

PALATOGÉNESIS Y HENDIDURAS PALATINAS: IMPLICACIÓN DE TGF β 3 Y BMPs

Palatogenesis and cleft palate: TGF β 3 and BMPs involvement

CAROLINA E. PARADA, FRANCY BAYONA.

Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia,
Sede Bogotá.

Presentado en agosto 25 de 2003, aceptado en febrero 5 de 2004

RESUMEN

Las hendiduras orofaciales son las malformaciones craneofaciales más frecuentes y menos entendidas, se han propuesto diversos modos de herencia, sobre lo cual lo más aceptado es la influencia de agentes ambientales y genéticos. Con respecto a los mecanismos de desarrollo asociados con la palatogénesis normal es claro que las interacciones entre epitelio y mesénquima son las más importantes pero existen factores extrínsecos que influyen considerablemente. Se han establecido dos grupos de genes involucrados en la regulación de dichas interacciones: factores de transcripción (*Homeobox*) y genes implicados en vías de señalización (factores de crecimiento). De estos últimos se ha hecho énfasis en el factor de crecimiento transformante beta-3 (TGF β 3) y las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs) por las funciones que ejercen durante la palatogénesis relacionadas con adhesión epitelial y transformación epitelio-mesenquimal en el caso del primero y con proliferación mesenquimal por parte de la BMP-4.

Palabras clave: palatogénesis, paladar hendido, hendiduras orofaciales, genes de desarrollo, TGF β 3, BMPs.

ABSTRACT

Orofacial clefts are the most frequent craneofacial malformations but the least understood; hereditary and environmental agents have been associated. Epithelia and mesenchymal interactions are important developmental mechanisms associated with normal palatogenesis as well as other extrinsic factors. Two groups of genes have been implicated in these interactions: transcription factors (*homeobox*) and signalling associated genes. Among the last ones, transformant growth factor beta-3 (TGF β 3) and bone morphogenetic proteins (BMPs) have been emphasised because their relation with epithelia adhesion and epithelio-mesenchyma transformation and BMP-4 on mesenchymal proliferation.

Key words: palatogenesis, cleft palate, orofacial clefts, developmental genes, TGF β 3, BMPs.

INTRODUCCIÓN

Las hendiduras orofaciales, específicamente el labio y/o paladar hendido (LPH) y el paladar hendido aislado (PH), son las malformaciones más comunes del complejo craneofacial y el segundo defecto de nacimiento más frecuente después del Síndrome de Down. Las causas conocidas de un poco más de un tercio de los defectos del nacimiento incluyen: desórdenes monogénicos, anomalías cromosómicas y exposición a agentes ambientales nocivos, sin embargo, la etiología de LPH y PH aún no ha sido establecida a pesar de que se han encontrado algunos factores de susceptibilidad (Murray, 2002). Las hendiduras pueden ser clasificadas según su manifestación clínica como completas o incompletas, uni o bilaterales y sindrómicas o no sindrómicas. Se ha reportado que 50 a 70% de los casos hacen parte del grupo no sindrómico. Sin embargo, también se han encontrado aproximadamente 400 síndromes que presentan como malformación mayor LPH o PH. Estas entidades desencadenan problemas en la alimentación, respiración, habla, audición, desarrollo de la dentición y estética, entre otros, además de grandes repercusiones a nivel psicológico y socio-económico (Christensen, 1999; Schutte y Murray, 1999). En los estudios llevados a cabo en las últimas décadas se ha observado una distribución poblacional característica que se conserva en las distintas razas, lo cual fundamenta en parte la importancia de la carga genética. En caucásicos, 1 de 1.000 nacidos vivos presenta LPH. En la población mongoloide 2,5 de 1.000 nacidos vivos están afectados por esta entidad, mientras en nativos americanos 3,6 por 1.000 nacidos vivos la presentan y en población afroamericana es de 0,3 por 1.000, siendo esta la cifra más baja. La prevalencia de PH es más constante en poblaciones siendo de 2,5 por 1.000 nacidos vivos sanos (Schutte y Murray, 1999).

Los estudios en gemelos han sido una alternativa para conocer los mecanismos de herencia del LPH. Se ha observado una frecuencia cercana a un par de gemelos sanos por 100 nacimientos individuales sanos mientras que gemelos con LPH o PH nacen con una frecuencia de 1 por 40.000 nacimientos individuales. Estas investigaciones han permitido concluir que la prevalencia de hendiduras es menor en gemelos monogigotos que en la población general y en gemelos dicigotos. Adicionalmente, se han llevado a cabo estudios con gemelos basados en ratas de concordancia. Se han reportado ratas hasta de 66% en gemelos monogigotos afectados por paladar hendido en población danesa, significando un componente genético más fuerte que el ambiental sin descartar este último. Otro método de estudio consiste en la evaluación de la recurrencia de la entidad en familias donde ha habido un afectado.

Basándose en el modelo de Falconer sobre enfermedades multifactoriales, algunos autores han dado, en términos de porcentaje el riesgo de recurrencia para sus poblaciones, pero en general se sabe que el riesgo de recurrencia, para familiares de primer grado del probando es la raíz cuadrada del desorden en la población. Por ejemplo, para población caucásica es de 3,3% en LPH y para PH de 2% aproximadamente. La severidad de la hendidura también puede ser considerada como un predictor significativo de recurrencia, los familiares de pacientes con hendiduras bila-

terales presentan mayor riesgo que los casos unilaterales, independientemente del sexo del afectado y del compromiso del paladar. El patrón de herencia también ha sido objeto de estudio y puede incluir varios modelos: multifactorial, autosómico dominante, autosómico recesivo o ligado a X. Actualmente hay una tendencia general a pensar en un modelo mixto u oligogénico, en el cual existen algunos genes mayores, cuyas funciones están modificadas por otros factores genéticos y ambientales (Wyszynski, 1996; Christensen, 1999; Schutte y Murray 1999; Murray, 2002).

Todos estos estudios presentan varias desventajas inherentes a la enfermedad y que generan errores en los resultados. Sin embargo, las hendiduras orofaciales son muy estudiadas desde el punto de vista epidemiológico ya que son de fácil diagnóstico, se sabe en qué semana de la gestación exactamente ocurre el evento desencadenante, no hay mucha variación en las clasificaciones y es poco probable olvidar otros casos en la familia (por el trauma y tipo de tratamiento que genera). Además de la epidemiología genética, la biología molecular también ha avanzado en el estudio de las hendiduras en labio y paladar. Se han candidatizado varios genes en el ser humano gracias a los estudios realizados en ratón y pollo; sin embargo, no se ha logrado encontrar una fenocopia de LPH en animales, que es la hendidura más frecuente en el hombre. La mayoría de los ratones mutantes presentan PH y en pollo se ha encontrado pico hendido pero en ellos no es posible el estudio de la palatogénesis (Ashique *et al.*, 2002), por esta razón esta revisión se enfocará en el desarrollo únicamente del paladar y en los genes implicados en éste.

PALATOGÉNESIS

El paladar se divide, desde su formación en estadios tempranos del desarrollo prenatal, en paladar primario y secundario. El primario constituye la premaxila y el secundario esta formado por los procesos palatinos del hueso maxilar. El desarrollo normal del paladar depende de la proliferación y crecimiento de los procesos faciales formados por la migración, proliferación y diferenciación de células de la cresta neural a ectomesénquima. El paladar primario procede del proceso frontonasal y formará estructuras que incluyen: dorso nasal, punta nasal, columela, filtrum, los 4 incisivos superiores y su correspondiente proceso alveolar. El paladar primario posteriormente se fusionará con los componentes del paladar secundario para lograr la estructura palatina completa. El desarrollo del paladar secundario inicia con un crecimiento vertical de cada proceso maxilar bilateral aproximadamente al inicio de la octava semana de vida intrauterina (v.i.u). Las extensiones formarán dos procesos palatinos posicionados verticalmente a cada lado de la lengua. Estos procesos están constituidos por un centro de células mesenquimales y matriz extracelular entre ellas que está cubierto por una capa de células epiteliales indiferenciadas, de dos o tres estratos de espesor y una lámina basal entre el epitelio y el mesénquima. Al final de la 8a. semana de v.i.u, estos procesos palatinos verticales se elevan a una posición horizontal arriba del dorso lingual. Este movimiento es rápido y ocurre en minutos u horas (Kjaer *et al.*, 1999).

Existen algunos factores extrínsecos e intrínsecos implicados en la elevación de los procesos palatinos, entre los primeros se encuentra: contracción lingual en respuesta

a estímulos neurales dados por la deglución, crecimiento mandibular en dirección sagital, levantamiento de la cabeza, enderezamiento de la base de cráneo y aumento de la altura de la cavidad oronasal. Los factores intrínsecos incluyen: fuerzas hidrostáticas producidas por la matriz extracelular, especialmente por la densa red formada por moléculas de ácido hialurónico que ejerce presión osmótica e hidrata los procesos palatinos; cambios morfológicos (elongación o contracción del citoplasma) tanto en células mesenquimales como epiteliales, aumento en la actividad mitótica del mesénquima e incremento en la vascularización (Sun *et al.*, 2000; Brown y Sandy, 2002). El crecimiento continuo de los procesos palatinos hace que al ser elevados, sus bordes mediales se pongan en contacto. Posteriormente, las glicoproteínas de la superficie celular y los desmosomas promueven la adhesión, simultáneamente las proyecciones epiteliales formadas a partir los bordes mediales se extienden a través del sitio de fusión. En cuanto al lugar exacto donde empieza la unión existe un desacuerdo ya que algunos autores como Larsen refieren que la fusión se inicia en un punto ventral y continúa dorsalmente; otros lo ubican en una región medial con una extensión simultánea en sentido ventral y dorsal (Kjaer *et al.*, 1999). Después del contacto y la fusión del epitelio correspondiente a cada uno de los procesos, lo cual establece el engrosamiento epitelial medial ocurren procesos de degeneración epitelial que permiten el establecimiento de una continuidad mesenquimal y la formación del paladar secundario como tal. En términos generales se han propuesto tres mecanismos que explican la desaparición de ese epitelio: las células epiteliales pueden sufrir una transformación en mesénquima, puede haber una migración de estas células hacia los extremos oral y nasal, o se puede presentar muerte celular programada (Sun *et al.*, 2000). La formación exitosa del paladar depende de la interacción de los factores extrínsecos e intrínsecos y de la regulación correcta de las interacciones entre epitelio y mesénquima.

GENES IMPLICADOS EN DESARROLLO PALATINO

Las Interacciones epitelio-mesenquimales involucradas en la formación de paladar, piel, diente, glándulas, entre otros órganos, son reguladas por dos grupos grandes de genes (Thesleff, 1998; Jernvall y Thesleff, 2000). El primero de ellos está conformado por factores de transcripción también llamados genes maestros entre los cuales los Homeobox son los más importantes y se han estudiado con mucho interés desde su descubrimiento en 1983 en *Drosophila melanogaster*. Estos genes se han conservado evolutivamente lo cual se evidencia en su similitud en secuencia e incluso en función en diferentes especies. En el ser humano y otros mamíferos, como el ratón, existen 38 genes dentro de cuatro *clusters*, cada uno ubicado en distinto cromosoma. La mayoría de los genes involucrados en desarrollo craneofacial no se encuentran en los *clusters* pero poseen el homeodominio que es la región que se unirá al promotor de los genes blanco para regular su transcripción ya sea activándola o inhibiéndola (Thesleff, 1998).

En desarrollo palatino son importantes: HOXA-2 cuya función principal es especificar el destino de las células de la cresta neural del rombómero cuatro que constituirán el mesénquima del primer arco faríngeo del cual se forman los procesos maxilares y el paladar; el ratón mutante para este gen presenta PH producto de una inserción

alterada de los músculos de la lengua (Barrow y Capecchi, 1999). MSX1 al igual que PAX9, LHX8 y DLX2 se han asociado con regulación de los procesos de proliferación mesenquimal en paladar e igualmente se observa PH en los ratones knockout MSX1^{-/-} (Satokata y Maas, 1994), LHX8^{-/-} (Zhao *et al.*, 1999) y PAX9^{-/-} (Peters, *et al.*, 1998). RUNX2, que es regulado por MSX1, está comprometido en la diferenciación de osteoblastos en todo el organismo y tiene una función especial en desarrollo dental y palatino (D'Souza *et al.*, 1999). Adicionalmente, MSX1 y PAX9 poseen una función muy importante en la regulación de la expresión de algunos miembros de la superfamilia del Factor de Crecimiento Transformante Beta (TGFβ) que son de particular interés en esta revisión.

El segundo grupo de genes se ha descrito como aquellos comprometidos en vías de señalización debido a que la comunicación intercelular o inducción embrionaria constituye un mecanismo central por el cual también se regula la palatogénesis. Incluidos en este grupo están los factores de crecimiento que actúan como señales moleculares, algunos de los cuales regulan la expresión de genes Homeobox. Las familias más estudiadas han sido: *Hedgehog*, proteínas morfogenéticas óseas (BMPs), otros miembros de la superfamilia de factores de crecimiento transformantes β (TGFβ), activin-β y su receptor, receptores α y γ del ácido retinoico y componentes de la vía de las endotelinas (Thesleff, 1998).

TGFβs

Los TGFβs son polipéptidos que actúan hormonalmente de forma autocrina o paracrina para controlar diversos mecanismos de desarrollo aunque también parecen contribuir con el crecimiento de tumores (Lee y Nowak, 2001). TGFβ1, β2 y β3 poseen una homología en secuencia de casi el 80%, sin embargo, la homología funcional en desarrollo palatino no es tan alta. La expresión de TGFβ3 se localiza en el epitelio del límite medial justo antes de la fusión del paladar secundario. Posteriormente, el gen expresado en esa región es el TGFβ1 mientras que el TGFβ2 se limita a las células mesenquimales (Fitzpatrick *et al.*, 1990). Los mutantes generados para TGFβ1 no presentan entre sus características paladar hendido lo que sugiere que no tiene una función esencial en la palatogénesis, por otro lado, aquellos ratones con disrupción del gen TGFβ2 tienen una frecuencia muy baja de paladar hendido (23%) y presentan múltiples malformaciones congénitas (Dünker y Kriegstein, 2000). En conclusión, estos mutantes no son buenos modelos en el estudio de las hendiduras orofaciales mientras que los mutantes para TGFβ3 y MSX1 si lo son. Adicionalmente, hendiduras palatinas observadas en otros mutantes son el efecto de alteraciones de otras estructuras craneofaciales, tales el caso de los mutantes activin-β^{-/-}, TgMSX2, HOXA-2^{-/-}, entre otros.

Patogénesis del paladar hendido en mutantes TGFβ3^{-/-} y función del gen en la palatogénesis normal. En 1995 se generó el mutante para el gen TGFβ3 en el cual el exón seis fue reemplazado por el gen de resistencia a la neomicina. Los individuos heterocigotos no presentan cambios fenotípicos aparentes mientras que los homocigotos poseen PH y muerte perinatal por ausencia de succión. Se ha afirmado que el defecto en el paladar resulta de una alteración en la adhesión del epitelio del límite

medial de los procesos palatinos por una disminución en la filopodia epitelial cuyo objetivo principal es aumentar la superficie de contacto entre procesos, y además, por la alteración de la posterior degeneración del engrosamiento epitelial cuando este se forma. En estos ratones no se observó ninguna malformación craneofacial adicional lo cual descarta la posibilidad de una hendidura secundaria, aunque si se ha asociado con un retraso en el desarrollo pulmonar. En estudios de cultivo de procesos palatinos se han mostrado resultados similares confirmando que el mecanismo que subyace a la hendidura es una falla en la fusión que puede ser rescatada parcialmente *in vitro* por adición de la proteína a procesos palatinos no fusionados, estas investigaciones han permitido sugerir que la dosis necesaria de la proteína es realmente baja y que cumple su función en pocas horas, lo cual es coherente con estudios morfológicos anteriores. (Taya *et al.*, 1999, Ciu *et al.*, 2002)

Con respecto a los mecanismos alterados, la filopodia y la lamelipodia, pueden ser inducidas por GTPasas pequeñas como cdc42, Rac3 y Rho, las cuales a su vez son reguladas por el TGFβ3 (Kaartinen *et al.*, 2002). También se ha sugerido que la presencia de desmosomas y moléculas de adhesión celular, las cuales promueven la intercalación de las células, en las zonas de filopodia, colabora inmensamente en la fusión palatina. En los mutantes TGFβ3^{-/-} se ha observado ausencia de glicosaminoglicanos y glicoproteínas que pueden actuar como moléculas de adhesión en epitelio (Taya *et al.*, 1999). En otros sistemas se ha mostrado que el TGFβ3 induce la síntesis de perlecan y ácido hialurónico. Recientemente, se ha demostrado que la presencia de condroitín sulfato es esencial para la adhesión y que solamente se expresa inmediatamente antes de este estadio por estimulación por parte del TGFβ3 (Gato *et al.*, 2002). Este también modula, en el epitelio, el equilibrio entre metaloproteinasas de la matriz extracelular y sus inhibidores que controla el turnover de proteoglicanos en los sistemas biológicos. De forma interesante, la metaloproteinasa 3 (MMP3) y su inhibidor TIMP3 se encuentran presentes en epitelio antes de la adhesión sugiriendo su compromiso en el proceso, el TGFβ3 controla la actividad de estas dos proteínas en el engrosamiento epitelial de la línea media, mientras que activa la expresión de MMP13 en fibroblastos e inhibe la de los TIMPs (Blavier *et al.*, 2001).

Otro de los eventos que parece estar afectado en los mutantes es la degeneración epitelial. Hay una disminución de la transformación epitelio-mesenquimal y de la migración epitelial que usualmente forma triángulos de células sobre las superficies orales y nasales de los procesos y permite el contacto del mesénquima, esto indica que existe una alteración en la actividad migratoria y motogénica de las células en los mutantes. Adicionalmente, se ha observado que la activación de la vía RhoA/Rhoquinasa por parte del TGFβ3 es necesaria para la transdiferenciación de epitelio a mesénquima pero no suficiente para la misma (Kaartinen *et al.*, 2002). La transformación está dada por generación de estrés sobre las fibras y reorganización del citoesqueleto de actina que promueve el fenotipo mesenquimal. En otros estudios se propone que la inhibición de E-cadherina y Sindecano-1 por el TGFβ3 se traduce en inhibición del fenotipo epitelial (Erfani *et al.*, 2002). Por último, cabe resaltar un estudio reciente en el cual el TGFβ3 promueve la reparación quirúrgica de labio hendidado en

fetos de ratón sin dejar cicatriz. Los autores proponen que la función del TGF β 3 en este caso se relaciona con un incremento en la disponibilidad de células mesenquimales en la región de la cirugía. Tal aumento en el número de células puede estar dado por proliferación o migración celular, estos procesos están asociados con la expresión de los genes de ciclina-D1 Y tenascina-C, respectivamente y dependen de la expresión localizada de TGF β 3 (Kohama *et al.*, 2002). En estudios en humanos se ha encontrado asociación entre TGF β 3 y hendiduras orofaciales en la mayoría de poblaciones estudiadas lo cual no ha ocurrido con el TGF β , otro de los genes candidatos en la etiopatogenia de las hendiduras (Mitchell *et al.*, 2001; Marazita *et al.*, 2002).

Otros miembros de la superfamilia: BMPs. Las BMPs juegan un papel muy importante en diversos procesos de crecimiento celular y diferenciación desde los estadios más tempranos de la embriogénesis, tal vez por eso la mayoría de mutantes generados no son viables y el análisis de su fenotipo es bastante complicado. Las primeras proteínas de esta familia se aislaron de hueso por su capacidad para inducir formación ósea ectópica. Se han reportado alteraciones en el marco de lectura de BMP-5 asociadas con una malformación esquelética denominada *short ear* y de BMP-2 relacionadas con defectos en la forma de las articulaciones. La BMP-4 se ha estudiado profundamente en la odontogénesis y se ha demostrado una función primordial en la regulación de las interacciones epitelio-mesenquimales. Otros estudios demuestran la influencia de estas proteínas en la diferenciación de las células de la cresta neural y de la médula ósea hematopoyética y en desarrollo de riñón, ojo, arcos branquiales, primordios faciales, tubo neural, etc., (Shore *et al.*, 1998; Tucker *et al.*, 1998; Monsoro-Burq y Douarin, 2001). La expresión temporal y espacial de las BMPs sugieren una actividad importante durante la formación de los procesos palatinos (Lu *et al.*, 2000).

Las células dispersas del mesénquima de los procesos muestran señales positivas de expresión de BMP-4, la cual se encarga de la regulación de los genes de la familia MSX y PAX así como de su propia expresión tanto en diente como en paladar. En diente, su relación antagonista con el Factor de Crecimiento Fibroblástico 8 (FGF8) determina los sitios de iniciación dental y la identidad de los grupos de dientes: incisivos y molares. Cuando el mesénquima de los procesos palatinos se condensa, la expresión de BMP-4 se torna leve. Sin embargo, en estadios posteriores cuando inicia la diferenciación del mesénquima a osteoblastos tanto BMP-4 como -2 y -5 aumentan sus niveles de expresión considerablemente (Lu *et al.*, 2000). En algunos estudios se ha observado que la exposición de los procesos palatinos al ácido retinóico resulta en una reducción de las concentraciones de BMP-2, -4 y -5, en otros se ha sugerido que debería existir un aumento de la BMP-7, ya que esta se asocia con procesos de muerte celular programada en el epitelio de la línea media, causante de la formación de una hendidura que caracteriza a la exposición a dicho ácido (Cuervo *et al.*, 2002).

Los transcritos de BMP-4 se han encontrado tanto en epitelio como en mesénquima del paladar lo que sugiere que es una molécula de señalización entre estos dos tejidos en la palatogénesis. La BMP-4, además, tiene la capacidad de inducir la expresión de BMP-2 y -5, las cuales poseen funciones diferentes durante el desarrollo (Cuervo

et al., 2002). A diferencia del TGFβ3 la función de la BMP-4 es más complicada de establecer ya que depende de la regulación que ejerce sobre el gen MSX1. Este gen Homeobox se expresa en varios órganos en vertebrados, particularmente en los sitios de contacto entre epitelio y mesénquima. Los ratones mutantes MSX1^{-/-} exhiben letalidad neonatal y anomalías que incluyen paladar hendido y agenesia dental completa (Satokata y Maas, 1994). En humanos, se ha encontrado que mutaciones en MSX1 están asociadas con paladar hendido aislado no sindrómico y agenesia dental selectiva también denominada hipodoncia, lo cual es consistente con el fenotipo observado en ratones (van der Boogard *et al.*, 2000). En los animales mutantes, los procesos palatinos se elevan normalmente pero fallan en el contacto y nunca se fusionan. MSX1 es requerido para la expresión de BMP-2 y -4 en el mesénquima del paladar y de SHH en epitelio ya que en los mutantes el patrón de expresión de estos genes está completamente modificado. La causa del defecto está dada por una disminución substancial de la proliferación mesenquimal que no permite el acercamiento de los procesos palatinos. En un estudio reciente, en el que se utilizó un transgen de BMP-4 en los mutantes MSX1^{-/-} para expresar dicha BMP ectópicamente en el mesénquima palatino, donde debería estar en condiciones normales, se produjo fusión normal de los procesos y disminuyó casi el 100% la cantidad de casos que sufrieron muerte perinatal. Asociado con la fusión normal se restauró el patrón de expresión de SHH y BMP-2 en epitelio y mesénquima, respectivamente, así como la proliferación mesenquimal. Esto significa que la BMP-4 resulta ser la molécula más importante en la vía de MSX1 y actúa corriente arriba de SHH y BMP-2 regulando el desarrollo palatino (Zhang *et al.*, 2002). Se ha demostrado que SHH es esencial en el crecimiento de los primordios faciales en pollo y su expresión en epitelio de la línea media de los procesos activa la BMP-2 en mesénquima y ésta, a su vez, regula la proliferación celular (Zhang *et al.*, 2002).

PERSPECTIVAS

Esta revisión ha establecido la importancia de miembros de la superfamilia del Factor de Crecimiento Transformante Beta durante la palatogénesis y en la patogenia de las hendiduras orales. Si se aplicara el modelo mixto de herencia tanto TGFβ3 como BMP-4 podrían ser considerados principales. El hecho de que el TGFβ3 atraviese las membranas fetales (Kohama *et al.*, 2002) y del conocimiento actual sobre las funciones específicas de éste y de las BMPs en desarrollo palatino también los hace buenos candidatos para ser utilizados en tratamientos tempranos, in utero, de PH y otras hendiduras orofaciales. El objetivo ahora, debe ser establecer herramientas diagnósticas moleculares que permitan hacer una determinación temprana de la entidad y sobre todo del mecanismo de desarrollo alterado que, desafortunadamente, no es el mismo en todos los pacientes.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.

BIBLIOGRAFÍA

- ASHIQUE A. M., K. FU, J.M. RICHMAN. 2002. Endogenous Bone Morphogenetic Proteins Regulate Outgrowth and Epithelial Survival During Lip Fusion. *Development*. 129: 4.647-4.660.
- BARROW J.R., M.R. CAPECCHI. 1999. Compensatory Defects Associated with Mutations in *Hoxa1* Restore Normal Palatogenesis to *Hoxa2* Mutants. *Development*. 126: 5.011-5.026.
- BLAVIER L., A. LAZARYEV, J. GROFFEN, N. HEISTERKAMP, Y. DECLERCK, V. KAARTINEN. 2001. TGF β 3-Induced Palatogenesis Requires Matrix Metalloproteinases. *Molecular Biology of the Cell*. 12: 1.457-1.466.
- BROWN N.L., J.R. SANDY. 2002. Basic Sciences in Normal and Abnormal Palate Development. *Brazilian Journal of Oral Science*. 1: 60-70.
- CHRISTENSEN K. 1999. The 20th Century Danish Facial Cleft Population: Epidemiological and Genetic-Epidemiological Studies. *Cleft Palate Craniofacial Journal*. 36: 96-104.
- CIU X., C. SHULER. 2002. The TGF-Beta Type III Receptor is Localized to the Medial Edge Epithelium During Palatal Fusion. University of Southern California.
- CUERVO R., C. VALENCIA, R. CHANDRARATNA, L. COVARRUBIAS. 2002. Programmed Cell Death is Required for Palate Shelf Fusion and is Regulated by Retinoic Acid. *Developmental Biology*. 245: 145-156.
- D'SOUZA R.N., T. ABERG, J. GAIKWAD, A. CAVENDER, M. OWEN, KARSENTY, I. THESLEFF. 1999. *Cbfa* (*Runx2*) is Required for Epithelial-Mesenchymal Interactions During Tooth Development. 126: 2.911-2.910
- DÜNKER N., K. KRIEGLSTEIN. 2000. Targeted Mutation of Transforming Growth Factor-Beta Genes Reveal Important Roles in Mouse Development and Adult Homeostasis. *European Journal of Biochemistry*. 267: 6.982-6.988.
- ERFANI S., T. MALDONADO, C. CRISERA, S. WARREN, Z. PELED, M. LONGAKER. 2002. Rescue of an *in vitro* Palate Nonfusion Model Using Interposed Embryonic Mesenchyme. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 109: 2.363-2.372.
- FITZPATRICK D.R., F. DENTHEZ, P. KONDAIAH, R.J. AHURST. 1990. Differential Expression of TGF-Beta Isoforms in Murine Palatogenesis. *Development*. 585-595.
- GATO A., M.L. MARTÍNEZ, C. TUDELA, I. ALONSO, J.A. MORO, M.A. FORMOSO, M.A. FERGUSON, C. MARTÍNEZ-ÁLVAREZ. 2002. TGF β 3-Induced Chondroitin Sulphate Proteoglycan Mediates Palatal Shelf Adhesion. *Developmental Biology*. 250: 393-405.
- JERNVALL J., I. THESLEFF. 2000. Reiterative Signaling and Patterning During Mammalian Tooth Morphogenesis. *Mechanisms of Development*. 92: 19-29.
- KAARTINEN V., L. HAATAJA, A. HAGY, N. HEISTERKAMP, J. GROFFEN. 2002. TGF β -Induced Activation of RhoA/Rho-Kinase Pathway is Necessary but not Sufficient for Epithelio-Mesenchymal Transdifferentiation: Implications for Palatogenesis. *International Journal of Molecular Medicine*. 9: 563-570.
- KJAER I., J.W. KEELING, B. FISHER HANSEN. 1999. The Prenatal Human Cranium -

- Normal and Pathologic Development. Ed. Munksgaard. Copenhagen. Chapter III. The Development of the Maxillary Complex.
- KOHAMA K., K. NONAKA, R. HOSOKAWA, L. SHUM, M. OHISHI. 2002. TGF-Beta-3 Promotes Scarless Repair of Cleft Lip in Mouse Fetuses. *Journal of Dental Research*. 10: 688-694.
- LEE B.S., R.A. NOWAK. 2001. Human Leiomyoma Smooth Muscle Cells Show Increased Expression of TGF-Beta-3 and Altered Responses to the Antiproliferative Effects of TGF-Beta. *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*. 86: 913-920.
- LU H., Y. JIN, G. TIPOE. 2000. Alteration in the Expression of Bone Morphogenetic Protein-2, -3, -4, -mRNA During Pathogenesis of Cleft Palate in BALB/c Mice. *Archives of Oral Biology*. 45: 133-140.
- MARAZITA M.L., L.L. FIELD, M.E. COOPER, R. TOBIAS, B.S. MAHER, S. PEANCHITLERTKAJORN, Y.E. LIU. 2002. Nonsyndromic Cleft Lip with or without Cleft Palate in China: Assessment of Candidate Regions. *Cleft Palate Craniofac J*. 39:149-56
- MITCHELL L.E., J.C. MURRAY, S. O'BRIEN, K. CHRISTENSEN. 2001. Evaluation of Two Putative Susceptibility Loci for Oral Clefts in the Danish Population. *Am J Epidemiol*. 153: 1.007-1.015.
- MONSORO-BURQ A., N.M. DOUARIN. 2001. BMP-4 Plays a Key Role to Left Right Patterning to Chick Embryos by Maintaining Sonic Hedgehog Asymmetry. *Molecular Cell*. 7: 789-799.
- MURRAY J.C. 2002. Gene/Environment Causes of Cleft Lip and/or Palate. *Clinical Genetics*. 61: 248-256.
- PETERS H., A. NEUBUSER, K. KRATOCHWIL, R. BALLING. 1998. PAX9- Deficient Mice Lack Pharyngeal Pouch Derivatives and Teeth and Exhibit Craniofacial and Limb Abnormalities. *Genes Dev*. 12: 2.735-2.747.
- SATOKATA I., R. MAAS. 1994. MSX1 Deficient Mice Exhibit Cleft Palate and Abnormalities of Craniofacial and Tooth Development. *Nature Genetics*. 6: 348-356.
- SCHUTTE B.C., J.C. MURRAY. 1999. The many faces and factors of orofacial clefts. *Human Molecular Genetics*. 8: 1.853-1.859.
- SHORE E. M., M. XU, P.B. SHAH, H.B. JANOFF, I.V. HAHN, M.A. DEARDORFF, L. SOVINSKY, N.B. SPINNER, M.A. ZASLOFF, J.M. WOZNEY, F. S. KAPLAN. 1998. The Human Bone Morphogenetic Protein 4: Molecular Structure and Transcriptional Regulation. *Calcifications Tissue International*. 63: 221-229.
- SUN D., S. BAUR, E. HAY. 2000. Epithelial-Mesenchymal Transformation is the Mechanism for Fusion of the Craniofacial Primordia Involved in Morphogenesis in Chicken Lip. *Developmental Biology*. 228: 337-349.
- TAYA Y., S. O'KANE, M. FERGUSON. 1999. Pathogenesis of Cleft Palate in TGF-β3 Knockout Mice. 126: 3.869-3.879.
- THESLEFF I. 1998. The Genetic Basis of Normal and Abnormal Craniofacial Development. *Acta Odontologica Scandinavica*. 56: 321-325.
- TUCKER A.S., E.L. MATTHEWS, P.T. SHARPE. 1998. Transformation of Tooth Type Induced by Inhibition of BMP Signaling. *Science*. 282: 1.136-1.138.

- VAN DER BOOGARD M.H., M. DORLAND, F.A. BEEMER. 2000. MSX1 Mutation is Associated with Orofacial Clefting and Tooth Agenesis in Humans. *Nature Genetics*. 24: 342-343.
- WYSZYNSKI D. 1996. Genetics of Nonsyndromic Oral Clefts Revisited. *Cleft Palate Craniofacial Journal*. 33(5): 406-417.
- ZHANG Z., Y. SONG, X. ZHAO, X. ZHANG, C. FERMIN, Y. CHEN. 2002. Rescue of Cleft Palate in MSX1 Deficient Mice by Transgenic BMP4 Reveals a Network of BMP and SHH Signaling in the Regulation of Mammalian Palatogenesis. *Development*. 129: 4.135-4.146.
- ZHAO Y., Y. GUO, A. TOMAC, N. TAYLOR, A. GRINBERG, E. LEE, S. HUANG, H. WESTPHAL. 1999. Isolated Cleft Palate in Mice with a Targeted Mutation of the Lim Homeobox Gene LHX8. *Proceedings National Academic Science USA*. 96: 15.002-15.006.