



ESTUDIO DE LA INDUCCIÓN DE LA REPROGRAMACIÓN CELULAR MEDIANTE LA SOBREEXPRESIÓN DE REGULADORES EPIGENÉTICOS EN CÉLULAS TRONCALES DE LA PULPA DENTAL

Ulibarri-Viniegra Valeria^{1*}, Flores-Ponce Xóchitl², Velasco-Velázquez Iván², Carrillo-Cocom Leydi M.¹, Nic-Can Geovanny I.^{3,4}

¹Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán, Periférico Norte, Kilómetro 33.5. Mérida, Yucatán, CP 97302.

²Departamento de Neurodesarrollo y Fisiología, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, CP 04510.

³Laboratorio de Células Troncales de Origen Bucal, Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Yucatán, Calle 61A x 90 y 92. Mérida, Yucatán, CP 97000.

⁴CONACYT-Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán. Periférico Norte Kilómetro 33.5. Mérida, Yucatán, CP 97302.

Correspondencia: A14001700@alumnos.uady.mx; valerialubarri@hotmail.com

Palabras clave: Células troncales de pulpa dental, Epigenética, Reprogramación celular.

INTRODUCCIÓN

Las células troncales derivadas de la pulpa dental (CTPD) son candidatas ideales para la generación de células pluripotenciales inducidas (iPSC) por su accesibilidad y características desdiferenciadas¹. No obstante, la reprogramación de las CTPD es ineficiente, principalmente por barreras epigenéticas². Por tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la sobreexpresión de moduladores epigenéticos (*KDM4A* y *TET1*) y factores transcripcionales (*OCT4* y *SOX2*) sobre la reprogramación celular de CTPD.

RESULTADOS

Aunque la sobreexpresión aumentó los niveles de genes pluripotenciales durante el inicio de reprogramación, este perfil no se sostuvo. Además, el pretratamiento de las CTPD transfectadas en hESC con moléculas inductoras formó adipocitos y los tratamientos de coexpresión en TeSR1 no alcanzaron la pluripotencia. En cambio, la transducción con Virus Sendai produjo una reprogramación rápida pero inestable, mientras que el uso de plásmidos episomales (*LIN28*, *L-MYC* y *shp53*), permitió la generación de colonias y el mantenimiento de marcadores clave.

METODOLOGÍA

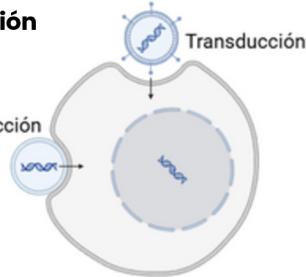
Sobreexpresión

Lipofección

OSKT: OCT4
SOX2
KDM4A
TET1

Transducción

OSKML: OCT4
SOX2
KLF4
L-MYC
LIN28
shp53

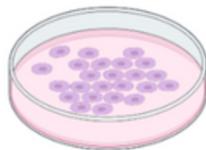


Inducción pluripotencial

Medio embriogénico

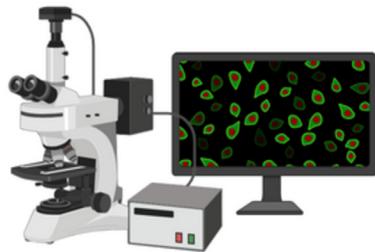


mTeSR1



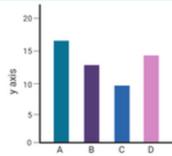
Inmunofluorescencia

OCT4
SOX2
NANOG
SSEA4



Niveles de expresión génica mediante RT-qPCR

OCT4



*Diferencias significativas con t de Student en GraphPad Prism ($p < 0.05$).

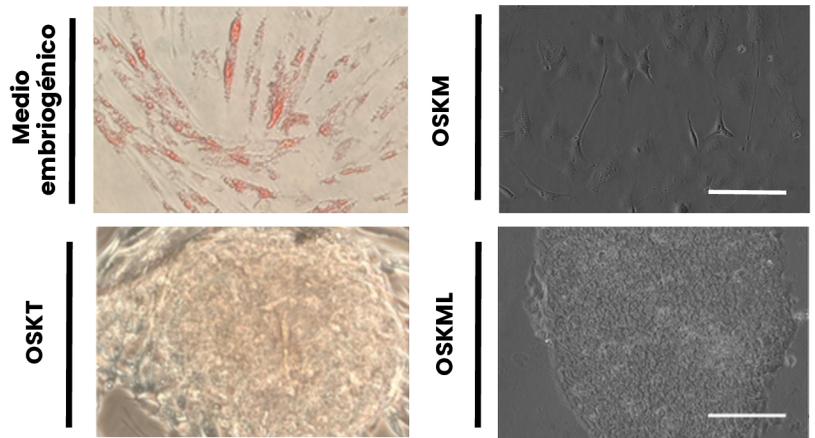


Figura 1. Evaluación morfológica del aislamiento de las CTPD transfectadas o infectadas e inducidas a pluripotencia celular.

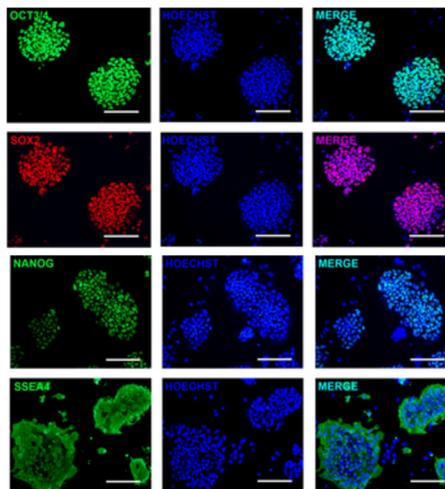
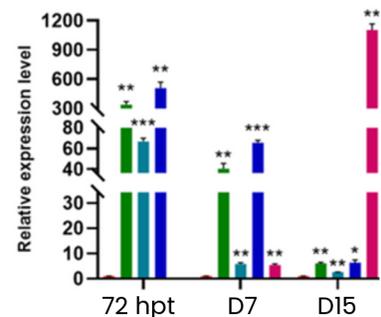


Figura 2. Análisis de inmunofluorescencia de marcadores asociados al estado pluripotencial en CTPD transfectadas con los plásmidos OSKML en fase 5. Los núcleos fueron teñidos con Hoechst (azul). La barra blanca representa una escala de 100 μ m.



■ Control ■ OE OCT4/KDM4A
■ OE OSKT ■ OE OCT4/SOX2
■ OE OCT4/TET1

Figura 3. Análisis de expresión de OCT4 en diversos puntos de inducción: 72 horas posteriores a la transfección (72 hpt), día 7 o 15 de inducción en medio TeSR1. El asterisco (*) indica el nivel de significancia del análisis estadístico: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. CTRL: Control, células sin transfectar; OE: Sobreexpresión.

DISCUSIÓN

Los hallazgos resaltan la complejidad de reprogramar CTPD, probablemente por retención de memoria epigenética que bloquea la transición mesenquimal-epitelial. Las CTPD transducidas, a pesar de presentar los marcadores, fueron inestables y revertidas. Sin embargo, la incorporación de factores determinantes como LIN28, L-MYC y la inhibición de p53 conllevó a la activación de NANOG y a la pluripotencia.

CONCLUSIÓN

La modificación del paisaje epigenético puede activar o reprimir la actividad transcripcional, modificando la decisión celular. Así, la combinación de efectores epigenéticos puede reactivar diversos programas como el adipogénico, pero la optimización de vectores de entrega y factores transcripcionales clave pueden derivar en la formación de iPSC estables en CTPD.

REFERENCIAS

1. Mercado-Rubio, et al. *Journal of Personalized Medicine* **2021**, 11 (8), 738. <https://doi.org/10.3390/jpm11080738>.
2. Soda, et al. *Scientific Reports* **2019**, 9 (1), 1-13. doi 10.1038/s41598-018-37291-2



AGRADECIMIENTOS

La presente investigación es financiada por SECITI en el marco del programa FOSEC SEP-INVESTIGACIÓN BÁSICA (proyecto No. A1-S-38758) y Cátedras-CONACYT (Proyecto No. 1882). Con el apoyo de una beca SECITI No. 4010490