koyanagi M, Tanabe K, Takahashi K, Ichisaka T, Aoi T, Okita, K, Mochiduki Y, Takizawa N y Yamanaka S (2008) *Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts*. *Nat Biotechnol* 26, 101-106.
- 9- Chai Y., Jiang X., Ito Y., Bringas P., Han J., Rowitch D.H., *Et al*. *Recent advances in craniofacial morphogenesis*. *Dev Dyn.* 2006; 235: p. 2353-2375
- 10- Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K y Yamanaka S (2007) *Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors*. *Cell* 131, 861-872.