

## EL GERMEN DENTARIO COMO UN MODELO BIOLÓGICO

David Lemus A. (MV; Dr. Cs. Vet. [Cum Laude])

### THE TOOTH RUDIMENT AS A BIOLOGIC MODEL

*Embryonic tooth rudiments lend themselves ideally for differentiation studies in that they arise from epithelial-mesenchymal interaction which can now be studied "in vitro". Differentiation of the tooth implies that cells with certain degree of determination can exert an influence on cells of another tissue, enabling them to express a latent phenotype. This model of morphogenetic tissue interaction has received much attention; elegant experiments almost beyond number have been reported by numerous workers. However, the mechanism of this interaction remain unknown as yet in any epidermal organ system. During the last year our interest has been centered in the study of heterologous dental tissue recombinations between quail epithelia and lizard and mammals dental papillae, in order to examine the hypothetic induction role of the papilla. Under 2-D PAGE protein patterns we have showed two protein spots with an approximate molecular weight of 49.000 daltons and isoelectric point of pH ranges between 6.0 and 7.5. Apparently these spots are unique to both patterns and would have some significance in odontogenesis.*

**Palabras claves:** germen dentario, morfogénesis, embriología. / **Key words:** tooth rudiment, morphogenesis, embryology.

Durante la diferenciación de muchos órganos se producen interacciones entre tipos celulares diferentes. Estos "diálogos" celulares frecuentemente ocurren entre un tejido epitelial y un tejido mesenquimático, constituyendo las llamadas interacciones epitelio-mesenquimáticas, las cuales representan uno de los más importantes mecanismos del desarrollo embrionario. Así se ha demostrado este tipo de interacciones en el desarrollo del riñón (Lombard y Grobstein, 1969); glándula salival (Grobstein y Zwilling, 1953); timo (Auerbach, 1960), páncreas (Golowos y Grobstein, 1962), miembros (Bell y col., 1962); pulmón (Taderara, 1967); rudimento dentario (Koch, 1967; Kollar y Baird, 1969; Slavkin y Bavetta, 1968; Lemus y col., 1980; Lemus y col., 1983; Mina y Kollar, 1987; Lemus y col., 1987 y otros).

Como resultados de estas interacciones, tipos celulares específicos o los tejidos participantes, cambian sus patrones de expresión génica siendo inducidos a experimentar un determinado proceso

de diferenciación, el cual se traduce eventualmente en la síntesis de proteínas específicas propias de un estado tisular diferenciado.

Se han realizado múltiples investigaciones tendientes a aclarar los mecanismos íntimos involucrados en estas interacciones inductivas (Grobstein, 1956; Slavkin y col., 1982; Thesleff y Hurmerinta, 1980; Thesleff y col., 1981 y otros); sin embargo, ellos aún permanecen oscuros, conociéndose los efectos pero no las causas que los producen. Se ha planteado que algún tipo de información química difusible se transfiere entre las células durante la organogénesis (Miller, 1969; Tiedeman, 1967; Yamada, 1967), señalándose que la naturaleza química de tal información sería glicoproteica (Kollar, 1983). Sin embargo, trabajos recientes al respecto destacan la importancia fundamental en los fenómenos inductivos de la matriz extracelular interpuesta entre los tejidos participantes (Ruch y col., 1984); en efecto, alteraciones de ella cambian dramáticamente el comportamiento celular, de tal manera que una molécula inductora específica, difusible, podría no ser necesaria (Kollar, 1980).

El germen dentario representa un sistema biológico complejo, en cuyo desarrollo se produce una secuencia continua de alteraciones epitelio-mesenquimáticas; es así que desde hace varias décadas este rudimento embrionario se ha constituido en un

Laboratorio de Embriología Experimental.  
Departamento de Morfología Experimental.  
Facultad de Medicina.  
Universidad de Chile.  
Casilla 70023. Correo 7. Santiago, Chile

modelo biológico muy útil en el estudio de dichas interacciones, como lo demuestra la amplia bibliografía al respecto.

Los eventos morfológicos conducentes a la diferenciación del diente son comparables en todos los embriones de vertebrados y han sido estudiados detalladamente por numerosos investigadores, empleando fundamentalmente anfibios y mamíferos, mediante técnicas de microscopía de luz y electrónica, además de una variedad de criterios histo y citoquímicos (Gaunt y Miles, 1967). Así, durante la odontogénesis se describen clásicamente varias etapas sucesivas: lámina, esbozo, copa y campana dentaria. Los mencionados eventos comienzan con una proliferación de las células del epitelio oral (aumento del índice mitótico) que constituyen la lámina o listón dentario. Ella se profundiza en el mesénquima subyacente, el que se condensa alrededor del extremo libre de la lámina constituyendo el germen o esbozo dentario, conformado por células mesenquimáticas predeterminadas provenientes de la cresta neural (Gaunt y Miles, 1967; Sellman, 1946). Más adelante, se produce un incremento en la actividad mitótica de las células más profundas de la lámina dentaria que determina que esta zona se haga cóncava, albergando en ella el tejido mesenquimático denominado papila dentaria; se ha constituido así el órgano del esmalte, que alcanzará, sucesivamente, las etapas de copa y campana dentaria (figura 1).

Después que se ha estructurado el rudimento del órgano del esmalte, se produce una activación de las células mesenquimáticas de la papila dentaria: las células se condensan bajo la superficie de la membrana basal del órgano del esmalte y experimentan una creciente diferenciación celular, originando células predontoblásticas cúbicas y, finalmente, una población de células cilíndricas que no se dividen: los odontoblastos, que producen una matriz extracelular de predentina, la cual se mineraliza transformándose en dentina. Al mismo tiempo, el órgano del esmalte se diferencia formando células especializadas denominadas ameloblastos, los que eventualmente secretarán también una matriz extracelular mineralizada llamada esmalte. Estos procesos se denominan respectivamente dentinogénesis y amelogénesis.

Una vez que se ha formado la corona del diente, se forman las raíces; luego se produce la erupción dentaria y la etapa de diente funcional.

Desde la formación de la lámina dentaria, hasta la diferenciación funcional de los odontoblastos, se encuentra interpuesta entre los tejidos interactuantes (órgano del esmalte y papila mesenquimática) una membrana basal continua constituida por colágeno tipo IV, laminina, heparán proteoglicano, fibronectina, colágeno tipo I, colágeno tipo I trimer y

colágeno tipo III; como glicosaminoglicanos asociados se ha descrito la presencia de hialuronato, heparán sulfato y condroitín 4 y 6 sulfato. Después de la iniciación de la secreción de predentina, la lámina basal progresivamente desaparece por un proceso mediano, al parecer, por proteasas derivadas del mesénquima (Slavkin y col., 1984); como resultado de esto, predentina y preameloblastos establecen contacto directo. Posteriormente, los ameloblastos postsecretorios depositan una nueva lámina basal entre ellos y la capa de esmalte (Slavkin y col., 1984; Weistock, 1972) (figura 2).

Trabajos experimentales han demostrado que las poblaciones celulares que componen el rudimento dentario (lámina dentaria y papila mesenquimática) experimentan durante la odontogénesis una serie de interacciones sucesivas y recíprocas, imprescindibles para un normal desarrollo dentario. Inicialmente, el componente mesenquimático, que ha adquirido "especificidad dentaria", induce el epitelio a formar la lámina dentaria que evoluciona hasta formar el órgano del esmalte; el epitelio interno de él induce a la papila mesenquimática a diferenciarse, de modo que los odontoblastos se hacen postmitóticos y se polarizan alcanzando su diferenciación terminal secretando predentina. Esta matriz extracelular induce a su vez al epitelio interno del órgano del esmalte transformarse a ameloblastos, los que secretarán esmalte, a la vez que la predentina se transforma en dentina.

Tejido inductor	Tejido inducido	Diferenciación
Mesénquima	Epitelio	Lámina dentaria Esbozo dentario Órgano del esmalte
Epitelio interno del órgano del esmalte	Papila dentaria	Odontoblastos secretores de predentina
Predentina Dentina	Epitelio interno, del órgano del esmalte	Ameloblastos secretores de esmalte

En estudios recientes se ha demostrado la influencia de la matriz extracelular en las interacciones que ocurren durante la morfogénesis de muchos órganos, incluyendo el diente. Así, se ha detectado durante la odontogénesis que la membrana basal experimenta modulaciones en su composición y conformación (figura 1), como resultado de la actividad específica de las células adyacentes, asumiéndose que las modificaciones mencionadas están relacionadas con las diferentes etapas de la odontogénesis (Kollar, 1983; Ruch y col., 1984).

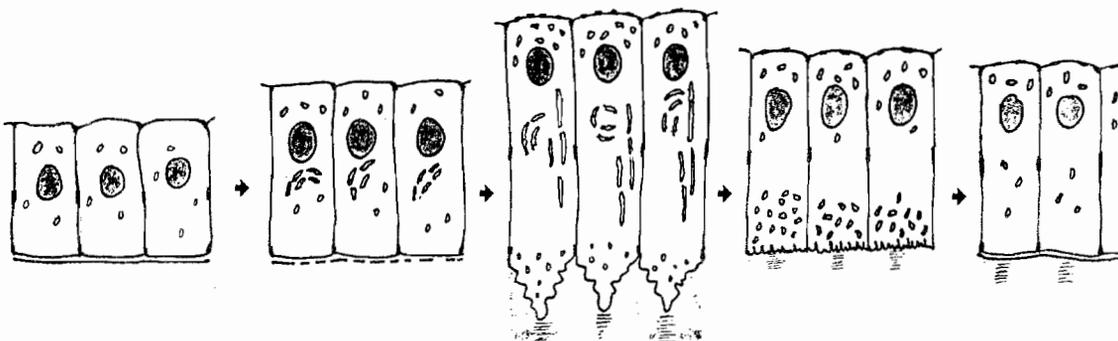
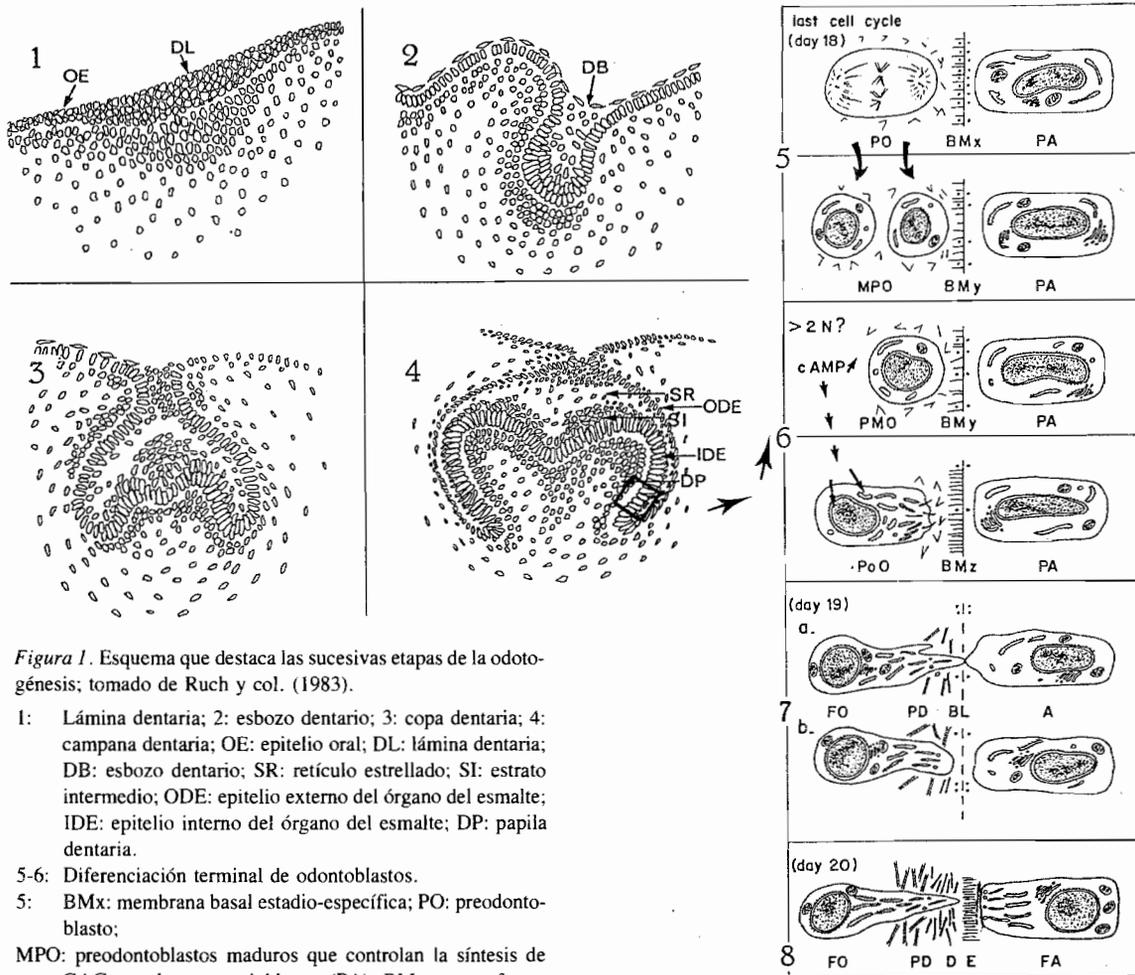


Figura 2. Esquema de la diferenciación de ameloblastos, mostrando la evolución de la lámina basal, tomado de Slavkin y col. (1984).

Inicialmente forma una línea continua que separa células

preodontoblásticas y preameloblásticas; más tarde, al producirse la secreción de pre dentina, se hace discontinua y desaparece. Los ameloblastos secretan esmalte, reconstituyéndose una nueva lámina basal entre ellos y la capa de esmalte.

Por otro lado, estas interacciones odontogénicas sucesivas no tienen todas el mismo carácter. En efecto, se ha establecido que el único componente que tiene la capacidad de iniciar la odontogénesis es la papila mesenquimática, la cual ejerce una inducción "instructiva" sobre el epitelio adyacente; más aún, tiene la capacidad de instruir el epitelio ectópico a diferenciarse a órgano del esmalte, el que secretará matriz extracelular de esmalte. Sin embargo, es imprescindible la presencia de ambos componentes para que se realice la diferenciación dentaria: ni el epitelio aislado, ni el mesénquima, pueden diferenciarse por sí solos (Slavkin, 1974; Kollar, 1980; Lemus y col., 1986). Las otras interacciones que se producen durante la odontogénesis son de tipo "permisivo", es decir, sólo están permitiendo que se realice un programa previamente establecido.

Los procesos odontogénicos mencionados pueden ocurrir sólo una vez en la vida del individuo (animales monofiodontes), dos veces en el caso de animales que poseen dentición primaria y secundaria (difiodontes: conejo, perro, gato, hombre, etc.), o pueden suceder muchas veces durante toda la vida del organismo, como ocurre en polifiodontes: (tiburón, lagartija, etc.) y en dientes de crecimiento continuo: (incisivos de conejo o ratón). Con respecto a las aves la ausencia de dientes en las formas modernas ha sido motivo de estudios experimentales que han generado hipótesis que explican parcialmente esta pérdida; Kollar y Fisher (1980), reportaron que injertos intraoculares de epitelios de pollo combinado con mesénquima de molares de ratón en etapa de copa, produjo diferenciación de estructuras dentarias con diferenciación de ameloblastos secretores de esmalte; esto los llevó a concluir que la pérdida de dientes en las aves modernas no era producto de una incompetencia del epitelio aviar para producir esmalte. Cummings y col. (1981) utilizando epitelio mandibular de ave reportó no haber obtenido ameloblastos, pero sí odontoblastos y dentina, llegando así a conclusiones contrarias a las de Kollar y Fisher.

En nuestros laboratorios hemos trabajado con gérmenes dentarios de reptiles (iguánidos), demostrando la capacidad de diferenciación "in vitro" de ellos (Lemus y col., 1980). Asimismo, hemos realizado combinaciones heterólogas o xenoplásticas de estos esbozos dentarios con células de la cresta neural de embriones de ave (codorniz), obteniendo formación de esbozos dentarios quiméricos en cuya papila mesenquimática se registraron células de codorniz. Estos resultados sugieren que durante la diferenciación "in vitro" de gérmenes dentarios de reptiles (iguánidos), se secretan sustancias (morfógenos) no especie específicos, capaces de inducir a las células de la cresta neural de codorniz a expresar características odontogénicas; estos resultados per-

miten plantear también que posiblemente la causa por la cual las aves actuales no presentan dientes se debería a algún tipo de represión génica a nivel del componente ectomesenquimático (mesénquima derivado de la cresta neural) (Lemus y col., 1983) (figura 3).

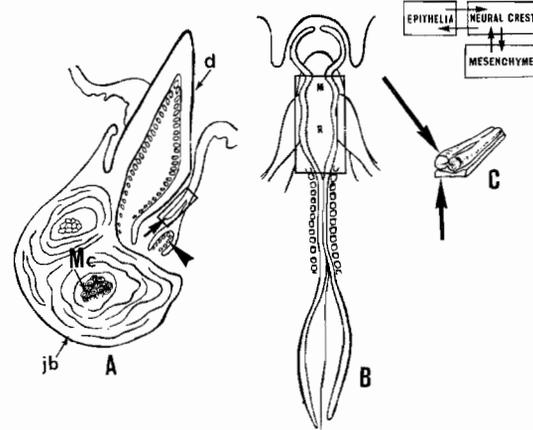


Figura 3. Dibujo esquemático del procedimiento experimental. (A) Diente proveniente de un reptil polifiodonte y sus relaciones con el diente de reemplazo. El área delimitada por un rectángulo muestra el sitio de remoción quirúrgica de los tejidos dentarios de *Liolaemus tenuis* y *Liolaemus gravenhorsti*. Con flecha se muestra un esbozo dentario y con cabeza de flecha, esbozo dentario en etapa de campana. Dentina (d), hueso de la mandíbula (jb), cartilago de Meckel (Mc). (B) Diagrama que muestra una vista dorsal de un embrión de codorniz de 33 hrs. El área del rectángulo muestra el nivel de remoción quirúrgica de la cresta neural craneana de *Coturnix coturnix japónica*. El método utilizado para la remoción de la cresta natural MR (mesencéfalo y rombencéfalo) fue el siguiente. En primer lugar, se realizó una incisión por delante del mesencéfalo (M). A continuación, una incisión similar fue hecha por caudal al rombencéfalo (R). Con bisturí de tungsteno, fue microdisecada una pieza rectangular que estaba constituida por tubo neural, cresta neural ectoderma superficial. Posteriormente, la cresta neural fue aislada. (C) Combinación heteróloga entre esbozo dentario (células preodontoblasticas y preameloblasticas) de lagartijas adultas (flecha corta) con cresta neural-embrión de codorniz (flecha larga). El inserto arriba a la derecha muestra las interacciones entre el ectomesénquima derivado de la cresta neural y el epitelio oral que lleva a la formación dentaria. Lemus y col (1983).

Estos trabajos nos han creado una serie de interrogantes con respecto a la odontogénesis. Una de las más importantes tiene que ver con el registro y eventual identificación de sustancias (morfógenos) posiblemente involucradas en el proceso odontogénico.

En estas experiencias hemos utilizado como modelo biológico, gérmenes dentarios de reptiles polifiodontes y de mamíferos. Los reptiles utilizados, conocidos vulgarmente como lagartijas, presentan la gran ventaja que sus dientes se renuevan constan-

temente, por lo cual el arco mandibular contiene todas las etapas del desarrollo dentario. Esta característica permite estudiar cualquiera de las etapas descritas en el mencionado proceso. Recientemente aislamos papilas dentarias de lagartijas adultas polifiodontes y las cultivamos en asociación con ectoderma de codorniz (embriones). Estos asociados heterólogos se mantuvieron por 8 días en un medio de cultivo *ad hoc*. Al término del período el examen histológico mostró diferenciación de dientes quiméricos con deposición de dentina y esmalte. El esmalte fue secretado en este caso por ameloblastos de origen aviario (ectoderma de codorniz) (Lemus y col., 1986) (figura 4). Estos resultados motivaron nuestro interés en el estudio de los tejidos dentarios de estas lagartijas, especialmente la papila dentaria. Decidimos explorar estos tejidos mediante técnicas de electroforesis en geles de poliacrilamida. Mediante el método bidimensional se estudió la distribución de proteínas solubles de las pulpas dentarias de lagartijas. Este patrón proteico (se determinó a partir de sobrenadantes  $10^5 \times g$ ) fue comparado con el de otras especies, especialmente mamíferos difiodontes (perro). El análisis comparado de la distribución de las proteínas solubles entre lagartijas y perros (adultos y fetos) mostró diferencias significativas. Sin embargo, un estudio detallado de estos perfiles proteicos destacó la presencia de dos polipéptidos cuyos pesos moleculares (PM) y puntos isoeléctricos (PI) eran semejantes, 49 Kd y un rango de pH 6,0 a 7,5, respectivamente. Estos polipéptidos estuvieron presentes sólo en los sobrenadantes de reptiles y de fetos de perro. Substancias con tales características y bajo las mismas condiciones experimentales no fueron registrados con los patrones proteicos de las pulpas dentarias de perro adulto. Estas precisiones nos permitieron plantear en una comunicación anterior que tales polipéptidos podrían estar relacionados de algún modo con la odontogénesis (Lemus y col., 1987).

Otro ejemplo interesante en este campo lo constituyen los dientes de crecimiento continuo (incisivos de roedores y lagomorfos entre otros). Durante el desarrollo de este tipo de diente los tejidos interactuantes (epitelio interno del órgano del esmalte y papila mesenquimática) presentan en sus células un gradiente de citodiferenciación; mediante criterios histoquímicos y autorradiográficos se pudo comprobar una gradiente de histogénesis dentro de cada uno de los tejidos comprometidos, y un grado creciente de incorporación de uridina marcada a nivel cervical, región en que las células son más indiferenciadas, en tanto que el marcaje se estabilizó en las células ya diferenciadas. Tales observaciones en gérmenes dentarios de incisivos de conejo son totalmente análogas a las realizadas en gérmenes dentarios de molares de ratón, especialmente en los

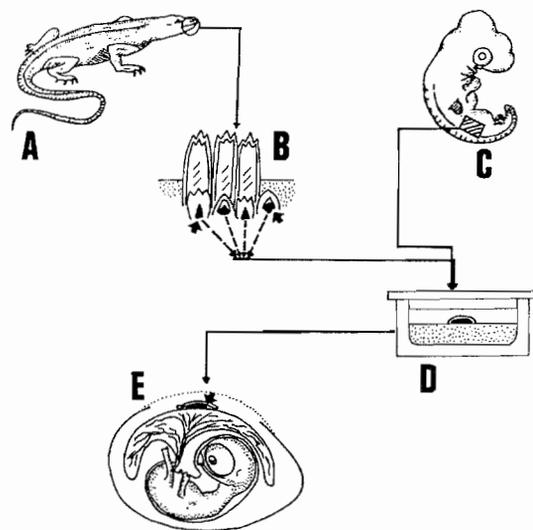


Figura 4. Dibujo esquemático del procedimiento experimental del trabajo señalado en el texto. (A) Lagartija adulta. El área delimitada por el círculo muestra el sitio de remoción de rudimentos dentarios de *Liolaemus tenuis* y *Liolaemus gravenhorsti*. (B) Dibujo que muestra dientes trituberculares. Las flechas muestran rudimentos dentarios, que son reemplazados continuamente (condición polifiodóntica). Las líneas quebradas destacan el sitio de remoción de papilas dentarias que fueron posteriormente recombinadas con ectoderma de embriones de codorniz y cultivados en explantes. (C) Diagrama que muestra una vista lateral de un embrión de codorniz de 72 horas. Con el rectángulo se señala el nivel de donde fue extraído ectoderma (flanco). (D) Reagregados heterólogos entre papilas dentarias de lagartijas adultas y ectoderma de la región del flanco de embriones de codorniz cultivados por 48 horas en medio semi-sólido más medio líquido. (E) Membrana corialantoidea después de 7 días de incubación. La flecha señala la colonia heteróloga que fue cultivada como injerto por 6 días. Lemus y col. (1986).

últimos estados de la gestación embrionaria (Slavkin, 1969; Pourtois, 1961).

Por otro lado, se ha cultivado exitosamente, sobre una membrana alantocoriónica de pollo, por más de 11 días, primordios dentarios completos obtenidos de embriones de conejo; incluso, se han seccionado por mitades, regenerándose durante el período de cultivo la mitad faltante (Glasstone, 1936) citado por Slavkin (1974). Igualmente se ha abordado el estudio de las potencialidades inductivas de sus constituyentes, realizando asociaciones heteroespecíficas entre órganos del esmalte y papilas dentarias de gérmenes dentarios de ratón y conejo en diferentes etapas de desarrollo, demostrándose la capacidad de las papilas dentarias tempranas de dirigir el patrón de desarrollo de las coronas (Osman y col., 1977).

En este mismo aspecto, se ha comprobado que regiones cervicales completas (epitelio más mesén-

quima) de estos gérmenes dentarios, aislados y cultivados en membrana alantocoriónica de pollo, son capaces de crecer y regenerar el germen dentario completo (Slavkin y Bavetta, 1968; Slavkin y col., 1968).

En relación al diente adulto, existe controversia con respecto a sus características histológicas (ubicación de la dentina, esmalte y cemento). Por otra parte, recientemente se ha demostrado la presencia, en la región apical de ellos, de receptores para factor de crecimiento epidérmico (EGF), el cual se especula podría jugar un rol en la regulación del desarrollo dentario normal, controlando indirectamente la proliferación de los tejidos dentarios (mesénquima, preodontoblastos, prameloblastos) a través de las interacciones celulares (Thesleff y col., 1987; Partanen y Thesleff, 1987).

Por su modalidad de crecer continuamente posee en su extremo apical, una zona formativa en la cual se produce intensa actividad mitótica (zona de proliferación) que genera un flujo constante de células indiferenciadas (Chiba, 1965; Ness y Barton, 1959) citados por Kallenbach 1971); persiste allí un verdadero órgano del esmalte, en contacto con células pulpares, en el cual las células se diferencian (zona de diferenciación) transformándose eventualmente en ameloblastos y odontoblastos (Chase, 1932; Marsland 1951; Pindborg y Weinmann, 1959; Saunders y col., 1942) citados por Kallenbach, 1971.

Las características mencionadas en este tipo de diente le confieren a la pulpa dentaria de su extremo formativo, un carácter embrionario particular. En un trabajo reciente estudiamos el comportamiento de estos tejidos dentarios en asociación con epitelio de embriones de codorniz. Papilas dentarias de embriones de conejo (15 días de gestación) y pulpas dentarias de dientes de conejo adulto fueron recombinadas en ectoderma de la región del flanco de embriones de codorniz (72 horas de incubación).

Los recombinados fueron cultivados por 48 horas en medio-semisólido y por 6 días en membrana alantocoriónica de pollo. Después de 8 días de cultivo se observó diferenciación de estructuras dentarias quiméricas en aquellos donde se empleó material embrionario. Mientras que los recombinados representados por pulpas dentarias de conejos adultos y epitelio de codorniz se produjo reabsorción y atrofia. Estos resultados están demostrando que alrededor de los 15 días de gestación la papila dentaria del embrión de conejo presenta potencial odontogénico. Por el contrario, bajo las mismas condiciones experimentales la pulpa de los conejos adultos carecen de esta capacidad (Fuenzalida y col., 1990) (figura 5).

Finalmente, es nuestro deseo hacer un breve resumen con respecto a este método biológico utili-

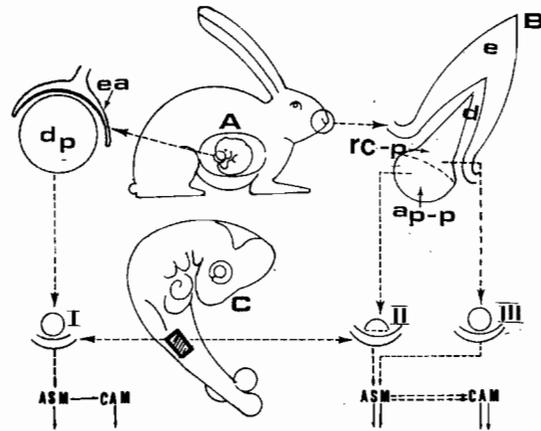


Figura 5. Dibujo esquemático que muestra el procedimiento experimental. (A) Embrión de conejo (15 días de gestación). El área encerrada por un círculo muestra el sitio de donde se extrajo la papila dentaria mediante método microquirúrgico. (B) Diagrama que muestra un incisivo de crecimiento continuo de conejo adulto. La pulpa dentaria fue dividida en pulpa radicular (rc-p) y pulpa apical (ap-p). (C) Diagrama que muestra una vista lateral de embrión de codorniz con 72 horas de incubación. El área encerrada por el rectángulo muestra el nivel de donde el ectoderma fue explantado con microbisturí de tungsteno. I, II y III corresponde a recombinados heterólogos entre tejidos dentarios de conejo y ectoderma de la región del flanco de embriones de codorniz. Los reagregados fueron cultivados por 48 horas en medio semisólido (ASM) y posteriormente cultivados en membrana corioalantoidea (CAM) durante 6 días. Fuenzalida y col. (1989).

zado en el campo de la Embriología Experimental, como también agregar otros datos con respecto a la pulpa dentaria humana: “en el proceso odontogénico, que es semejante en todos los vertebrados, incluyendo a la especie humana, ocurren interacciones inductivas sucesivas y continuas”. Está demostrado que sólo la papila dentaria puede iniciar y conducir el proceso. La naturaleza del estímulo inductivo es desconocido, sin embargo, estudios recientes al respecto sugieren que están involucradas algunas glicoproteínas. El análisis electroforético de sobrenadantes  $10^5 \times g$  (proteínas solubles) de pulpas de mamíferos incluyendo a la especie humana bajo el método unidimensional (SDS-PAGE), muestra una distribución de bandas proteicas específicas, destacándose alguna de ellas por su gran tamaño y de peso molecular (PM) entre 60 y 97 K daltons. Bajo el método bidimensional (2-D PAGE), las proteínas solubles se distribuyen en un pH entre 6,0 y 7,5. En la especie humana la mayor concentración de proteínas solubles se ubican en un “spot” de gran tamaño con un punto isoelectrico (PI) de pH entre 6,0 y 7,0. Las características mencionadas de la pulpa dentaria humana, la hacen

semejante a las pulpas dentarias de dientes permanentes de perro y a papilas dentarias de fetos de perro. Sin embargo, el método bidimensional reveló diferencias entre los tejidos humanos y el de otras especies (embriones de perro y reptiles) en relación a dos polipéptidos con PM de 49 K daltons y PI entre 6,0 y 7,5; "spots" presentes sólo en las papilas que presentan potencial odontogénico (embriones y fetos) polipéptidos de igual PM y PI fueron registrados en papilas dentarias de reptiles adultos polifiodontes (los cuales experimentan recambios continuos de dientes). Se plantea que tales polipéptidos estarían relacionados con el proceso inductivo de la odontogénesis, propiedad exclusiva de papilas dentarias provenientes de embriones de vertebrados y de formas adultas polifiodontes. Esta capacidad inductora no la presentan las pulpas de dientes permanentes en los individuos difiodontes, como es el caso del hombre y otros mamíferos.

Los resultados obtenidos demuestran que con respecto a la distribución de proteínas solubles los tejidos dentarios de vertebrados poseen algunas características bioquímicas comunes. Posiblemente en el período embrio-fetal de los vertebrados, incluyendo al hombre, las papilas dentarias presentan potencial odontogénico y tal vez este potencial se relacione con polipéptidos semejantes a los registrados por nosotros en papilas de feto de perro y en papilas de especies polifiodontes.

## REFERENCIAS

- AUERBACH, R. Morphogenetic interactions in the development of the mouse thymus gland. *Dev. Biol.* 2: 271-280, 1960.
- BELL, R.; M.T. GASSELING; J.W. SAUNDERS, JR.; E. ZWILLING. On the role of ectoderm in limb development. *Dev. Biol.* 4: 177-184, 1962.
- CUMMINGS, E.; P. BRINGAS, JR.; M.S. GRODIN; H.C. SLAVKIN. Epithelial directed mesenchyme differentiation in vitro. Model of murine odontoblast-differentiation mediated by quail epithelia. *Differentiation*, 20: 1-9, 1981.
- FUENZALIDA, M.; R. LEMUS; S. ROMERO; R. FERNÁNDEZ-VALENCIA; D. LEMUS. Behavior of dental tissues in heterospecific association (Rabbit-Quail) *J. Exper. Zool.* (In press) 1990.
- GARANT, P.R.; G. SZAB.; J. NALDANDIAN. The fine structure of the mouse odontoblast. *Arch. Oral Biol.* 13: 857-868, 1968.
- GAUNT, W.A.; A.E.W. MILES. Fundamental aspects of tooth morphogenesis. En: *Structural and chemical organization of teeth* (ed. A.E.W. Miles). Academic Press, Nueva York, 1967.
- GOLOSOW, N.; C. GROBSTEIN. Epitheliomesenchymal interaction in pancreatic morphogenesis. *Dev. Biol.* 4: 242-251, 1967.
- GROBSTEIN, C. Transfilter induction of tubules in mouse metanephrogenic mesenchyme. *Exp. Cell Res.* 10: 424-437, 1956.
- GROBSTEIN, C.; E. ZWILLING. Modification of growth and differentiation of chorioallantoic grafts of chick blastoderm pieces after cultivation at a glass clot interface. *J. Exp. Zool.* 122: 259-272, 1953.
- KALLENBACH, E. Electron microscopy of the differentiating rat incisor ameloblast. *J. Ultrastruct. Res.* 35: 500-531, 1971.
- KOLLAR, E.; G. BARID. The influence of the dental papilla on the development of tooth shape in embryonic mouse tooth germs. *J. Embryol. Exp. Morph.* 24: 131-148, 1969.
- KOLLAR, E. Tooth development and dental patterning. En: *Morphogenesis and Pattern Formation* (eds. G. Connelly, L.L. Brikley, B.M. Carlson), Raven Press, Nueva York, 1980.
- KOLLAR, E.; C. FISHER. Tooth induction in chick epithelium: Expression of quiescent genes for enamel synthesis. *Science*, 207: 993-995, 1980.
- KOLLAR, E. Epithelial-mesenchymal interactions in the mammalian integument: tooth development as a model for instructive induction. En: *Epithelial-mesenchymal interactions in development* (eds. R.H. Sawyer y J.F. Fallon), Praeger Pub., Nueva York, 1983.
- LEMUS, D.; Y. PAZ DE LA VEGA; M. FUENZALIDA; J. ILLANES. In vitro differentiation of tooth buds from embryos and adult lizards (*L. Gravenhorsti*): An ultrastructural comparison. *J. Morphol.* 165: 225-236, 1980.
- LEMUS, D.; M. FUENZALIDA; J. ILLANES; Y. PAZ DE LA VEGA. Ultrastructural aspects of dental tissues and their behavior in xenoplastic association (Lizard-Quail) *J. Morphol.* 176: 341-350, 1983.
- LEMUS, D.; L. COLOMA; M. FUENZALIDA; J. ILLANES; Y. PAZ DE LA VEGA; A. ONDARZA; M.J. BLÁNDEZ. Odontogenesis and amelogenesis in interacting lizard-quail tissue combinations. *J. Morphol.* 189: 121-131, 1986.
- LEMUS, D.; J. ILLANES; M. FUENZALIDA, Y. REPETTO; Y. PAZ DE LA VEGA. Electrophoretic characterization of soluble proteins from dental tissues (polyphyodonts and diphyodonts species). *J. Exper. Zool.* 242/1: 43-54, 1987.
- LOMBARD, M.N.; C. GROBSTEIN. Activity in various embryonic and post embryonic sources for induction of kidney tubules. *Dev. Biol.* 119: 41-54, 1969.
- MILLER, W.A. Inductive changes in early tooth development. I. A study of mouse tooth development on the chick chorioallantoic. *J. Dent. Res.* 48: 719-730, 1969.
- MINA, M.; KOLLAR, E. The induction of odontogenesis in non dental mesenchyme combined with early murine mandibular arch epithelium. *Arch. Oral Biol.* 32: 123-127, 1987.
- OSMAN, M.; V. KARCHER-DJURICIC; J.V. RUCH. Interactions morphogénés entre constituants dentaires. *Arch. Anat. Microsc. Morph. Exp.* 66: 109-118, 1977.
- PARTANEN, A.M.; I. THESLEFF. Localization and quantitation of 125 I-Epidermal Growth Factor Binding in Mouse Embryonic Tooth and other embryonic tissues at different developmental stages. *Dev. Biol.* 120: 186-197, 1987.
- POURTOIS, M. Contribution a l'étude des Bougeons dentaires chez la souris. I. Periodes d'induction et de morphodifferentiation. *Arch. Biol.* 72: 17-25, 1961.
- RUCH, J.V.; J. LESOT; V. KARCHER-DJURICIC; J.M. MEYER. Extracellular matrix-mediated interactions during odontogenesis. En: *Progress in clinical and Biological Research; Matrices and Cell Differentiation* (eds. R.B. Kemp y J.R. Hinchliffe), Alan R. Liss, Inc., Nueva York, 1984. V. 151.
- SELLMAN, S. Some experiments on the determination of the larval teeth in *Amblystoma mexicanus*. *Odont. Tidskr.* 54: 1-69, 1946.
- SLAVKIN, H.; J. BEIERLE; L.A. BAVETTA. Odontogenesis: Cell-Cell Interactions In Vitro. *Nature*, 217: 269-274, 1968.
- SLAVKIN, H.; L.A. BAVETTA. Morphogenetic Expressions During Odontogenesis: A Tool in Developmental Biology. *Clin. Orthop. & Rel. Res.* 59: 97-109, 1968.
- SLAVKIN, H.; P. BRINGAS, R.D. LE BARON; J.C. CAMERON; L.A. BAVETTA. The fine structure of the extracellular matrix during epithelio-mesenchymal interactions in the rabbit embryonic incisor. *Anat. Rec.* 165: 237-251, 1969.

- SLAVKIN, H.; E. CUMMINGS; P. BRINGAS; L. S. HONG. Epithelial derived basal lamina regulation of mesenchymal cell differentiation. En: Proc. of the Int. Society of Develop. Biol., IX Congress (eds. R. Weber y M. Burger), Alan Liss, Nueva York, 1982.
- SLAVKIN, H. Embryonic tooth formation, a tool for developmental biology. En: Oral Sciences Reviews (eds. A.H. Melcher y G.A. Zarb), Toronto, 1974.
- SLAVKIN, H.; M.L. SNEAD; M. ZEICHNER-DAVID; P. BRINGAS, JR.; G.L. GREENBERG. Amelogenin Gene Expression During Epithelial-Mesenchymal Interactions. En: The role of extracellular matrix in developmental. Alan Liss, Inc., Nueva York, 1984.
- TADERERA, J.V. Control of lung differentiation in vitro. Dev. Biol. 16: 489-501, 1987.
- THESLEFF, I.; H.J. BARRACH; J.M. FOLDART; A. VAHERI; R.M. PRATT; G.R. MARTIN. Changes in the distribution of type IV collagen, laminin, propeoglycan and fibronectin during mouse tooth development. Dev. Biol., 81: 182-193, 1980.
- THESLEFF, I.; K. HURMERINTA. Tissue interactions in tooth development. Differentiation, 18: 75-88, 1981.
- THESLEFF, I., A.M. PARTANEN, L. RIHTNIEMI. Localization of epidermal growth factor receptors in mouse incisors and human premolars during eruption. Eur. J. Orthod. 9: 24-32, 1987.
- TIEDEMANN, H. Inducers and inhibitors of embryonic differentiation, their chemical nature and mechanism of action. En: Morphological and Biochemical aspects of cytodifferentiation (eds. E. Hagen, W. Wechsler y P. Zilliken), Academic Press, Nueva York, 1967.
- WEINSTOCK, A.. Matrix development in mineralizing tissues as shown by radioautography: Formation of enamel and dentine. En: Developmental aspects of Oral Biology (eds. H. Slavkin y L.A. Bavetta). Academic Press. Nueva York, 1972.
- YAMADA, T. Factors of embryonic induction. En: Comprehensive biochemistry (eds. M. Florkin y E.H. Stotz) Elsevier Publishing. Amsterdam, 1967.