



Inmunoexpresión del factor de crecimiento transformante $\beta 3$ (TGF- $\beta 3$) y del receptor III del factor de crecimiento transformante β (TGF β -RIII) en pacientes pediátricos con paladar hendido completo o incompleto no sindromático

Immunoexpression of Transforming growth factor- $\beta 3$ (TGF- $\beta 3$) and receptor III of β Transforming Growth Factor (TGF β -RIII) in pediatric patients with complete or incomplete non-syndromic cleft palate

Carolina López González,* Héctor Aquiles Maldonado Martínez,[§] Salvador García López,^{||} María del Carmen Rosas Ramírez,[¶] Fernando López Casillas,** Araceli Pérez González,^{§§} Dulce Haydeé Gutiérrez Valdez^{|||}

RESUMEN

Introducción: El factor de crecimiento transformante $\beta 3$ (TGF- $\beta 3$) y el receptor III del factor de crecimiento transformante β (TGF β -RIII), regulan las interacciones epitelio-mesenquimales. La falta de expresión de TGF- $\beta 3$ y del TGF- β RIII provoca defectos en la fusión palatina. **Objetivo:** Observar la inmunoexpresión del TGF- $\beta 3$ y del TGF- β RIII en pacientes pediátricos con paladar hendido (PH), completo o incompleto no sindrómico. **Material y métodos:** El diseño de estudio fue observacional, descriptivo, prospectivo y transversal. La muestra consistió de 20 pacientes con PH completo e incompleto, de cinco a 28 meses de edad. Se tomaron muestras del mucoperiostio de la hendidura palatina durante la palatoplastia. Para realizar la inmunohistoquímica, las muestras se procesaron en un aparato VENTANA BenchMark Ultra, con el anticuerpo TGF- $\beta 3$ y TGF β -RIII. Se valoró su expresión, mediante impresión global celular. **Resultados:** La inmunoexpresión del TGF- $\beta 3$ fue mayor en las células epiteliales que en los fibroblastos de pacientes con PH completo e incompleto; sin embargo, la inmunoexpresión del TGF β -RIII fue mayor en los fibroblastos que en células epiteliales de pacientes con paladar hendido completo. **Conclusiones:** Se concluyó que la falta de expresión del TGF β -RIII en epitelio, podría tener relación con la falta de fusión de las crestas palatinas. Sería de gran interés realizar un análisis más profundo de la expresión de TGF- $\beta 3$ y TGF β -RIII, en distintas poblaciones celulares.

Palabras clave: Paladar hendido, factor de crecimiento transformante- $\beta 3$, receptor III del factor de crecimiento transformante- β .

Key words: Cleft palate, transforming growth factor $\beta 3$, receptor III of transforming growth factor β .

ABSTRACT

Introduction: Transforming growth factor $\beta 3$ (TGF- $\beta 3$), and receptor III of transforming growth factor β (TGF β -RIII), regulate epithelial mesenchymal interactions. The lack of TGF- $\beta 3$ and TGF β -RIII expression causes defects in palatal fusion. **Objective:** To observe the immunoexpression of TGF- $\beta 3$ and TGF β -RIII in pediatric patients with non-syndromic complete or incomplete cleft palate (CP). **Material and methods:** The study design was observational, descriptive, prospective and transversal. Samples were taken from 20 complete and incomplete CP patients from five to 28 months of age. Samples of mucoperiostium were removed from the cleft in the palate during palatoplasty. In order to perform immunohistochemistry, samples were processed with VENTANA Benchmark Ultra equipment, using TGF- $\beta 3$ and TGF β -RIII antibody. Immunoexpression was evaluated by means of global cell impression. **Results:** TGF- $\beta 3$ immunoexpression was greater in epithelial cells than in fibroblasts of patients with complete and incomplete CP; however, TGF β -RIII immunoexpression was greater within the fibroblasts than in epithelial cells of patients with complete cleft palate. **Conclusions:** It was concluded that the lack of TGF β -RIII expression in the epithelium may be related to the lack of fusion of the palatal shelves. It would be of great interest to perform a more in-depth analysis of the expressions of TGF- $\beta 3$ and TGF β -RIII within different cell populations.

* Residente de la División de Ortodoncia y Estomatología del Hospital General «Dr. Manuel Gea González».

[§] Subdirector de Patología y Encargado del Departamento de Patología Molecular e Inmunohistopatología del Instituto Nacional de Cancerología.

^{||} Profesor invitado en Ortodoncia en el Hospital General «Dr. Manuel Gea González». Profesor Investigador Titular C en la Universidad Autónoma Metropolitana.

[¶] Profesor adscrito de la División de Ortodoncia y Estomatología del Hospital General «Dr. Manuel Gea González».

** Investigador Titular C, S N I 2, en el Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

^{§§} Médico adscrito a la División de Cirugía Plástica y Reconstructiva del Hospital General «Dr. Manuel Gea González».

^{|||} Profesor Titular de Metodología de Investigación, Bioestadística, Seminario de Tesis. BRIMEX Hospital ABC.

INTRODUCCIÓN

Durante la palatogénesis, la expresión del factor de crecimiento transformante $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) y el TGF- $\beta 2$ aceleran la fusión de los procesos palatinos,^{1,2} mientras que el TGF- $\beta 3$ que es sintetizado por células mesenquimales, contribuye a la dispersión del epitelio del borde medio (EBM) durante la fusión palatina,³⁻⁵ además regula las interacciones del epitelio con las células mesenquimales involucradas en la formación de paladar, piel, dientes, glándulas, entre otros órganos,⁶⁻⁹ por lo que la falla de señalamiento tanto del TGF- β como de la proteína morfogenética de hueso (BPM) conlleva a una variedad de deformidades craneofaciales incluyendo el paladar hendido.¹⁰

Por otra parte, el receptor tipo III, también llamado β -glucano, se distribuye en células mesenquimales y epiteliales, se puede unir a todas las isoformas del TGF- β ,¹¹ el cual puede ser anclado a la membrana o secretado en forma soluble,¹²⁻¹⁴ la pérdida del TGF β -RIII impide la elongación del proceso palatino y su elevación, lo que ocasiona la hendidura,¹⁵ esto se da en parte por una reducción de la expresión de los genes TGF- β y el receptor tipo I de BMP, provocando una supresión del señalamiento hacia el TGF β -RIII, que afecta el equilibrio de dicha señalización para la formación apropiada del tejido.¹⁶

En algunos estudios realizados para evaluar la palatogénesis por medio de inmunohistoquímica, en muestras murinas *in vivo* e *in vitro*, se determinó que la expresión de TGF- $\beta 3$, y TGF β -RIII,¹⁷ en el paladar ocurre cuando las crestas tenían una orientación vertical, esta inmunoexpresión fue localizada en células epiteliales.

La distribución epitelial se conservó durante la elevación de las crestas palatinas, y destrucción del epitelio medial. Posterior a la fusión palatina, se observó una baja expresión de TGF- $\beta 3$,¹⁷⁻²² por lo que algunos estudios previos mostraron inhibición de la señalización para la activación del TGF- $\beta 3$ en muestras murinas tomadas del paladar hendido.^{23,24} No obstante, ratones deficientes en la expresión de TGF- $\beta 3$ mostraron defectos en la fusión palatina, por lo que la expresión del TGF- $\beta 3$ se limitó estrictamente al epitelio de la línea palatina media en perfusión.²⁵⁻²⁹

En cuanto al receptor, en un estudio experimental de ratón, se demostró que la expresión del TGF β -RIII durante la palatogénesis ocurre a través del epitelio, y se localiza específicamente en el epitelio del borde medio durante la fusión de las crestas palatinas.³⁰⁻³² Además, debido a la falta de la expresión de éste, conlleva a una alteración en la proliferación e inducción de apoptosis celular, así como a una afección

endotelial, reducción de células mesenquimatosas, el cual afecta el desarrollo de osteoblastos.³³

El objetivo del presente estudio, fue el de determinar la inmunoexpresión del TGF- $\beta 3$ y del TGF β -RIII en una muestra de tejido de la hendidura de pacientes infantiles con paladar hendido completo o incompleto no sindrómico, tratados con palatoplastia.

Previo a la toma de la muestra, se firmó el consentimiento informado y aprobación de la toma de muestra por el Comité Ético de Investigación del Hospital General «Dr. Manuel Gea González» y de los padres o tutores de cada paciente.

MATERIAL Y MÉTODOS

Selección de la muestra

La muestra consistió en 18 pacientes que presentaron paladar hendido completo, y dos pacientes con paladar hendido incompleto; ambos no sindrómicos, de los cuales, ocho fueron del sexo femenino y 12 masculino, de cinco a 28 meses de edad, todos ellos programados para palatoplastia por primera vez.

Durante el estudio se procedió a recolectar una muestra de tejido sobrante del procedimiento quirúrgico, mismo que fue otorgado por el cirujano plástico a cargo, quien proporcionó el tejido sin implicar un riesgo adicional para la salud de los pacientes.

El tejido fue tomado de la mucosa del paladar de la hendidura de 0.3 a 0.5 cm, el cual fue fijado con formol en una solución buffer de fosfato al 10% (MEYER), las muestras fueron guardadas a 4 °C, durante ocho horas, posteriormente se colocaron en una solución de PBS.

Preparación de la inmunohistoquímica para TGF- $\beta 3$ y TGF β -RIII

Se realizaron cortes de cada muestra, de 3 μ cada uno, con su respectivo control. El anticuerpo del TGF- $\beta 3$ fue probado previamente en muestras de intestino delgado (*Figura 1*), mientras que el anticuerpo del TGF β -RIII se probó previamente en muestras de la línea celular HepG2 (*Figura 2*), y páncreas de humano.

Las muestras de tejido, se dejaron secar y desparafinar a 60 °C durante toda la noche. La inmunohistoquímica se corrió en un aparato VENTANA BenchMark Ultra.

Para el anticuerpo monoclonal primario TGF β -RIII (ab78421, abcam), se utilizó el sistema de detección UltraView (Referencia 760-500, lote E06611, caducidad 20-09-2016). Se seleccionó la opción de des-

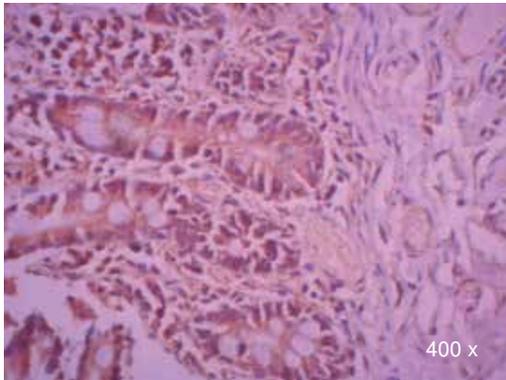


Figura 1. Control positivo para inmunohistoquímica de TGF-β3 en intestino delgado (400x).

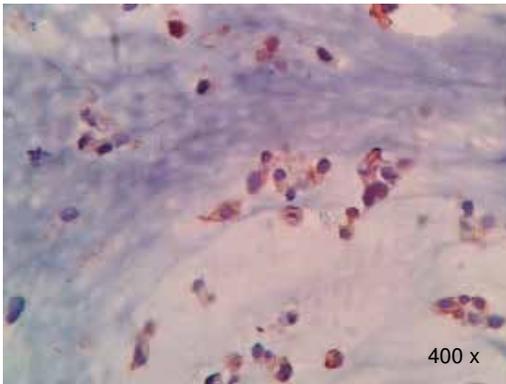


Figura 2. Control positivo para inmunohistoquímica de TGFβ-RIII en línea celular HepG2 (400x).

parafinado a 72 °C, se realizó un acondicionamiento celular (CC1) por 20 minutos, el anticuerpo primario se incubó 20 minutos a 36 °C.

Para el anticuerpo policlonal TGF-β3 (sc-82, Santa Cruz Biotechnology, Inc.), se utilizó el sistema de detección OptiView (Referencia 760-700, lote F08259, caducidad 28-10-2017). Se seleccionó la opción de desparafinado a 72 °C, con el acondicionamiento celular (CC1) por 16 minutos, el anticuerpo se incubó por 12 minutos a 36 °C.

Evaluación de la expresión del TGF-β3 y TGFβ-RIII por medio de inmunohistoquímica

Se realizó la observación de los tejidos en un microscopio binocular (Axio Lab. A1). Las imágenes se tomaron con una cámara ZEISS AxioCam ERc 5s.

La observación y evaluación estuvo a cargo de un patólogo experto, quien valoró la presencia o ausencia de expresión de TGF-β3 y del TGFβ-RIII en las

muestras, mediante la impresión global de las células que resultaron teñidas en diferentes zonas del tejido de la hendidura evaluado.

Análisis estadístico

La información se analizó en el paquete estadístico SPSS, v 20.0. Se utilizó estadística descriptiva. Para las variables cualitativas, se emplearon porcentajes, y para las variables cuantitativas se emplearon medidas de tendencia central y dispersión.

Se utilizó χ^2 para las variables nominales, para comparar, expresión de TGF-β3 y TGFβ-RIII, con paladar hendido completo e incompleto.

El nivel de significancia fue establecido cuando $p < 0.05$.

RESULTADOS

En este estudio la muestra de pacientes del sexo masculino, correspondió al 60% (Figura 3), con una media de 13.00 ± 5.93 meses de edad (Cuadro I), mientras que en los pacientes del sexo femenino correspondió al 40% (Figura 3), con una media de 14.25 ± 5.44 meses de edad (Cuadro I), de los cuales resultaron el 90% de casos con paladar hendido completo y 10% con paladar hendido incompleto (Figura 4).

Los pacientes provenían del Estado de México (40%), Ciudad de México (40%), Guerrero (10%), Guanajuato (5%) y Oaxaca (5%) (Figura 5).

La medida de la hendidura palatina fue de 8 a 16 mm (Figura 6), la media para pacientes masculinos fue de 11.66 ± 1.96 mm y en pacientes femeninos de 11.37 ± 3.20 mm (Cuadro II).

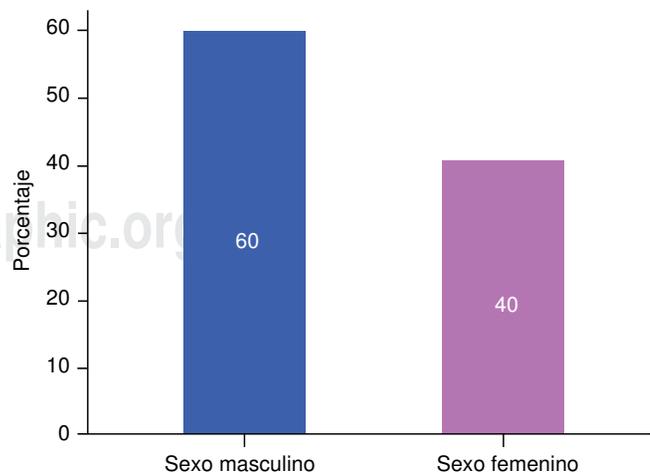


Figura 3. Porcentaje de pacientes con sexo masculino y femenino.

Cuadro I. Edad por sexo, expresada en meses.

Sexo	Media	Mediana	Moda	Desviación estándar
Masculino	13.00	12.00	12.00	5.93
Femenino	14.25	11.50	11.00	5.44

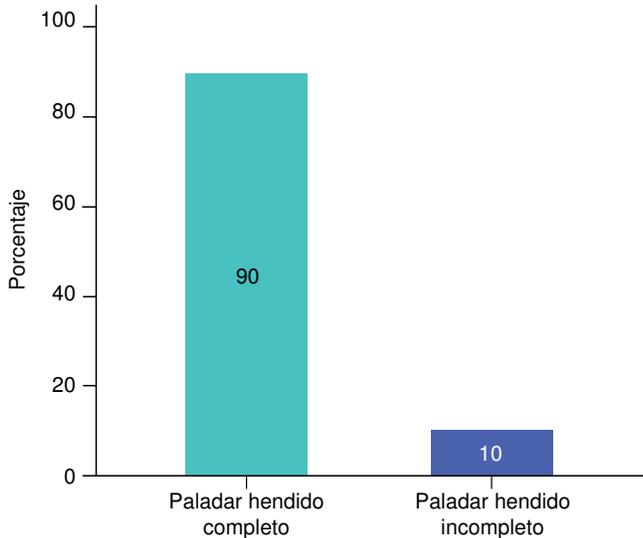


Figura 4. Porcentaje de pacientes con paladar hendido completo e incompleto.

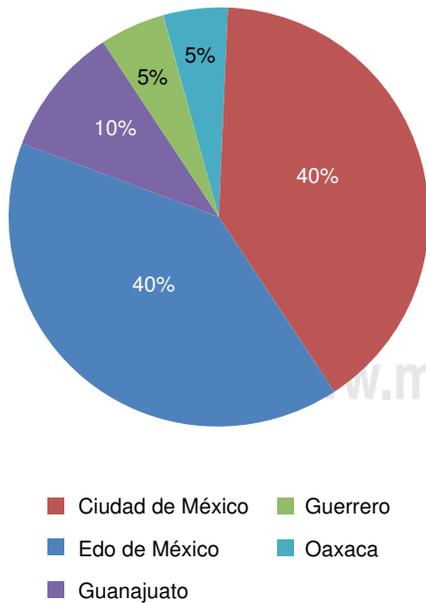


Figura 5. Porcentaje de pacientes según su lugar de residencia.

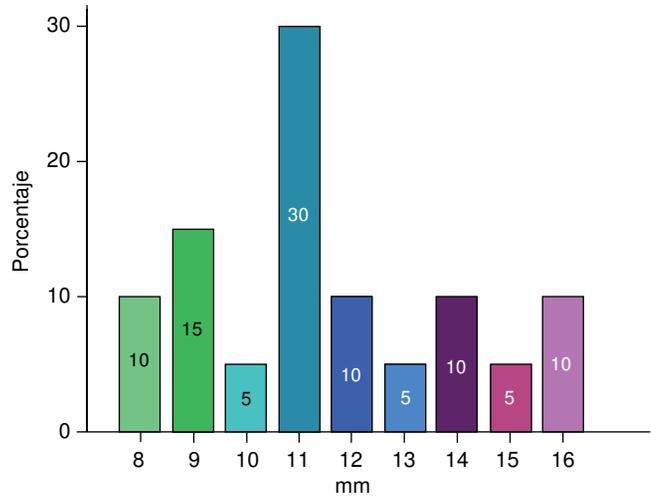


Figura 6. Tamaño de la hendidura palatina en milímetros.

Cuadro II. Medida de la hendidura palatina por sexo.

Sexo	Media	Mediana	Moda	Desviación estándar
Masculino	11.66	11.00	11.00	1.96
Femenino	11.37	11.00	8.00	3.20

Se observó mayor tamaño de la hendidura palatina en muestras de paladar hendido completo (11.83 ± 2.40), que en paladar hendido incompleto (9.00 ± 1.41).

Al comparar la frecuencia con la que se expresó TGF- β 3 y TGF- β -R111, se encontró lo siguiente:

Se observó mayor expresión positiva de TGF- β 3, en la membrana y citoplasma de células epiteliales, que en la membrana y citoplasma de fibroblastos en muestras de paladar hendido completo e incompleto (*Cuadro III y Figuras 7 y 8*).

En cuanto al TGF- β -R111, se observó mayor expresión positiva en membrana y citoplasma de fibroblastos, que en membrana y citoplasma de células epiteliales, de paladar hendido completo. En muestras de paladar hendido incompleto, se observa tinción negativa de TGF- β -R111 (*Cuadro III y Figura 9*).

Al realizar la prueba de χ^2 , se observa $p = 0.008^*$ en casos de paladar hendido completo e incompleto, con expresión en TGF- β 3, lo cual podría indicar una diferencia entre las poblaciones de estudio en cuanto al tipo de paladar hendido, por lo que sería importante aumentar el número de muestras de paladar hendido incompleto en estudios posteriores (*Cuadro III*).

Cuadro III. χ^2 . Expresión de TGF- β 3 y TGF β -RIII en células epiteliales y fibroblastos de paladar hendido completo e incompleto. Se observó mayor expresión positiva de TGF- β 3, en epitelio, y mayor expresión positiva de TGF β -RIII en fibroblastos.

Anticuerpo	Localización	Inmunoexpresión paladar hendido completo			Inmunoexpresión paladar hendido incompleto			p
		Positiva(%)	Negativa(%)	NV(%)	Positiva(%)	Negativa(%)	NV(%)	
TGF- β 3	Epitelio	88.9	0	11.1	50	50	0	0.008*
	Fibroblastos	72.2	16.7	11.1	0	50	50	0.119
TGF β -RIII	Epitelio	44.4	33.3	22.2	0	50	50	0.452
	Fibroblastos	72.2	16.7	11.1	0	50	50	0.119

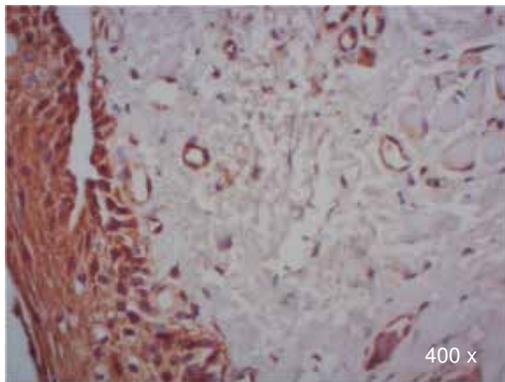


Figura 7. Inmunoexpresión positiva de TGF- β 3 en células epiteliales de un paciente con paladar hendido completo (400x).

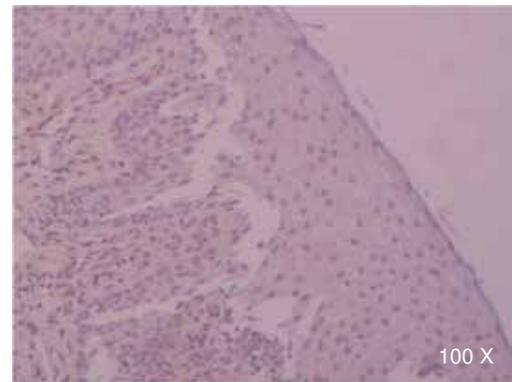


Figura 9. Inmunoexpresión ausente de TGF β -RIII en células epiteliales de un paciente con paladar hendido completo (100x).

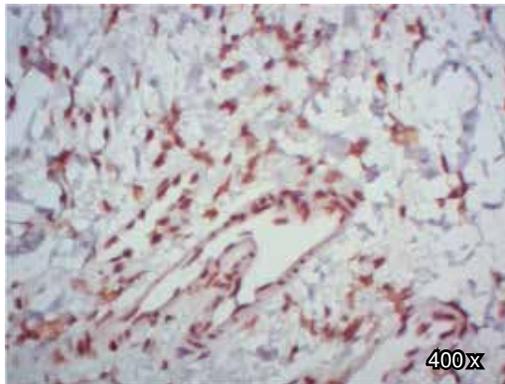


Figura 8. Inmunoexpresión positiva de TGF β -RIII, en fibroblastos de un paciente con paladar hendido completo (400x).

DISCUSIÓN

Este estudio determinó la inmunoexpresión del TGF- β 3 y del TGF β -RIII en una muestra de tejido de la hendidura completa e incompleta de pacientes masculinos y femeninos que fueron sometidos a pa-

latoplastia en el Hospital General «Dr. Manuel Gea González». Dicha expresión fue evaluada por inmunohistoquímica en la membrana y citoplasma de células epiteliales y fibroblastos del tejido de la hendidura palatina en pacientes dentro de los primeros tres años de edad, de tal forma que este estudio representa uno de los primeros realizados en humanos, posterior al periodo embrionario. Al comparar la edad entre ambos sexos no se encontraron diferencias significativas, debido al protocolo de selección para realizar la cirugía de paladar hendido, llevado a cabo por el Departamento de Cirugía Plástica y Reconstructiva.

Por otro lado, las muestras evaluadas fueron en mayor cantidad en los pacientes con hendidura completa en comparación con hendidura incompleta, además, no hubo diferencia significativa entre el ancho de la hendidura completa con el sexo femenino y masculino, lo cual se debió a que los pacientes recibieron tratamiento de ortopedia prequirúrgica previo a la palatoplastia.

Durante la evaluación de las muestras con TGF- β 3 en paladar hendido completo, se observó expresión positiva en todas las células del epitelio, lo cual concuerda con los datos observados en muestras murinas.¹⁷⁻²²

Se detectó además del epitelio escamoso correspondiente a paladar, epitelio de tipo respiratorio, debido a la anatomía patológica resultante de la falta de fusión de las crestas palatinas, la cual permite la unión entre cavidad oral y nasal.³⁴

Se observa que el epitelio escamoso y respiratorio fue positivo en la mayoría de los casos con paladar hendido completo, lo cual concuerda con lo reportado anteriormente en humanos, que indica que se ha detectado expresión moderada de TGF- β 3 en células del epitelio respiratorio.³⁵

La comparación de la expresión entre casos de paladar hendido completo e incompleto, no resultó adecuada desde el punto de vista estadístico, sin embargo, al observar la expresión de TGF- β 3 en el citoplasma de epitelio de paladar hendido completo e incompleto, se observó una tendencia hacia la mayor expresión positiva de TGF- β 3 en el epitelio de paladar hendido completo.

En cambio, al evaluar la expresión de TGF β -R111 en células epiteliales de paladar hendido completo e incompleto, se observó una tendencia hacia una menor expresión positiva en epitelio, al compararla con la expresión de TGF- β 3, lo cual difiere de algunos estudios previos,³⁰⁻³² en los que mostraron que la expresión del TGF β -R111 durante la palatogénesis ocurrió en el epitelio.

Esta diferencia entre nuestros datos y lo reportado en la bibliografía, podría proponer que exista una falla de señalización en la inhibición o disminución de la expresión del TGF β -R111 en las células epiteliales.

Sin embargo, la expresión de TGF- β 3 y TGF β -R111 en fibroblastos, no tuvo diferencias.

Por otro lado, este estudio no coincide con los realizados en muestras murinas, ya que a pesar de ser ambas especies mamíferos,³⁶ en humanos se observa en la mayoría de las ocasiones inmunexpresión positiva, mientras que en muestras murinas se ha detectado ausencia de inmunexpresión tanto de TGF- β 3 como de TGF β -R111,^{16,23-24,37} lo anterior podría deberse a la diferencia entre la fisiopatología en humano y en ratón.

Además de lo anterior, la presencia de la expresión de TGF- β 3 y TGF β -R111 podría estar relacionada con la edad del paciente, por lo que la edad de estudio de los pacientes, representaría otra variación en cuanto a los resultados encontrados en ratones, será necesario evaluar la expresión de TGF- β 3 y TGF β -R111, en muestras control de pacientes sanos, de 0 a 3 años de edad.

En estudios posteriores, sería interesante explorar las diferencias entre estos tipos de paladar hendido y las células que expresan TGF- β 3 y TGF β -R111, por lo que sería necesario incrementar el número de muestras de paladar hendido incompleto.

Los resultados del presente estudio, se relacionan con lo previamente reportado para la colocación de injertos en fisuras palatinas de pacientes con LPH, ya que al utilizar plasma rico en plaquetas, al momento de formar el coágulo, pueden desprender factores de crecimiento como el derivado de plaquetas, factor de crecimiento endotelial vascular, factor de crecimiento transformador tipo β , factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento fibroblástico, entre otros, por lo que permitiría inducir la expresión del TGF β -R111 a nivel epitelial³⁸⁻⁴⁰ y así consolidar el injerto óseo, por lo que ésta es una razón más para continuar incrementando las investigaciones sobre este tema.

CONCLUSIONES

Después de realizar la inmunohistoquímica del TGF- β 3 y TGF β -R111, se concluyó que la ausencia de expresión del TGF β -R111 en epitelio de paladar hendido completo e incompleto, podría tener relación con la falta de fusión de las crestas palatinas.

Sería de gran interés continuar analizando más a fondo su expresión en más y distintas poblaciones celulares, además de fibroblastos y células epiteliales.

Agradecimientos

A todo el personal de la División de Estomatología-Ortodoncia, y de la División de Cirugía Plástica y Reconstructiva, del Hospital General «Dr. Manuel Gea González» quien facilitó la recolección de muestras. Al personal del Departamento de Patología Molecular e Inmunohistopatología, del Instituto Nacional de Cancerología, por todas sus aportaciones, disponibilidad, y enseñanzas durante el proyecto. Principalmente agradezco a las Q.F.B. Guadalupe Moncada Claudio, y Q.F.B. María de Lourdes Peña Torres, por su gran colaboración para la realización de la inmunohistoquímica. Agradezco al Instituto de Fisiología Celular, UNAM, principalmente al M. en C. Tonatiah Molina Villa por su aportación y apoyo para la realización de cultivos celulares, indispensables para la obtención de los controles.

REFERENCIAS

1. Dixon MJ, Ferguson MW. The effects of epidermal growth factor, transforming growth factors alpha and beta and platelet-derived growth factor on murine palatal shelves in organ culture. *Arch Oral Biol.* 1992; 37 (5): 395-410.
2. Gehris AL, Greene RM. Regulation of murine embryonic epithelial cell differentiation by transforming growth factors beta. *Differentiation.* 1992; 49 (3): 167-173.
3. Brunet CL, Sharpe PM, Ferguson MW. Inhibition of TGF- β 3 (but not TGF- β 1 or TGF- β 2) activity prevents normal mouse embryonic palate fusion. *Int J Dev Biol.* 1995; 39 (2): 345-355.

4. Gálvez-Gastélum FJ, Sandoval-Rodríguez AS, Armendáriz-Borunda J. El factor de crecimiento transformante beta como blanco terapéutico. *Salud Pública Méx.* 2004; 46 (4): 341-350.
5. Nonaka K. Our challenging to understand non-genetic effect in addition to genetic one on dento-craniofacial morphogenesis in spontaneous cleft lip/palate mouse model from the standing point of pediatric dentistry. *Jpn Dent Sci Rev.* 2009; 45 (1): 127-130.
6. Parada CE, Bayona F. Palatogénesis y hendiduras palatinas: implicación de TGFβ3 y BMPs. *Acta Biol Colomb.* 2004; 9 (2): 13-23.
7. Thesleff I. The genetic basis of normal and abnormal craniofacial development. *Acta Odontol Scand.* 1998; 56 (6): 321-325.
8. Jernvall J, Thesleff I. Reiterative signaling and patterning during mammalian tooth morphogenesis. *Mech Dev.* 2000; 92 (1): 19-29.
9. Fitzpatrick DR, Denhez F, Kondaiah P, Akhurst RJ. Differential expression of TGF beta isoforms in murine palatogenesis. *Development.* 1990; 109 (3): 585-595.
10. Iwata J, Hacia JG, Suzuki A, Sanchez-Lara PA, Urata M, Chai Y. Modulation of noncanonical TGF-β signaling prevents cleft palate in Tgfr2 mutant mice. *J Clin Invest.* 2012; 122 (3): 873-885.
11. López F, Vilchis M, Esparza J, Ponce M, Velasco N, Juárez P et al. *Regulation of the TGF-β superfamily by betaglycan. Transforming growth factor-β in cancer therapy.* NJ, EUA: Humana Press, Inc., Totowa; 2008.
12. Border W, Noble N. TGF-β. *Sci Am Sci Med.* 1995; 2: 68-77.
13. Bissell DM, Roulot D, George J. Transforming growth factor beta and the liver. *Hepatology.* 2001; 34 (5): 859-867.
14. de Caestecker M. The transforming growth factor-beta superfamily of receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2004; 15 (1): 1-11.
15. Nakajima A, Ito Y, Asano M, Maeno M, Iwata K, Mitsui N et al. Functional role of transforming growth factor-beta type III receptor during palatal fusion. *Dev Dyn.* 2007; 236 (3): 791-801.
16. Hill CR, Jacobs BH, Brown CB, Barnett JV, Goudy SL. Type III transforming growth factor beta receptor regulates vascular and osteoblast development during palatogenesis. *Dev Dyn.* 2015; 244 (2): 122-133.
17. Cui XM, Warburton D, Zhao J, Crowe DL, Shuler CF. Immunohistochemical localization of TGF-beta type II receptor and TGF-beta 3 during palatogenesis *in vivo* and *in vitro*. *Int J Dev Biol.* 1998; 42 (6): 817-820.
18. Brown CB, Boyer AS, Runyan RB, Barnett JV. Requirement of type III TGF-beta receptor for endocardial cell transformation in the heart. *Science.* 1999; 283 (5410): 2080-2082.
19. López-Casillas F, Wrana JL, Massagué J. Betaglycan presents ligand to the TGF beta signaling receptor. *Cell.* 1993; 73 (7): 1435-1444.
20. López-Casillas F, Cheifetz S, Doody J, Andres JL, Lane WS, Massagué J. Structure and expression of the membrane proteoglycan betaglycan, a component of the TGF-beta receptor system. *Cell.* 1991; 67 (4): 785-795.
21. Wang XF, Lin HY, Ng-Eaton E, Downward J, Lodish HF, Weinberg RA. Expression cloning and characterization of the TGF-beta type III receptor. *Cell.* 1991; 67 (4): 797-805.
22. Cui XM, Shuler CF. The TGF-β type III receptor is localized to the medial edge epithelium during palatal fusion. *Int J Dev Biol.* 2000; 44 (4): 397-402.
23. Alappat SR, Zhang Z, Suzuki K, Zhang X, Liu H, Jiang R et al. The cellular and molecular etiology of the cleft secondary palate in Fgf10 mutant mice. *Dev Biol.* 2005; 277 (1): 102-113.
24. Dudas M, Kim J, Li WY, Nagy A, Larsson J, Karlsson S et al. Epithelial and ectomesenchymal role of the type I TGF-β receptor ALK5 during facial morphogenesis and palatal fusion. *Dev Biol.* 2006; 296 (2): 298-314.
25. Taya Y, O'Kane S, Ferguson MW. Pathogenesis of cleft palate in TGF-beta3 knockout mice. *Development.* 1999; 126 (17): 3869-3879.
26. Nawshad A, LaGamba D, Hay ED. Transforming growth factor β (TGFβ) signalling in palatal growth, apoptosis and epithelial mesenchymal transformation (EMT). *Arch Oral Biol.* 2004; 49 (9): 675-689.
27. Cui XM, Shiomi N, Chen J, Saito T, Yamamoto T, Ito Y et al. Overexpression of Smad2 in Tgf-beta3-null mutant mice rescues cleft palate. *Dev Biol.* 2005; 278 (1): 193-202.
28. Martínez-Alvarez C, Tudela C, Pérez-Miguelsanz J, O'Kane S, Puerta J, Ferguson MW. Medial edge epithelial cell fate during palatal fusion. *Dev Biol.* 2000; 220 (2): 343-357.
29. Gordon KJ, Globe GC. Role of transforming growth factor-beta superfamily signaling pathways in human disease. *Biochim Biophys Acta.* 2008; 1782 (4): 197-228.
30. Cui XM, Chai Y, Chen J, Yamamoto T, Ito Y, Bringas P et al. TGF-beta3-dependent SMAD2 phosphorylation and inhibition of MEE proliferation during palatal fusion. *Dev Dyn.* 2003; 227 (3): 387-394.
31. Gato A, Martínez ML, Tudela C, Alonso I, Moro JA, Formoso MA et al. TGF-β(3)-induced chondroitin sulphate proteoglycan mediates palatal shelf adhesion. *Dev Biol.* 2002; 250 (2): 393-405.
32. Cui XM, Shuler CF. The TGF-beta type III receptor is localized to the medial edge epithelium during palatal fusion. *Int J Dev Biol.* 2000; 44 (4): 397-402.
33. Goudy S, Law A, Sanchez G, Baldwin HS, Brown C. Tbx1 is necessary for palatal elongation and elevation. *Mech Dev.* 2010; 127 (5-6): 292-300.
34. Kernahan y Stark. *Aspectos generales. Clasificación de labio y paladar hendido.* En: Rozen I. Texto de labio y paladar hendido. Conceptos básicos. México: Compu edición y Cuidado; 2000. Capítulo 1, pp. 17-35.
35. Uhlén M, Fagerberg L, Hallström BM, Lindskog C, Oksvold P, Mardinoglu A et al. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science.* 2015; 347 (6220): 1260419.
36. Levi B, Brugman S, Wong VW, Grova M, Longaker MT, Wan DC. Palatogenesis: engineering, pathways and pathologies. *Organogenesis.* 2011; 7 (4): 242-254.
37. Funato N, Nakamura M, Yanagisawa H. Molecular basis of cleft palates in mice. *World J Biol Chem.* 2015; 6 (3): 121-138.
38. López-Sánchez R, Berenguer-Fröhner B, González-Meli B, Rodríguez-Urcelay P, Marín-Molina C, de Tomás-Palacios E et al. Colgajo FMM para reconstrucción de fístulas de paladar en pacientes con fisura palatina congénita: experiencia y resultados. *Cir Plást Iberolatinoam.* 2014; 40 (3): 261-270.
39. Jiménez K, González J, Sahagún J. Cierre de fístula palatina recurrente con el uso de plasma rico en factores de crecimiento. *Rev Esp Méd Quir.* 2011; 16 (2): 119-123.
40. Jiménez K, González J. Uso de plasma rico en factores de crecimiento para disminuir la recurrencia de fístulas nasopalatinas en pacientes con antecedente de paladar hendido. *An Orl Mex.* 2011; 56 (2): 63-75.

Dirección para correspondencia:
Carolina López González
 E-mail: caroleta21@hotmail.com