

# miRNAs en el Proceso de Odontogénesis

## miRNAs in the Odontogenesis Process

Ignacio Roa<sup>\*,\*\*,\*\*\*</sup>

---

**ROA, I.** miRNAs en el proceso de odontogénesis. *Int. J. Med. Surg. Sci.*, 2(2):499-505, 2015.

**RESUMEN:** Los microARNs (miRNAs) son una clase de pequeñas moléculas de RNA no codificantes para proteínas, que regulan la expresión génica a nivel post-transcripcional mediante la unión a secuencias específicas dentro de los genes diana. Los miRNAs han sido reconocidos como factores reguladores importantes en el desarrollo organismo y expresión de ciertas enfermedades. Algunos miRNAs regulan la proliferación y diferenciación de las células y tejidos durante la odontogénesis.

**PALABRAS CLAVE:** miRNA; Regulación génica; Odontogénesis.

---

## INTRODUCCIÓN

Los microRNAs (miRNAs) son moléculas pequeñas de RNA endógeno de ~22 nucleótidos (nt), no codificantes para proteínas que actúan como moléculas reguladoras de la expresión génica (Ambros, 2004; Bartel, 2004). Estos juegan un importante papel regulador tanto en animales como en plantas, al unirse a los RNA mensajeros (mRNA) inhibiendo así su traducción a proteínas. Formando parte de una de las clases más abundantes de moléculas reguladoras génicas en organismos multicelulares, influenciando en la codificación para proteínas (Dogini *et al.*, 2014).

Los miRNA fueron inicialmente descritos en *Caenorhabditis elegans*, donde se observó la existencia de un gen (*lin-4*) que actuaba en el control del desarrollo, que no codificaba para proteínas, en cambio producía dos RNAs pequeños, uno de 22nt y otro de 61nt que podía adoptar una conformación en stem loop y que era el precursor del más corto (Lee *et al.*, 1993).

Los miRNAs tienen por función una variedad de procesos biológicos, incluyendo desarro-

llo, proliferación celular, control de crecimiento, y apoptosis (Stefani & Slack, 2008; Gao, 2010; Li & Jin, 2010; Shi *et al.*, 2010; Lang & Shi, 2012). Así como control de la proliferación y muerte celular, metabolismo de los ácidos grasos en *D. melanogaster*, formación del patrón neuronal en nematodos, modulación de la diferenciación del linaje hematopoyético en mamíferos o control del desarrollo de las hojas y las flores en plantas, entre otras (Griffiths-Jones, 2004).

## BIOGÉNESIS DE LOS miRNAs

Los miRNAs inician su procesamiento a nivel nuclear, terminando posteriormente en el citoplasma donde realizarán su función. Los genes que codifican miRNAs se encuentran localizados principalmente dentro de regiones intrónicas de genes que pueden codificar para proteínas, aunque también se pueden encontrar en regiones intergénicas o exónicas (Zeng, 2006). Aunque el 25% de miRNAs humanos identificados solo se encuentran en regiones intrónicas (Aravin *et al.*, 2003; Lai *et al.*, 2003).

\* Unidad de Morfología, Departamento de Ciencias Básicas Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca, Chile.

\*\* Programa de Doctorado en Ciencias Morfológicas, Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile.

\*\*\* Becario CONICYT, PFCHA/Doctorado Nacional/2015-21150235.

La biogénesis comienza con la transcripción por parte de la RNA polimerasa II que produce una larga molécula de RNA (~1 kb) en forma de hairpin stem-loop, conocida con el nombre de miRNA primario (pri-miRNAs) (Cai *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2004). Este posteriormente es clivado por Drosha (RNasa III), asociada a la proteína de la Región Crítica del gen 8 del Síndrome de DiGeorge (DGCR8) que actúa como cofactor, que en conjunto formarán el complejo microprocesador (Landthaler *et al.*, 2004). Drosha por su parte corta de forma asimétrica ambas cadenas en los sitios cercanos a la base de la estructura primaria en forma de stem-loop, resultando así una molécula denominada precursor de miRNA (pre-miRNA) de unos 60-70 nt (Cai *et al.*; Denli *et al.*, 2004).

Posteriormente el pre-miRNA es exportado al citoplasma de forma activa, por medio de Exportina-5 dependiente de Ran-GTP (Kim *et al.*, 2009; Okada *et al.*, 2009). Una vez en el citoplasma, los pre-miRNA son reconocidos por un complejo de procesamiento formado por Dicer (RNasa III), proteína de unión a RNA en respuesta a trans-activación (TRBP, del inglés TAR RNA-binding protein) y la proteína quinasa activadora dependiente de RNA de cadena doble inducible por interferón (PRKRA, del inglés protein kinase, interferon-inducible double stranded RNA dependent activator), generando así un dúplex de miRNA de ~22nt (Grishok *et al.*, 2001; Hutvagner *et al.*, 2001). Este dúplex

de miRNA, contiene una cadena de miRNA madura, llamada cadena guía y su cadena complementaria, la cadena pasajera (miRNA\*) (Chendrimada *et al.*, 2005). La cadena madura se incorpora al complejo ribonucleoproteico conocido como RISC (RNA-induced silencing complex), conformado por la proteína Argonauta 2, TRBP, Dicer y PRKRA (Khvorova *et al.*, 2003; Schwarz *et al.*, 2003), que en conjunto conforman la maquinaria catalítica responsable de la degradación del mRNA diana y/o de la inhibición de la traducción; que cuando actúa con miRNAs es conocido como miRISC. Por último la cadena restante, miRNA\*, es degradada a nivel citoplasmático (Khvorova *et al.*) (Fig. 1). En la Tabla I, se resumen los principales funciones de los elementos principales, involucrados en la vía canónica.

### ACCIÓN DE LOS miRNA

Dependiendo de la complementariedad completa o incompleta de la cadena de miRNA a su blanco, el complejo miRISC puede conducir al clivaje y degradación del RNAm o a la inhibición de la transcripción. En caso de la inhibición de la transcripción, el RNAm reprimido es trasladado a los cuerpos P, donde puede ser destruido o relocalizado en la maquinaria transcripcional bajo la expresión de una señal celular específica (Bartel, 2009). La complementariedad perfecta de bases entre la secuencia seed del miRNA (del segundo al octa-

Tabla I. Maquinaria implicada durante la biogénesis de miRNA.

Maquinaria	Familia	Función	Autor (es)
Drosha	Familia RNasa III	Cataliza el primer clivaje del pri-microARNs para producir el pre-microARN	Bernstein <i>et al.</i> (2001)
Dicer	Familia RNasa III	Encargada de procesar inicialmente los dsARN en pequeños fragmentos de siARNs o microARNs; así como también de cargar los ARN pequeños en RISC.	Du <i>et al.</i> (2008)
Argonauta 2	Familia Argonauta	Ejerce acción reguladora clivando al ARN diana.	Song <i>et al.</i> (2006)
Cuerpos P	Gránulos citoplasmáticos	Se asocian con Argonauta / sitios de almacenamiento de ARNm	Filipowicz <i>et al.</i> (2008)
DGCR8	—	Provee el anclaje para Drosha durante el procesamiento inicial de clivaje de los pri-microARNs	Sohn <i>et al.</i> (2007)
Exportina 5	Familia carioferinas	Proteínas encargadas de transporte nuclear, tanto de la exportación como de la importación de moléculas hacia y desde el núcleo al citoplasma	Yi <i>et al.</i> (2003)

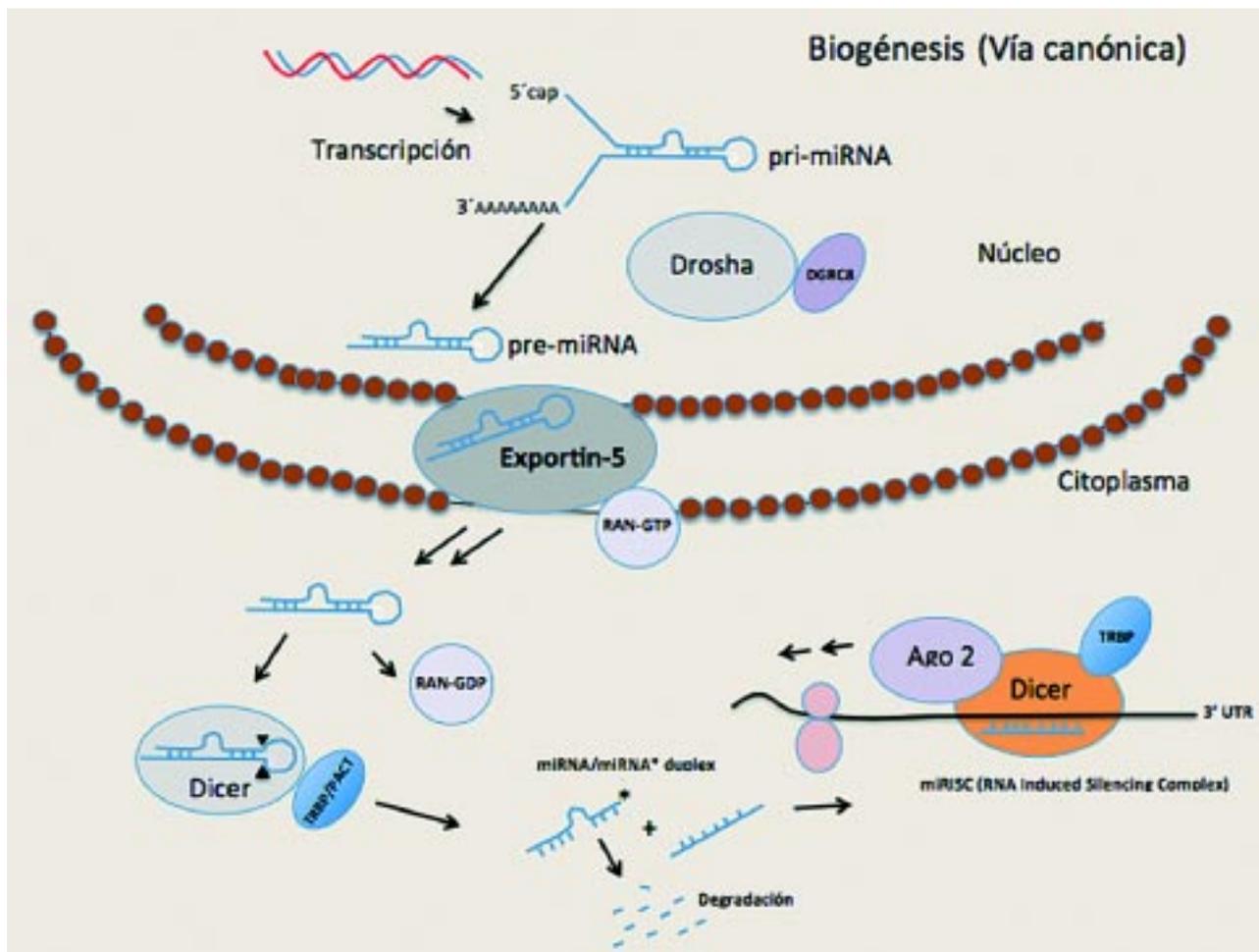


Fig. 1. Vía Canónica en la Biosíntesis de miRNA.

vo nucleótido del extremo 5' y la secuencia complementaria del extremo 3' UTR es lo que permite que los miRNAs modulen la expresión génica (Inui *et al.*, 2010). El complejo miRISC puede inhibir la expresión de los RNAm blancos por dos mecanismos: (1) remoción de la poliadenilación del extremo 3' del RNAm, fomentando la actividad de las deadenilasas, seguidas por la degradación del RNAm; y (2) bloqueando el paso de la iniciación o elongación de la traducción, inhibiendo el factor escariótico de la elongación o causando un estancamiento del ribosoma

### ROL DE LOS miRNA EN EL DESARROLLO DENTAL

La odontogénesis es un proceso complejo y coordinado que implica interacciones epitelio-mesenquimáticas, que conducirán a la generación de los tejidos dentales tales como, esmal-

te, complejo pulpodentinario y cemento (Chatterjee & Boaz, 2011); el cual se encuentra regulado por un conjunto de más de 2400 genes (Landin *et al.*, 2012).

Los miRNAs han demostrado regular una variedad de procesos biológicos, incluyendo el desarrollo, la proliferación celular y la especificación del destino, el control del crecimiento y la apoptosis (Lang & Shi). Cada vez más estudios evidencian de que los miRNA podrían influir en el desarrollo a través de la modulación de las principales vías de señales morfogénicas; representándose así como una nueva clase de reguladores de la embriogénesis y morfogénesis (Miska, 2005; Martello *et al.*, 2007; Shi & Jin, 2009; Michon, 2011).

La participación de los miRNAs en la intrincada red génica durante la formación dental

fue sugerida por Jevnaker & Osmundsen (2008); caracterizándose por ser un proceso dinámico durante la expresión en el desarrollo del germen dental. Se ha observado que algunos miRNAs exhiben altos niveles de expresión durante las primeras etapas de la odontogénesis, mientras que otros se expresan de manera abundante en etapas posteriores durante el desarrollo. Por otro lado Michon *et al.* (2010) indican; que la función de los miRNAs de regular la morfogénesis de los dientes y la diferenciación ameloblástica, está dada en gran medida por la modificación en las vías de señalización conservadas. Según Cao *et al.* (2010), el desarrollo del diente está estrechamente controlada por miRNAs, los cuales podrían ser un importante regulador durante la proliferación de células madre y la diferenciación durante el desarrollo dental, así como se ha visto en la regulación en el desarrollo de otras estructuras tales como el sistema nervioso (Sun & Shi, 2014).

Cao *et al.* y Michon *et al.*, han realizado estudios funcionales utilizando la supresión de Dicer-1 para analizar la función de miRNA durante el desarrollo dental; en los cuales se observó que la eliminación epitelial de Dicer-1, provocada por promotor K14 (K14-Cre), no indujo ningún defecto en el desarrollo dental (Michon *et al.*). En cambio la eliminación temprana epitelial mediada por Pitx-2-Cre o la eliminación mesenquimal bajo el control de Wnt1-Cre, llevó a cambios en el fenotipo dental más drás-

ticos (Cao *et al.*). La eliminación epitelial de Dicer-1 a Pitx2-Cre llevó a la formación de varios incisivos sin esmalte, ramificados y molares sin cúspides presentes. Estas observaciones indican una implicación de los miRNA en la morfogénesis de los dientes y sus distintos patrones morfológicos (Fig. 2).

Se ha observado la acción de los miRNA en otros tejidos y células durante los distintos estadios de la odontogénesis, es así como miR-27 podría estar implicado durante la diferenciación odontoblástica (Park *et al.*, 2014); miR-34a que podría estar desempeñando un papel importante en la diferenciación de células de la papila dental durante el desarrollo dental humana (Wan *et al.*, 2012); miR-140, miR-31, miR-875-5p y miR-141 los cuales se expresan principalmente durante la morfogénesis dental; mientras que miR-689, miR-720, miR-711 y miR 455 eran frecuentes en la etapa citodiferenciación (Michon *et al.*). Otros miRNA, encontrados durante la etapa secretora de esmalte en dientes en etapa de maduración; tales como miR-153 y miR-31 (Yin *et al.*, 2014). Por otra parte, se ha observado que miR-135a inhibe la transcripción tanto de Bmpr-Ia como de Bmpr-Ib, genes que se encuentran implicados en la síntesis de los receptores de BMP, las cuales se expresaron ectópicamente en los gérmenes dentales durante la etapa de casquete, indicando una relación entre miR-135a y la señalización de BMP en el desarrollo temprano de los dientes (Kim *et al.*, 2014).

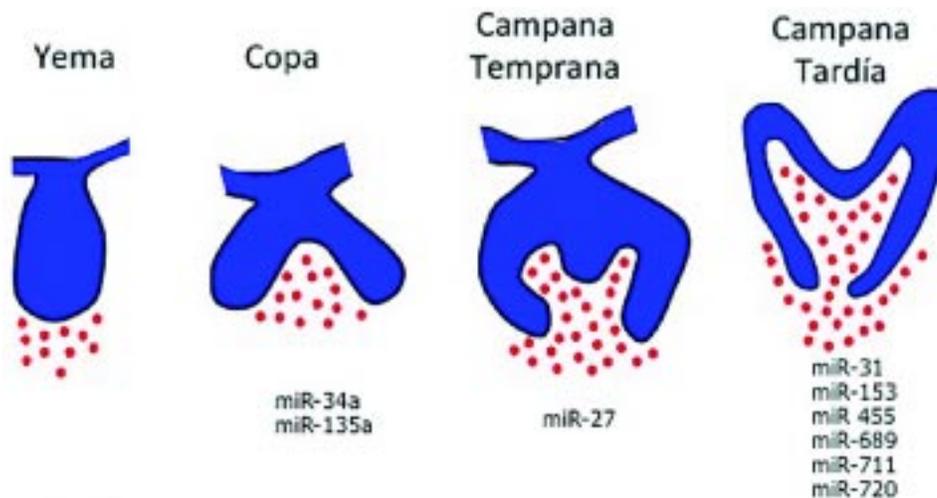


Fig. 2. Algunos miRNA involucrados en las distintas etapas de la odontogénesis.

## CONCLUSIÓN

Desde su descubrimiento los miRNA han revolucionado, cambiando la concepción tradicional de los mecanismos de regulación de la expresión génica; convirtiéndose en uno de los temas más estudiados y abordados en la actualidad. El estudio de los mecanismos de regulación mediados por miRNA e identificación de sus genes blanco en enfermedades como cáncer o diabetes mellitus, así como de algunos procesos de desarrollo tales los ocurridos en el sistema nervioso o en la odontogénesis como por mencionar sólo algunas, han arrojado resultados alentadores que aportan las bases para la aplicación de los miRNA en el diagnóstico y pronóstico de enfermedades, así como en el desarrollo de nuevas opciones terapéuticas más selectivas y con menores o nulos efectos adversos. En resumen, el estudio de los miRNA representa un área de oportunidad importante en la investigación biomédica. No obstante, y a pesar de toda la información existente, aún quedan muchos mecanismos por comprender y descifrar totalmente, pero el entender la generación de los miRNAs es el paso inicial en esta tarea.

---

**ROA, I.** miRNAs in the odontogenesis process. *Int. J. Med. Surg. Sci.*, 2(2):499-505, 2015.

**SUMMARY:** MicroRNAs (miRNAs) are a class of small RNA molecules non-coding to proteins, which regulate gene expression at post-transcriptional level by binding to specific sequences within target genes. miRNAs have been recognized as important regulatory factors in the body development and expression of certain diseases. Some miRNAs regulate the proliferation and differentiation of cells and tissues during odontogenesis.

**KEY WORDS:** miRNA; Genic regulation; Odontogenesis.

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ambros, V. The functions of animal microRNAs. *Nature*, 431(7006):350-5, 2004.

Aravin, A. A.; Lagos-Quintana, M.; Yalcin, A.; Zavolan, M.; Marks, D.; Snyder, B.; Gaasterland, T.; Meyer, J. & Tuschl, T. The small RNA profile during *Drosophila melanogaster* development. *Dev. Cell*, 5(2):337-50, 2003.

Bartel, D. P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116(2):281-97, 2004.

Bartel, D. P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, 136(2):215-33, 2009.

Bernstein, E.; Caudy, A. A.; Hammond, S. M. & Hannon, G. J. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature*, 409(6818):363-6, 2001.

Cai, X.; Hagedorn, C. H. & Cullen, B. R. Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs. *RNA*, 10(12):1957-66, 2004.

Cao, H.; Wang, J.; Li, X.; Florez, S.; Huang, Z.; Venugopalan, S.R.; Elangovan, S.; Skobe, Z.; Margolis, H. C.; Martin, J. F. & Amendt, B. A. MicroRNAs play a critical role in tooth development. *J. Dent. Res.*, 89(8):779-84, 2010.

Chatterjee, S. & Boaz, K. Molecular biology of odontogenesis. *J. Orofac. Sci.*, 3(1):57-61, 2011.

Chendrimada, T. P.; Gregory, R. I.; Kumaraswamy, E.; Norman, J.; Cooch, N.; Nishikura, K. & Shiekhattar, R. TRBP recruits the Dicer complex to Ago2 for microRNA processing and gene silencing. *Nature*, 436(7051):740-4, 2005.

Denli, A. M.; Tops, B. B. J.; Plasterk, R. H. A.; Ketting, R. F. & Hannon, G. J. Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex. *Nature*, 432(7014):231-5, 2004.

Dogini, D. B.; Pascoal, V. D.; Avansini, S. H.; Vieira, A. S.; Pereira, T. C. & Lopes-Cendes, I. The new world of RNAs. *Genet. Mol. Biol.*, 37(1 Suppl.):285-93, 2014.

- Du, Z.; Lee, J. K.; Tjhen, R.; Stroud, R. M. & James, T. L. Structural and biochemical insights into the dicing mechanism of mouse Dicer: a conserved lysine is critical for dsRNA cleavage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105(7):2391-6, 2008.
- Filipowicz, W.; Bhattacharyya, S. N. & Sonenberg, N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat. Rev. Genet.*, 9(2):102-14, 2008.
- Gao, F. B. Context-dependent functions of specific microRNAs in neuronal development. *Neural Dev.*, 5:25, 2010.
- Griffiths-Jones, S. The microRNA registry. *Nucleic Acid Res.*, 1(32):D109-11, 2004.
- Grishok, A.; Pasquinelli, A. E.; Conte, D.; Li, N.; Parrish, S.; Ha, I.; Baillie, D. L.; Fire, A.; Ruvkun, G. & Mello, C. C. Genes and mechanisms related to RNA interference regulate expression of the small temporal RNAs that control C-elegans developmental timing. *Cell*, 106(1):23-34, 2001.
- Hutvagner, G.; McLachlan, J.; Pasquinelli, A. E.; Bálint, E.; Tuschl, T. & Zamore, P. D. A cellular function for the RNA-interference enzyme Dicer in the maturation of the let-7 small temporal RNA. *Science*, 293(5531):834-8, 2001.
- Inui, M.; Martello, G. & Piccolo, S. MicroRNA control of signal transduction. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 11(4):252-63, 2010.
- Jevnaker, A. M. & Osmundsen, H. MicroRNA expression profiling of the developing murine molar tooth germ and the developing murine submandibular salivary gland. *Arch. Oral Biol.*, 53(7):629-45, 2008.
- Khvorova, A.; Reynolds, A. & Jayasena, S. D. Functional siRNAs and rniRNAs exhibit strand bias. *Cell*, 115(2):209-16, 2003.
- Kim, W.; Benhamed, M.; Servet, C.; Latrasse, D.; Zhang, W.; Delarue, M. & Zhou, D. X. Histone acetyltransferase GCN5 interferes with the miRNA pathway in Arabidopsis. *Cell Res.*, 19(7):899-909, 2009.
- Kim, E. J.; Lee, M. J.; Li, L.; Yoon, K. S.; Kim, K. S. & Jung, H. S. Failure of tooth formation mediated by mir-135a overexpression via BMP signaling. *J. Dent. Res.*, 93(6):571-5, 2014.
- Martello, G.; Zacchigna, L.; Inui, M.; Montagner, M.; Adorno, M.; Mamidi, A.; Morsut, L.; Soligo, S.; Tran, U.; Dupont, S.; Cordenonsi, M.; Wessely, O. & Piccolo, S. MicroRNA control of Nodal signalling. *Nature*, 449(7159):183-8, 2007.
- Michon, F. Tooth evolution and dental defects: from genetic regulation network to micro-RNA fine-tuning. *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.*, 91(8):763-9, 2011.
- Michon, F.; Tummers, M. & Kyyronen, M. Tooth morphogenesis and ameloblast differentiation are regulated by micro-RNAs. *Dev. Biol.*, 340(2):355-68, 2010.
- Miska, E. A. How microRNAs control cell division, differentiation and death. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 15(5):563-8, 2005.
- Lai, E. C.; Tomancak, P.; Williams, R. W. & Rubin, G. M. Computational identification of Drosophila microRNA genes. *Genome Biol.*, 4(7):R42, 2003.
- Landin, M. A.; Shabestari, M.; Babaie, E.; Reseland, J. E. & Osmundsen, H. Gene expression profiling during murine tooth development. *Front. Genet.*, 3:139, 2012.
- Landthaler, M.; Yalcin, A. & Tuschl, T. The human DiGeorge syndrome critical region gene 8 and Its D. melanogaster homolog are required for miRNA biogenesis. *Curr. Biol.*, 14(23):2162-7, 2004.
- Lang, M. F. & Shi, Y. Dynamic roles of microRNAs in neurogenesis. *Front. Neurosci.*, 6:71, 2012.
- Lee, R. C.; Feinbaum, R. L. & Ambros, V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell*, 75(5):843-54, 1993.
- Lee, Y.; Kim, M.; Han, J.; Yeom, K. H.; Lee, S.; Baek, S. H. & Kim, V. N. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO J.*, 23(20):4051-60, 2004.
- Li, X. & Jin, P. Roles of small regulatory RNAs in determining neuronal identity. *Nat. Rev. Neurosci.*, 11(5):329-38, 2010.
- Lund, E.; Guttinger, S.; Calado, A.; Dahlberg, J. E. & Kutay, U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science*, 303(5654):95-8, 2004.
- Okada, C.; Yamashita, E.; Lee, S. J.; Shibata, S.; Katahira, J.; Nakagawa, A.; Yoneda, Y. & Tsukihara, T. A high-resolution structure of the pre-microRNA nuclear export machinery. *Science*, 326(5957):1275-9, 2009.

- Park, M. G.; Kim, J. S.; Park, S. Y.; Lee, S. A.; Kim, H. J.; Kim, C. S.; Kim, J. S.; Chun, H. S.; Park, J. C. & Kim do, K. MicroRNA-27 promotes the differentiation of odontoblastic cell by targeting APC and activating Wnt/b-catenin signaling. *Gene*, 538(2):266-72, 2014.
- Schwarz, D. S.; Hutvagner, G.; Du, T.; Xu, Z.; Aronin, N. & Zamore, P. D. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex. *Cell*, 115(2):199-208, 2003.
- Stefani, G. & Slack, F. J. Small non-coding RNAs in animal development. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 9(3):219-30, 2008.
- Shi, Y. & Jin, Y. MicroRNA in cell differentiation and development. *Sci. China C Life Sci.*, 52(3):205-11, 2009.
- Shi, Y.; Zhao, X.; Hsieh, J.; Wichterle, H.; Impey, S.; Banerjee, S.; Neveu, P. & Kosik, K.S. MicroRNA regulation of neural stem cells and neurogenesis. *J. Neurosci.*, 30(45):14931-6, 2010.
- Sohn, S. Y.; Bae, W. J.; Kim, J. J.; Yeom, K. H.; Kim, V. N. & Cho, Y. Crystal structure of human DGCR8 core. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 14(9):847-53, 2007.
- Song, J. J. & Joshua-Tor, L. Argonaute and RNA--getting into the groove. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 16(1):5-11, 2006.
- Sun, E. & Shi, Y. MicroRNAs: Small molecules with big roles in neurodevelopment and diseases. *Exp. Neurol.*, 268:46-53, 2014.
- Wan, M.; Gao, B.; Sun, F.; Tang, Y.; Ye, L.; Fan, Y.; Klein, O. D.; Zhou, X. & Zheng, L. microRNA miR-34a regulates cytodifferentiation and targets multi-signaling pathways in human dental papilla cells. *PLoS One*, 7(11):e50090, 2012.
- Yi, R.; Qin, Y.; Macara, I. G. & Cullen, B. R. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev.*, 17(24):3011-6, 2003.
- Yin, K.; Hacia, J. G.; Zhong, Z. & Paine, M. L. Genome-wide analysis of miRNA and mRNA transcriptomes during amelogenesis. *BMC Genomics*, 15:998, 2014.
- Zeng, Y. Principles of micro-RNA production and maturation. *Oncogene*, 25(46):6156-62, 2006.

Dirección para Correspondencia:  
Ignacio Roa Henríquez  
Unidad de Morfología, Depto. Ciencias Básicas  
Biomédicas  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Universidad de Talca  
Av. Lircay s/n  
Talca  
CHILE

Email: iroa@utalca.cl

Recibido: 17-04-2015  
Aceptado: 21-05-2015