

Actividad de los genes tipo MSX-1 durante el desarrollo craneofacial

Activity of msx-1 type genes during craniofacial development

Mario A. ORTÍZ¹, Carlos A. MEJÍA²

1. Profesor Auxiliar Departamento de Morfología - Universidad del Valle, Grupo de Investigación Tejidos Blandos y Mineralizados,
2. Profesor Titular Escuela de Odontología - Universidad del Valle, Grupo de Investigación Tejidos Blandos y Mineralizados.

RESUMEN

El gen MSX-1 es un miembro de la familia de genes homeobox MSX que cumple múltiples funciones durante el proceso de organogénesis. Este gen es expresado en sitios donde son requeridas interacciones epitelio-mesénquima y parece tener una función importante en el control del desarrollo craneofacial y dental, como lo demuestran los múltiples estudios en ratones y humanos. Este artículo revisa diferentes estudios con el objetivo de identificar las interacciones fisiológicas y patológicas de MSX-1 durante los diferentes estadios de desarrollo craneofacial y dental.

Palabras Clave: Odontogénesis, MSX-1, Desarrollo Craneofacial, Paladar Fisurado, Agenesia Dental.

SUMMARY

MSX-1 gene is a member of the MSX homeobox gene family and it has different functions during the organogenesis process. This homeobox gene is expressed in sites where epithelium-mesenchyme interactions are required. It also seems to have an important activity controlling dental and craniofacial development, as investigated in human and murine models. The following article reviews several studies in order to

identify MSX.1 relationships with dental and craniofacial development.

Key Words: Odontogenesis, MSX-1, Craniofacial Development, Cleft Palate, Tooth agenesis.

INTRODUCCIÓN

El proceso de desarrollo craneofacial requiere la interacción de diferentes tipos de tejidos embrionarios, incluida la presencia de células de la cresta neural. Estas interacciones tisulares siguen los mismos patrones de relación epitelio-mesénquima que se presentan en diferentes órganos y sistemas (1), en la cual una señal inductiva inicial generada por uno de los tejidos da origen a un conjunto de cambios en los otros tejidos relacionados (2,6). Este tipo de interacciones ha sido observado en el proceso de desarrollo de múltiples órganos de vertebrados como riñón, glándula mamaria, glándulas salivales, folículo piloso y dientes (6). Las señales producidas por las relaciones epitelio-mesénquima son fundamentales para el desarrollo craneofacial y las alteraciones relacionadas con su control pueden explicar el desarrollo de anomalías craneofaciales.

La familia de genes MSX (3,4), una familia de genes homeobox de vertebrados homólogos a msh de la *Drosophila*, constituye una de las familias más conservadas evolutivamente en las diferentes especies (3,5) y se encuentra relacionada con el control de las relaciones epitelio-mesenchima. La familia MSX, de los mamíferos, está constituida por tres genes: MSX 1, MSX

2 y MSX 3. MSX 1 y MSX 2 - conocidos con anterioridad como HOX 7.1 y HOX 8 (7) ampliamente expresados en muchos órganos, especialmente en sitios donde ocurren relaciones epitelio-mesénquima. De manera puntual, estos dos genes se manifiestan de manera activa durante el desarrollo craneofacial (8). MSX 3 presenta un patrón de expresión similar a msh en la *Drosophila* (3) y se manifiesta únicamente en la región dorsal del tubo neural donde parece jugar un papel importante en el proceso de neurulación (18).

La actividad y expresión de los genes MSX-1 se ha reportado en extenso durante los procesos de embriogénesis y organogénesis, que incluyen: (a) formación del tubo neural, especialmente en el desarrollo de las células de la cresta neural (4), (b) desarrollo craneofacial, en la formación de los procesos nasal, maxilar y mandibular (1,3), (c) Odontogénesis (2,6,9,10), (d) desarrollo de las extremidades (11), (e) desarrollo del dermatotoma de las somitas branquiales y torácicas (12) y (f) desarrollo cardiovascular (13).

El amplio patrón de expresión del gen MSX-1 sugiere un papel importante en el control del proceso de organogénesis y en especial en los procesos que involucran el establecimiento de relaciones epitelio-mesenchimatosas.

Actividad Biológica del gen MSX-1

El papel del gen MSX-1 en el proceso de desarrollo craneofacial (al igual que en el resto del organismo) se asocia a la

Recibido para publicación: Mayo 17 de 2007.

Aceptado para publicación: Junio 8 de 2007.

Correspondencia:

M.A. Ortiz, Universidad del Valle.

Facultad de Salud.

Departamento de Morfología.

(e-mail: mariortiz@yahoo.com)

capacidad de cumplir un papel de control en los procesos de organogénesis. El gen MSX-1 esta asociado a procesos biológicos como:

- a) Apoptosis: Marazzi y colaboradores (1997), descubrieron que la expresión conjunta de los genes MSX-1 y MSX2 precede a la activación de la apoptosis a través de la vía del BMP4. Además, el proceso de apoptosis de las células del mesénquima dental (a través de las vías MSX-2 y BMP4) requiere la expresión previa de MSX-1 (6,9). Sin embargo, el papel definitivo del gen MSX-1 en el proceso de apoptosis aún está por determinar (5).
- b) Señalización en relaciones epiteliomesénquima: Se ha demostrado que la copia del gen MSX-1 se acumula en grandes concentraciones en los sitios de contacto entre epitelio y mesénquima, lo que ha llevado a reforzar la hipótesis de la participación de MSX-1 en el control de las interacciones epiteliomesénquima. Estas interacciones son de gran importancia en el desarrollo del primordio facial, extremidades, glándulas y gérmenes dentarios (6,15).
- c) Control del Ciclo Celular: Hu y colaboradores (2001) (16) han propuesto un modelo hipotético en el cual el papel del gen MSX-1 es inhibir la diferenciación celular a través del mantenimiento de los niveles de ciclina D1 en las células progenitoras. Esta hipótesis puede ser de importancia para entender el proceso de carcinogénesis.

El gen MSX-1 durante el desarrollo Craneofacial

El gen MSX-1 es una vía de señalización común que sirve en la formación de diferentes eventos durante la organogénesis, hallado en diferentes vías de desarrollo como BMP, FGF, Shh y Endotelina (3). La expresión del gen MSX-1 (sólo o en conjunto con el gen MSX-2) es importante en el establecimiento de las relaciones epiteli-

mesénquima en todo el organismo, incluido el desarrollo del complejo craneofacial en el cual se ha identificado tanto en el cráneo y como en las meninges (8,17), en los procesos faciales (15), en los órganos de los sentidos y dientes (6, 9,18 y 19).

Durante la vida intrauterina, el desarrollo de la cara es el resultado del movimiento y proliferación de masas de mesénquima provenientes del mesodermo procordal y el ectomesénquima del primer arco faríngeo. Estos bloques de mesénquima crecen de manera diferencial alrededor del Estomodeo, en bloques compactos denominados Procesos (Mandibulares, Maxilares y Frontonasal). Tras la aparición de las placodas olfatorias, el proceso frontonasal da origen a los procesos Nasal Mediano y Nasal Lateral. Estos procesos crecen de manera diferencial y se fusionan a partir del mesénquima para permitir la formación de la cara embrionaria (ver figura 1). El control de algunos procesos de desarrollo craneofacial esta asociado a genes de la familia MSX y, en especial, al MSX-1 en los siguientes casos:

1. El desarrollo intramembranoso de los huesos del cráneo donde este gen controla el desarrollo y mantenimiento de las matrices mineralizadas y la

proliferación celular a través de FGF4 (19). Adicionalmente Alappat y colaboradores, han propuesto que la vía BMP4 - MSX-1 controla el balance de la diferenciación de células osteoprogenitoras (3).

2. La proliferación de las células ectomesenquimatosas en el primer arco faríngeo, donde a partir de estudios en pollos, Mina et al han demostrado que el gen MSX-1 es expresado en los sitios de mitosis activa (25), especialmente en la región medial del primer arco. Estos hallazgos proponen un papel promotor en el crecimiento del proceso mandibular y explican el limitado crecimiento del proceso mandibular en ratones mutantes por influencia del gen MSX-1 -/- (3).

3. La palatogénesis. El gen MSX-1 se expresa en el mesénquima anterior del paladar en desarrollo pero no esta presente en la región posterior. La importancia de este hallazgos se ilustra en el fenotipo de los ratones que tienen el gen MSX-1 -/- activo, en los cuales se presenta paladar fisurado debido a la disminución de la proliferación celular en la región palatina anterior (24).

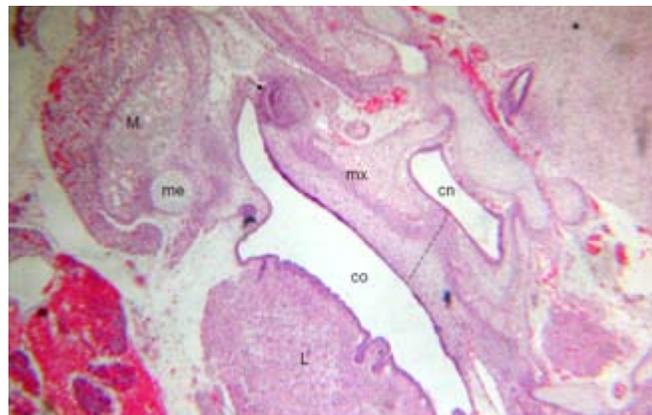


Figura 1. Desarrollo craneofacial del ratón. HE (4x). Estadio E 14.5

Se observan los diferentes componentes del primordio facial derivados del primer arco faríngeo: Proceso maxilar (mx) y proceso mandibular (M); asociados al desarrollo del sistema nervioso central (*). En el proceso mandibular perceptible descenso de la lengua (L) y la osificación de la mandíbula asociada al desarrollo del cartilago de Meckel (me). En el proceso maxilar se aprecia la separación definitiva entre cavidad nasal (cn) y cavidad oral (co), asociada a la fusión de los procesos palatinos (línea punteada). También se puede advertir el desarrollo del germen dental del molar



Figura 2. Control genético del desarrollo dental. Adaptado con información de Thesleff & Aberg (37) y Peters & Balling (38)

PAPEL DEL GEN MSX-1 DURANTE LA ODONTOGÉNESIS

El desarrollo de los gérmenes dentales está regulado por interacciones recíprocas entre el epitelio y el mesénquima (1,2,6) (Ver Figura 2). Las relaciones odontogénicas sólo ocurren en zonas específicas de la lámina dental, en las regiones de interfase epitelio-mesénquima separadas por regiones de epitelio que no sufre transformación odontogénica. Estas interacciones son generadas a partir del ectomesénquima que contiene células de origen neuroectodérmico conocidas como células de la creta neural, las cuales, durante su desarrollo y posterior migración al territorio craneal expresan activamente el gen MSX-1.

La expresión del MSX-1 en el complejo craneofacial en desarrollo comienza temprano sobre el mesénquima en los procesos maxilares y mandibulares, donde se puede observar de manera generalizada en el desarrollo del cráneo y la cara del ratón entre E9.5 y E13.5 (Ver figura 2). Posteriormente la presencia del gen en el mesénquima de los incisivos y molares de los ratones (18). Mackenzie y colaboradores (1991) presentaron evidencia y sostuvieron la formación dental y la capacidad de condensación mesenquimal observada en los estadios o etapas de brote y casquete, de la Odontogénesis, están asociadas a la presencia de genes de tipo MSX-1.

La aparición de genes de tipo MSX-1 durante la Odontogénesis en ratones fue

puesta en evidencia por Jowett y colaboradores a través de estudios de recombinación tisular e hibridación in situ. Durante la etapa E10, Jowett encontró que la aparición de genes de tipo MSX-1 era diseminada y leve en todo el mesénquima del proceso mandibular. Sin embargo, en la etapa E12.5 (estadio de yema o brote mandibular) se observan condensaciones ectomesenquimales en los sitios de futura formación de incisivos y molares, de tal manera que la aparición de genes de tipo MSX-1 coincide con la condensación mesenquimal en estado de yema.

Durante la etapa E14 de la Odontogénesis la presencia de genes tipo MSX-1 alcanza su punto máximo y comienza a disminuir gradualmente coincidiendo con la aparición del estadio de casquete. En estudios subsecuentes, Chen y colaboradores (1996) demostraron que el paso de estadio de yema a casquete está asociado a la aparición de BMP4 en el mesénquima de la papila dental por estimulación del gen MSX-1 y que la formación del nodo del esmalte (importante para la determinación de la morfología coronal) depende de la influencia del gen MSX-1 sobre el epitelio dental interno para estimular la expresión de genes tipo MSX2 (2). Sin embargo, la actividad génica del MSX-1 decae después de la etapa E14 y su aplicación ectópica en ratones mutantes para BMP4 y MSX-1, los cuales presentan marcada disminución en el desarrollo dental, que llega a detener el proceso de Odontogénesis (10). Basados en estos hallazgos, Bei y colaboradores (2000) han planteado que el proceso de Odontogénesis, después

del estadio de casquete se vuelve independiente de los genes MSX-1.

Los diferentes factores secretados por epitelio y mesénquima que controlan el proceso de odontogénesis se ilustran en la figura 3.

ANOMALÍAS ASOCIADAS A LA MUTACIÓN DE GENES MSX-1

Mutaciones de los genes MSX-1 se encuentran asociadas a dos fenotipos clínicamente identificables: anodoncia parcial y fisuras orofaciales.

Anodoncia Parcial:

La agenesia congénita de uno o más dientes permanentes, también conocida como Hipodoncia, es una anomalía morfológica

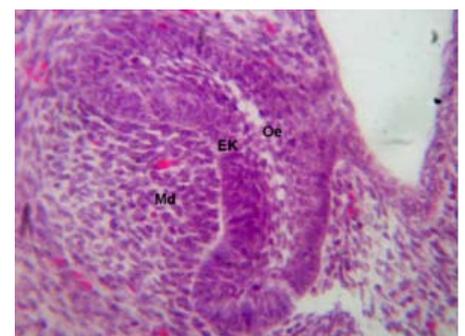


Figura 3. Desarrollo del germen dental. HE (4x) Ratón.

Estadio de casquete durante la odontogénesis E 14.5. En la microfotografía se observan: 1° El órgano del esmalte (Oe) en proliferación asociada al desarrollo del Nodo del Esmalte (EK) fundamental para el desarrollo de la morfología coronal y 2° Se observa la condensación del mesénquima dental (Md)

bien conocida en humanos pero cuya etiología es desconocida. Las familias con mutaciones de los genes MSX-1 presentan un fenotipo dental diferente al de las comunes. Mientras la frecuencia de la anodoncia común excluidos los terceros molares es de 1,6 a 10,1% y afecta principalmente a los incisivos laterales superiores y a los premolares (5), las hipodoncias asociadas a genes MSX-1 generalmente afectan a los premolares y a los primeros y terceros molares.

Sin embargo, ¿cómo entender que las mutaciones de genes MSX-1 afecten la formación dental? La respuesta puede encontrarse en el hecho de que la expresión de los genes MSX-1 durante la Odontogénesis está bien sincronizada con los estadios de brote y casquete, por lo que las mutaciones de genes tipo MSX-1 podrían afectar el desarrollo específico de algunos gérmenes dentales. Al parecer los gérmenes más afectados son los premolares y molares porque la mutación de genes MSX-1 afecta la cascada de BMP4 (26); además son los últimos dientes en desarrollarse y por lo tanto son más susceptibles a alteraciones (27).

Lidral y Reinsing (2002) en un estudio con 92 individuos caucásicos con agenesia dental encontraron la presencia de una mutación Met61Lys en el 100% de los casos. Esta mutación parece alterar la actividad de los genes MSX-1, en especial la capacidad de interactuar con Dlx5 para realizar dímeros fundamentales en el control de la Odontogénesis (22). En los diferentes grupos familiares, los dientes más frecuentemente afectados son los segundos premolares y los terceros molares, coincidiendo con los trabajos de Van den Boogaard (4) y Vastardis (35). Al parecer la mutación de los genes MSX-1 parece afectar con mayor facilidad a los últimos miembros de cada grupo dental (22, 27).

Fisuras Orofaciales

La prevalencia de las fisuras orofaciales varía entre 1:500 a 1:2500 (5). En Latinoamérica, la frecuencia de paladar fisurado no sindrómico es de 2,5 por cada 10.000

nacimientos (36). La etiología de las fisuras orofaciales es compleja, involucra factores genéticos y ambientales. Se han propuesto genes asociados al paladar fisurado no sindrómico como TGF α , DLX2, MSX-1, TGF β 3 (5), pero no existe un consenso respecto al gen principal afectado (36).

En humanos y en ratones la pérdida de la función del gen MSX-1 da como resultado el desarrollo de paladar fisurado no sindrómico (3, 4, 5, 28, 35), además de la presencia de agenesia dental. La evidencia de polimorfismos en los genes MSX-1 asociados a la aparición de fisuras palatinas no sindrómicas, han sido halladas en los estudios de Lidral (22), Van den Boogaard (4) y Vastardis (35).

CONCLUSIONES

Los hallazgos biológicos parecen brindar importancia al control ejercido por parte del conjunto de genes del tipo MSX-1 en la modulación de diferentes procesos de organogénesis, al hacer parte del conjunto de vías de desarrollo asociadas al proceso de formación craneofacial y Odontogénesis. A través de modelos animales y estudios de mutación genética, se ha establecido la participación de los genes tipo MSX-1 en los siguientes procesos:

1. Odontogénesis. En la cual participa en el control de la formación del nodo del esmalte y en el paso del estadio de yema a casquete. Su participación se hace clara cuando atención se concentra en las mutaciones que generan fenotipos de hipodoncia.
2. Palatogénesis. Especialmente en el control de la fusión de los procesos palatinos en la porción anterior.
3. Desarrollo del complejo craneofacial. En especial en la activación del crecimiento del proceso mandibular y en el mantenimiento de las suturas.

REFERENCIAS

1. Thesleff I, Vaahtokari V, Partanen AM. Regulation of organogenesis: Common

moleccular mechanisms regulating the development of teeth and other organs. *Int J Dev Biol* 1995; 39:35-50.

2. Chen YP, Bedo M, Woo I, Satokata I, Maas I. MSX-1 controls inductive signalling in mammalian tooth morphogenesis. *Development* 1996; 122:3035-3044.
3. Alappat S, Zhang ZY, Chen YP. MSX homeobox gene family and craneofacial development. *Cell Research* 2003; 13: 429-442.
4. Van den Boogaard MJ, Dorland M, Beemer FA, Polos van Amstel HK. A human MSX-1 homeodomain missense mutation causes selective tooth agenesis. *Nat Genet* 2000; 13:417-442.
5. Van den Boogaard MJ. MSX-1 and partial anodontia, orofacial clefting and the Witkop Syndrome. In: Epstein JC, Erickson RP, Wynshaw-Boris A, Editors, *Inborn Errors of Development. The Molecular Basis of Clinical Disorders of Morphogenesis*. Oxford University Press: Londres; 2004. pp. 557-567.
6. Jowett AK, Vainio S, Ferguson MWJ, Sharpe PT, Thesleff I. Epithelial-mesenchymal interactions are required for MSX-1 and MSX2 gene expression in the developing murine tooth. *Development* 1993; 117: 461-470.
7. Scott MP. Vertebrate homeobox gene nomenclature. *Cell* 1992; 71: 551-553.
8. Mackenzie A, Ferguson MW, Sharpe PT. Hox-7 expression during murine craniofacial development. *Development*. 1991; 113: 601-611.
9. Bei M, Maas RL. FGF and BMP4 induce both MSX-1 independent and MSX-1-dependent signaling pathways in early tooth development. *Development*. 1998; 125: 4325-4333.
10. Bei M, Kratochwil K, Maas RL. BMP4 rescues a non-cell-autonomous function of MSX-1 in tooth development. *Development*. 2000. 127: 4711-4718.
11. Bendall AJ, Abate-Shen C. Roles for MSX and Dlx homeoproteins in vertebrate development. *Gene*. 2000; 274: 17-31.
12. Houzelstein D, Cheraud Y, Auda-Boucher G, Fontaine-Perus J, Robert B. The expression of homeobox gene MSX-1 reveals two populations of dermal progenitor cells

- from somites. *Development*. 2000; 127: 2155-2164.
13. Chan-Thomas Ps, Thompson RP, Robert B, Yacoub MH, Barton PJ. Expression of homeobox genes MSX-1 and MSX-2 during cardiac development in chick. *Dev Dyn* 1993; 203-216.
 14. Marazzi G, Wang Y, Sassoon D. MSX2 is a transcriptional regulator in the BMP4 mediated programmed cell death pathway. *Dev Biol* 1997; 186:127-138.
 15. Robert B, Sassoon D, Jacq B, Gehring W, Buckingham H. Hox-7 a mouse homeobox gene with a novel pattern of expression during embryogenesis. *EMBO J* 1989; 8: 91-100.
 16. Hu G, Lee H, Price SM, Shen MM, Abate-Shen C. MSX homeobox genes inhibit differentiation through up regulation of cyclin D1. *Development* 2001; 128:2373-2384.
 17. Berdal A, Lezot F, Piboulin L, Hotton D. MSX-1 homeogene antisense mRNA in mouse dental and bone cells. *Connective Tissue Research* 2002; 43:148-152.
 18. Wedden SE. Epithelial-Mesenchymal interactions in the development of chick facial primordia and target of retinoid action. *Development* 1987; 99:341-351.
 19. Lezot F, Descroix V, Mesbah M, Hotton D, Blin C, Papagerakis et al. Cross-talk between MSX/Dlx homeobox genes and vitamin D during tooth mineralization. *Connective Tissue Research* 2002; 43: 509-514.
 20. Blin C, Lezot F, Ghouli-Mazgar et al. Endogenous MSX-1 antisense transcript: in vivo and in vitro evidences, structure and potential involvement in skeleton development in mammals. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98:7336-7341.
 21. Kim HJ, Rice DP, Kettonen PJ, Thesleff I. FGF, BMP and Shh-mediated signalling pathways in the regulation of cranial suture morphogenesis and calvarian bone development. *Development* 1998; 125: 1241-1251.
 22. Lidral AC, Reising BC. The Role of MSX-1 in Human Tooth Agenesis. *J Dent Res* 2002; 81(4):274-278
 23. Barlow AJ, Francis West PH. Ectopic application of recombinant BMP-2 and BMP4 can change patterning of developing chick facial primordia. *Development* 1997; 124:391-398.
 24. Mina, M and Kollar EJ. The induction of odontogenesis in non dental mesenchyme combined with early murine mandibular arch epithelium. *Arch Oral Biol* 1987; 32: 123-127.
 25. Cohen MM Jr. Craniofacial disorder caused by mutations in homeobox genes MSX-1 and MSX2. *J Craniofac Genet Dev Biol* 2000; 20: 19-25.
 26. Tucker AS, Matthews KL, Sharpe PT. Transformation of tooth type induced by inhibition of BMP signaling. *Science* 1998; 1136-1138.
 27. Thesleff I. Two genes for missing teeth. *Nat Genet* 1996; 134:379-380.
 28. Levi G, Mantero S, Barbieri O, Cantatore D, Paleari L, Beverdam A et al. MSX-1 and Dlx5 act independently in development of cranio facial skeleton, but converge on the regulation of Bmp signaling in palate formation. *Mechanism of Development* 2005:1-14.
 29. Jernvall J, Thesleff I. Reiterative signaling and patterning during mammalian tooth morphogenesis. *Mechanism of Development* 2000; 92:19-29.
 30. Yamashiro T, Tummers M, Thesleff I. Expression of Bone Morphogenetic Proteins and MSX Genes during Root Formation. *J Dent Res* 2003; 82:172-176.
 31. Frazier-Bowers SA, Pham KY, Le EV, Cavender AC, Kapadia H, King TM et al. niqueformohypodontia seen in Vietnamese patients: clinical and molecular analysis. *J Med Genet* 2003; 40:79-83.
 32. Maas R, Bei M. The genetic control of early tooth development. *Crit Rev Oral Biol Med* 1997; 8:4-39.
 33. Zhang Z, Song Y, Zhao X, Zhang X, Fermin C, Chen YP. Rescue of Cleft palate in MSX-1-deficient mice by transgenic Bmp4 reveals a network of BMP and Shh signaling in the regulation of mammalian palatogenesis. *Development* 2002; 129: 459-468.
 34. Mina M, Gluhak J, Upholt WB, Kollar EJ, Rogers B. Experimental analysis of MSX-1 and MSX-2 gene expression during chick mandibular morphogenesis. *Dev Dyn* 1995; 202:195-214.
 35. Vastardis H, Karimbux N, Guthua SW, Seidman JG, Seidman CE. A human MSX-1 homeodomain missense mutation causes selective tooth agenesis. *Nat Genet* 1996; 13:417-421.
 36. Viera AR, Romitti PA, Orioli IM, Castilla EE. Inheritance of Cleft Palate in South America: evidence for a major locus recessive. *Orthod Craniofac Res* 2003; 6:83-87.
 37. Thesleff I, Aberg T. Molecular regulation of tooth development. *Bone* 1999; 25(1): 123-125.
 38. Peters H, Balling R. Teeth: where and how to make them. *TIG* 1999; 15(2):59-65