



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA Y MEDICINA ORAL**

**EXPRESIÓN DE CAVEOLINA-1 EN EL PROCESO DE ODONTOGÉNESIS
Revisión de la literatura**

María José Makarena Leal Coñuecar

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REVISIÓN SISTEMÁTICA CUALITATIVA
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO-DENTISTA**

TUTORA PRINCIPAL

Prof. Dra. María Angélica Torres V.

TUTORA ASOCIADA

Prof. Dra. Paola Llanos

**Adscrito a Proyecto FIOUCh 17-016
Santiago - Chile
2022**

A mi familia, amigos y a Juan Pablo por su cariño y apoyo incondicional

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer a la Prof. Dra. María Angélica Torres, quien fue mi docente tutora, por su guía y apoyo durante este proceso de aprendizaje y desarrollo profesional, en el cierre de mi etapa de Pregrado.

Agradecer también al Proyecto FIOUCh DIFO 17/16 “Expresión de Caveolina-1 en la Odontogénesis Murina: Un estudio inmunohistoquímico” por permitirme realizar mi Trabajo de Investigación en esta área del conocimiento.

INDICE

1	RESUMEN.....	5
2	MARCO TEÓRICO	6
2.1	ODONTOGÉNESIS	6
2.1.1	<i>Generalidades de odontogénesis, tipos de odontogénesis.....</i>	<i>6</i>
2.1.2	<i>Proceso de Odontogénesis a crecimiento limitado.....</i>	<i>11</i>
2.1.3	<i>Vías de señalización en Odontogénesis</i>	<i>20</i>
2.2	CAVEOLAS Y CAVEOLINA-1.....	23
2.2.1	<i>Caveolas: descubrimiento, ubicación, función.....</i>	<i>23</i>
2.2.2	<i>Tipos de Caveolinas</i>	<i>27</i>
2.2.3	<i>Caveolina 1: Composición, localización, función, relación con diversos procesos (fisiológicos y patológicos).</i>	<i>28</i>
2.3	CAVEOLINA-1 Y TEJIDOS MINERALIZADOS	30
2.4	CAVEOLINA-1 Y ODONTOGÉNESIS.....	32
3	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN Y OBJETIVO GENERAL	34
3.1	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	34
3.2	OBJETIVO GENERAL.....	34
4	METODOLOGÍA	35
4.1	DISEÑO DEL ESTUDIO	35
4.2	PLANTEAMIENTO DE LA PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	35
4.3	ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA.....	35
4.3.1	<i>Palabras clave y términos de búsqueda</i>	<i>35</i>
4.3.2	<i>Criterios de inclusión y exclusión</i>	<i>36</i>
4.3.3	<i>Ejecución de la estrategia de búsqueda</i>	<i>36</i>
4.4	REVISIÓN DE LA LITERATURA	38
4.4.1	<i>Etapas:.....</i>	<i>38</i>
4.4.2	<i>Evaluación de calidad:.....</i>	<i>38</i>
4.4.3	<i>Extracción de datos:</i>	<i>38</i>
5	RESULTADOS.....	39
5.1	ARTÍCULOS INCLUIDOS	40
5.1.1	<i>ARTÍCULO N°1:.....</i>	<i>41</i>
5.1.2	<i>ARTÍCULO N°2.....</i>	<i>46</i>
5.1.3	<i>ARTÍCULO N°3.....</i>	<i>53</i>
5.1.4	<i>ARTÍCULO N°4.....</i>	<i>58</i>
6	DISCUSIÓN	63
6.1	CAVEOLINA-1 Y ODONTOGÉNESIS.....	63
6.2	CAVEOLINA-1 Y EMMPRIN	68
6.3	CAVEOLINA-1 Y TUMORES ODONTOGÉNICOS	69
7	CONCLUSIONES	71
8	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
9	ANEXOS	77
9.1	ANEXO 1:	77
9.2	ANEXO 2:	79
9.3	ANEXO 3	80
9.4	ANEXO 4: EVALUACIÓN DE CALIDAD.....	81

1 RESUMEN

Introducción: La Odontogénesis es el proceso por el cual se forman los dientes, involucrando fenómenos de iniciación, morfogénesis e histodiferenciación. Diversas moléculas participan de este proceso, entre ellas Caveolina-1 (Cav-1). Esta proteína integral de membrana forma parte de balsas lipídicas presentes en la membrana celular con forma de omega (Ω) denominadas Caveolas. Cav-1 participa de diversos procesos celulares tales como transducción de señales, transcitosis, endocitosis, metabolismo celular, regulación y transporte del colesterol celular, disposición del citoesqueleto de actina, polaridad celular, fusión de membranas y en la angiogénesis. Sin embargo, la participación de Cav-1 durante la Odontogénesis aún no se comprende totalmente, por lo que se hace necesario indagar su rol durante este proceso. El objetivo de este trabajo de investigación fue revisar y sintetizar la evidencia existente respecto de la expresión y función de Cav-1 en diferentes formas de Odontogénesis y sus etapas.

Metodología: Se realizó una revisión sistemática cualitativa mediante una búsqueda exhaustiva, objetiva y reproducible usando bases de datos electrónicas, consulta bibliográfica y fuentes de literatura gris, para responder a la pregunta de investigación: “¿Existe evidencia reportada de la expresión y función de Cav-1 en diferentes formas de Odontogénesis y sus diversas etapas?”.

Resultados: Se incluyeron 4 artículos científicos, los cuales evidencian la presencia de Cav-1 durante las distintas etapas de la Odontogénesis, humana y murina, de dientes a crecimiento limitado. Sin embargo, no se encontró literatura que explore la relación entre Cav-1 y dientes a crecimiento continuo.

Conclusiones: La literatura existente concuerda en que Cav-1 se expresa durante las distintas etapas de la Odontogénesis. Sin embargo, la evidencia encontrada es escasa y lo descrito en ella es controversial. Además, no existe evidencia que relacione a Cav-1 con las distintas formas de Odontogénesis, lo que no permitió responder a cabalidad la pregunta de investigación. Por lo tanto, resulta complejo establecer cuál es la relación entre Cav-1 y la Odontogénesis en sus diferentes formas y etapas. Se hace necesario explorarla con estudios experimentales a futuro que estandaricen la metodología e intenten abarcar todas las aristas expuestas en esta revisión de la literatura.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 ODONTOGÉNESIS

2.1.1 Generalidades de odontogénesis, tipos de odontogénesis

La odontogénesis es el proceso mediante el cual se forman los dientes producto de la diafonía (*crosstalk*) entre las células epiteliales y mesenquimáticas generando los cambios morfológicos que determinan su desarrollo (Mitsiadis & Graf, 2009); la homeostasis y la mantención posterior de los dientes formados, deciduos o permanentes, están garantizadas por la cooperación entre los tejidos duros y blandos, así como por las células madre residentes y su interacción con la inervación y la vascularización (Pagella y cols., 2020; Oh y cols., 2020).

Un evento importante en la evolución de los vertebrados fue la aparición de los dientes, hito que revolucionó la forma en que se ingerían los alimentos, dando ventaja y otorgando dominancia a gnatóstomos (grupo de animales provistos de mandíbulas articuladas) tanto terrestres como acuáticos (Jheon y cols., 2013). Investigaciones han descubierto estructuras similares a dientes en criaturas de hace 400 millones de años, donde placas de tejidos duros eran usadas para triturar y moler alimentos, demostrando que las características básicas de los dientes son altamente conservadas a lo largo del proceso evolutivo (Pagella y cols., 2020; Rücklin & Donoghue, 2015; Jheon y cols., 2013). Sin embargo, el número, tamaño y forma de los dientes varía significativamente entre las especies principalmente debido a un proceso de selección natural ejercido por los variados tipos de dieta (Jheon y cols., 2013).

Una de las funciones más importantes de los dientes es la trituración y molienda de los alimentos, no obstante, pueden jugar diversos roles en la vida diaria de los animales. Las morsas usan sus colmillos para transportarse en plataformas de hielo; elefantes y cerdos se abren camino a través de entornos boscosos gracias a sus dientes; roedores construyen complejas redes de túneles; el ayeaye utiliza sus incisivos para crear agujeros en los árboles y acceder a los insectos en su interior; especies de focas usan sus dientes frontales para quitar el hielo y crear respiraderos; los felinos los utilizan para transportar a sus crías o para amenazar a

depredadores (Gorman & Hulsey, 2020). Los humanos modernos también ocupan sus dientes para modificar recursos y transportar objetos, a menudo los emplean para abrir paquetes o sostener artículos cuando sus manos están ocupadas, conductas que probablemente se han conservado desde nuestros antepasados (Gorman & Hulsey, 2020).

Muchos peces, reptiles y anfibios, poseen múltiples denticiones (polifiodontes), con unidades de formas similares (homodontos), que se someten a un reemplazo constante. Estos dientes están compuestos de dentina y esmalte, no poseen raíces, y están unidos directamente al hueso por anquilosis o tejido fibroso (Tucker & Fraser, 2014). En contraste, la mayoría de los dientes de mamíferos poseen raíces y están conectados a los maxilares a través de interacciones entre el ligamento periodontal y las cavidades alveolares (tecodontes), solo poseen dos generaciones de dientes (difiodontes) lo que parece estar relacionado con el requerimiento de una oclusión compleja para el procesamiento eficiente del alimento (Tucker & Fraser, 2014). Además, los mamíferos en general son heterodontes, es decir, poseen dientes con formas diferentes, los que se dividen en: incisivos, caninos, premolares y molares (Jheon y cols., 2013). Esta condición resulta de la evolución morfológica desde un modelo cónico primitivo con una sola cúspide hasta un patrón multitubercular que dota a los dientes de crestas y aristas para cortar y triturar el alimento (Pérez y cols., 2010).

Algunos mamíferos solo poseen una dentición en el curso de sus vidas, lo que se denomina monofiodonto (Li y cols., 2017). En lugar de reemplazar su dentición, contrarrestan los problemas del desgaste dentario con la presencia de dientes que presentan una forma de odontogénesis permanente y crecen continuamente (hipselodoncia), aunque producen esmalte y dentina de forma continua, éstos se ubican de modo diferente en las superficies de estos dientes (Tucker & Fraser, 2014). Existen nueve órdenes de mamíferos en los que todos o algunos de sus dientes han evolucionado a la hipselodoncia, en conejos y conejillos de india (cobayo, cuy, cuye), los molares e incisivos son hipselodontos, mientras que en las ratas y ratones esa habilidad se limita a los incisivos; en elefantes y morsas (con incisivos hipselodontes) hasta perezosos con toda su dentición homodonta a crecimiento continuo (Calamari y cols., 2018; Tucker & Fraser, 2014). En otros mamíferos monofiodontes, los dientes poseen coronas muy altas

(hipsodoncia) para proteger a la pulpa dental de la erosión, esta característica se postula como una forma intermedia de odontogénesis y sería una etapa en el camino evolutivo hacia la hipselodoncia (Tucker & Fraser, 2014; Jheon y cols., 2013)

Humanos y roedores evolucionaron desde un ancestro mamífero común que poseía una dentición compuesta de 3 incisivos, 1 canino, 4 premolares y 3 molares en cada cuadrante, los que eran reemplazados una sola vez (Jheon y cols., 2013). Sin embargo, el proceso evolutivo en los humanos hizo que disminuyera el tamaño del aparato masticatorio, aumentando del apiñamiento dental. En respuesta a esto, se redujo el número y tamaño de los dientes (Pérez y cols., 2010). Actualmente, la dentición humana adulta consta de 2 incisivos, 1 canino, 2 premolares y 3 molares en cada cuadrante (Figura 1), conservando la característica difiodonte (Zohrabian y cols., 2015). Se cree que la disminución del tamaño maxilar y mandibular tiene relación con el desarrollo de la tecnología y el uso de herramientas para procesar alimentos, además de cambios en la dieta con la introducción de la agricultura y de los alimentos procesados, implicando un menor esfuerzo del aparato masticatorio, y, por lo tanto, un menor desarrollo de éste (Pérez y cols., 2010).

Los ratones, como roedores, poseen una dentición altamente especializada, en cada cuadrante, un solo incisivo es separado de tres molares por una región desdentada denominada diastema (Figura 1) (Jheon y cols., 2013; Mitsiadis & Luder, 2011). Sus molares son homólogos a los dientes humanos, cuya formación es a crecimiento limitado, similitud que se refleja en la alta conservación de las redes moleculares que regulan su desarrollo a través de las mismas etapas morfológicas, resultando en una anatomía final parecida (Pagella y cols., 2020; Mitsiadis & Luder, 2011). Estas propiedades han convertido al molar de roedor en un modelo óptimo para el estudio de la morfogénesis y las interacciones epitelio-mesénquima.

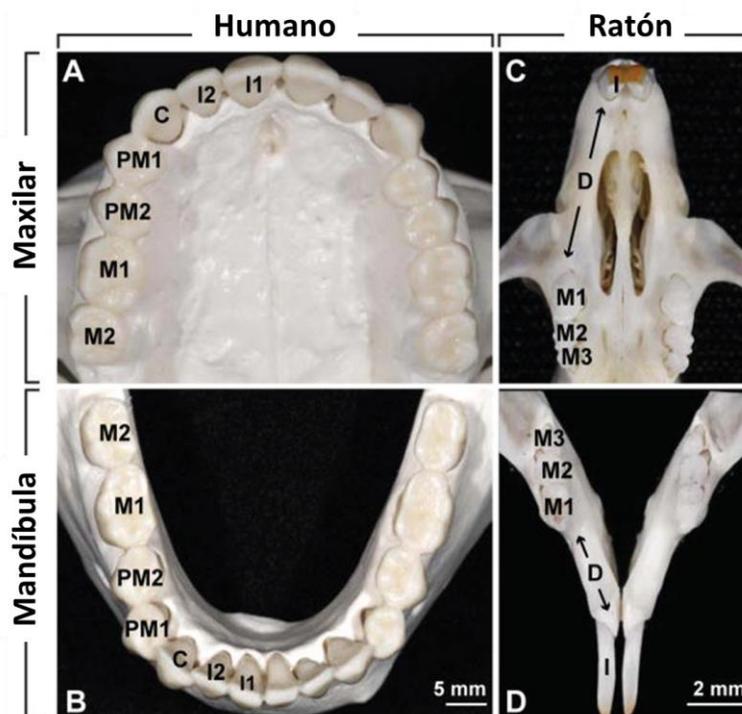


Figura 1: Dentición humana y de ratón

Los arcos dentales maxilares (A, C) y mandibulares (B, D) muestran las denticiones reducidas en humanos adultos (A, B) y ratones (C, D). Ambas especies derivan de un ancestro mamífero común que se cree tenía 3 incisivos, 1 canino, 4 premolares y 3 molares en cada cuadrante (adaptada de Jheon y cols., 2013).

Abreviaciones: I=incisivo; I1=incisivo central; I2=incisivo lateral; C=canino; PM1=primer premolar; PM2=segundo premolar; M1=primer molar; M2=segundo molar; M3=tercer molar; D=diastema

En contraste a los molares, los incisivos de ratón se encuentran en un proceso constante de odontogénesis, ya que crecen continuamente gracias a la presencia de poblaciones de células madre epiteliales y mesenquimales dentales adultas (Krivanek y cols., 2020; Zhao y cols., 2018; Ohshima y cols., 2005). En este tipo de dientes, las células productoras de esmalte solo se encuentran en la cara vestibular, mientras que la cara lingual constituye un análogo radicular (Figura 2) (Li y cols., 2017). Por lo tanto, los incisivos de ratón se caracterizan por territorios anatómicamente distintos y molecularmente definidos, donde los eventos de proliferación, diferenciación y maduración celular pueden analizarse fácilmente, razón por la cual, se han convertido en un modelo para el estudio de células madre, junto con otros órganos de crecimiento continuo, como el pelo y las uñas (Pagella y cols., 2020; Naveau y cols., 2014; Jheon y cols., 2013).

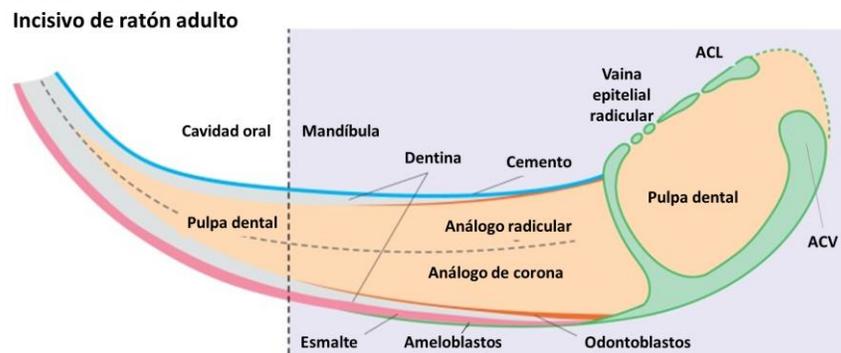


Figura 2: Incisivo de ratón adulto

En el incisivo de ratón adulto, las asas cervicales linguales y vestibulares (ACL y ACV) persisten a lo largo de la vida adulta. Solo la ACV contiene células madre dentales, lo que permite un suministro continuo de ameloblastos productores de esmalte en el análogo de corona que se encuentra en la zona vestibular. La pulpa dental está rodeada por dentina, producida por odontoblastos derivados del mesénquima. El análogo de raíz, que se encuentra hacia lingual, está cubierto por cemento, que ayuda al incisivo a anclarse al hueso mandibular (adaptada de Yu & Klein, 2020).

La mayoría de los análisis moleculares del desarrollo dentario se han realizado en el ratón debido a que los mecanismos subyacentes al desarrollo, la homeostasis y la regeneración de los dientes están altamente conservados entre humanos y roedores (Mitsiadis & Luder, 2011), además de su susceptibilidad frente al análisis y manipulaciones genéticas (ratones knock-out y transgénicos) (Yu & Klein, 2020). Sin embargo, estudios en diferentes mamíferos -incluidos los humanos- así como en varios peces y reptiles, demuestran una alta conservación de los genes reguladores de la odontogénesis entre las diferentes especies (Nanci, 2018).

Las vías moleculares y los procesos morfogénéticos involucrados en el desarrollo dentario han sido un foco de investigación intensa en las últimas décadas, puesto que, la interacción entre el epitelio y el mesénquima, tan característica del desarrollo del molar de ratón, también es la base del desarrollo de numerosos órganos tales como folículos pilosos, extremidades, glándulas, pulmones y riñones (Pagella y cols., 2020; Jheon y cols., 2013; Jiménez-Rojo y cols., 2012). Es por esto que el diente constituye un modelo de excelencia para estudiar todos los procesos básicos que subyacen al desarrollo de los órganos, desde la iniciación, la morfogénesis, hasta la diferenciación terminal y mineralización, así como la homeostasis y la regeneración (Pagella y cols., 2020).

2.1.2 Proceso de Odontogénesis a crecimiento limitado

Los seres humanos poseen 2 denticiones con dientes a crecimiento limitado: la dentición primaria o decidua, que consta de 20 dientes, y la dentición permanente que consta de 32 dientes (Zohrabian y cols., 2015). Los dientes primarios comienzan su desarrollo entre la sexta y la octava semana de gestación, mientras que, los dientes permanentes comienzan a desarrollarse en la vigésima semana de gestación, culminando con la erupción del tercer molar en la etapa adulta (≥ 18 años) (Zohrabian y cols., 2015). Los tejidos requeridos para el desarrollo dentario se originan de dos fuentes principales: el **epitelio dental**, derivado del ectodermo oral, y el **mesénquima**, derivado de las células de la cresta neural (ectomesenquima) (Pagella y cols., 2020; Jheon y cols., 2013). El proceso de Odontogénesis requiere de la interacción epitelio-mesénquima, en el que se pueden identificar tres grandes etapas: iniciación, morfogénesis e histodiferenciación (Yu & Klein, 2020; Nanci, 2018). Se cree que la Odontogénesis se inicia gracias a factores residentes en el epitelio dental que influyen en el ectomesénquima, pero que con el tiempo este potencial es transferido y asumido por el mesénquima (Nanci, 2018).

En la cuarta semana de gestación comienza el desarrollo del estomodeo, depresión ventral ubicada justo caudal al cerebro en desarrollo y que a futuro constituirá la boca (Zohrabian y cols., 2015). Esta cavidad oral primitiva, está revestida por epitelio escamoso estratificado de origen ectodérmico denominado epitelio oral (Nanci, 2018). Aproximadamente en la sexta semana de vida intrauterina, el epitelio oral prolifera aumentando su grosor para dar origen a una estructura llamada banda epitelial primaria, placoda odontogénica o lamina primitiva. Este engrosamiento epitelial en forma de herradura se desarrolla en los procesos maxilar y mandibular (Nanci, 2018). La banda epitelial primaria prolifera en el mesénquima subyacente colonizado por células de la cresta neural (ectomesénquima) y rápidamente se divide en dos estructuras, la lámina vestibular y la lámina dental, siendo esta última la base del desarrollo de la dentición (Nanci, 2018; Zohrabian y cols., 2015)

Una característica clave de la iniciación del desarrollo dental es la formación de engrosamientos o placodas localizadas dentro de la lámina dental (Figura 3), las que se cree inician la formación de las diversas familias de dientes (Nanci, 2018).

Estas placodas morfológicamente similares a las de los dientes, en diversas especies animales, también inician el desarrollo de otros apéndices ectodérmicos como el pelo y las plumas. Los mecanismos y genes básicos involucrados en la formación y función de todas las placodas son similares (Nanci, 2018).

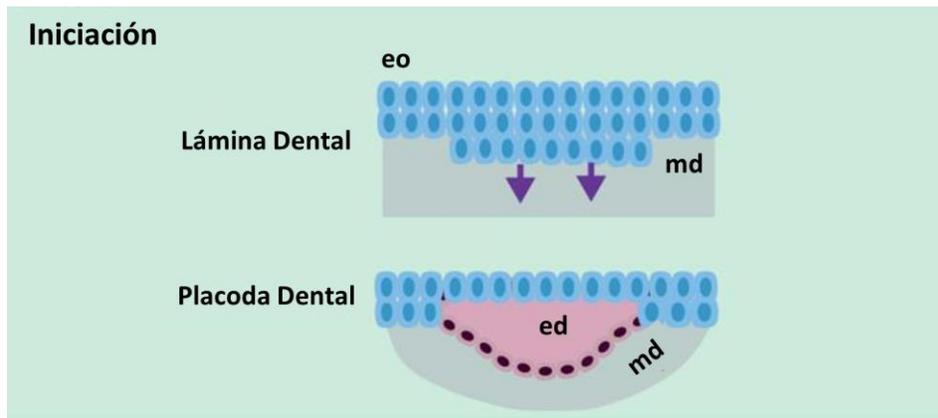


Figura 3: Iniciación del desarrollo dental

La odontogénesis comienza durante el desarrollo embrionario temprano con la formación de la lámina dental como un engrosamiento del epitelio oral en el sitio del futuro arco dentario. Luego se forman placodas dentales a lo largo de la lámina dental. Estas estructuras epiteliales establecen interacciones recíprocas con las células mesenquimales de la cresta neural derivadas del ectodermo (adaptada de Pagella y cols., 2020).

Abreviaciones: ed=epitelio dental; md=mesénquima dental; eo=epitelio oral.

Las células de la placoda dental proliferan y se invaginan en el mesénquima subyacente, para dar origen a una estructura epitelial denominada **“yema o botón”** (Figura 4) (Yu & Klein, 2020; Nanci, 2018; Li y cols., 2017; Jheon y cols., 2013) Al unísono, las células mesenquimales se condensan alrededor de la yema para formar la papila dental, estructura que induce la morfogénesis dentaria y que dará lugar a la pulpa dental (Li y cols., 2017; Jheon y cols., 2013). Un grupo de células epiteliales que no se dividen, ubicadas en el estrato basal del epitelio, constituyen el **“nodo de esmalte”** (NE) primario, un centro de señalización que induce la proliferación y elongación del epitelio dental, avanzando a la **“etapa de copa”** (Pagella y cols., 2020; Yu & Klein, 2020; Nanci, 2018).

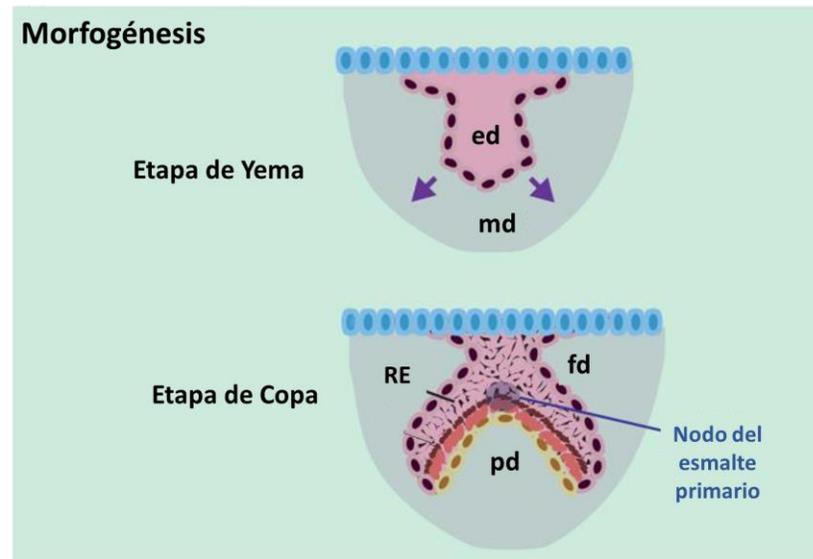


Figura 4: Morfogénesis

Durante la morfogénesis el epitelio dental se invagina en el mesénquima para formar la Yema dental. A medida que avanza el desarrollo, el epitelio se proyecta en el mesénquima, rodeándolo, lo que resulta en la formación de la Copa dental. La transición Yema-Copa se caracteriza por la aparición de nodos de esmalte, centros de señalización localizados en los sitios de las futuras cúspides (adaptada de Pagella y cols., 2020).

Abreviaciones: ed=epitelio dental; md=mesénquima dental; fd=folículo dental; re=retículo estrellado; pd=papila dental.

Durante la etapa de copa continúa la proliferación y crecimiento de la yema dental, la que se extiende y rodea a la papila dental (Figura 4), avanzando en la morfogénesis dentaria (Pagella y cols., 2020; Jheon y cols., 2013). En esta etapa, el tejido epitelial conforma el “órgano del esmalte” estableciéndose tres zonas: el epitelio dental externo (EDE), el retículo estrellado (RE) y el epitelio dental interno (EDI) (Nanci, 2018). Además, surge el folículo dental, una población de células mesenquimales que rodea al órgano del esmalte y a la papila dental, y que en etapas posteriores formará el cemento, el ligamento periodontal y el hueso alveolar (Li y cols., 2017). La porción distal del órgano del esmalte abraza a la papila subyacente formando la **zona de inflexión cervical o asa cervical**, que a futuro dará origen a la vaina epitelial radicular. Al final de la etapa de copa el NE primario sufre apoptosis, para dar lugar a los NE secundarios (Yu & Klein, 2020; Nanci, 2018).

En el inicio de la etapa de campana denominada “**campana temprana**”, continúan los cambios morfológicos, el germen dental aumenta de tamaño y la forma definitiva de la corona dental se hace cada vez más evidente (Jheon y cols., 2013). En molares, el epitelio se pliega determinando la forma y número de cúspides, sitios en lo que aparecen los NE secundarios quienes se encargan de regular estos eventos, y cuya iniciación está controlada por el NE primario (Pagella y cols., 2020; Li y cols., 2017; Jheon y cols., 2013).

En este punto el órgano del esmalte consta de 4 estratos celulares diferentes (Figura 5): El epitelio dental externo (EDE) compuesto de células aplanadas que delimitan la periferia del órgano del esmalte enfrentando a las células del folículo dental; el retículo estrellado (RE) integrado por células con aspecto estrellado, fenómeno que se produce debido al incremento del líquido intercelular; el estrato intermedio (EI) conformado por células aplanadas que surgen entre el RE y el EDI; finalmente, el epitelio dental interno (EDI) compuesto por células cilíndricas bajas que se encuentran enfrentando a las células de la papila dental (Pagella y cols., 2020; Gómez y Campos, 2019).

La papila dental está separada del órgano del esmalte por una membrana basal en donde se acumularán las primeras proteínas secretadas de la matriz del esmalte. Células mesenquimales de la papila se extienden alrededor del órgano del esmalte constituyendo el folículo dental, distinguiéndose de la papila dental en que muchas más fibras de colágeno ocupan los espacios extracelulares entre las células foliculares, las que se orientan circularmente alrededor del órgano del esmalte y de la papila dentaria (Nanci, 2018).

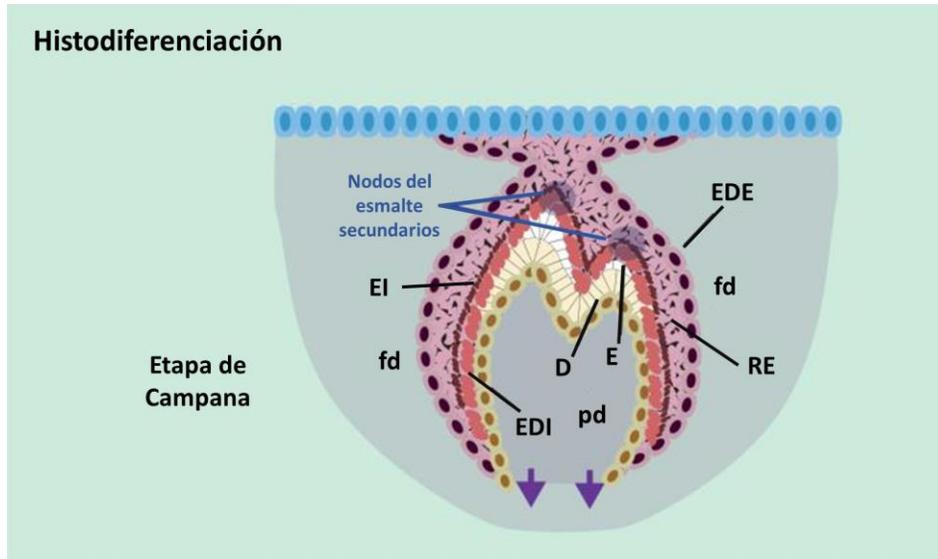


Figura 5: Histodiferenciación

En esta etapa los Nodos del esmalte secundarios se encargan de orquestar el inicio de la diferenciación de las células del EDI seguidas de las células de la papila dentaria, las que dan origen Ameloblastos productores de esmalte y Odontoblastos productores de dentina (adaptada de Pagella y cols., 2020).

Abreviaciones: EDE=Epitelio dental externo; RE=retículo estrellado; EI=estrato intermedio; EDI=Epitelio dental interno; D=Dentina; E=Esmalte; fd=Folículo dental; pd= Papila dental.

La histodiferenciación comienza en las células del EDI las cuales detienen su actividad mitótica, se elongan tornándose altas y revierten su polaridad quedando el núcleo orientado hacia el estrato intermedio. A medida que avanza su diferenciación en preameloblastos, secretan algunas proteínas del esmalte, junto con otras moléculas (incluyendo factores de crecimiento), hacia la membrana basal, actuando como inductores para la diferenciación de las células de la papila dental, las que aumentan su tamaño rápidamente para terminar convirtiéndose en odontoblastos (Nanci, 2018). Este proceso se inicia en los sitios de las futuras cúspides dentales, como se observa en la Figura 6, orquestada por la señalización de los nodos del esmalte, y desciende gradualmente a lo largo de las pendientes de las cúspides avanzando hasta la zona de inflexión o asa cervical, seguido por la aposición de las matrices de dentina y esmalte, las que se enfrentan entre sí para definir la unión amelodentinaria (Nanci, 2018).

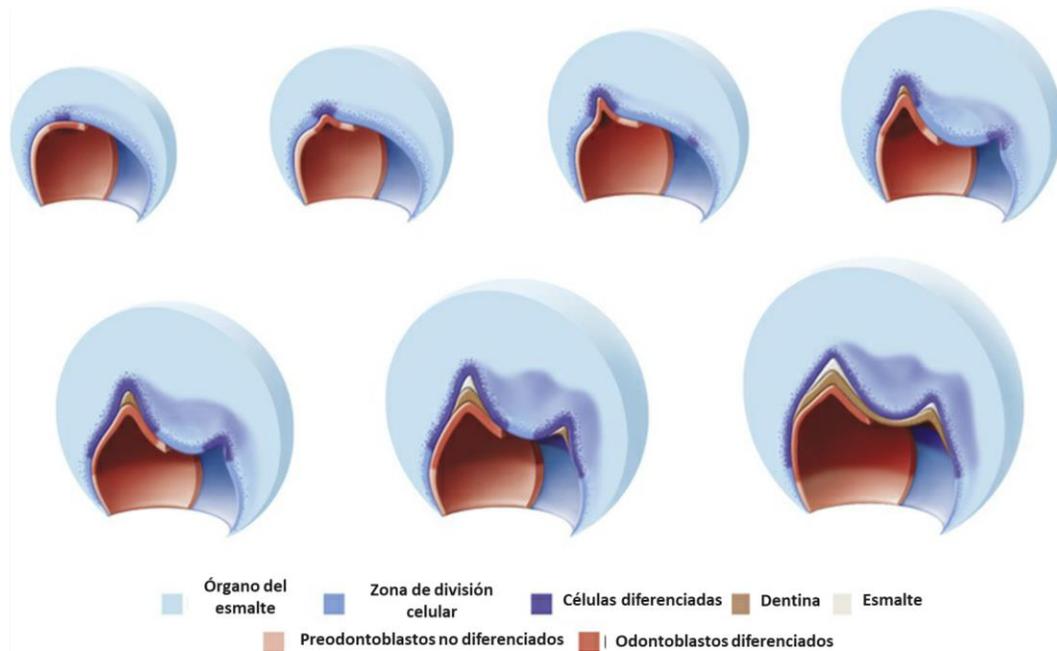


Figura 6: Patrón de diferenciación celular

La diferenciación celular del epitelio dental interno y de las células superficiales de la papila dental comienza en los sitios de las futuras cúspides, y avanza gradualmente hacia la zona de inflexión cervical. Este patrón se replica además en la aposición de los tejidos duros de la corona, el esmalte y la dentina (adaptada de Nanci, 2018).

Los odontoblastos, en el transcurso de su diferenciación, comienzan a elaborar la matriz orgánica de la dentina, que se incorpora a las proteínas secretadas por los preameloblastos, esta “pre dentina” madura y finalmente se mineraliza, y a medida que ésta se deposita, los odontoblastos se desplazan hacia el centro de la papila, dejando una extensión citoplasmática alrededor de la cual se forma la dentina, estableciendo el carácter tubular del tejido dentinario (Nanci, 2018; Jheon y cols., 2013). Por su parte, las células del EDI (preameloblastos) continúan su diferenciación en ameloblastos y depositan la matriz orgánica del esmalte sobre la primera capa de dentina formada (dentina del manto), la que se mineraliza casi de inmediato instaurando la capa inicial del esmalte (Pagella y cols., 2020). Cabe destacar que, aunque la producción de proteínas del esmalte ocurre previo la formación de la dentina del manto, estas proteínas no se ensamblan como una matriz organizada sino hasta que la dentina del manto se ha formado (Nanci, 2018).

Anterior a la formación de la dentina del manto, las células del órgano del esmalte reciben los nutrientes a través de vasos sanguíneos presentes en la papila dental y de vasos sanguíneos ubicados en la periferia del EDE. Al formarse la

dentina del manto se reducen drásticamente los nutrientes que alcanzan al EDI, en el momento en que las células de éste están a punto de secretar esmalte activamente, por lo que su demanda de nutrientes aumenta. Esta demanda, es compensada con un aparente colapso del RE y la invaginación del EDE para permitir el ingreso de vasos sanguíneos que se encuentran en el exterior (Nanci, 2018).

Cuando la predentina alcanza la zona de inflexión cervical tendremos una “**corona temprana**” en donde la papila dental alcanza mayor grado de madurez estructurando la pulpa dentaria y se induce la formación de la vaina epitelial radicular dando paso a la formación radicular, periodonto de inserción y la erupción dentaria (Yu & Klein, 2020). Una vez completa la formación del esmalte, se genera una capa de ameloblastos reducidos que en conjunto con los otros elementos vestigiales del órgano del esmalte conforman una capa protectora, los epitelios reducidos del órgano de esmalte, la cual se fusionará con las capas basales del epitelio oral una vez que erupciona el diente (Pagella y cols., 2020).

La formación radicular se produce seguido de la formación de la corona, una vez que el esmalte ha alcanzado la unión cemento-esmalte (definiendo el límite entre la raíz y la corona) (Jheon y cols., 2013). La región apical del órgano del esmalte se elonga y da origen a la vaina epitelial radicular (Figura 7), una estructura epitelial de doble capa que crece entre la papila y el folículo dental (Nanci, 2018; Li y cols., 2017). La vaina epitelial radicular estimula la diferenciación de los odontoblastos a partir de las células ectomesenquimales que se encuentran en contacto directo, induciendo así la formación de la dentina radicular, guiando en todo momento la formación radicular y determinando el tamaño, forma y número de raíces. Cualquier perturbación en su formación lleva a malformaciones que afectan la estructura, forma, número, longitud y otras características de la raíz (Pagella y cols., 2020; Li y cols., 2017).

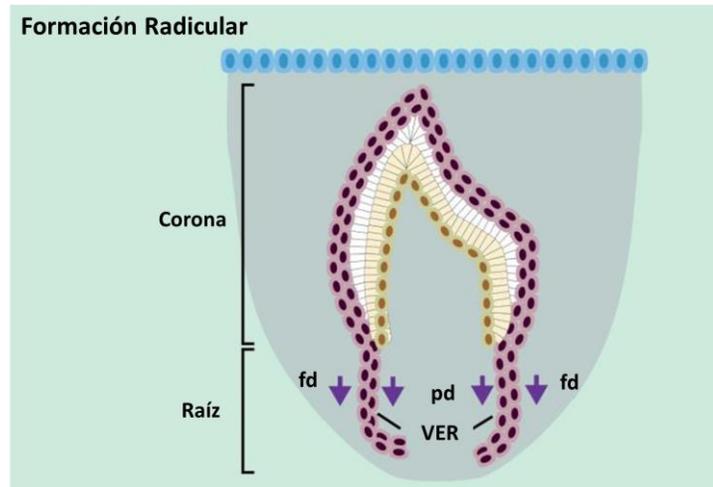


Figura 7: Formación radicular

Cuando los tejidos mineralizados de la corona alcanzan la zona cervical dentaria, comienza la elongación del asa cervical, la cual se transforma en la vaina epitelial radicular (VER), estructura que inicia y coordina la formación radicular (adaptada de Pagella y cols., 2020).

Abreviaciones: fd=folículo dental; pd=papila dental; VER=Vaina epitelial radicular.

Luego de que la vaina epitelial radicular se mueve en dirección a la región apical del diente, se perfora en diversos puntos vía apoptosis localizada, dando lugar a una estructura tipo red o malla (Pagella y cols., 2020; Li y cols., 2017). Esta red permite la interacción directa entre las células foliculares y la dentina recién formada, lo que induce la diferenciación de las células foliculares en cementoblastos, quienes comienzan la producción del cemento (Yu & Klein, 2020; Nanci, 2018; Li y cols., 2017). La formación del ligamento periodontal comienza con la migración de las células del folículo en contacto con la vaina, entre la raíz y el hueso alveolar. Este evento coincide con el comienzo de la perforación de la vaina. Posteriormente comienza la secreción de fibras de colágeno, las que luego se engrosan y organizan de forma estructurada (Li y cols., 2017).

La vaina epitelial radicular no se degenera completamente durante la formación de la raíz, algunos fragmentos de ella se convierten en restos celulares epiteliales (restos de Malassez), residuos quiescentes que contribuyen a la homeostasis del ligamento periodontal y a la regeneración y reparación del cemento (Li y cols., 2017).

Poco después del inicio de la formación radicular comienza el proceso de erupción dentaria, el que consiste en atravesar los tejidos que cubren a la corona: el tejido óseo y la mucosa de revestimiento de la cavidad oral. Cuando comienza el movimiento eruptivo, el esmalte aún se encuentra revestido por una capa de ameloblastos y remanentes del órgano del esmalte (capa papilar o cuticular), los que en conjunto forman el epitelio reducido del órgano del esmalte (Figura 8).

A medida que el diente avanza hacia la cavidad oral, el tejido óseo se resorbe seguido de la disgregación del corion de la mucosa. Cuando el diente alcanza el epitelio oral, el epitelio reducido del órgano del esmalte se fusiona con las capas basales del epitelio oral, formando una unión adherente de células sobre la corona dentaria, la cual se degenera en su zona central formando un canal por el que erupciona el diente, dejando restos celulares en la corona. De esta forma, se logra la erupción dentaria sin exposición del tejido conectivo circundante y sin hemorragias. Al tiempo que el diente avanza por el canal epitelial se forma la unión dentogingival o epitelio de unión a partir de las células del epitelio oral y del epitelio reducido del esmalte. Finalmente, el diente alcanza su posición en la cavidad, llegando al plano oclusal (Nanci, 2018).

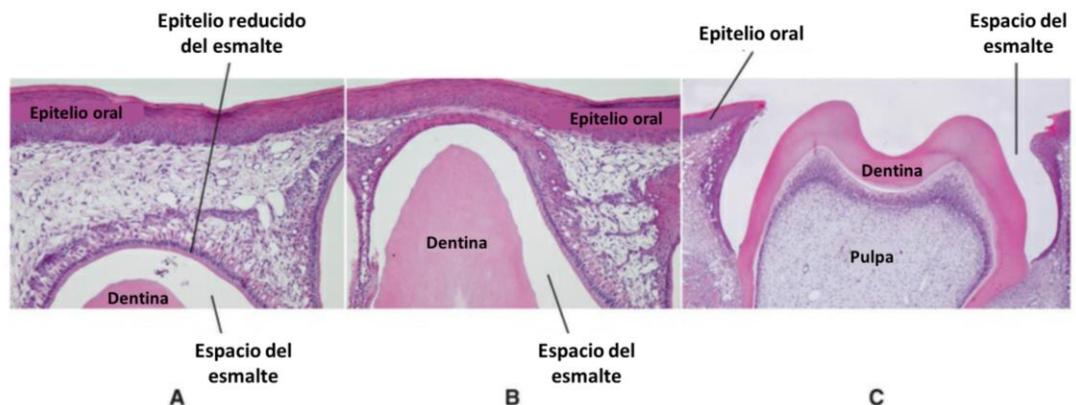


Figura 8: Erupción dentaria

A: A medida que el diente se acerca al epitelio bucal, una fina capa de tejido conectivo separa el órgano del esmalte del epitelio bucal. **B y C:** A medida que se pierde el tejido conectivo, los dos epitelios se ponen en contacto y se fusionan a lo largo de la cara lateral de la corona del diente. Esta fusión lateral permite mantener en todo momento la continuidad epitelial ya que la parte central de la corona perfora el epitelio bucal (adaptada de Nanci, 2018).

2.1.3 Vías de señalización en Odontogénesis

Diversas vías de señalización trabajan en sintonía para orquestar el desarrollo dentario, responden a señales intercelulares, al entorno, al control del ciclo celular y a la patogénesis (Jheon y cols., 2013).

Se han descrito cinco principales vías de señalización molecular (Figura 9) que coordinan y regulan el desarrollo dentario: la proteína morfogénica ósea (BMP), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), *Sonic hedgehog* (Shh), el sitio de integración relacionado con *Wingless* (Wnt) y la Ectodisplasina (EDA) (Nanci, 2018; Thesleff, 2018). Hasta la fecha, se conoce parcialmente la interacción de estas vías con una serie de moléculas presentes en las células madre que llevan a cabo el proceso de odontogénesis. Sin embargo, la literatura apoya su relevancia desde la definición de las placodas dentales hasta las últimas etapas de mineralización y erupción dentaria (Yu & Klein, 2020).

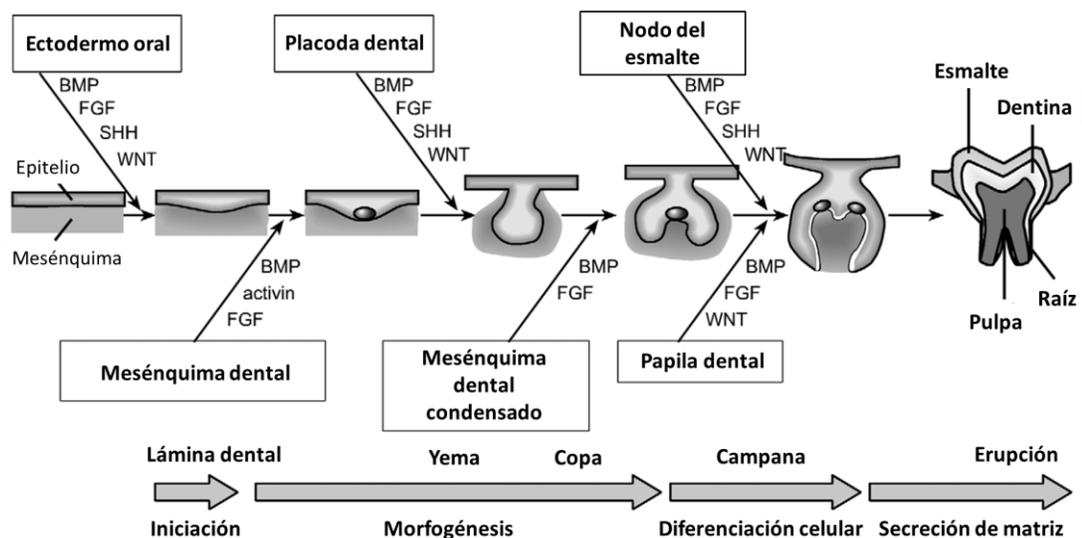


Figura 9: Vías de señalización involucradas en la Odontogénesis

La regulación del desarrollo dental es producida por una cadena de interacciones entre los tejidos epiteliales y mesenquimales. Las interacciones recíprocas están mediadas por las moléculas de señalización de BMP, FGF, Shh, Wnt y EDA (adaptada de Thesleff, 2018).

La inhibición de su expresión o bien la sobreexpresión de estos morfógenos pueden inducir anomalías del desarrollo dentario. Estas anomalías se suelen clasificar en: alteraciones de tamaño, de forma, número, alteraciones en la estructura dentaria y de la erupción (Martín-González y cols., 2021).

2.1.3.1 SEÑALIZACION EN ETAPA DE INICIACIÓN

Previo al inicio de la odontogénesis se establece el patrón de la dentición gracias a los gradientes competitivos de los ligandos de FGF y BMP, que determinan la ubicación exacta y el tipo de dientes que se desarrollarán (Jheon y cols., 2013). *Bmp4* dirige la forma de los incisivos y *Fgf8* la forma de los molares (Pagella y cols., 2020). Además, ambas vías desencadenan la expresión de *Pax9* y *Msx1*, los cuales son un sello distintivo de la condensación mesenquimal en la etapa de yema (Yu & Klein, 2020).

La señalización de Shh y FGF son impulsores fundamentales de las primeras fases de la odontogénesis. La inhibición de Shh detiene el crecimiento y la invaginación epitelial (Pagella y cols., 2020). Por otro lado, el bloqueo de FGF interrumpe la migración celular, lo que genera yemas más pequeñas y de formación tardía (Yu & Klein, 2020).

La vía Wnt también juega un papel importante en las fases iniciales del desarrollo dental. La inhibición de la señalización de Wnt epitelial bloquea el desarrollo de dientes en la etapa de placoda e interrumpe la formación del nodo del esmalte primario, mientras que su inhibición mesenquimal detiene la odontogénesis en etapa de yema, provocando agenesias (Yu & Klein, 2020). Por el contrario, el aumento de la actividad Wnt genera la formación de múltiples yemas dentales y dientes supernumerarios (Pagella y cols., 2020).

2.1.3.2 SEÑALIZACION EN ETAPA DE MORFOGÉNESIS

Durante la transición de yema a copa, el epitelio dental se caracteriza por la aparición de nodos de esmalte (NE), centros de señalización localizados en los sitios de las futuras cúspides. Las células del NE producen Wnt, Shh, BMP y FGF, que a su vez modulan la proliferación de los tejidos epiteliales y mesenquimales adyacentes, lo que conduce a la formación de cúspides dentales (Pagella y cols., 2020; Jheon y cols., 2013).

Los nodos del esmalte y la formación de cúspides también están fuertemente modulados por la actividad de ectodisplasina (EDA). EDA controla el tamaño del NE primario, por lo que su mutación en ratones crea NEs pequeños, mostrando defectos en la invaginación epitelial, resultando cúspides aplanadas (Pagella y cols., 2020). La mutación de EDA en el ser humano causa displasia ectodérmica

hipohidrática (DEH), caracterizada por presentar oligodoncia, pérdida de cabello, xerostomía y anhidrosis (Nanci, 2018; Thesleff, 2018).

2.1.3.3 SEÑALIZACION EN ETAPA DE CITODIFERENCIACIÓN Y MINERALIZACIÓN

Durante la diferenciación de las células epiteliales en ameloblastos, el FGF es fundamental para la generación de sus progenitores. Por su parte, la actividad de Shh es necesaria para la diferenciación terminal adecuada de los ameloblastos y la producción de esmalte. La señalización de Wnt es esencial para la migración de ameloblastos durante su diferenciación (Pagella y cols., 2020). BMP regula el patrón cuspídeo, y en última instancia la forma de la corona, además de la diferenciación de odontoblastos y ameloblastos (Li y cols., 2017; Jheon y cols., 2013).

2.1.3.4 SEÑALIZACION EN ETAPA DE FORMACIÓN RADICULAR

Los ligandos de BMP se expresan en las primeras fases de la formación radicular, y su diafonía con la señalización de Shh es necesaria para la formación adecuada de la vaina epitelial radicular y el posterior desarrollo de la raíz (Pagella y cols., 2020). La pérdida de señalización de BMP en el epitelio dental conduce a la persistencia de la actividad de Shh en las raíces, lo que lleva a un retraso en la formación radicular y defectos en su patrón de desarrollo (Pagella y cols., 2020).

FGF y Shh están involucradas en mediar la interacción epitelio-mesénquima. Estudios sugieren que *Fgf10* controla el cese de la formación de corona y el comienzo de la formación radicular, a través de la regulación de la interacción epitelio-mesénquima (Li y cols., 2017). La sobreexpresión de Shh antes de la iniciación de la raíz resulta en una menor proliferación de las células mesenquimales cercanas a la vaina epitelial radicular y a raíces más cortas (Li y cols., 2017).

La vía Wnt es muy activa en el desarrollo de las raíces de molares. La pérdida de BMP en el mesénquima dental resulta en un aumento de la señalización de Wnt (ya que BMP regula a antagonistas de Wnt), formando estructuras ectópicas similares a tejido óseo en la región dentinaria (Li y cols., 2017).

Las células del ligamento periodontal también se diferencian gracias al estímulo de estas diversas vías de señalización, siendo la vía BMP una de las más

importantes, la cual, es regulada por la expresión de una proteína presente en la membrana plasmática denominada Caveolina 1 (Cav-1). Estudios *in vitro* en células mesenquimales, mostraron que la inhibición de Cav-1 genera aumento de la expresión de BMP, con una mayor diferenciación de estas células en osteoblastos y cementoblastos, mostrando que esta proteína puede estar involucrada en la regulación del proceso de formación de los tejidos dentarios durante la odontogénesis. Otro efecto encontrado por la inhibición de Cav-1 fue un aumento en la expresión de ligandos de Wnt y β -catenina. Además, se observó la expresión de Cav-1 en células endoteliales, células del ligamento periodontal, cementoblastos, osteoblastos y nervios periféricos del hueso alveolar durante la formación radicular y erupción dentaria en ratones (Lee y cols., 2016)

2.2 CAVEOLAS Y CAVEOLINA-1

2.2.1 Caveolas: descubrimiento, ubicación, función

La membrana plasmática de la mayoría de las células de mamíferos presenta estructuras denominadas balsas lipídicas, las cuales corresponden a microdominios de membrana ordenados, con una composición proteica y lipídica determinada (Zajchowski & Robbins, 2002). Un gran número de proteínas y lípidos se acumulan en aquellos microdominios, en donde se transmiten cascadas de señalización rápidas, amplificadas y específicas (Boscher & Nabi, 2012).

Investigaciones realizadas a mediados del siglo XX, gracias a los avances en microscopía electrónica, revelaron la presencia de múltiples invaginaciones en forma de omega (Ω) en la superficie de células endoteliales y células epiteliales de la vesícula biliar de ratón, a las que denominaron Caveolas o “pequeñas cuevas” debido a su morfología característica (Srivastav y cols., 2019; Boscher & Nabi, 2012; Zou y cols., 2012; Sotgia y cols., 2005). Estas formas especializadas de balsa lipídica poseen un diámetro de 50-100nm, son enriquecidas en colesterol y glicoesfingolípidos, y pueden existir de forma individual, agrupadas en racimos o en largas estructuras tubulares derivadas de la fusión de Caveolas en el citoplasma (Volonte & Galbiati, 2020; Xing y cols., 2020; Routray, 2014; Zou y cols., 2012).

Desde su descubrimiento, las Caveolas se han encontrado en una gran variedad de tejidos (Zou y cols., 2012). La proporción de Caveolas presentes varía

en función del tipo celular, mientras que es abundante en células musculares (esqueléticas, cardíacas y lisas), endoteliales y adipocitos, donde pueden representar el 30-70% de la membrana plasmática (Parton y cols., 2020; Pereira-prado y cols., 2017; Andrews & Rizzo, 2016; Hollins y cols., 2002), en células como fibroblastos tan solo el 5% de la membrana está formada por Caveolas y en neuronas su presencia es aún menor (Srivastav y cols., 2019).

Las Caveolas se forman mediante el ensamblaje de dos conjuntos distintos de proteínas que llegan a la membrana plasmática (MP) por mecanismos diferentes. Las Caveolinas (Caveolina-1, Caveolina-2 y Caveolina-3), proteínas integrales de membrana, se sintetizan en el retículo endoplasmático (RE) y luego se desplazan por el complejo de Golgi hasta la MP en un proceso dependiente de colesterol, formando conjuntos oligoméricos a medida que avanzan por la vía secretora (Figura 10). En la MP, se encuentran con proteínas accesorias, las Cavininas (Cavina-1, 2, 3 y 4), que se sintetizan en el citosol y luego son reclutadas en el microdominio de membrana enriquecido con caveolina mediante la interacción con esta y con los lípidos, en donde forman oligómeros, para finalmente obtener la estructura característica (Parton y cols., 2020; Routray, 2014). La composición lipídica, las proteínas accesorias y la arquitectura de los dominios enriquecidos con Caveolina en la MP pueden intervenir en la asociación de Cavininas para garantizar que las Caveolas se formen sólo en la superficie celular (Parton y cols., 2018). Se ha propuesto que las Cavininas regulan varias funciones, como el secuestro de las Caveolinas dentro de las Caveolas, la curvatura de la membrana caveolar, el movimiento intracelular de las Caveolas y el acoplamiento de la señalización caveolar con la señalización nuclear (Routray, 2014). Una sola Caveola madura ensamblada comprende aproximadamente 140 moléculas de Cav-1, 50-80 moléculas de Cavina-1, otras cavininas (aproximadamente 20) y la estructura de anillo oligomérico de EHD2 ensamblado (aproximadamente 40) (Parton y cols., 2020).

Las Caveolas son importantes reguladoras de los procesos de transducción de señales. Las proteínas de transducción de señales que se asocian a las Caveolas son las siguientes: (1) quinasas; (2) canales de iones e intercambiadores de iones; (3) receptores, incluidos los receptores acoplados a proteínas G, receptores tirosina quinasa (RTK), receptores de hormonas esteroidales, el receptor de inositol 1,4,5-trifosfato (IP3R) y los receptores del factor de crecimiento

transformante- β ; y (4) la óxido nítrico sintasa (eNOS) (Volonte & Galbiati, 2020; Li y cols., 2005). Sin embargo, el papel de las caveolas en las células eucariotas no se limita a los mecanismos de transducción de señales. De hecho, investigaciones en la última década han demostrado que las Caveolas están implicadas en la transcitosis, la endocitosis independiente de clatrina, el metabolismo celular, la regulación y el transporte del colesterol celular, en la disposición del citoesqueleto de actina, la polaridad celular, la fusión de membranas y en la angiogénesis (Srivastav y cols., 2019; Andrews & Rizzo, 2016; Routray, 2014; Zou y cols., 2012). Además, se ha descrito que pueden desmontarse en respuesta a estímulos físicos, permitiendo a la célula hacer frente a los cambios en la tensión de membrana, funcionando como dispositivos mecanoprotectores (Parton y cols., 2018).

Debido a su participación en múltiples procesos celulares, las Caveolas se han relacionado con numerosas enfermedades, como la diabetes, las enfermedades cardiovasculares, la fibrosis pulmonar, cáncer y una variedad de distrofias musculares degenerativas, lo que hace que su estudio sea de gran importancia biomédica (Parton y cols., 2020).

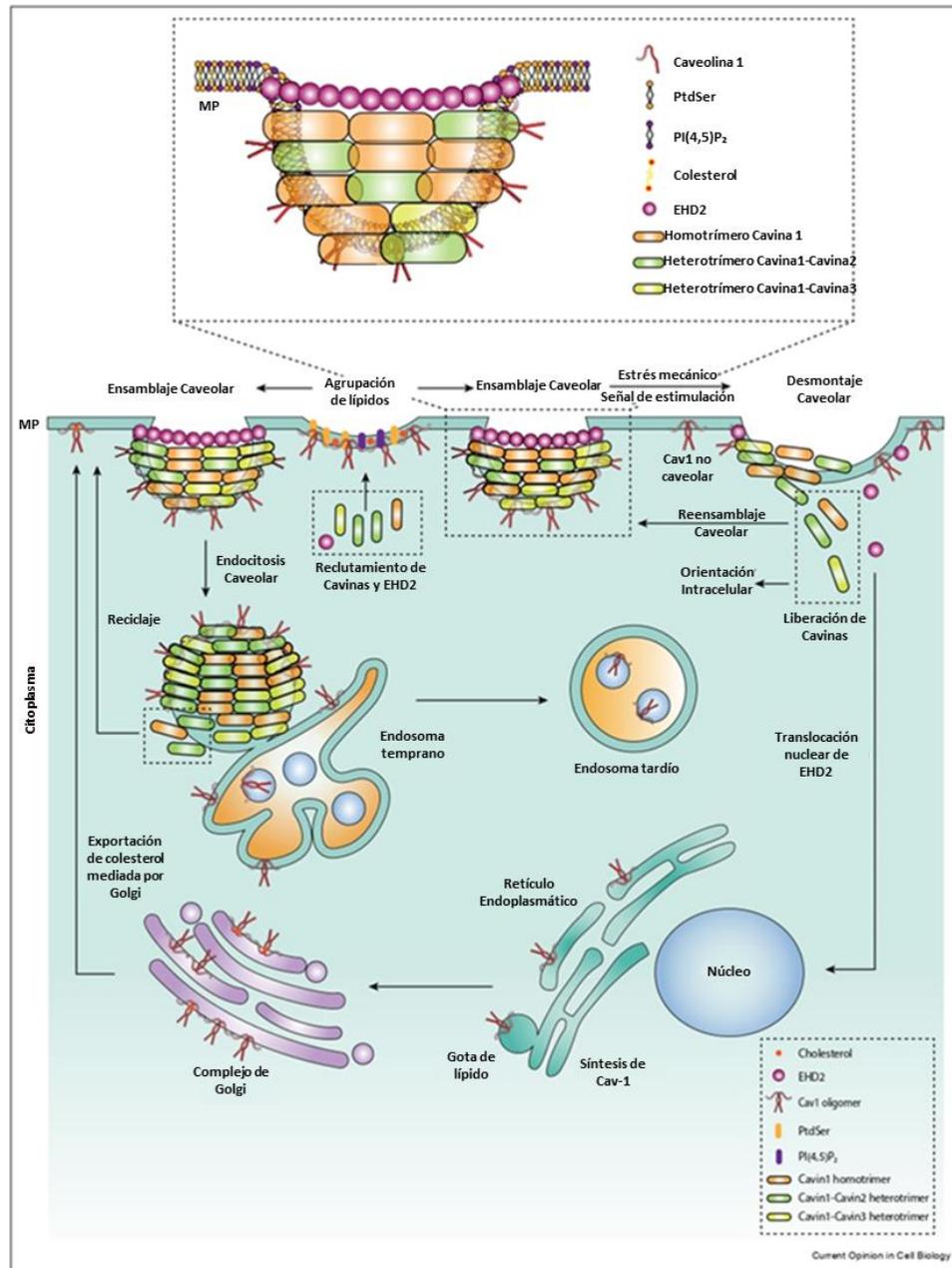


Figura 10: Formación y dinámica de las caveolas

Cav-1 se sintetiza en el RE. El dominio hidrofóbico permite la acumulación de Cav-1 en las gotas de lípidos que brotan del RE. Cav-1 sintetizada se transporta al complejo de Golgi donde se ensambla en un complejo rico en colesterol y luego se transfiere a la MP. La inserción de Cav-1 en la MP da lugar a la agrupación de lípidos y al reclutamiento de otros componentes caveolares, como las cavinas y EHD2. Cav-1 puede ser internalizada a través de la endocitosis caveolar y entregada a los endosomas tempranos y tardíos. En respuesta a una fuerza mecánica o a la estimulación de una señal, las caveolas pueden aplanarse y liberar cavinas y EHD2 para su direccionamiento intracelular, mientras que Cav-1 se redistribuye en la masa de la MP (adaptada de Parton y cols., 2020)

Abreviaciones: RE=Reticulo Endoplasmático; MP=Membrana Plasmática

2.2.2 Tipos de Caveolinas

Cada Caveola se encuentra conformada por aproximadamente 100-200 proteínas integrales de membrana denominadas Caveolinas (Pereira-prado y cols., 2017). En los mamíferos se han identificado tres isoformas de Caveolina, las que se encuentran codificadas por diferentes genes: Caveolina-1 (Cav-1), Caveolina-2 (Cav-2) y Caveolina-3 (Cav-3) (Tang y cols., 2021; Sawada y cols., 2007; Zajchowski & Robbins, 2002). Estas proteínas de 18-20 kDa, poseen similar estructura con dominios citosólicos N y C terminales, un dominio oligomérico y un dominio denominado “dominio de andamiaje” (scaffolding domain), de 19 a 21 aminoácidos de longitud, responsable de la interacción con distintas moléculas de señalización (Surguchov, 2020; Srivastav y cols., 2019; Pereira-Prado y cols., 2017; Hollins y cols., 2002). La literatura ha mostrado que Cav-1 y Cav-3 son esenciales para la configuración Caveolar, mientras que Cav-2 suele expresarse junto a Cav-1, siendo incapaz de formar Caveolas en ausencia de ésta (Srivastav y cols., 2019; Baker y cols., 2012; Sawada y cols., 2007).

Cav-1 y Cav-2 se coexpresan en muchos tipos celulares, encontrándose principalmente en adipocitos, neumocitos tipo I, células endoteliales, células epiteliales y fibroblastos (Boscher & Nabi, 2012). Por otra parte, la expresión de Cav-3 está restringida al tejido muscular, es decir, las células musculares esqueléticas, cardíacas y lisas (Srivastav y cols., 2019; Routray, 2014; Sotgia y cols., 2005). Además, se ha demostrado que las tres Caveolinas se expresan en el cerebro de los mamíferos (Jasmin y cols., 2009).

La principal función de las caveolinas es el reclutamiento de moléculas de señalización en las caveolas, así como la regulación de su actividad (Tang y cols., 2021), y gracias a ello se ven involucradas en procesos celulares como la proliferación y diferenciación celular, apoptosis, migración celular, endocitosis, tráfico vesicular y transducción de señales (Pereira-Prado y cols., 2017; Shi y cols., 2016; Jasmin y cols., 2009). Se ha demostrado, además, su participación en procesos patológicos como el cáncer, diabetes, enfermedad de Alzheimer, distrofia muscular, enfermedades coronarias e hipertensión (Surguchov, 2020).

2.2.3 Caveolina 1: Composición, localización, función, relación con diversos procesos (fisiológicos y patológicos).

Cav-1 ha sido ampliamente estudiada a lo largo de los últimos 20 años, lo cual ha permitido avances en el ámbito genético, biológico y bioquímico. Su secuencia proteica comprende cuatro dominios: Un dominio NH₂-terminal; un dominio de *scaffolding* o de andamiaje (representado por los residuos 82-101), responsable de la interacción con patrones de señales; un dominio de membrana, que interactúa con los lípidos de ésta; y un dominio terminal COOH (Volonte y cols., 2020; Baker y cols., 2102). El inicio de la traducción del ARNm de la Cav-1 se produce en dos sitios diferentes para generar dos isoformas de Cav-1: Cav-1 α con 178 aminoácidos de 24kDa y Cav-1 β con 148 aminoácidos de 21kDa (Pereira-Prado y cols., 2017; Routray, 2014; Zajchowski & Robbins, 2002). La interacción directa con la caveolina-1 generalmente tiene como resultado el secuestro de una determinada molécula de señalización dentro de la caveola y la modulación de su actividad de señalización (Volonte y cols., 2020).

Cav-1, además de expresarse en las caveolas, también se puede encontrar en vesículas endocíticas (caveosomas), en el aparato de Golgi, retículo endoplasmático, en el núcleo, en gotas de lípidos, en las mitocondrias y también puede ser secretada al espacio extracelular (Pereira-Prado y cols., 2017; Routray, 2014). Esta proteína regula funcionalmente una gran variedad de moléculas de señalización, entre las que se encuentran las subunidades alfa de la proteína G, GTPasas, H-Ras, óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), quinasas de la familia Src, Wnt/ β -catenina, receptores tirosina quinasa (RTK), proteína quinasa C (PKC), proteína quinasa A (PKA), Mdm2 y proteína fosfatasa tipo 2A (Routray, 2014; Zou y cols., 2012). Cav-1 se suele encontrar en gran medida en células diferenciadas terminales o quiescentes, incluidos: adipocitos, células endoteliales, monocitos, macrófagos, células dendríticas, microglía, astrocitos y linfocitos primarios T y B (Sahay & Mergia, 2020).

La interacción de Cav-1 con diversas moléculas determina su rol como regulador en varios procesos celulares, tanto fisiológicos como patológicos. La interacción entre Cav-1 y metaloproteinasas de la matriz, sugiere un papel regulador en la remodelación de la matriz extracelular (Surguchov, 2020; Volonte & Galbiati.,

2020). También se ha reportado que Cav-1 participa en la angiogénesis, regulándola negativamente mediante la inhibición del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), mientras que promueve la angiogénesis a través de la vía PI3K/Akt (Pereira-Prado y cols., 2017). Por otro lado, se ha demostrado que modula a E-cadherina, uno de los principales componentes de las uniones intercelulares, controlando de esta forma la migración celular (Pereira-Prado y cols., 2017). Múltiples hallazgos han identificado a Cav-1 como un factor que contribuye a la senescencia celular (una forma estable de detención del ciclo celular que tiene como objetivo evitar la propagación de células con ADN dañado), relacionándola con la activación de la vía p53/p21, y encontrando que Cav-1 tanto en exceso como en déficit promueve una respuesta senescente (Volonte & Galbiati, 2020).

Numerosas investigaciones han documentado la participación de Cav-1 en enfermedades como diabetes, Alzheimer, enfermedades cardíacas, deterioro cognitivo, aterosclerosis, en el curso de infecciones virales y en el cáncer (Tang y cols., 2021; Xing y cols., 2020; Surguchov, 2020; Lee y cols., 2015), siendo este último uno de los más estudiados en los últimos 20 años.

El rol de Cav-1 en el cáncer es controversial, algunos autores proponen que Cav-1 juega un papel doble en la progresión del tumor, actuando en las primeras etapas, como supresor tumoral, induciendo la detención del ciclo celular y la apoptosis; mientras que en las últimas etapas promueve la invasión tumoral, angiogénesis y metástasis, haciendo al tumor más resistente (Routray, 2014). La expresión de Cav-1 está reducida en el cáncer de mama, colon, carcinoma de ovario y el sarcoma de tejidos blandos (Volonte & Galbiati, 2020; Routray, 2014). Mientras que, en el cáncer de próstata, adenocarcinoma ductal de páncreas, carcinoma de células escamosas de esófago, glioblastoma, carcinoma de células renales y el carcinoma pulmonar de células pequeñas se encuentra aumentada (Routray, 2014). La falta de Cav-1 aumenta la génesis de tumores en ciertos modelos de cáncer de ratón, como el de mama y el de piel (Volonte & Galbiati, 2020). Además, en el cáncer mama, Cav-1 actúa como un predictor de la recurrencia temprana del tumor, la metástasis en los ganglios linfáticos y la resistencia al tamoxifeno (Routray, 2014). Zou y cols., estudiaron el papel de Cav-1 en la quimioterapia de células de cáncer de colon y el mecanismo subyacente y concluyeron que niveles elevados de Cav-1 pueden promover resistencia a los fármacos quimioterapéuticos en las células

cancerosas. Este mecanismo también sería coherente con un escenario propuesto en el que la expresión de caveolina-1 se pierde en las fases iniciales del desarrollo del cáncer, pero vuelve a alcanzar niveles elevados en fases posteriores, cuando el tumor ha adquirido propiedades de resistencia a múltiples fármacos (Zou y cols., 2012).

Existe evidencia acerca de la participación de Cav-1 en la proliferación y diferenciación celular. Hollins y cols., descubrieron que Cav-1 se expresa en el cartílago aviar en desarrollo, particularmente en las zonas subyacentes a los condrocitos en proliferación, sugiriendo que Cav-1 actúa como inhibidor de la vía Wnt/ β -catenina, la cual se encarga de regular la progresión de los condrocitos a su configuración prehipótrfica (Hollins y cols., 2002). Además, estudios en ratones knock-out para Cav-1, demostraron un aumento en la proliferación *in vivo* de células madre adultas intestinales, de glándulas mamarias y neurales, llegando a la conclusión de que Cav-1 tiene un rol inhibidor en la proliferación de este tipo de células, mediante la inactivación de la vía Wnt/ β -catenina (Jasmin y cols., 2009; Li y cols., 2005; Sotgia y cols., 2005).

2.3 CAVEOLINA-1 Y TEJIDOS MINERALIZADOS

La relación entre Cav-1 y los tejidos mineralizados aún no está clara, sin embargo, existe evidencia que la involucra en sus procesos de desarrollo y homeostasis.

La vía de señalización BMP juega un papel importante en el desarrollo embrionario, especialmente en la condrogénesis, osteogénesis, odontogénesis, neurogénesis y hematopoyesis (Nohe y cols., 2005). Un estudio realizado por Nohe y cols., reveló que los receptores de BMP se co-localizan con las isoformas de Cav-1 (α y β), unión que se ve interrumpida frente a la estimulación con BMP2, uno de los ligandos de BMP más importantes en la osteogénesis. Sus resultados sugieren que Cav-1, en particular Cav-1 β , mantiene secuestrados a los receptores BMP, inhibiendo así su cascada de señalización (Nohe y cols., 2005).

Investigaciones en ratones *knock-out* para Cav-1 describen alteraciones esqueléticas producto de un aumento en la tasa de mineralización, generando trabéculas de gran tamaño y grosor con escasos espacios medulares, y un hueso

compacto más rígido y de mayor resistencia frente a estímulos mecánicos (Rubin y cols., 2007). Además, se observó *in vitro* una mayor diferenciación de osteoblastos de ratón, los cuales presentaron una morfología anormal (Rubin y cols., 2007). Estos resultados sugieren que cav-1 ayuda a mantener los progenitores de osteoblastos en un estado de menor diferenciación, y la ausencia de cav-1 hace que el hueso madure más rápidamente. Siguiendo con esa línea de investigación, Baker y cols., examinaron la expresión de Cav-1 en las células madre mesenquimales (MSC) derivadas de la médula ósea humana. Detectaron que Cav-1 se expresa débilmente en la membrana plasmática de las MSC indiferenciadas, aumentando su expresión cuando las MSC son inducidas a diferenciación osteogénica. En tanto que, la eliminación de Cav-1 aumenta la proliferación de las MSCs y la diferenciación osteogénica (Baker y cols., 2012). Estos hallazgos sugieren que la Cav-1 actúa normalmente para regular la renovación y diferenciación de las MSC, y que el aumento de la expresión de Cav-1 durante la osteogénesis probablemente actúa como una retroalimentación negativa para estabilizar el fenotipo celular diferenciado y reducir la respuesta de las MSC a los estímulos de diferenciación (Baker y cols., 2012).

Un efecto contrario se observó en un estudio realizado por Zou y cols., en donde se analizó el rol de Cav-1 frente a la estimulación de células derivadas de osteoblastos fetales humanos con Leptina, una proteína que tiene efecto proliferativo sobre los osteoblastos. Mostraron que Cav-1 potencia la actividad de la Leptina, aumentando su efecto proliferativo sobre los osteoblastos (Zou y cols., 2012).

Lee y cols., estudiaron el rol de Cav-1 en la osteoclastogénesis, tanto *in vivo* como *in vitro*, encontrando que los niveles de Cav-1 aumentan al inducir la osteoclastogénesis en células derivadas de la médula ósea, y que ratones hembra Knock-out para Cav-1 presentaron un menor número de osteoclastos en el hueso, lo que se tradujo en un volumen óseo trabecular significativamente mayor, en comparación con los ratones de control. Los ratones macho no presentaron mayores diferencias, por lo que los autores sugieren que la deficiencia de Cav-1 afecta al fenotipo óseo en función del sexo (Lee y cols., 2015).

Durante la mineralización ósea, además de secretar proteínas de la matriz ósea, los osteoblastos liberan vesículas matriciales (VM) al medio extracelular. Las

VM, son vesículas extracelulares de 100nm de diámetro que se desprenden de la membrana plasmática de osteoblastos, condrocitos y odontoblastos, con el objetivo de transportar los cristales de hidroxiapatita hacia la matriz proteica, lo que da lugar a la mineralización tisular (Sawada y cols., 2007). Un estudio *in vitro* realizado por Sawada y cols., demostró que Cav-1 se expresa en las VM secretadas por osteoblastos. Además, descubrieron que la sobreexpresión de Cav-1 aumentó la mineralización, mientras que la inhibición de esta disminuyó los niveles de mineralización (Sawada y cols., 2007).

2.4 CAVEOLINA-1 Y ODONTOGÉNESIS

Existe clara evidencia que relaciona a Cav-1 con la dinámica celular de tejidos mineralizados como es el tejido óseo, en donde ella suprime el crecimiento y diferenciación de las MSC indiferenciadas, aumentando su expresión en etapas finales de la diferenciación celular, estabilizando el fenotipo celular diferenciado (Baker y cols., 2012; Rubin y cols., 2007; Hollins y cols 2004). Sin embargo, existe escasa evidencia que relacione a Cav-1 con la formación de los tejidos dentarios y su mineralización, la que además presenta discrepancias y contradicciones en las diversas fases del desarrollo dentario.

Lee y cols., analizaron la expresión de Cav-1 en el tejido periodontal en desarrollo de ratón y exploraron su papel en la diferenciación de células del ligamento periodontal humano (hPDLCs), cementoblastos y osteoblastos, demostrando expresión positiva en dichas células *in vitro* como durante el desarrollo del periodonto *in vivo*. Además, examinaron la relación entre Cav-1 y vías de señalización que promueven la diferenciación de osteoblastos y cementoblastos (BMP, AMPK, MAPK y NF-κB), encontrando que la inhibición de Cav-1 las regula de forma positiva (Lee y cols., 2016).

Otro estudio relacionó a Cav-1 con la aparición y el patrón de distribución de EMMPRIN, una proteína transmembrana que estimula la producción de metaloproteinasas de la matriz (MMP) durante la odontogénesis, en gérmenes de molar de ratón mostrando una co-localización de ambas proteínas en ameloblastos y en las células del epitelio dental interno del esmalte en las etapas de copa y campana, y Cav-1 muy expresada en las células endoteliales (Schwab y cols.,

2007). Otro estudio posterior mostró la expresión de ambas proteínas en estado de yema, Cav-1 en el tejido epitelial y EMMPRIN débilmente en el tejido epitelial y mesenquimático. En la etapa de copa tanto Cav-1 como EMMPRIN se expresaron de forma intensa en el órgano del esmalte, Cav-1 más marcada en la zona lingual del órgano del esmalte, mientras que EMMPRIN en la zona vestibular. Desde la etapa de campana hasta los 2 días postnatales, Cav-1 se observó en ameloblastos y en la zona de inflexión cervical, pero EMMPRIN se observó en ameloblastos y odontoblastos (Shi y cols., 2016). Los autores proponen que estas proteínas pueden estar relacionadas en un inicio con la histodiferenciación y la morfogénesis, y que posteriormente pueden participar en la mineralización por parte de odontoblastos y ameloblastos (Shi y cols., 2016). Otros estudios en tumores odontogénicos y en germen dental humano mostraron marcaje para Cav-1 en ameloblastoma y en carcinoma ameloblástico, sugiriendo que Cav-1 podría estar implicada en los procesos pro-tumorales en estos tipos de tumores. También se mostró marcaje en el germen dental humano en las etapas de yema, copa y campana en componentes epiteliales como mesenquimales y se observó también la mayor parte de vasos sanguíneos y los osteoblastos adyacentes marcados para Cav-1 (Sánchez-Romero y cols., 2021).

Los hallazgos demuestran que Cav-1 estaría implicada en el desarrollo dentario, sin embargo, aún no existe un claro consenso acerca del papel que juega Cav-1 en las diversas etapas del desarrollo dentario, por lo que se hace necesario analizar y sintetizar la evidencia existente. Durante este estudio, nos hemos planteado realizar una revisión sistemática cualitativa (exploratoria) que reúna y discuta la información existente respecto a la expresión de Cav-1 en las diferentes formas y etapas del proceso de odontogénesis.

3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN Y OBJETIVO GENERAL

3.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe evidencia reportada de la expresión y función de Cav-1 en diferentes formas de Odontogénesis y sus diversas etapas?

3.2 OBJETIVO GENERAL

Revisar y sintetizar la evidencia existente respecto de la expresión y función de Cav-1 en diferentes formas de odontogénesis y sus etapas.

4 METODOLOGÍA

4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó una Revisión Sistemática Cualitativa

4.2 PLANTEAMIENTO DE LA PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

La estructuración de la pregunta de investigación fue realizada de acuerdo con el marco de referencia Población, Fenómeno de interés, Contexto (PFCo), según Munn y cols. 2018, aplicado a una Revisión Sistemática Cualitativa.

“¿Existe evidencia reportada de la expresión y función de Cav-1 en diferentes formas de Odontogénesis y sus diversas etapas?”

PFCo:

- Población/Grupo de estudio: Dientes en desarrollo a crecimiento limitado de Mamíferos, diente de mamíferos a crecimiento continuo.
- Fenómeno de interés: Expresión de caveolina 1
- Contexto: Odontogénesis

4.3 ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA

4.3.1 Palabras clave y términos de búsqueda

La estructuración de la pregunta de investigación según el marco de referencia PFCo proporciona conceptos clave a partir de los cuales se generan sinónimos, con el fin de enriquecer la estrategia de búsqueda, ver Tabla 1.

Tabla 1: Palabras Clave y términos de búsqueda

Población: Dientes de Mamíferos	Fenómeno de interés: Expresión de caveolina-1	Contexto: Odontogénesis en dientes a crecimiento continuo y limitado
Diente en desarrollo	Caveolina-1	Odontogénesis
Germen dental	Cav-1	Desarrollo dental
Germen dentario	Caveolin-1	Desarrollo dentario
Diente a crecimiento limitado		Tooth development
Diente a crecimiento continuo		Odontogenesis
Tooth germ		Dental development

Dental germ		Dental germination
Developing tooth		Odontogenesis stages
Limited growing teeth		
Ever growing teeth		

4.3.2 Criterios de inclusión y exclusión

Los criterios de inclusión y de exclusión son descritos en la Tabla 2.

Tabla 2: Criterios de inclusión y exclusión

CRITERIO	INCLUSION	EXCLUSION
Tipo de publicación:	Artículos de revistas científicas y literatura gris tales como: tesis, actas de congresos, presentaciones y documentos gubernamentales.	Toda publicación no científica.
Idioma:	Inglés, español y francés.	Otros idiomas no manejados por los revisores.
Diseños de estudio:	Estudios observacionales descriptivos <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> . Estudios experimentales <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> .	Revisiones sistemáticas
Especies:	Humanos y animales mamíferos.	No mamíferos
Origen geográfico:	Cualquiera.	–
Año de publicación:	2002-2022.	Antes del 2002

4.3.3 Ejecución de la estrategia de búsqueda

Se llevó a cabo una búsqueda exhaustiva, objetiva y reproducible con el uso de bases de datos electrónicas, consulta bibliográfica y fuentes de literatura gris. Fue ejecutada mediante la utilización de palabras clave, búsquedas con texto libre y revisión manual de los listados de referencias presentes en los artículos de mayor relevancia.

Se utilizaron las siguientes bases de datos: PubMed, LILACS, Scielo, Scopus, ISI - Web Of Science, Science Direct y Google Scholar.

Las bases de datos fueron exploradas de acuerdo con la estrategia de búsqueda señalada en la Tabla 1, brevemente: cada columna contiene un conjunto de sinónimos para las palabras clave de búsqueda. Estas palabras clave se combinaron entre ellas con la ayuda de operadores booleanos de acuerdo con la metodología de búsqueda avanzada correspondiente a cada una de las bases de datos utilizada, como se observa en la Tabla 3. Cada búsqueda generó un número determinado de artículos los que fueron presentados en la Tabla 3 dando un total de 197 artículos.

Tabla 3: Búsqueda en bases de datos

Motores de búsqueda	Estrategias de búsqueda	N° de artículos encontrados
PubMed	((caveolin 1) OR (cav 1)) AND ((tooth development) OR (odontogenesis) OR (odontogenesis stages) OR (dental development) OR (dental germination))	14
	((caveolin 1) OR (cav 1)) AND ((tooth germ) OR (dental germ) OR (developing tooth) OR (limited growing tooth) OR (ever growing tooth))	9
LILACS	((caveolin 1) OR (cav 1)) AND ((tooth development) OR (odontogenesis) OR (odontogenesis stages) OR (dental development) OR (dental germination))	30
	((caveolin 1) OR (cav 1)) AND ((tooth germ) OR (dental germ) OR (developing tooth) OR (ever growing tooth) OR (limited growing tooth))	8
	((caveolina 1) OR (cav 1)) AND ((diente en desarrollo) OR (germen dental) OR (germen dentario) OR (diente a crecimiento continuo) OR (diente a crecimiento limitado))	3
	((caveolina 1) OR (cav 1)) AND ((odontogenesis) OR (desarrollo dental) OR (desarrollo dentario))	10
SciELO	((caveolin 1) OR (cav 1)) AND ((tooth development) OR (odontogenesis) OR (odontogenesis stages) OR (dental development) OR (dental germination))	0
	((caveolin 1) OR (cav 1)) AND ((tooth germ) OR (dental germ) OR (developing tooth) OR (limited growing tooth) OR (ever growing tooth))	0
	((caveolina 1) OR (cav 1)) AND ((odontogenesis) OR (desarrollo dental) OR (desarrollo dentario))	0
	((caveolina 1) OR (cav 1)) AND ((diente en desarrollo) OR (germen dental) OR (germen dentario) OR (diente a crecimiento continuo) OR (diente a crecimiento limitado))	0
Scopus	TITLE-ABS(("caveolin 1") OR ("cav 1")) AND TITLE-ABS(("tooth development") OR ("odontogenesis") OR ("odontogenesis stages") OR ("dental development") OR ("dental germination"))	5
	TITLE-ABS(("caveolin 1") OR ("cav 1")) AND TITLE-ABS(("tooth germ") OR ("dental germ") OR ("developing tooth") OR ("limited growing tooth") OR ("ever growing tooth"))	4
ISI Web Of Science	TS=((caveolin 1) OR (cav 1)) AND TS=((tooth development) OR (odontogenesis) OR (odontogenesis stages) OR (dental development) OR (dental germination))	5
	TS=((caveolin 1) OR (cav 1)) AND TS=((tooth germ) OR (dental germ) OR (developing tooth) OR (limited growing tooth) OR (ever growing tooth))	5
Science Direct	(("caveolin 1") OR ("cav 1")) AND (("tooth development") OR ("odontogenesis") OR ("odontogenesis stages") OR ("dental development") OR ("dental germination"))	18

	(("caveolin 1" OR ("cav 1")) AND (("tooth germ") OR ("dental germ") OR ("developing tooth") OR ("limited growing tooth") OR ("ever growing tooth"))	17
Google Scholar	"caveolin 1" AND ("odontogenesis" OR "tooth development)	69
		Total = 197

4.4 REVISIÓN DE LA LITERATURA

4.4.1 Etapas:

Todos los potenciales artículos que se encontraron en las distintas bases de datos fueron sometidos a un proceso de tamizado, basado en los criterios de inclusión y exclusión, el cual contempló dos etapas:

Etapa 1: Todos los estudios se tamizaron en base al título y el resumen. Los artículos que cumplieron con los criterios de inclusión fueron sometidos a la etapa 2, además de aquellos estudios en los cuales existió duda de su inclusión.

Etapa 2: Se obtuvo el texto completo de cada uno de los artículos elegidos en la etapa 1, los cuales fueron leídos y analizados para su inclusión. (Butler y cols., 2016).

4.4.2 Evaluación de calidad:

Se aplicó la evaluación de calidad a los artículos seleccionados en la etapa 2. Se llevó a cabo en base a la lista de evaluación crítica del Instituto Joanna Briggs (Pollock & Berge., 2017) que se muestra en el anexo 2.

4.4.3 Extracción de datos:

La extracción de datos desde los estudios seleccionados se llevó a cabo mediante una planilla Excel en la cual se plasmaron las características que se muestran en el anexo 3 de cada uno de los estudios incluidos.

5 RESULTADOS

Se mantuvo registro de las búsquedas en cada base de datos, se utilizó un diagrama de flujo como representación pictórica del proceso de búsqueda y tamizado, expuesto en la Figura 11.

Los resultados obtenidos en cada una de las búsquedas realizadas arrojaron un total de 197 artículos, los que se registraron y ordenaron en el gestor de citas bibliográficas Mendeley. Se eliminaron todos los duplicados quedando con un total de 88 artículos, de los cuales se descartaron 81, según los criterios de inclusión y exclusión al revisar el título y el resumen.

Se seleccionaron 7 artículos para ser examinados a texto completo, siendo 4 de ellos incluidos en el presente trabajo de investigación.

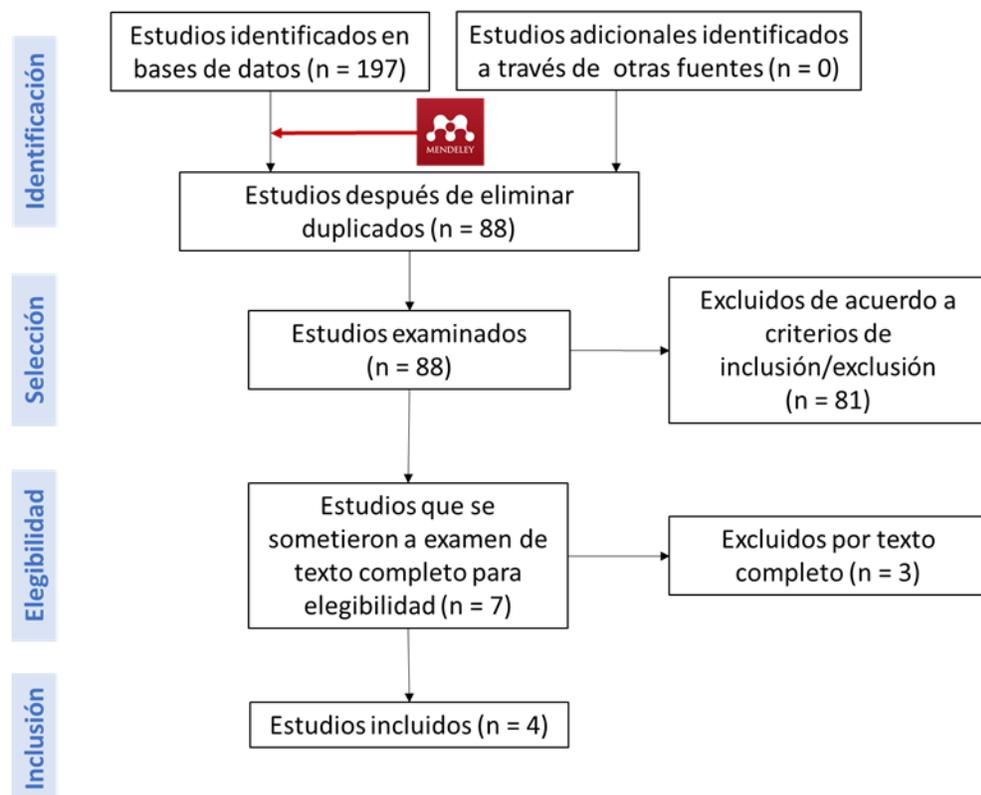


Figura 11: Diagrama de flujo

5.1 ARTÍCULOS INCLUIDOS

Tabla 4: Artículos incluidos en el trabajo de investigación

N° del artículo	Título	Autor	Año de publicación	País de origen	Tipo de publicación	Idioma
1	Immunocytochemical and biochemical detection of EMMPRIN in the rat tooth germ: differentiation-dependent co-expression with MMPs and colocalization with caveolin-1 in membrane rafts of dental epithelial cells	W. Schwab y cols.	2007	Alemania	Artículo de revista científica (Histochemistry and Cell Biology)	Inglés
2	Expression of Caveolin-1 in Periodontal Tissue and Its Role in Osteoblastic and Cementoblastic Differentiation In Vitro	So-Youn Lee y cols.	2016	República de Corea	Artículo de revista científica (Calcified Tissue International)	Inglés
3	Spatiotemporal expression of caveolin-1 and EMMPRIN during mouse tooth development	Lu Shi y cols.	2016	China	Artículo de revista científica (Journal of Molecular Histology)	Inglés
4	Expression of caveolin-1 in tooth germ, ameloblastoma and ameloblastic carcinoma	Celeste Sánchez-Romero y cols.	2021	Uruguay	Artículo de revista científica (Medicina Oral, Patología Oral, Cirugía Bucal)	Inglés

Luego de revisar los artículos por título y resumen, 7 fueron sometidos a una revisión de texto completo, de los cuales se excluyó 1 por barrera idiomática (texto en chino) y 2 debido a no tratar directamente la relación entre Odontogénesis y Caveolina-1.

De los 7 artículos revisados a texto completo, 4 de ellos (Tabla 4) son atinentes al tema estudiado y cumplen con los criterios de inclusión, por lo que fueron sometidos a una evaluación de calidad, como se observa en el anexo 4.

Los artículos incluidos en el presente trabajo de investigación son expuestos a continuación.

5.1.1 ARTÍCULO N°1:

Título: Detección inmunocitoquímica y bioquímica de EMMPRIN en el germen dental de rata: Coexpresión dependiente de diferenciación con MMP y coubicación con Caveolina-1 en balsas de membrana de células epiteliales dentales.

Autores: W. Schwab, H. Harada, W. Goetz, M. Nowicki, M. Witt, M. Kasper, K. Barth.

Revista: Histochemistry and cell biology, 128(3), 195–203.

Objetivos del estudio

- 1) Examinar la aparición y el patrón de distribución de EMMPRIN en el germen de molar de rata en desarrollo, especialmente en las células responsables de la dentinogénesis (odontoblastos) y la amelogénesis (ameloblastos), durante las etapas de copa y campana.
- 2) Investigar la coexpresión de EMMPRIN con las metaloproteinasas de la matriz (MMPs) MMP-2 y MT1- MMP.
- 3) Estudiar si EMMPRIN se colocaliza con Caveolina-1 en el germen molar de rata, así como en el cultivo de células de linaje ameloblástico.

Materiales y métodos

- Muestra: Ratas Wistar en estado fetal E18 (n=2) y recién nacidas (n=6). Las cabezas de ratas fueron fijadas, lavadas e incluidas en parafina, luego se realizaron cortes de 5µm.
- Tinción inmunocitoquímica: Las muestras se trataron con anticuerpos para la detección de EMMPRIN, Caveolina-1, MMP-2, MT1-MMP y citoqueratina 14, para luego ser detectados con anticuerpos secundarios asociados al complejo estreptavidina, biotina-peroxidasa.
- Inmunofluorescencia doble de EMMPRIN y Caveolina-1: los cortes fueron incubados con anticuerpos anti-EMMPRIN (de cabra) y luego con IgG de burro anti-cabra-Alexa Fluor® 555. A continuación, se incubaron con anticuerpo anti-Caveolina-1 (de conejo) y luego con IgG de burro anti-conejo Alexa Fluor® 488.
- Inmunofluorescencia doble de EMMPRIN y MMP-2: los cortes fueron incubados con anticuerpos para EMMPRIN y luego con IgG-Alexa Fluor®

555. A continuación, se incubaron con anticuerpo anti-MMP-2 y luego con IgG-Alexa Fluor® 488.

- Células HAT-7: Células procedentes de una línea celular epitelial dental originadas de un incisivo de rata en etapa de yema. Fueron cultivadas en un medio de Eagle modificado por Dulbecco.
- Inmunocitoquímica de las células HAT-7: Las células fueron fijadas, incluidas en parafina y se obtuvieron cortes de 5 µm. Se incubaron con antisuero policlonal de conejo anti-CK14 (marcador de células de linaje ameloblástico), seguido de la detección con anticuerpo secundario asociado al complejo estreptavidina, biotina-peroxidasa.
- Inmunofluorescencia doble de EMMRPIN y Caveolina-1 en células HAT-7: se llevó a cabo de la misma forma que en los cortes de tejido de rata.
- Solubilidad en Tritón X-100: Las células HAT-7 fueron tratadas con el detergente Tritón X-100 y se recogieron las fracciones solubles e insolubles.
- Análisis de SDS-PAGE y Western Blot: Volúmenes iguales de las fracciones solubles e insolubles en Tritón X-100 se separaron por SDS-PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico) y se sometieron a análisis de Western blot y detección con varios anticuerpos.
- Preparación de fracciones de membrana insolubles en detergente: Las células HAT-7 fueron tratadas con Tritón X-100, las fracciones de membrana resultantes fueron centrifugadas en gradiente de sacarosa y separadas según densidad. Alícuotas (20 l) de cada fracción se sometieron a SDS-PAGE y a análisis de western blot.

Resultados

Detección inmunocitoquímica de EMMPRIN, MMP-2, MT1-MMP y Caveolina-1 en el germen de molar de rata (Tabla 5)

- Expresión de EMMPRIN
 - Etapa de copa: las células del epitelio interno del esmalte expresaron inmunorreactividad (IR) moderada para EMMPRIN.
 - Etapa de campana: Preameloblastos y ameloblastos expresaron una IR intensa que se localizó en las membranas basolaterales de la región apical de los ameloblastos. Además, se observó a EMMPRIN en la región

de contacto entre los ameloblastos y las células del EDI y en el EDI propiamente tal. En el RE y EDE hubo una IR débil. En la papila dental se observó IR en algunas células mesenquimales, mientras que en los odontoblastos se observó una fuerte IR, especialmente en las membranas celulares basolaterales y en los procesos odontoblásticos.

- MT1-MMP y MMP-2: El patrón de IR se correlacionó con el de EMMPRIN. En la etapa de copa hubo IR para MT1-MMP y MMP2 en las células del EDI. En la de campana hubo IR en ameloblastos, especialmente en su región apical. La inmunofluorescencia doble mostró una colocalización insignificante entre EMMPRIN y MMP-2. En la papila dental la IR de ambas MMPs fue más evidente en odontoblastos que en células no diferenciadas.
- Cav-1: Se expresó principalmente en el EDI y en ameloblastos (Figura 12). Además, se expresó en células endoteliales de los vasos sanguíneos circundantes. La IR fue negativa en células mesenquimales de la papila dental y en odontoblastos. La inmunofluorescencia doble mostró cierta colocalización entre Cav-1 y EMMPRIN en las membranas celulares de ameloblastos y de células del EDI.

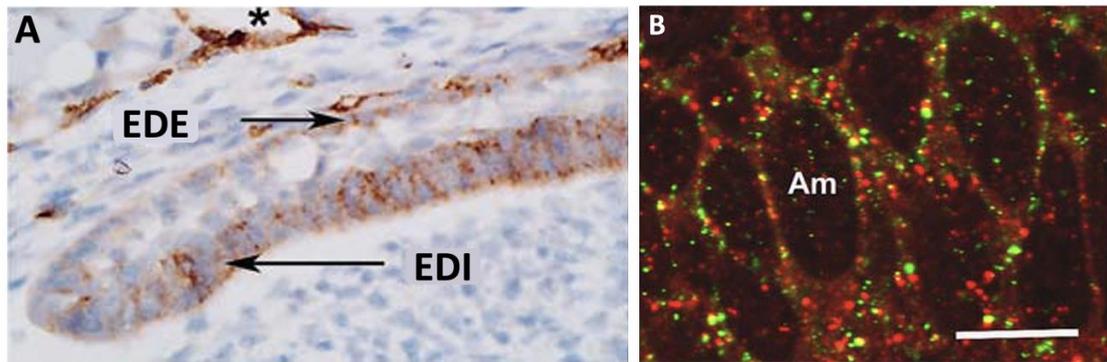


Figura 12: Detección de Cav-1 y EMMPRIN en células del órgano del esmalte durante la etapa de campana.

Células del epitelio dental interno del órgano del esmalte (x50 μ m) (A) y ameloblastos (x25 μ m) (B) muestran una intensa IR para Cav-1 en las membranas celulares laterales (asterisco corresponde a vasos sanguíneos). Los experimentos inmunofluorescencia doble entre Cav-1 (acoplado con FITC) y EMMPRIN (acoplado con Alexa) revelan la colocalización de ambos antígenos en las áreas de color amarillo de la membrana celular (B) (adaptada de Schwab y cols., 2007).

Abreviaciones: EDE = Epitelio Dental Externo del Órgano del Esmalte; EDI = Epitelio Dental Interno del Órgano del Esmalte; Am = Ameloblastos.

Tabla 5: Distribución de EMMPRIN, MT1-MMP, MMP-2 y Caveolina-1 en gérmenes dentales de ratas recién nacidas (etapa de campana temprana) (Schwab y cols., 2007)

Células del germen dental		EMMPRIN	MT1-MMP	MMP-2	Caveolina-1
Órgano del Esmalte	EDE	(+)	(+)	(+)	+
	RE	(+)	(+)	(+)	+
	EI	+	(+)	++	+
	EDI	++	++	+++	++
	Ameloblastos	+++	+++	+++	+++
Papila dental		(+)	(+)	+	++ ^a
Odontoblastos		+++	++	++	(+)

- = No detectable; (+) = IR débil en células aisladas; + = IR débil en la mayoría de las células; ++ = IR intensa en la mayoría de las células; +++ = Todas las células presentan IR intensa.

^a = Vasos sanguíneos

Detección de EMMPRIN y Caveolina-1 en células HAT-7

- Detección de CK14: Se utilizó CK14 como marcador de las células de linaje ameloblástico y se observó una intensa IR en las células HAT-7, coincidente con la expresión de CK14 en las células del órgano del esmalte. En cambio, en células mesenquimales de la papila dental la IR fue negativa.
- Inmunofluorescencia doble de EMMPRIN y Cav-1: Se observó una colocalización parcial en las membranas celulares (Figura 13).

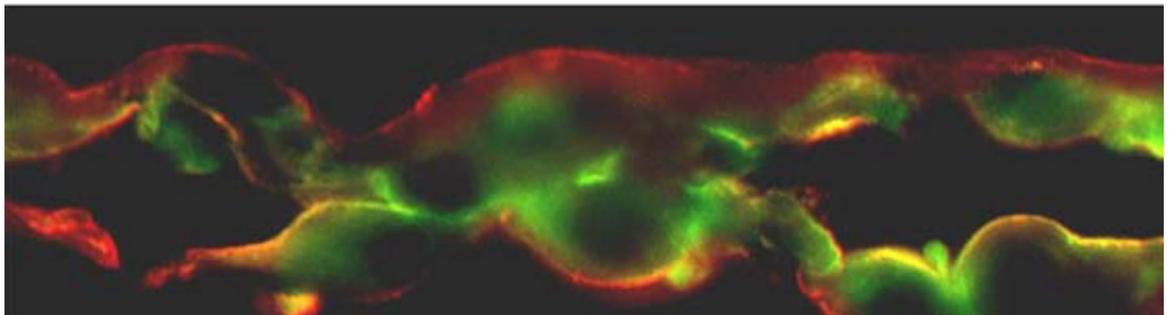


Figura 13: Detección de Cav-1 y EMMPRIN en células HAT-7 (x20um)

Experimentos de inmunofluorescencia doble entre Cav-1 (acoplado con FITC) y EMMPRIN (acoplado con Alexa) en células HAT-7 incluidas en parafina revelan la colocalización de ambos antígenos en áreas de color amarillo de la membrana celular (Schwab y cols., 2007).

- Aislamiento de balsas lipídicas y localización de EMMPRIN y Cav-1: Las proteínas localizadas en balsas lipídicas se caracterizan por ser insolubles al detergente Tritón X-100, por lo que se analizó la solubilidad en Tritón X-100 de EMMPRIN extraído de fracciones de membrana de células HAT-7, junto con el marcador de balsa lipídica Cav-1 y el marcador de no-balsa T1 α . Cav-1 se observó predominantemente en la fracción insoluble en detergente y T1 α sólo estaba presente en la fracción soluble de la membrana. La mayor parte de EMMPRIN se encontró en las fracciones solubles, sin embargo, una porción significativa se encontró dentro de la fracción insoluble en Tritón X-100, sugiriendo una localización parcial en las balsas lipídicas.
- Centrifugación en gradiente de sacarosa: Las balsas lipídicas se caracterizan por tener una baja densidad de flotación en la centrifugación en gradiente de sacarosa. Se detectaron cantidades significativas de EMMPRIN en las fracciones de baja densidad que contenían Cav-1, además de detectarse en fracciones de alta densidad junto con el marcador de no-balsa TfR.

Conclusiones

- Se demostró la coexpresión de EMMPRIN y MMPs en células del órgano del esmalte y en los odontoblastos en diferenciación, lo que evidencia su importancia en la activación de las MMPs durante la odontogénesis.
- Se evidenció una colocalización focal entre Cav-1 y EMMPRIN en las membranas celulares de ameloblastos y células del EDI.
- EMMPRIN se detectó tanto en las fracciones de membrana solubles en Tritón X-100 como en las fracciones insolubles de células HAT-7. Además, los experimentos de centrifugación en gradiente de densidad de sacarosa mostraron una cantidad discreta de EMMPRIN en las fracciones insolubles. Todo esto indica que EMMPRIN se localiza en de forma moderada en las balsas lipídicas.
- Los experimentos sugieren que Cav-1 juega un papel regulador de la expresión de MMPs mediado por EMMPRIN en las células del órgano del esmalte.

- La detección de MT1-MMP y MMP-2 en el polo distal de las células del órgano del esmalte y odontoblastos concuerda con el papel crítico de las MMPs en la formación y mineralización de las matrices de dentina y esmalte, participando en la remodelación pericelular de la matriz orgánica.

5.1.2 ARTÍCULO N°2

Título: Expresión de Caveolina-1 en el Tejido Periodontal y su papel en la diferenciación Osteoblástica y Cementoblástica *In Vitro*.

Autores: So-Youn Lee, Jin-Kyu Yi, Hyung-Mun Yun, Cheol-Hyeon Bae, Eui-Sic Cho, Kook-Sun Lee, Eun-Cheol Kim.

Revista: Calcif Tissue Int (2016) 98:497–510

Objetivos del estudio:

- 1) Investigar la expresión inmunohistoquímica de Cav-1 en el periodonto de ratón.
- 2) Explorar el rol de Cav-1 *in vitro* en la diferenciación osteoblástica y cementoblástica de células del ligamento periodontal humano (hPDLCs).
- 3) Examinar las vías de señalización asociadas a la diferenciación de las células relacionadas con la regeneración periodontal, con el fin de revelar los mecanismos moleculares de la actividad de Cav-1.

Materiales y métodos

- Muestra: Ratones ICR de 1, 14 y 28 días de edad.
- Histología e inmunohistoquímica: Se disecaron las mandíbulas de los ratones, se fijaron, incluyeron en parafina y se obtuvieron cortes de 5µm de grosor. Para la inmunotinción, las muestras se incubaron con anticuerpo primario anti-Caveolina-1 seguido del anticuerpo secundario asociado a peroxidasa.
- Cultivo celular: Se obtuvieron hPDLCs inmortalizadas y cementoblastos humanos, se cultivaron en un medio de Eagle modificado. Además, se adquirió una línea celular osteoblástica humana MG-63, la que se mantuvo en un medio de Eagle modificado por Dulbecco. Para la inducción de la diferenciación, las células fueron cultivadas en un medio osteogénico (MO).

- Actividad ALP: La actividad ALP se midió utilizando p-nitrofenil fosfato como sustrato. La absorbencia se midió a 410nm con un lector de ensayo inmunoenzimático (ELISA).
- Tinción con rojo de alizarina: La mineralización se evaluó mediante tinción con rojo de alizarina, la cual se visualizó con microscopio de luz.
- Reacción de polimerasa en cadena con transcriptasa inversa (RT-PCR): Los productos de la PCR se analizaron en un gel de agarosa al 1,5% y se tiñeron con bromuro de etidio.
- Análisis de PCR en tiempo real: Para la cuantificación de la PCR, se realizó triplicada utilizando SYBR Green (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE. UU.) y un Real-Time PCR System 7500 (Applied Biosystems).
- Análisis de Western Blot: Las proteínas se desnaturalizaron en cantidades equivalentes de cada muestra de extracto celular y pasaron por una electroforesis en gel de SDS-poliacrilamida al 10% (SDS-PAGE). Luego se realizó el Western Blot en membrana de nitrocelulosa revelada usando anticuerpos primarios y luego con los secundarios.
- Transfección con siRNA de Caveolina-1.
- Inmunohistoquímica: Las células fueron fijadas y preparadas para su análisis en inmunofluorescencia mediante un microscopio confocal.

Resultados

Expresión de Cav-1 en el tejido periodontal en desarrollo de ratón

- En el germen dental de los ratones neonatales, **no se observó** inmunoreactividad (IR) de Cav-1 (Figura 14-A), lo que se correlaciona con el estado indiferenciado de las células del ligamento periodontal (PDLCs).
- Durante la etapa de formación de la raíz y la alineación del ligamento periodontal (PN14, 2 semanas), se observó una IR escasa tanto en los vasos como en las fibras nerviosas del periodonto en desarrollo (Figura 14-B).
- Durante la erupción dental y el uso funcional (PN28, 4 semanas), Cav-1 se expresó débilmente en las PDLCs y en numerosas vainas nerviosas dentro del hueso alveolar. En cementoblastos y osteoblastos, a lo largo de la superficie de la raíz en desarrollo y el hueso alveolar, también tuvieron una

IR débil. Además, Cav-1 se localizó en vasos sanguíneos y nervios periféricos (Figura 14-C,D).

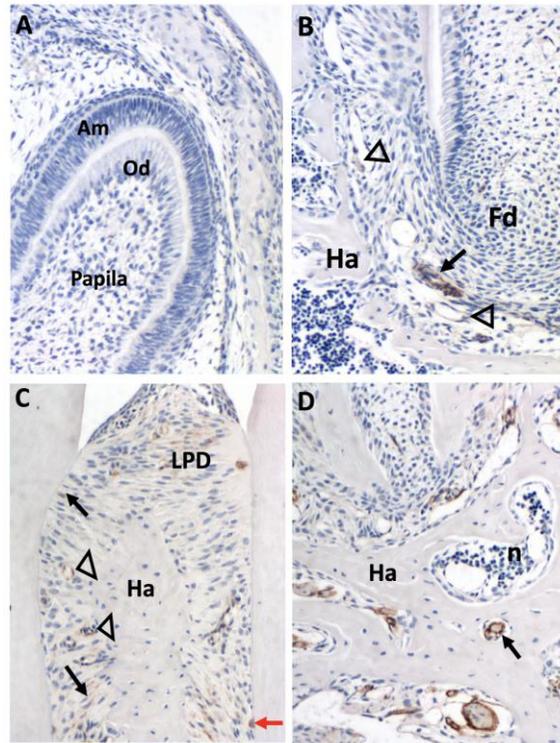


Figura 14: Expresión de Cav-1 en el periodonto en desarrollo de ratón

No se encontró inmunorreactividad de Cav-1 en germen dental de ratones neonatos (x40 μ m) (A). En el periodonto en desarrollo de ratones de 14 días de edad, Cav-1 se observó en vasos sanguíneos (triángulo) y fibras nerviosas (flecha) del folículo dental (x40 μ m) (B). En el periodonto de ratones de 28 días de edad, la expresión de Cav-1 se localizó en células del LP (flechas), capilares (triángulo) (x40 μ m) (C), vainas nerviosas dentro del hueso alveolar (flecha) (x40 μ m) (D) y cementoblastos (flecha roja) (C) (adaptado de Lee y cols., 2016).

Abreviaciones: Am=Ameloblastos; Fd=Folículo dental; Ha=Hueso alveolar; LP=Ligamento Periodontal; n=Haz nervioso; Od=Odontoblastos.

- Se comparó la expresión de Cav-1 y ALPL. La IR de ALPL se encontró principalmente en las PDLCs, células endoteliales y osteoblastos, mientras que Cav-1 se coexpresó con Alpl en el endotelio vascular, PDLCs, cementoblastos y osteoblastos (Figura 15).

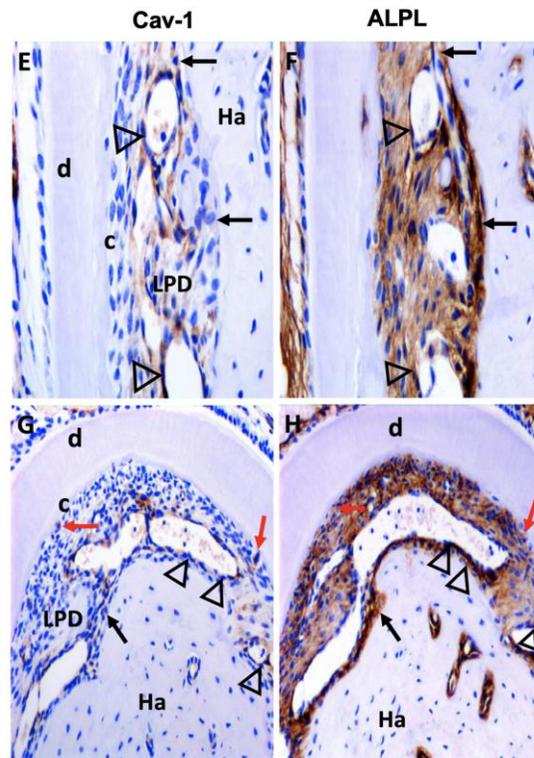


Figura 15: Localización comparativa de Cav-1 y ALPL

En el periodonto de ratones de 28 días de edad ($\times 40\mu\text{m}$) (E-H) la inmunorreactividad de Cav-1 y ALPL se produjo principalmente en capilares (triángulos), osteoblastos (flecha) y cementoblastos (flecha roja) (adaptada de Lee y cols., 2016).

Abreviaciones: c=Cemento; d=Dentina; Ha=Hueso alveolar; LP=Ligamento Periodontal.

Curso temporal de la expresión de Cav-1 durante la diferenciación osteoblástica

Se cultivaron hPDLCs, cementoblastos y osteoblastos con el fin de examinar la expresión del ARNm y los niveles cuantitativos de ARNm de Cav-1 y Cav-2 durante la diferenciación de estas células. El cultivo se realizó en medios de control o en medios osteogénicos (MO) durante 14 días y luego se analizaron mediante RT-PCR y PCR en tiempo real.

- El medio de control no afectó la expresión de Cav-1 y Cav-2.
- Las hPDLCs y los cementoblastos cultivados en MO mostraron un aumento de los niveles de expresión del ARNm de Cav-1 después de 3 días, nivel que se mantuvo durante 14 días.
- En osteoblastos cultivados en MO aumentó la expresión de ARNm de Cav-1 en función del tiempo.
- La expresión de Cav-2 no se modificó en ninguno de los tipos celulares cultivados en MO.

Efecto de la inhibición de Cav-1 en la diferenciación de hPDLs

Para investigar el papel potencial de Cav-1 en la diferenciación de las hPDLs, se examinaron los efectos de la inhibición de Cav-1 mediante metil- β -ciclodextrina (M β CD) y en el *knockdown* de Cav-1 mediante siRNA.

- M β CD:
 - Inhibió la expresión del ARNm de Cav-1 inducida por el MO en función de la dosis y del tiempo.
 - Aumentó la actividad ALP y la formación de nódulos de calcio en función de la dosis y del tiempo.
 - Aumentaron los niveles de ARNm de marcadores de PDLs (S100A4, PDLs17 y periostina) y de los marcadores de diferenciación osteogénica (ALP, osteopontina (OPN) y OCN), en forma dependiente de la dosis.
- siRNA
 - Disminución significativa de los niveles de Cav-1.
 - Aumento de la actividad de ALP y de la formación de nódulos de calcio inducido por MO.
 - Aumento de la expresión del ARNm de marcadores de diferenciación (S100A4, PDLs17, periostina, ALP, OPN y OCN).

Efecto de la inhibición de Cav-1 en la diferenciación de Cementoblastos y Osteoblastos

Cementoblastos y Osteoblastos fueron tratados con M β CD y con siRNA de Cav-1 en un medio osteogénico (MO).

- La actividad ALP y la formación de nódulos de mineralización aumentaron en cementoblastos y osteoblastos tratados, en comparación con el MO por sí solo.
- En cementoblastos aumentó la expresión de mRNA de marcadores osteoblásticos (ALP, OPN y OCN) y de marcadores de cementoblastos (proteína del cemento 1 (CEMP1) y sialoproteína de unión a integrina (IBSP)).
- El tratamiento con siRNA de Cav-1 y con M β CD aumentó la expresión del ARNm de los marcadores de osteoblastos, como ALP, OPN y OCN, y de los

factores transcripcionales, como osterix y Runx2, en los osteoblastos en comparación con el MO por sí solo.

Efecto de la inhibición de Cav-1 en las vías de señalización

Para dilucidar los mecanismos moleculares de Cav-1 en la diferenciación osteoblástica en las hPDLC, se examinó la activación de las principales vías de señalización

- BMP
 - Los tres principales receptores de BMP (BMPR1A, BMPR1B y BMPR2) no se vieron alterados en las hPDLCs tratadas con M β CD y siRNA de Cav-1.
 - El tratamiento con M β CD y siRNA de Cav-1, en un MO, aumentó la expresión de BMP-2, BMP-7 y p-Smad1/5/8, así como los genes diana de BMP, Msx1, Msx2, Dlx3 y Dlx5.
 - El efecto inductor de M β CD y siRNA de Cav-1 fue revertido por un inhibidor específico de BMP (Noggin).
- Wnt/ β -catenina:
 - Se examinaron los efectos de la inhibición de Cav-1 en la expresión de ARNm de los ligandos Wnt y la expresión de la proteína β -catenina
 - M β CD y el siRNA de Cav-1 indujeron la expresión de Wnt1, Wnt3a y Wnt4, así como los niveles totales de proteína β -catenina.
 - DKK-1 (un antagonista extracelular específico de Wnt) redujo el nivel de ligandos Wnt y la expresión de β -catenina inducida por la inhibición de Cav-1.
- AMPK (inductor de la expresión de BMP-2 y de la mineralización de células osteoblásticas) y sus vías descendentes (GSK3b, CREB, Akt y MAPK).
 - Los niveles de fosforilación de AMPK, Akt, GSK3b y CREB alcanzaron un máximo a los 120 minutos en las células cultivadas en MO.
 - La incubación con Ara-A, un inhibidor específico de AMPK, revirtió significativamente el aumento de la fosforilación de AMPK, Akt, GSK3b y CREB, inducida por M β CD y el siRNA de Cav-1.

- NF- κ B (es activado por MAPK)
 - El pretratamiento con M β CD y siRNA de Cav-1 aumentó la fosforilación de p38, ERK y JNK inducida el MO en las hPDLCs.
 - Aumentó la fosforilación, inducida por el MO, de I κ B α y la translocación nuclear de p65.
 - Imágenes confocales mostraron un marcado aumento del NF- κ B p65 nuclear en las hPDLCs tratadas con M β CD y siRNA de Cav-1, en relación con las células tratadas con MO y siRNA de control.

Conclusiones

- Los resultados indican que los niveles de Cav-1 aumentan a medida que progresa la diferenciación osteoblástica, lo que sugiere que Cav-1 desempeña un papel importante en la diferenciación de los osteoblastos.
- La inhibición de Cav-1 mediante M β CD y siRNA de Cav-1 promueve la diferenciación osteoblásticas y cementoblástica en hPDLCs, y la actividad de osteoblastos y cementoblastos, lo que se evidencia por la inducción de la actividad ALP, la formación de nódulos mineralizados y la regulación al alza de los genes marcadores.
- La expresión de Cav-1 puede aumentar durante la osteogénesis como una forma de estabilizar el fenotipo diferenciado, reduciendo el crecimiento celular y la capacidad de respuesta de las células a otros estímulos de diferenciación.
- Los resultados de este estudio sugieren que la inhibición de Cav-1 promueve la diferenciación osteoblástica a través de la vía BMP en hPDLCs, lo que puede ser revertido por Noggin.
- La inhibición de Cav-1 aumentó la expresión de ligandos canónicos de Wnt y β -catenina, lo que fue revertido por DKK-1. Esto sugiere que la inhibición de Cav-1 promueve la diferenciación osteoblástica a través de la activación de las vías de señalización Wnt/ β -catenina.
- La inhibición de Cav-1 mediante M β CD y siRNA de Cav-1 aumentó la fosforilación de MAPK, Akt, GSK3b y CREB, inducida por el MO, lo que fue revertido por Ara-A. Esto sugiere que la inhibición de Cav-1 puede contribuir

a la diferenciación de hPDLCs a través de un mecanismo dependiente de MAPK.

- La activación de p38, ERK, JNK y NF- κ B, inducida por MO, fue potenciada por la inhibición de Cav-1, por lo que, la inhibición de Cav-1 podría actuar a través de las vías MAPK para inducir la activación de NF- κ B en las hPDLCs.
- La diferenciación osteoblástica y cementoblástica es promovida por la inhibición de Cav-1 en hPDLCs, cementoblastos y osteoblastos a través de las vías de señalización BMP, Wnt, AMPK, Akt, GSK3b, CREB, MAPK y NF- κ B.
- Cav-1 podría ser una diana molecular útil para la regeneración periodontal.

5.1.3 ARTÍCULO N°3

Título: Expresión espaciotemporal de Caveolina-1 y EMMPRIN durante el desarrollo dental del ratón

Autores: Lu Shi, Lingyun Li, Ding Wang, Shu Li, Zhi Chen, Zhengwen An.

Revista : J Mol Hist (2016) 47:337–344

Objetivos del estudio: Investigar los patrones de expresión espacio-temporal de Caveolina-1 y EMMPRIN en el germen de molar de ratón en desarrollo, mediante inmunohistoquímica y PCR en tiempo real.

Materiales y métodos

- Muestra: 3 ejemplares de ratones Kunming por cada fase de desarrollo (E11,5, E13,5, E14,5, E16,5, E18,5 y PN2). Se diseccionaron las cabezas (E11,5, E16,5) y las mandíbulas (E18,5 y PN2) de ratones embrionarios y postnatales, fueron fijadas, descalcificadas e incluidas en parafina, se obtuvieron cortes de 5 μ m.
- Inmunohistoquímica: Las muestras fueron incubadas con anticuerpos primarios para Caveolia-1 y EMMPRIN. Los cortes se contra tiñeron ligeramente con tinción de hematoxilina y eosina (HE). La tinción positiva del endotelio, que es rico en Cav-1, proporcionó un control positivo interno para la inmunotinción de Cav-1. Para EMMPRIN se utilizó tejido de carcinoma de lengua como control positivo. Los controles negativos se obtuvieron omitiendo los anticuerpos primarios. La intensidad de la inmunorreacción (IR)

(comparada con el fondo) se calificó como 0 (negativa), 1 (débilmente positiva), 2 (moderadamente positiva) o 3 (fuertemente positivo).

- PCR en tiempo real: Gérmenes de primer molar inferior fueron disecados y liberados del tejido circundante. Se empleó PCR en tiempo real para cuantificar el nivel de expresión génica de EMMPRIN y Cav-1 en los gérmenes dentales enteros de ratón (E14,5 a PN2).

Resultados

Hallazgos inmunohistoquímicos

- Fase de lámina (E11,5): No se encontró expresión de Cav-1 ni de EMMPRIN (excepto la tinción positiva de Cav-1 en el endotelio) (Figura 16-A, B).
- Etapa de yema (E13,5): En el tejido epitelial se detectó tinción positiva para Cav-1 y una débil tinción para EMMPRIN. En el mesénquima solo se detectó EMMPRIN de forma débil (Figura 16-C, D).
- Etapa de copa (E14,5): Tanto Cav-1 como EMMPRIN se expresaron intensamente en el órgano del esmalte (Figura 16-E, F). Sin embargo, la tinción positiva de Cav-1 fue más fuerte en la parte lingual del órgano del esmalte. Por el contrario, la proteína EMMPRIN se detectó principalmente en la zona vestibular del órgano del esmalte, incluyendo el EDI, EDE, RE y NE primario.
- Con el avance del desarrollo dental aumentó gradualmente la intensidad de la IR, tanto de Cav-1 como de EMMPRIN, en el órgano del esmalte y en los ameloblastos.
- Segundo día postnatal (PN2): EMMPRIN se expresó intensamente en los odontoblastos del molar murino en desarrollo (Figura 17-D). En la zona de inflexión cervical del órgano del esmalte se detectó una expresión moderada de Cav-1 (Figura 17-C), mientras que la expresión de EMMPRIN en esta zona fue más débil.

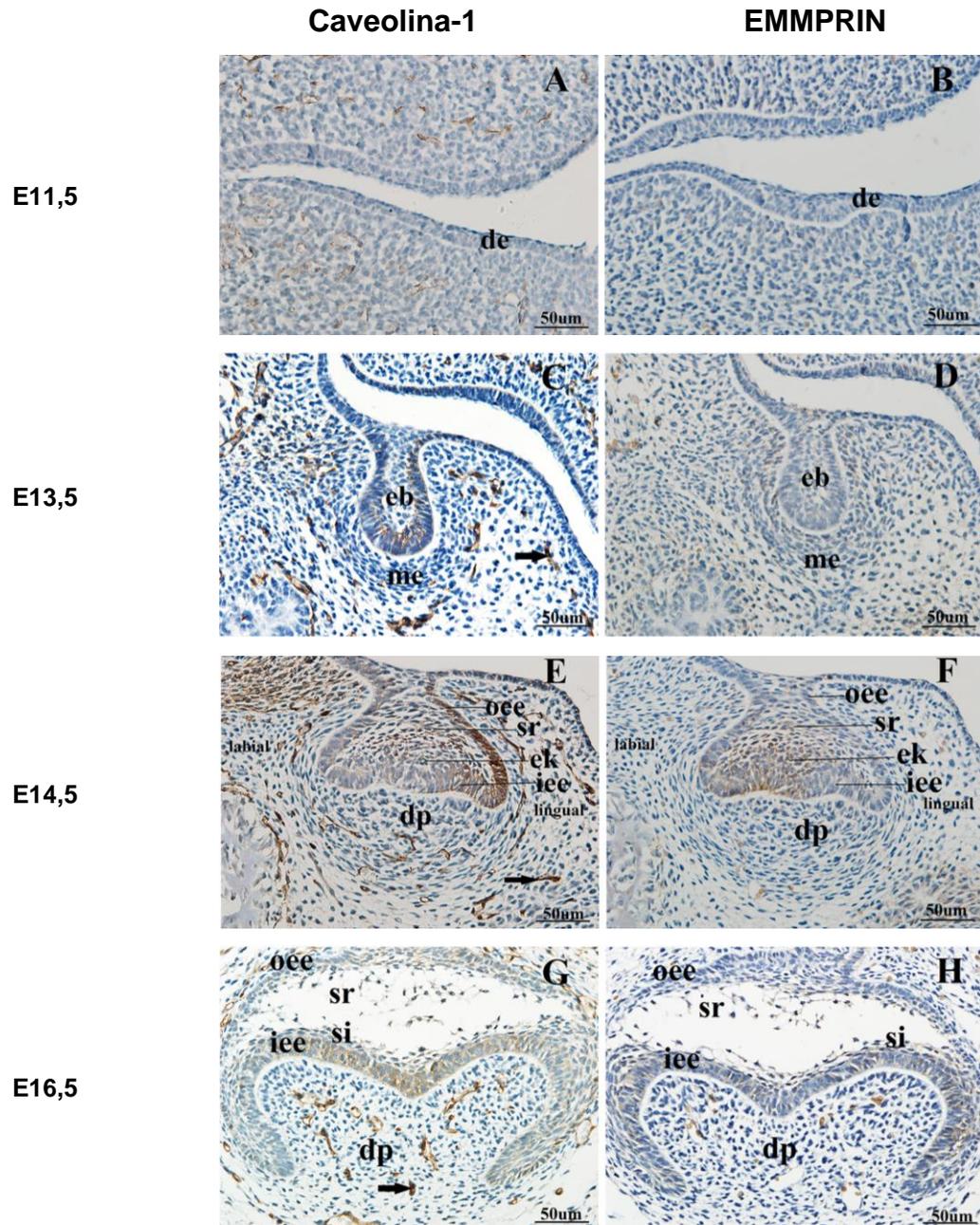


Figura 16: Detección de Caveolina-1 y EMMPRIN en el germen dental de ratón

En E11,5 no se encontró expresión de Cav-1(A) y EMMPRIN (B). En E13,5 se detectó inmunotinción moderada para Cav-1 en la yema epitelial (C) y EMMPRIN se expresó débilmente en la yema epitelial y en las células mesenquimales subyacentes (D). En E14,5 se detectó Cav-1 principalmente en la zona lingual del órgano del esmalte (E) y EMMPRIN apareció principalmente en la zona labial del órgano del esmalte, incluso en el Nodo del Esmalte primario (F). En E16,5: Cav-1 se expresó en gran medida en el epitelio interno del esmalte y en la región del asa cervical del órgano del esmalte (G), mientras que la expresión de EMMPRIN en el órgano del esmalte fue más débil (H) (adaptada de Shi y cols., 2016).

Las células endoteliales se tiñeron como control interno (flechas).

Abreviaciones (del inglés): de=epitelio dental; eb=yema epitelial; me=mesénquima; iee=epitelio dental interno; oee=epitelio dental externo; sr=retículo estrellado; si=estrato intermedio; ek=nodo del esmalte; dp=papila dental.

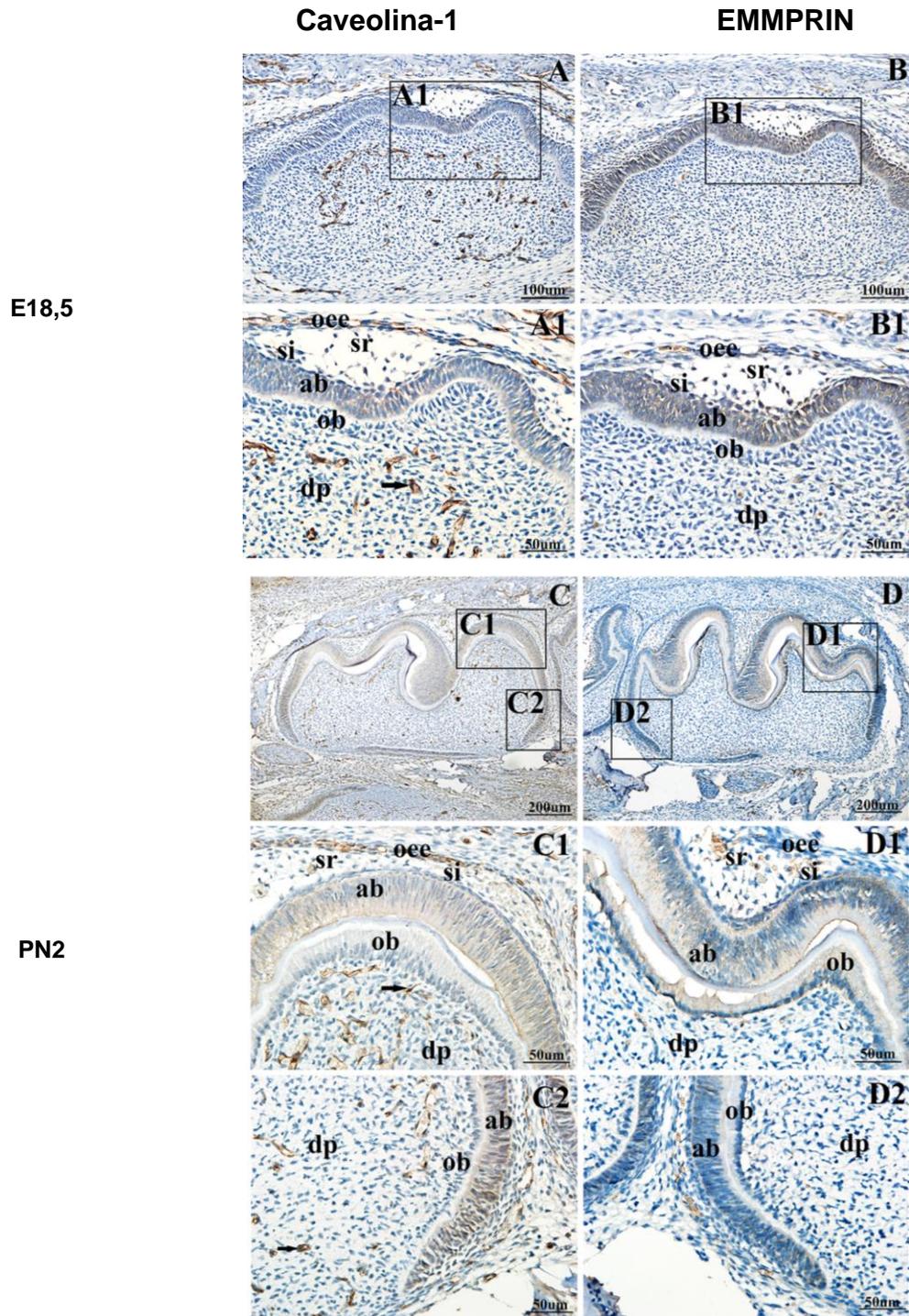


Figura 17: Detección de Caveolina-1 y EMMPRIN en el germen dental de ratón

La expresión de Cav-1 disminuyó en E18.5 (**A, C**). Por el contrario, se observó una mayor expresión de EMMPRIN en el epitelio dental interno (**B, D**). En PN2 se detectó una fuerte inmunotinción de Cav-1 en ameloblastos y en la región del asa cervical del órgano del esmalte (**C1, C2**), mientras que EMMPRIN fue positivo en ameloblastos y odontoblastos, pero bajo en la región del asa cervical (**D1, D2**) (adaptada de Shi y cols., 2016).

Las células endoteliales se tiñeron como control interno de Cav-1 (flechas).

Abreviaciones (del inglés): oee=epitelio dental externo; sr=retículo estrellado; si=estrato intermedio; ab=ameloblastos; ob=odontoblastos; dp=papila dental.

Expresión génica de Caveolina-1 y EMMPRIN en el germen dental de ratón

Para investigar las expresiones génicas de Cav-1 y EMMPRIN en el desarrollo del germen dental, se sometió a un ensayo de PCR en tiempo real el mRNA total aislado de la etapa de copa (E14,5), campana temprana (E16,5), campana avanzada (E18,5) y del segundo día postnatal (PN2).

- El nivel de expresión de ARNm de EMMPRIN y de Cav-1 en el germen dental aumentó gradualmente durante el desarrollo hasta alcanzar el nivel más alto en el periodo postnatal (Figura 18).

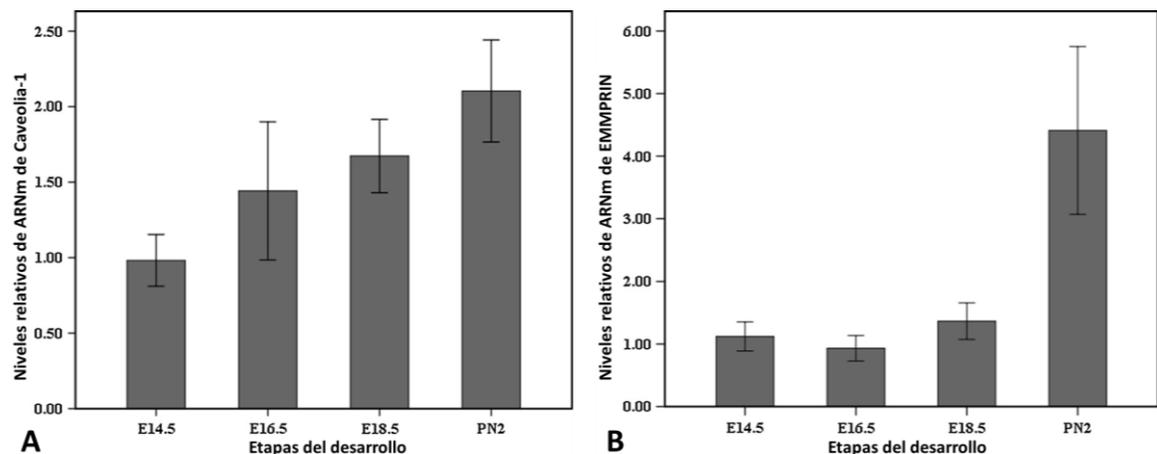


Figura 18: Niveles de ARNm de Caveolina-1 y EMMPRIN en las distintas etapas del desarrollo dental de ratón

A: Análisis de PCR en tiempo real de la expresión de ARNm de Cav-1 en el molar de ratón.

B: Análisis de PCR en tiempo real de la expresión de ARNm de EMMPRIN en el molar de ratón.

Todas las barras de error representan ± 2 SD (desviación estándar) (adaptada de Shi y cols., 2016).

Abreviaciones: E=día embrionario; PN=día postnatal.

Conclusiones

- La expresión de caveolina-1 y EMMPRIN se inició en la etapa de yema.
- En las etapas posteriores, tanto Cav-1 como EMMPRIN, se expresaron en el órgano del esmalte (incluidos el EDI, EDE, RE y el EI), lo que indica su papel en la proliferación y diferenciación del órgano del esmalte.
- Los patrones de expresión en el órgano del esmalte (Cav-1 más intensa hacia lingual y EMMPRIN más intenso hacia vestibular) indican que Cav-1 y EMMPRIN pueden participar en la histodiferenciación y la morfogénesis del órgano del esmalte.

- La expresión de EMMPRIN en los odontoblastos puede estar relacionada con la degradación de la membrana basal y la diferenciación de los odontoblastos.
- La intensa expresión de Cav-1 durante la producción de esmalte sugiere que puede desempeñar un papel en el transporte de calcio en los ameloblastos.
- Los niveles de mRNA de Cav-1 (PCR en tiempo real) y su intensidad inmunohistoquímica no fueron coincidentes, esto se puede deber a que el PCR en tiempo real aisló el mRNA del germen dental completo, por lo que la Cav-1 presente en otras estructuras (como las células endoteliales vasculares) podría haber sobreestimado los niveles de Cav-1 en las células odontogénicas. Por lo tanto, debería emplearse un método más preciso, como la tecnología de microdissección por captura láser (LCM), para capturar únicamente las células epiteliales dentales, y así evitar la interferencia del mesénquima.

5.1.4 ARTÍCULO N°4

Título: Expresión de caveolina-1 en germen dental, ameloblastoma y carcinoma ameloblástico.

Autores: Celeste Sánchez-Romero, Vanesa Pereira-Prado, Estefanía Sicco, Mariana Suarez, Gabriel Tapia-Repetto, Ramón Carreón-Burciaga, Rogelio González-González, Mariana Villarroel-Dorrego, Marco Meleti, Nelly Molina-Frechero, Ronell Bologna-Molina.

Revista: Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2021 Mar 1;26 (2):e238-45.

Caveolin-1 in ameloblastoma

Objetivos del estudio: Evaluar la expresión de la Caveolina-1 mediante inmunohistoquímica en ameloblastomas (AM) (analizando también la expresión génica de Cav-1 mediante qRTPCR), en el germen dental humano (TG) y en el carcinoma ameloblástico (AC).

Materiales y métodos

Muestra: Muestras de tejido fijadas con formol y embebidas en parafina de 7 tejidos gingivales normales, 12 germenos dentarios humanos (GD: 3 en etapa de yema, 3 en etapa de copa y 6 en etapa de campana), 83 ameloblastomas (AM), 57 tumores

sólidos/convencionales y 26 tumores unicuésticos) y 9 carcinomas ameloblásticos CA). Se obtuvieron cortes de 2 μ m.

- Inmunohistoquímica: Las muestras fueron incubadas con anticuerpo primario anti-Cav-1 y luego se incubaron con anticuerpos secundarios. Para el control negativo se omitió el anticuerpo primario y se utilizó tejido pulmonar humano como control positivo. Para medir la positividad en los cortes de tejido se utilizó la siguiente escala semicuantitativa: 0 (sin tinción) para ausencia de tinción o una tinción positiva de <5% de las células, + (débil-moderada) indica una tinción de entre el 5 y el 50% de las células, y ++ (fuertemente positiva) indica una tinción de >50% de las células. La tinción positiva en el núcleo y en los componentes mesenquimales/estromales se registró como "presente" o "ausente". Los resultados se analizaron de forma descriptiva.
- Extracción del ARN total y transcriptasa reversa: Se utilizaron dos muestras humanas de AM y como control se utilizó 1 muestra de tejido gingival normal. Todas las muestras fueron fijadas en formol e incluidas en parafina, para luego extraer el RNA.
- PCR en tiempo real.
- Wester Blot: Se extrajeron las proteínas de dos casos de AM. De cada extracción se utilizaron de 10 a 20 μ g de proteína y se separaron en PAGE/SDS. Se realizó la transferencia a membranas de fluoruro de polivinilideno, las que luego fueron incubadas con anticuerpos primarios anti-Cav-1 y luego con sus respectivos anticuerpos secundarios.

Resultados

- Gérmenes dentales humanos (TG): 11 de los 12 TG fueron positivos para Cav-1, presentando la mayoría de ellos una fuerte positividad (++) en los componentes epiteliales. En etapa de campana se observó además inmunotinción en los componentes mesenquimales (Figura 19), como odontoblastos y células de la papila dental. Mientras que, en las etapas de tempranas (yema y copa), la positividad se limitó a los componentes epiteliales (RE, EDI y EDE). La mayoría de los vasos sanguíneos y osteoblastos adyacentes fueron positivos.

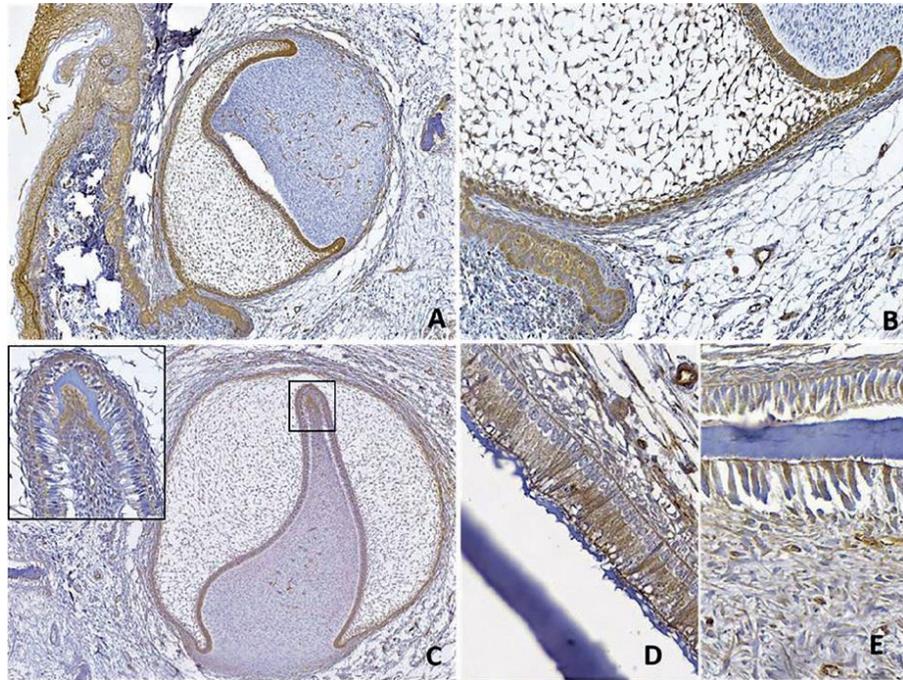


Figura 19: Detección de Caveolina-1 en el germen dental humano

En las primeras etapas de desarrollo (copa tardía y yema permanente) (A, B), solo los elementos epiteliales del órgano del esmalte mostraban una fuerte expresión; en el ectomesénquima sólo hubo tinción en los vasos sanguíneos. En las últimas etapas de desarrollo (C-E), además de los elementos epiteliales, los odontoblastos secretores y la papila dental adyacente fueron positivos, mientras que los ameloblastos presecretores mostraron una expresión débil (C, recuadro). Los ameloblastos secretores (D), los odontoblastos y la papila dental (E) mostraron una fuerte expresión de Cav-1 en la etapa de campana tardía (Sánchez-Romero y cols., 2021).

Aumento: A: 100x; B: 200x; C: 50x; D, E y recuadro (C): 400x.

- **Ameloblastoma (AM):** La inmunoexpresión de Cav-1 en el citoplasma y las membranas de las células tumorales epiteliales fue negativa en 22 muestras (26,5%) y positiva en 61 muestras (73,5%). La mayoría de las muestras negativas eran ameloblastomas sólidos (AS) (17, 29,8%), y la mayoría de las muestras positivas se calificaron como "tinción débil-moderada" (42,2% de todas las muestras). Del total de muestras de AM, 26 (31,3%), incluyendo 17 de AS (29,8%) y 7 de ameloblastomas unicuísticos (AU) (26,9%), recibieron una puntuación de "fuerte positivo". La tinción citoplasmática/membranosa fue el patrón de tinción más común tanto en AS como en AU. Varias muestras de AM (n=13, 15,6%) mostraron positividad nuclear focal. Las escasas células inflamatorias del estroma y los fibroblastos fueron positivas para Cav-1, sin embargo, una muestra de AS mostró una tinción fuerte y difusa de los

fibroblastos del estroma. Otros tipos de células positivas en las muestras fueron las de vasos sanguíneos, osteocitos, tejido perineural y adiposo.

- Carcinoma ameloblástico (CA): Las 9 muestras fueron positivas para Cav-1 y mostraron distribuciones similares dentro de las categorías "débil-moderada" (n=5, 55,6%) y "fuerte positiva" (n=4, 44,4%). Dos muestras (22,2%) presentaron tinción positiva en el núcleo. Se observaron áreas negativas focales en las zonas centrales, en los procesos de queratinización o necrosis.
- Tejido gingival epitelial: Las muestras resultaron predominantemente negativas para Cav-1 (6 fueron negativas y 1 mostró tinción nuclear en la capa espinosa).
- RT-PCR de las muestras de AM: Los niveles de transcripción de Cav-1 incrementaron 14,9 veces en las muestras de AM, en comparación con los controles.
- Western Blot de las muestras de AM: se confirmó la presencia de Caveolina-1 en las dos muestras de AM estudiadas.

Conclusiones

- La expresión de Cav-1 en odontoblastos y células de la papila dental (en la etapa de campana) es un nuevo hallazgo que se contrapone a los estudios anterior de Cav-1 y odontogénesis, lo que sugiere que Cav-1 puede estar involucrada en la diferenciación de odontoblastos y en la producción de matriz dentinaria.
- En este estudio, el 73,5% de las 84 muestras de AM fueron positivas para la Cav-1, lo que fue confirmado por la expresión génica significativamente mayor en el AM en comparación con el tejido normal, según se determinó por RT-PCR. Además, la presencia de la Cav-1 presentaba una distribución similar en AS y AU, mostrando una tasa de positividad globalmente mayor y sugiriendo que, si bien podría estar implicada en la patogénesis del AM, no está asociada al comportamiento más agresivo del AS en comparación con el AU.
- Las 9 muestras de CA (100%) fueron positivas con un patrón de tinción similar al del AM. Sin embargo, la proporción de muestras negativas/positivas

es difícil de estimar debido al pequeño tamaño de la muestra, ya que es un tumor poco frecuente.

- Los patrones de inmunexpresión de Cav-1 a lo largo de las etapas de GD muestran su importancia durante la odontogénesis.
- Los patrones similares de sobreexpresión de caveolina-1 en AM y CA sugieren que podría desempeñar un papel en los eventos protumorales, probablemente a través de alteraciones metabólicas, pero no necesariamente participar en el proceso de transformación maligna. Sin embargo, para confirmar estas hipótesis y debido a que la caveolina-1 está implicada en una amplia gama de mecanismos protumorales y antitumorales, en futuros estudios se debería asociar la expresión de la caveolina-1 con variables clínicas o con proteínas implicadas en señalización, angiogénesis, hipoxia y alteraciones metabólicas.

6 DISCUSIÓN

6.1 CAVEOLINA-1 Y ODONTOGÉNESIS

Nuestra pregunta de investigación “¿Existe evidencia reportada de la expresión y función de Caveolina-1 en diferentes formas de Odontogénesis y sus diversas etapas?” es respondida de forma parcial por los artículos incluidos en esta revisión de la literatura.

No existen artículos que indaguen la relación entre Cav-1 y diferentes formas de Odontogénesis, ya que este aspecto no es considerado por los distintos autores, quienes solo han estudiado dientes que crecen de forma limitada. Mientras que, los dientes a crecimiento continuo o hipselodontes, han quedado fuera de esta área de investigación.

Los dientes hipselodontes representan un excelente modelo para estudiar la renovación tisular basada en células madre adultas y su dinámica, siendo el incisivo de ratón uno de los más estudiados (Hu y cols., 2017). Este tipo de dientes posee poblaciones heterogéneas de células madre auto-renovantes en el extremo apical, las cuales se encargan de mantener un proceso constante de Odontogénesis, actuando como progenitoras de las células responsables de la producción de los distintos tejidos dentarios, tanto en su análogo de corona por vestibular, como en su análogo radicular por lingual/palatino (Krivanek y cols., 2020). La transición morfológica del incisivo de ratón adulto desde la zona apical hacia la zona incisal muestra semejanza con el desarrollo dental en la etapa prenatal, siendo el extremo apical una especie de “eterno germen dental”, por lo que en él se pueden estudiar las distintas etapas de la Odontogénesis, incluyendo amelogénesis y dentinogénesis (Ohshima y cols., 2005).

El regulador transcripcional YAP controla diversas funciones celulares tales como proliferación, diferenciación y apoptosis (Moreno, 2018). En el incisivo de ratón es el encargado de mantener la proliferación e inhibir la diferenciación de las distintas poblaciones de células madre que residen en el extremo apical del incisivo de ratón (Hu y cols., 2017). Investigaciones indican que Cav-1 regula la actividad celular de YAP frente a estímulos biomecánicos en células mesoteliales, fibroblastos y hepatocitos, constituyendo un eje de mecanotransducción (Strippoli y cols., 2020;

Moreno, 2018). Esto sugiere que Cav-1 podría estar involucrada regulando la actividad de las células madre en incisivos a crecimiento continuo mediante la modulación de YAP.

Las células madre adultas se encuentran en muchos tejidos regenerativos de vertebrados incluyendo el sistema hematopoyético, sistema nervioso, intestinos, gónadas, piel, epitelio olfatorio y en dientes a crecimiento continuo (Ohshima y cols., 2005). Estudios previos han relacionado a Cav-1 con la proliferación *in vivo* de células madre adultas neurales, intestinales y de glándulas mamarias, concluyendo que Cav-1 juega un papel inhibitor en este proceso, mediante la inactivación de la vía Wnt/ β -catenina (Jasmin y cols., 2009; Li y cols., 2005; Sotgia y cols., 2005).

La comprensión del comportamiento de las células madre, cómo se diferencian hacia distintas direcciones para formar los diversos tejidos y órganos, ha sido una de las grandes interrogantes para los científicos durante décadas. Con el avance de la tecnología y el conocimiento acumulado, se ha formado un campo de investigación activo que tiene por objeto descubrir los mecanismos específicos a los cuales obedecen las células madre, para lograr construir tejidos y órganos, incluidos los dientes, a partir de ellas (Thesleff, 2018). Por lo tanto, generar una línea de investigación que explore la relación de Cav-1 con las células madre adultas presentes en los incisivos de ratón a crecimiento continuo, sería un aporte significativo para comprender su comportamiento y avanzar en ámbitos de ingeniería tisular.

Respecto a la segunda parte de nuestra pregunta de investigación, relacionada con las etapas de la Odontogénesis, los artículos confirman la expresión de Cav-1 durante sus diferentes etapas. Sin embargo, la evidencia encontrada es escasa y controversial, ya que existe discrepancia acerca de las etapas de la Odontogénesis en las que se expresa Cav-1 y la localización de su expresión (Tabla 6). Además, los distintos autores se enfocaron en fases diferentes del proceso, incluso estudiando a Cav-1 en conjunto con otras moléculas, lo que podría generar aún más discrepancia en los resultados.

Tabla 6: Expresión de Cav-1 en las distintas etapas de la Odontogénesis según los distintos autores

Autor	Etapas de la Odontogénesis													
	Lámina		Yema		Copa		Campana		Corona temprana		Formación radicular		Erupción	
	ED	M	ED	M	ED	M	ED	M	ED	M	ED	M	ED	M
Schwab					-	-	+	+						
Lee							-	-	-	-	-	+	-	+
Shi	-	-	+	-	+	-	+	+						
Sánchez			+	+	+	+	+	+						

+ = Presencia de Caveolina-1; - = Ausencia de Caveolina-1; Celdas grises = Etapas no estudiadas por los autores; +* = Presencia de Cav-1 en vasos sanguíneos.

Abreviaciones: ED=Epitelio dental; M=Mesénquima

Schwab y cols., al estudiar gérmenes de primer molar inferior de ratón en etapa de copa y campana, encontraron una intensa inmunoreactividad de Cav-1 en la etapa de campana, principalmente en células del EDI, ameloblastos y células endoteliales de los vasos sanguíneos presentes en la papila dental (Schwab y cols., 2007). Por su parte, Lee y cols., examinaron la presencia de Cav-1 en el periodonto en desarrollo de ratón, incluyendo las etapas de corona temprana, formación radicular y erupción dental. Evidenciaron una débil expresión de Cav-1 durante la erupción dentaria en células del ligamento periodontal, vainas nerviosas dentro del hueso alveolar, cementoblastos, osteoblastos, vasos sanguíneos y nervios periféricos (Lee y cols., 2016). Shi y cols., estudiaron la expresión de Cav-1 en gérmenes de molar de ratón en las etapas de lámina, yema, copa y campana. Encontraron que Cav-1 se expresó durante las etapas de yema, copa y campana. En la etapa de yema Cav-1 se encontró en el tejido epitelial, en la etapa de copa se encontró en los distintos componentes del órgano del esmalte (con una expresión más intensa en la zona lingual), en la etapa de campana temprana se encontró principalmente en el EDI y en la zona del asa cervical, mientras que en la etapa de campana avanzada se encontró una fuerte expresión en ameloblastos y en la zona del asa cervical (Shi y cols., 2016).

Sánchez-Romero y cols., investigaron la expresión de Cav-1 en gérmenes dentales humanos en la etapa de yema, copa y campana, existiendo una fuerte expresión de Cav-1 en los componentes epiteliales, en todas las etapas. Mientras

que, en la etapa de campana, además de observarse Cav-1 en los componentes epiteliales del germen dental, también se observó una fuerte inmunorreacción en odontoblastos secretores y células de la papila dental (Sánchez-Romero y cols., 2021).

Dos de los artículos incluidos en este trabajo de investigación identificaron la presencia de Cav-1 en el tejido epitelial de gérmenes dentales en etapa de yema, tanto de ratón como de humanos (Sánchez-Romero y cols., 2021; Shi y cols., 2016). Durante esta etapa existe una intensa actividad mitótica y biosintética, además surge el nodo del esmalte primario, el cual madura y se convierte en un rasgo morfológicamente discernible, fuente de numerosas moléculas de señalización de diferentes familias (Nanci, 2018). La batería de moléculas expresadas en el NE estimula el crecimiento y elongación del epitelio, el que posteriormente abraza a la papila dental formando las zonas de inflexión cervical y permitiendo el avance del germen dental hacia la etapa de copa (Balic & Thesleff, 2015). El tamaño del NE está controlado por la actividad de la vía Eda, por lo que su mutación en humanos resulta en displasia ectodérmica hipohidrótica, mientras que en ratones se generan NEs más pequeños, defectos en la invaginación epitelial y en la formación de las zonas de inflexión cervical. La actividad de Eda a su vez es regulada por la señalización de Wnt durante las etapas tempranas de la morfogénesis de molar murino (Yu & Klein, 2020). Hasta el momento no se ha indagado acerca de Cav-1 y su relación con la vía Wnt durante las etapas tempranas de la Odontogénesis, sin embargo, estudios *in vivo* en ratones Knock-out para Cav-1 han concluido que ésta tiene un rol inhibitor en la proliferación de células madre adultas intestinales, de glándulas mamarias y neurales, actuando como regulador negativo de la vía Wnt (Jasmin y cols., 2009; Li y cols., 2005; Sotgia y cols., 2005), por lo que es posible que Cav-1 esté involucrada en los procesos de señalización que conllevan al desarrollo dental.

La etapa de copa se caracteriza por la aparición del órgano del esmalte, con 3 zonas celulares características: El epitelio dental interno (EDI), el retículo estrellado (RE) y el epitelio dental externo (Nanci, 2018). Shi y cols., descubrieron que, en la etapa de copa, Cav-1 se expresó en células del órgano del esmalte, presentando mayor intensidad en la zona lingual de éste, lo cual fue relacionado a la existencia de apoptosis en sitios específicos, variaciones en la localización de la

actividad mitótica y modulaciones locales específicas de los mecanismos de adhesión celular (interacciones célula-célula y matriz-célula) (Shi y cols., 2016; Lesot y cols., 2014). Sánchez-Romero y cols., detectaron la expresión de Cav-1 en los distintos elementos del órgano del esmalte en la etapa de copa, lo que sugiere que Cav-1 juega un rol en la Odontogénesis, especialmente en la diferenciación y organización de los tejidos odontogénicos. Además, considerando la relación entre Cav-1 y el transporte de calcio celular, los autores consideran que Cav-1 podría participar en el transporte de calcio en los ameloblastos (Sánchez-Romero y cols., 2021).

La literatura encontrada evidenció que Cav-1 se expresa en el germen dentario durante la etapa de campana, específicamente en la membrana de células del EDI, ameloblastos y en la zona de inflexión cervical, en donde se expresó de forma intensa (Sánchez-Romero y cols., 2021; Shi y cols., 2016; Schwab y cols., 2007). Además, se confirmó la expresión *in vitro* de Cav-1 en la membrana celular de células HAT-7, una línea celular epitelial dental derivada de un incisivo murino en etapa de yema (Schwab y cols., 2007). En este estadio del desarrollo dental, las células del EDI se encuentran en un proceso de diferenciación, mientras que los ameloblastos diferenciados comienzan una intensa actividad secretora (Yu & Klein, 2020). Ya que Cav-1 cumple diversas funciones, entre las que se encuentran la transducción de señales, transporte de moléculas y uniones intercelulares (Parton y cols., 2020), podría ser de gran importancia en la diferenciación y comunicación entre ameloblastos y sus células circundantes, además de participar en la amelogénesis propiamente tal.

Sánchez-Romero y cols., fueron los únicos en trabajar con gérmenes dentales humanos y los únicos en identificar la presencia de Cav-1 en odontoblastos y células mesenquimales de la papila dental en la etapa de campana (Sánchez-Romero y cols., 2021), hallazgo que se contrapone a los demás autores, quienes observaron la expresión de Cav-1 sólo en elementos derivados del epitelio dental, células endoteliales y nerviosas. A pesar de ser similares a nivel general, los dientes de ratón y humanos revelan diferencias moleculares específicas de cada especie que sugieren una posible divergencia evolutiva (Krivanek y cols., 2020), como es el caso de la vía Wnt que, cuando se encuentra mutada en ratones genera dientes supernumerarios, mientras que en humanos provoca agenesias (Yu & Klein, 2020),

por lo que la expresión y función de Cav-1 en odontoblastos podría estar ligada a la especie.

En la dinámica de los procesos de mineralización de matrices mesenquimales, las vesículas matriciales cobran especial importancia, son secretadas por condrocitos, osteoblastos y odontoblastos, y son las encargadas de transportar los distintos elementos minerales hacia la matriz extracelular (Sawada y cols., 2007). En un estudio *in vitro* realizado por Sawada y cols., se investigó la relación entre Cav-1 y vesículas matriciales (VM) producidas por una línea celular osteoblástica murina, encontrando que Cav-1 se expresa en las VMs y concluyen que podría tener un rol importante en la formación de ellas y en la mineralización ósea (Sawada y cols., 2007), por lo tanto, sería interesante investigar el rol de Cav-1 en las VMs producidas por odontoblastos humanos durante la dentinogénesis.

Las vías BMP y Wnt, junto con FGF, Shh y Eda, son de gran importancia a lo largo del desarrollo dental, desde la iniciación, pasando por la morfogénesis, hasta la citodiferenciación de los tejidos odontogénicos (Yu & Klein, 2020), por lo que su desregulación puede generar alteraciones en la formación de los dientes. El estudio *in vitro* de Lee y cols., en células del ligamento periodontal humano, evidenció que el *knock-out* de Cav-1 aumentó la expresión de las vías Wnt y BMP, promoviendo la diferenciación osteoblástica de estas células (Lee y cols., 2016). Esto demuestra que Cav-1 actúa inhibiendo las vías Wnt y BMP en el desarrollo normal de las células del ligamento periodontal, sin embargo, aún no se ha investigado su función en ameloblastos ni en odontoblastos.

6.2 CAVEOLINA-1 Y EMMPRIN

Tanto Shi y cols., como Schwab y cols., investigaron la coexpresión de Cav-1 y EMMPRIN en los gérmenes de molar de ratón en desarrollo. Concluyeron que Cav-1 y EMMPRIN se coexpresan de forma parcial en células epiteliales y del órgano del esmalte, indicando Cav-1 podría ser gran importancia en la remodelación de la matriz extracelular, mediante la regulación de EMMPRIN, quien a su vez se encarga de activar a las metaloproteasas de la matriz (Shi y cols., 2016; Schwab y cols., 2007). Esto tiene relevancia en la migración centrífuga de los ameloblastos durante la secreción la matriz de esmalte y en la maduración del esmalte en la etapa

de campana avanzada, sin embargo, esta relación no es explorada en los artículos encontrados.

6.3 CAVEOLINA-1 Y TUMORES ODONTOGÉNICOS

Los tumores odontogénicos corresponden a procesos patológicos derivados de tejidos odontogénicos, se desarrollan de forma exclusiva en los huesos maxilar y mandibular alrededor de los segmentos que contienen a los dientes (Rajendra & Ogle, 2019). El estudio de Sánchez-Romero y cols., investigó la expresión de Cav-1 en el ameloblastoma, siendo positivo en el 73,5% de las muestras, y en el carcinoma ameloblástico en el 100% de las muestras (Sánchez-Romero y cols., 2021). Además, dos estudios previos analizaron la presencia de Cav-1 en distintos tumores odontogénicos, observando su presencia en el tumor odontogénico primordial, quiste dentígero, quiste odontogénico queratoquístico, quiste odontogénico ortoqueratinizado, quiste odontogénico calcificante y en el ameloblastoma (Bologna-Molina y cols., 2017; Jaafari y cols., 2014). Estos resultados sugieren que Cav-1 juega un rol en los eventos tumorales derivados de tejidos odontogénicos, por lo que se hace necesario profundizar los mecanismos de acción que ejerce sobre estos tejidos y que llevan a la agresividad o malignidad de este tipo de tumores.

Los artículos incluidos en este trabajo de investigación no son suficientes para responder nuestra pregunta de investigación ni lograr dilucidar la relación y función entre Cav-1 y las diferentes formas de Odontogénesis y sus etapas. Esto se debe en gran parte a la escasa evidencia existente y a las diversas discrepancias que existen en ese pequeño cúmulo de literatura. Además, la metodología de los estudios fue diversa, los distintos autores se enfocaron en diferentes etapas de la Odontogénesis, sin incluirlas a todas. Algunos autores realizaron estudios *in vitro*, sin embargo, no se emplearon los mismos tipos celulares ni la misma metodología. Mientras ciertos autores analizaron a Cav-1 en conjunto con otras moléculas, otros la analizaron de forma aislada. Algunos estudios se enfocaron en el tejido periodontal, en tanto otros estudios apuntaron a los tejidos responsables de la dentinogénesis y la amelogénesis. Por todo lo anterior, resulta complejo homogeneizar la información obtenida de los distintos estudios, y, en consecuencia,

poder establecer cuál es el rol de Cav-1 en el proceso de Odontogénesis y sus etapas.

Esta situación solo permite generar ciertas correlaciones entre la evidencia encontrada y otras líneas de investigación similares, sin embargo, la información de esta línea de investigación aún no logra sostenerse por sí misma, por lo cual se hace necesario explorarla con estudios experimentales a futuro que estandaricen la metodología e intenten abarcar todas las aristas aquí expuestas.

7 CONCLUSIONES

Esta revisión sistemática cualitativa permite concluir que:

Hay escasa literatura que investiga la expresión de Cav-1 en las diversas etapas de la Odontogénesis y lo descrito resulta controversial para comprender el posible rol de Cav-1 en las diferentes etapas descritas en Odontogénesis.

No existe evidencia que relacione a Cav-1 con las distintas formas de Odontogénesis, lo que no permitió responder a cabalidad la pregunta de investigación de este estudio.

La expresión de Cav-1 ha sido explorada en diversos tipos de células madre en individuos adultos mostrando un rol en la mantención de este fenotipo indiferenciado, sin embargo, no existen estudios que aborden la dinámica de expresión de Cav-1 en los nichos de células madre dentales en “eternos gérmenes dentales” como se ha definido a los hipselodontes, lo que podría tener gran importancia en el ámbito de ingeniería tisular.

Los estudios recopilados en esta revisión de la literatura indican que Cav-1 se expresa en el tejido epitelial y en las células del órgano del esmalte durante la Odontogénesis murina y humana.

La evidencia demuestra la expresión de Cav-1 en odontoblastos secretores durante la Odontogénesis humana.

Este trabajo de investigación recopila la evidencia existente respecto de la expresión de Cav-1 en la Odontogénesis, planteando problemáticas a considerar en los futuros trabajos experimentales que deseen continuar con esta línea de investigación.

8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrews, A. M., & Rizzo, V. (2016). Microparticle-Induced Activation of the Vascular Endothelium Requires Caveolin-1/Caveolae. *PLoS one*, *11*(2), e0149272. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149272>
- Baker, N., Zhang, G., You, Y., & Tuan, R. S. (2012). Caveolin-1 regulates proliferation and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Journal of cellular biochemistry*, *113*(12), 3773–3787. <https://doi.org/10.1002/jcb.24252>
- Balic, A., & Thesleff, I. (2015). Tissue Interactions Regulating Tooth Development and Renewal. *Current topics in developmental biology*, *115*, 157–186. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2015.07.006>
- Bologna-Molina, R., Mikami, T., Pereira-Prado, V., Pires, F. R., Carlos-Bregni, R., & Mosqueda-Taylor, A. (2017). Primordial odontogenic tumor: An immunohistochemical profile. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*, *22*(3), e314–e323. <https://doi.org/10.4317/medoral.21859>
- Boscher, C., & Nabi, I. R. (2012). Caveolin-1: role in cell signaling. *Advances in experimental medicine and biology*, *729*, 29–50. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1222-9_3
- Butler, A., Hall, H., & Copnell, B. (2016). A Guide to Writing a Qualitative Systematic Review Protocol to Enhance Evidence-Based Practice in Nursing and Health Care. *Worldviews on evidence-based nursing*, *13*(3), 241–249. <https://doi.org/10.1111/wvn.12134>
- Calamari, Z. T., Hu, J. K., & Klein, O. D. (2018). Tissue Mechanical Forces and Evolutionary Developmental Changes Act Through Space and Time to Shape Tooth Morphology and Function. *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, *40*(12), e1800140. <https://doi.org/10.1002/bies.201800140>
- Gomez de Ferraris, M. y Campos Muñoz, A. (2019). *Histología, Embriología e Ingeniería Tissular Bucodental*. Miguel Hidalgo, Mexico: Editorial Medica Panamericana
- Gorman, C. E., & Hulsey, C. D. (2020). Non-trophic Functional Ecology of Vertebrate Teeth: A Review. *Integrative and comparative biology*, *60*(3), 665–675. <https://doi.org/10.1093/icb/icaa086>
- Hollins, A. J., Campbell, L., Gumbleton, M., & Evans, D. J. (2002). Caveolin expression during chondrogenesis in the avian limb. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, *225*(2), 205–211. <https://doi.org/10.1002/dvdy.10143>
- Hu, J. K., Du, W., Shelton, S. J., Oldham, M. C., DiPersio, C. M., & Klein, O. D. (2017). An FAK-YAP-mTOR Signaling Axis Regulates Stem Cell-Based Tissue Renewal in Mice. *Cell stem cell*, *21*(1), 91–106.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2017.03.023>
- Jaafari-Ashkavandi, Z., Pardis, S., Asadzadeh, M., Andisheh-Tadbir, A., & Dehghani-Nazhvani, A. (2014). Caveolin-1 expression in odontogenic cysts and ameloblastomas. *Türk patoloji dergisi*, *30*(2), 94–99. <https://doi.org/10.5146/tjpath.2014.01241>
- Jasmin, J. F., Yang, M., Iacovitti, L., & Lisanti, M. P. (2009). Genetic ablation of caveolin-1 increases neural stem cell proliferation in the subventricular zone (SVZ) of the adult mouse brain. *Cell cycle (Georgetown, Tex.)*, *8*(23), 3978–3983. <https://doi.org/10.4161/cc.8.23.10206>
- Jheon, A. H., Seidel, K., Biehs, B., & Klein, O. D. (2013). From molecules to mastication: the

- development and evolution of teeth. *Wiley interdisciplinary reviews. Developmental biology*, 2(2), 165–182. <https://doi.org/10.1002/wdev.63>
- Jiménez-Rojo, L., Granchi, Z., Graf, D., & Mitsiadis, T. A. (2012). Stem Cell Fate Determination during Development and Regeneration of Ectodermal Organs. *Frontiers in physiology*, 3, 107. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00107>
- Krivanek, J., Soldatov, R. A., Kastriti, M. E., Chontorotzea, T., Herdina, A. N., Petersen, J., Szarowska, B., Landova, M., Matejova, V. K., Holla, L. I., Kuchler, U., Zdrilic, I. V., Vijaykumar, A., Balic, A., Marangoni, P., Klein, O. D., Neves, V. C. M., Yianni, V., Sharpe, P. T., Harkany, T., ... Adameyko, I. (2020). Dental cell type atlas reveals stem and differentiated cell types in mouse and human teeth. *Nature communications*, 11(1), 4816. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18512-7>
- Lee, S. Y., Yi, J. K., Yun, H. M., Bae, C. H., Cho, E. S., Lee, K. S., & Kim, E. C. (2016). Expression of Caveolin-1 in Periodontal Tissue and Its Role in Osteoblastic and Cementoblastic Differentiation In Vitro. *Calcified tissue international*, 98(5), 497–510. <https://doi.org/10.1007/s00223-015-0095-1>
- Lesot, H., Hovorakova, M., Peterka, M., & Peterkova, R. (2014). Three-dimensional analysis of molar development in the mouse from the cap to bell stage. *Australian dental journal*, 59 Suppl 1, 81–100. <https://doi.org/10.1111/adj.12132>
- Li, J., Hassan, G. S., Williams, T. M., Minetti, C., Pestell, R. G., Tanowitz, H. B., Frank, P. G., Sotgia, F., & Lisanti, M. P. (2005). Loss of caveolin-1 causes the hyper-proliferation of intestinal crypt stem cells, with increased sensitivity to whole body gamma-radiation. *Cell cycle (Georgetown, Tex.)*, 4(12), 1817–1825. <https://doi.org/10.4161/cc.4.12.2199>
- Li, J., Parada, C., & Chai, Y. (2017). Cellular and molecular mechanisms of tooth root development. *Development (Cambridge, England)*, 144(3), 374–384. <https://doi.org/10.1242/dev.137216>
- Martín-González J, Sánchez-Domínguez B, Tarilonte-Delgado ML, Castellanos-Cosano L, Llamas-Carreras JM, López-Frías FJ, Segura-Egea JJ. (2012). Anomalías y displasias dentarias de origen genético-hereditario. *Avances en odontostomatología*. 28(6):287-301. doi:10.4321/s0213-12852012000600004
- Mitsiadis, T. A., & Graf, D. (2009). Cell fate determination during tooth development and regeneration. *Birth defects research. Part C, Embryo today : reviews*, 87(3), 199–211. <https://doi.org/10.1002/bdrc.20160>
- Mitsiadis, T. A., & Luder, H. U. (2011). Genetic basis for tooth malformations: from mice to men and back again. *Clinical genetics*, 80(4), 319–329. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2011.01762.x>
- Moreno, R. (2018) *Implicación de Caveolina-1 en procesos de mecanotransducción: modulación de la respuesta a cambios en la rigidez de la matriz extracelular a través del control de la actividad de YAP [Tesis de doctorado]*. Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares- Carlos III, Universidad Autónoma de Madrid (Madrid, ESP).
- Munn, Z., Stern, C., Aromataris, E., Lockwood, C., & Jordan, Z. (2018). What kind of systematic review should I conduct? A proposed typology and guidance for systematic reviewers in the medical and health sciences. *BMC medical research methodology*, 18(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s12874-017-0468-4>
- Nanci A. (2018) *Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure and Function*. 9Ed Elsevier Inc. 823 pag. ISBN: 978-0-323- 48524-1

- Naveau, A., Seidel, K., & Klein, O. D. (2014). Tooth, hair and claw: comparing epithelial stem cell niches of ectodermal appendages. *Experimental cell research*, 325(2), 96–103. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2014.02.003>
- Nohe, A., Keating, E., Underhill, T. M., Knaus, P., & Petersen, N. O. (2005). Dynamics and interaction of caveolin-1 isoforms with BMP-receptors. *Journal of cell science*, 118(Pt 3), 643–650. <https://doi.org/10.1242/jcs.01402>
- Oh, M., Zhang, Z., Mantesso, A., Oklejas, A. E., & Nör, J. E. (2020). Endothelial-Initiated Crosstalk Regulates Dental Pulp Stem Cell Self-Renewal. *Journal of dental research*, 99(9), 1102–1111. <https://doi.org/10.1177/0022034520925417>
- Ohshima, H., Nakasone, N., Hashimoto, E., Sakai, H., Nakakura-Ohshima, K., & Harada, H. (2005). The eternal tooth germ is formed at the apical end of continuously growing teeth. *Archives of oral biology*, 50(2), 153–157. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2004.09.008>
- Pagella, P., Porcheri, C., & Mitsiadis, T. A. (2020). Exploiting teeth as a model to study basic features of signaling pathways. *Biochemical Society transactions*, 48(6), 2729–2742. <https://doi.org/10.1042/BST20200514>
- Parton R. G. (2018). Caveolae: Structure, Function, and Relationship to Disease. *Annual review of cell and developmental biology*, 34, 111–136. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100617-062737>
- Parton, R. G., McMahon, K. A., & Wu, Y. (2020). Caveolae: Formation, dynamics, and function. *Current opinion in cell biology*, 65, 8–16. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2020.02.001>
- Pereira-Prado, Vanesa, Tapia, Gabriel, & Bologna-Molina, Ronell. (2017). CAVEOLINA-1 implicaciones fisiológicas y patológicas. *Odontoestomatología*, 19(30), 92-98. <https://dx.doi.org/10.22592/ode2017n30a10>
- Pérez-Pérez A, Galbany J, Romero A+, Martínez LM, Estebaranz F, Pinilla B & Gamarra B (2010) Origen y evolución de los dientes: de los cordados primitivos a los humanos modernos. *Revista Española de Antropología Física* 31: 167-192. Secc. Antropología. Dpto. Biología Animal. Universitat de Barcelona.
- Pollock, A., & Berge, E. (2018). How to do a systematic review. *International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society*, 13(2), 138–156. <https://doi.org/10.1177/1747493017743796>
- Rajendra Santosh, A. B., & Ogle, O. E. (2020). Odontogenic Tumors. *Dental clinics of North America*, 64(1), 121–138. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2019.08.008>
- Routray S. (2014). Caveolin-1 in oral squamous cell carcinoma microenvironment: an overview. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 35(10), 9487–9495. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2482-z>
- Rubin, J., Schwartz, Z., Boyan, B. D., Fan, X., Case, N., Sen, B., Drab, M., Smith, D., Aleman, M., Wong, K. L., Yao, H., Jo, H., & Gross, T. S. (2007). Caveolin-1 knockout mice have increased bone size and stiffness. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 22(9), 1408–1418. <https://doi.org/10.1359/jbmr.070601>
- Rücklin, M., & Donoghue, P. C. (2015). Romundina and the evolutionary origin of teeth. *Biology letters*, 11(6), 20150326. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2015.0326>
- Sahay, B., & Mergia, A. (2020). The Potential Contribution of Caveolin 1 to HIV Latent Infection. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 9(11), 896.

<https://doi.org/10.3390/pathogens9110896>

- Sánchez-Romero, C., Pereira-Prado, V., Sicco, E., Suarez, M., Tapia-Repetto, G., Carreón-Burciaga, R., González-González, R., Villarroel-Dorrego, M., Meleti, M., Molina-Frechero, N., & Bologna-Molina, R. (2021). Expression of caveolin-1 in tooth germ, ameloblastoma and ameloblastic carcinoma. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*, 26(2), e238–e245. <https://doi.org/10.4317/medoral.24151>.
- Sawada, N., Taketani, Y., Amizuka, N., Ichikawa, M., Ogawa, C., Nomoto, K., Nashiki, K., Sato, T., Arai, H., Isshiki, M., Segawa, H., Yamamoto, H., Miyamoto, K., & Takeda, E. (2007). Caveolin-1 in extracellular matrix vesicles secreted from osteoblasts. *Bone*, 41(1), 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2007.02.030>
- Schwab, W., Harada, H., Goetz, W., Nowicki, M., Witt, M., Kasper, M., & Barth, K. (2007). Immunocytochemical and biochemical detection of EMMPRIN in the rat tooth germ: differentiation-dependent co-expression with MMPs and co-localization with caveolin-1 in membrane rafts of dental epithelial cells. *Histochemistry and cell biology*, 128(3), 195–203. <https://doi.org/10.1007/s00418-007-0313-7>
- Shi, L., Li, L., Wang, D., Li, S., Chen, Z., & An, Z. (2016). Spatiotemporal expression of caveolin-1 and EMMPRIN during mouse tooth development. *Journal of molecular histology*, 47(3), 337–344. <https://doi.org/10.1007/s10735-016-9675-2>
- Sotgia, F., Williams, T. M., Cohen, A. W., Minetti, C., Pestell, R. G., & Lisanti, M. P. (2005). Caveolin-1-deficient mice have an increased mammary stem cell population with upregulation of Wnt/beta-catenin signaling. *Cell cycle (Georgetown, Tex.)*, 4(12), 1808–1816. <https://doi.org/10.4161/cc.4.12.2198>
- Srivastav, R. K., Ansari, T. M., Prasad, M., Vishwakarma, V. K., Bagga, P., & Ahsan, F. (2019). Caveolins; An Assailant or An Ally of Various Cellular Disorders. *Drug research*, 69(8), 419–427. <https://doi.org/10.1055/a-0850-6518>
- Strippoli, R., Sandoval, P., Moreno-Vicente, R., Rossi, L., Battistelli, C., Terri, M., Pascual-Antón, L., Loureiro, M., Matteini, F., Calvo, E., Jiménez-Heffernan, J. A., Gómez, M. J., Jiménez-Jiménez, V., Sánchez-Cabo, F., Vázquez, J., Tripodi, M., López-Cabrera, M., & Del Pozo, M. Á. (2020). Caveolin1 and YAP drive mechanically induced mesothelial to mesenchymal transition and fibrosis. *Cell death & disease*, 11(8), 647. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-02822-1>
- Surguchov A. (2020). Caveolin: A New Link Between Diabetes and AD. *Cellular and molecular neurobiology*, 40(7), 1059–1066. <https://doi.org/10.1007/s10571-020-00796-4>
- Tang, W., Li, Y., Li, Y., & Wang, Q. (2021). Caveolin-1, a novel player in cognitive decline. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 129, 95–106. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.06.044>
- Thesleff I. (2018). From understanding tooth development to bioengineering of teeth. *European journal of oral sciences*, 126 Suppl 1, 67–71. <https://doi.org/10.1111/eos.12421>
- Tucker, A. S., & Fraser, G. J. (2014). Evolution and developmental diversity of tooth regeneration. *Seminars in cell & developmental biology*, 25-26, 71–80. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2013.12.013>
- Volonte, D., & Galbiati, F. (2020). Caveolin-1, a master regulator of cellular senescence. *Cancer metastasis reviews*, 39(2), 397–414. <https://doi.org/10.1007/s10555-020-09875-w>
- Xing, Y., Wen, Z., Gao, W., Lin, Z., Zhong, J., & Jiu, Y. (2020). Multifaceted Functions of

- Host Cell Caveolae/Caveolin-1 in Virus Infections. *Viruses*, 12(5), 487.
<https://doi.org/10.3390/v12050487>
- Yu, T., & Klein, O. D. (2020). Molecular and cellular mechanisms of tooth development, homeostasis and repair. *Development (Cambridge, England)*, 147(2), dev184754.
<https://doi.org/10.1242/dev.184754>
- Zajchowski, L. D., & Robbins, S. M. (2002). Lipid rafts and little caves. Compartmentalized signalling in membrane microdomains. *European journal of biochemistry*, 269(3), 737–752. <https://doi.org/10.1046/j.0014-2956.2001.02715.x>
- Zhao, H., Feng, J., Seidel, K., Shi, S., Klein, O., Sharpe, P., & Chai, Y. (2018). Secretion of Shh by a Neurovascular Bundle Niche Supports Mesenchymal Stem Cell Homeostasis in the Adult Mouse Incisor. *Cell stem cell*, 23(1), 147.
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.05.023>
- Zohrabian, V. M., Poon, C. S., & Abrahams, J. J. (2015). Embryology and Anatomy of the Jaw and Dentition. *Seminars in ultrasound, CT, and MR*, 36(5), 397–406.
<https://doi.org/10.1053/j.sult.2015.08.002>
- Zou, H., Volonte, D., & Galbiati, F. (2012). Interaction of caveolin-1 with Ku70 inhibits Bax-mediated apoptosis. *PloS one*, 7(6), e39379.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039379>

9 ANEXOS

9.1 ANEXO 1:

Proyecto Fiouch DIFO 17/16, titulado: Expresión de Caveolina-1 en la Odontogénesis Murina: Un Estudio Histoquímico



Santiago, 3 de enero de 2022

MAT.: Autoriza Extensión de FIOUCH 17/16 por 6 meses.

Profesora
Dra. MARÍA ANGÉLICA TORRES VALENZUELA
 Investigadora Responsable FIOUCH 17/16
 Departamento de Patología y Medicina Oral
 Facultad de Odontología
PRESENTE

Estimada Dra. Torres:

Junto a un cordial saludo me dirijo a usted para informarle que, esta Dirección de Investigación ha accedido a su solicitud de Extensión de Plazo de Cierre de su Proyecto FIOUCH 17/16, titulado: “Expresión de Caveliona-1 en la Odontogénesis Murina: Un Estudio Inmunohistoquímico”, por 6 meses, de acuerdo a los argumentos entregados en su atenta carta del 29 de diciembre de 2021, quedando como plazo final es el 30 de junio de 2022.

Deseándole a usted y a su equipo de colaboradores, mucho éxito en el desarrollo de su proyecto, se despide cordialmente,



DR. ALFREDO MOLINA BERRÍOS
 DIRECTOR DE INVESTIGACIÓN
 FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
 UNIVERSIDAD DE CHILE

AMB/rcm



Santiago, 18 de junio de 2018

CÓDIGO DIFO N° : 17/016

Materia: Aprueba y Asigna Código DIFO.
Centro de Costos DEA: 33 10 047.

Doctora
María Angélica Torres V.
Investigador Responsable
Proyecto FIOUCH 17/016
Presente

Estimada Dra. Torres:

Le informo que el Proyecto FIOUCH, titulado: "Expresión de Caveliona-1 en la Odontogénesis Murina: Un Estudio Inmunohistoquímico", presentado por usted al Concurso de Proyectos de Investigación en Odontología FIOUCH-2016 ha sido Aprobado, con la siguiente identificación:

Código de Inscripción Dirección de Investigación: **DIFO: 17/016**.

Cuenta con una duración de 2 años. Fecha de Inicio: 18 de junio de 2018.

Fecha de Término: 18 de junio de 2020.

El Centro de Costos Asignado por la DEA, a su Proyecto FIOUCH es: 33 10 047.

Es necesario mencionar que los fondos de su proyecto están disponibles, por lo que puede hacer uso de ellos cuando lo estime conveniente, dirigiéndose a la Sra. Alejandra Reyes: a.reyes@odontologia.uchile.cl – fono: 229785023, de la Dirección Económica y Administrativa de nuestra Facultad.

Sin otro particular, se despide cordialmente,

Dr. Alfredo Criollo Céspedes
Director de Investigación - DIFO
Facultad de Odontología
Universidad de Chile

ACC/rcm.



9.2 ANEXO 2:

Lista de evaluación crítica del Instituto Joanna Briggs, Universidad de Adelaide.

	Yes	No	Unclear	Not applicable
1. Was the sample frame appropriate to address the target population?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Were study participants sampled in an appropriate way?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Was the sample size adequate?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Were the study subjects and the setting described in detail?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Was the data analysis conducted with sufficient coverage of the identified sample?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Were valid methods used for the identification of the condition?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Was the condition measured in a standard, reliable way for all participants?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Was there appropriate statistical analysis?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Was the response rate adequate, and if not, was the low response rate managed appropriately?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Overall appraisal:	Include <input type="checkbox"/>	Exclude <input type="checkbox"/>	Seek further info <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

9.3 ANEXO 3

Datos a extraer desde los artículos seleccionados

1. N° de artículo
2. Título
3. Autor
4. Año de publicación
5. País de origen
6. Tipo de publicación
7. Idioma
8. Diseño de estudio
9. Objetivos del estudio
10. Características de la muestra
11. Metodología del estudio
12. Etapas de la odontogénesis analizadas
13. Resultados
14. Hallazgos
15. Conclusiones

9.4 ANEXO 4: EVALUACIÓN DE CALIDAD

JBI CRITICAL APPRAISAL CHECKLIST FOR STUDIES REPORTING PREVALENCE DATA

Reviewer María José Leal Date 08-11-2022

Author Schwab y cols. Year 2007 Record Number 1

	Yes	No	Unclear	Not applicable
1. Was the sample frame appropriate to address the target population?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Were study participants sampled in an appropriate way?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Was the sample size adequate?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Were the study subjects and the setting described in detail?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Was the data analysis conducted with sufficient coverage of the identified sample?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Were valid methods used for the identification of the condition?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Was the condition measured in a standard, reliable way for all participants?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Was there appropriate statistical analysis?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Was the response rate adequate, and if not, was the low response rate managed appropriately?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Overall appraisal: Include Exclude Seek further info

Comments (Including reason for exclusion)

JBI CRITICAL APPRAISAL CHECKLIST FOR STUDIES REPORTING PREVALENCE DATA

Reviewer María José Leal Date 08-11-2022

Author Lee y cols. Year 2016 Record Number 2

	Yes	No	Unclear	Not applicable
1. Was the sample frame appropriate to address the target population?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Were study participants sampled in an appropriate way?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Was the sample size adequate?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Were the study subjects and the setting described in detail?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Was the data analysis conducted with sufficient coverage of the identified sample?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Were valid methods used for the identification of the condition?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Was the condition measured in a standard, reliable way for all participants?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Was there appropriate statistical analysis?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Was the response rate adequate, and if not, was the low response rate managed appropriately?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Overall appraisal: Include Exclude Seek further info

Comments (Including reason for exclusion)

No se especifica el tamaño de la muestra.

JBI CRITICAL APPRAISAL CHECKLIST FOR STUDIES REPORTING PREVALENCE DATA

Reviewer María José Leal Date 08-11-2022

Author Shi y cols. Year 2016 Record Number 3

	Yes	No	Unclear	Not applicable
1. Was the sample frame appropriate to address the target population?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Were study participants sampled in an appropriate way?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Was the sample size adequate?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Were the study subjects and the setting described in detail?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Was the data analysis conducted with sufficient coverage of the identified sample?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Were valid methods used for the identification of the condition?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Was the condition measured in a standard, reliable way for all participants?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Was there appropriate statistical analysis?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Was the response rate adequate, and if not, was the low response rate managed appropriately?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Overall appraisal: Include Exclude Seek further info

Comments (Including reason for exclusion)

JBI CRITICAL APPRAISAL CHECKLIST FOR STUDIES REPORTING PREVALENCE DATA

Reviewer María José Leal Date 08-11-2022

Author Sánchez-Romero y cols. Year 2021 Record Number 4

	Yes	No	Unclear	Not applicable
1. Was the sample frame appropriate to address the target population?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Were study participants sampled in an appropriate way?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Was the sample size adequate?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Were the study subjects and the setting described in detail?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Was the data analysis conducted with sufficient coverage of the identified sample?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Were valid methods used for the identification of the condition?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Was the condition measured in a standard, reliable way for all participants?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Was there appropriate statistical analysis?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Was the response rate adequate, and if not, was the low response rate managed appropriately?	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Overall appraisal: Include Exclude Seek further info

Comments (Including reason for exclusion)
