

DINÁMICA ORGANELAR Y FUNCIONAL DE LAS CÉLULAS TRONCALES*

Fátima Eréndira Benítez Ramírez

Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad Universitaria, 04510, CdMx, México. Correo E: fatimabr314@gmail.com

RESUMEN

Las células troncales son células de potencia celular variable con capacidad de autorrenovación, que participan en la formación, mantenimiento y restauración tisular durante el desarrollo embrionario y la vida adulta. El compromiso que adoptan las células troncales hacia un destino celular específico es producto de la estrecha coordinación entre los componentes de célula troncal y su nicho. A lo largo del proceso de compromiso celular, los organelos de la célula troncal se someten a cambios estructurales, funcionales y metabólicos. Esta revisión contrasta las modificaciones organelares, en el núcleo, citoesqueleto y mitocondria, que se presentan cuando la potencia celular de las células troncales embrionarias (ESCs) cambia al conservarse o diferenciarse hacia un tipo celular específico.

ABSTRACT

The stem cells are cells of variable cellular potency with self-renewal capacity, which participate in the tissue formation, maintenance and repair during embryonic development and adult life. The cellular commitment that the stem cells adopt towards a specific cellular fate is the product of the narrow line between the components of the stem cell and its niche. Throughout the process of cellular commitment, the stem cell organelles undergo structural, functional and metabolic changes. This review focuses on the organellar modifications, in the nucleus, cytoskeleton and mitochondria that occurs when the cellular potency of embryonic stem cells (ESC) changes to be conserved or differentiated towards a specific cell type.

PALABRAS

CLAVE:

Células troncales, potencialidad celular, autorrenovación, biología del desarrollo, reprogramación celular, nicho, diferenciación, medicina regenerativa.

KEY WORDS:

Stem cells, cellular potency, self-renewal, developmental biology, cellular reprogramming, niche, differentiation, regenerative medicine.

INTRODUCCIÓN

Las células troncales son células de potencial de diferenciación variable capaces de autorrenovarse. Es decir, las células troncales pueden generar células hijas idénticas a las progenitoras (autorrenovación) y también pueden producir diversos tipos de células diferenciadas (1, 2). Estas particulares características, convierten a las células troncales en los actores estelares en la formación y mantenimiento tisular durante el desarrollo embrionario y la vida adulta.

En el desarrollo embrionario se generan diversas células con distinto potencial de diferenciación. Una célula totipotente es el cigoto, un ovocito fecundado, que posee la capacidad *transitoria* de generar todos los linajes embrionarios y extraembrionarios (saco

vitelino, cordón umbilical y placenta) (3–5). Es decir, a partir de una sola célula totipotente (cigoto) se pueden generar aproximadamente 37.2 billones de células (6) clasificadas en 220 tipos celulares, para el caso de un humano adulto. Dicho número de células comienza a formarse cuando el cigoto se divide mitóticamente para dar lugar al blastocisto, una estructura embrionaria compuesta por un conjunto de células pluripotentes, denominado *masa celular interna* (ICM por sus siglas en inglés) y por el *trofoectodermo*, un tejido diferenciado con potencia altamente restringida, que origina el tejido placentario (7–9). Debido a las diferencias en potencialidad entre los componentes del blastocisto, su formación es la primera diferenciación del embrión.

Las células troncales pluripotentes son de menor potencia celular que las células totipotentes, ya que derivan únicamente tipos celulares embrionarios (3). Entre las células troncales pluripotentes, se encuentran las células troncales embrionarias (ESCs) y las células troncales de pluripotencia inducida (iPSCs). Las ESCs se generan de la ICM del blastocisto y pueden diferenciarse a los tipos celulares que derivan de las tres líneas germinales (endodermo, mesodermo o ectodermo) pero no a linajes extra embrionarios (4-6, 8). Mientras que las iPSCs se obtienen por la reprogramación celular de células adultas ya diferenciadas, comúnmente fibroblastos. La reprogramación celular se logra cuando se expresan en la célula adulta 4 genes que codifican a los factores de transcripción, Sox2, c-Myc, Klf4 y Oct4 (10,11), mediante la infección de las células adultas con vectores retrovirales que llevan insertos de los 4 genes de pluripotencia. Después de un par de semanas, las células adultas infectadas se seleccionan por su capacidad de formar colonias similares a las ESCs o por su resistencia al antibiótico neomicina. Las iPSCs son herramientas de alto potencial en medicina personalizada pues su uso elimina el rechazo inmunológico presente en los trasplantes tisulares provenientes de distintos donantes. Además, a partir de la diferenciación dirigida de las iPSCs hacia un tipo celular específico se pueden obtener distintas líneas celulares, sustituyendo así la obtención de líneas celulares a partir de cultivos primarios derivados de tejidos de modelos animales.

En la etapa tardía del desarrollo embrionario y en la vida postnatal, la renovación y reparación tisular queda al mando de las células troncales adultas (ASC). Las ASC pueden autorrenovarse y son multipotentes, es decir, con señales apropiadas las ASCs se diferencian a los tipos celulares del órgano al que pertenecen (1,12). De las ASC se derivan las células troncales unipotentes (USC) que se autorrenuevan y diferencian a solo un linaje celular, como el nombre lo indica (1,13), por ejemplo, las células troncales de la espermatogonia son células troncales germinales del epitelio seminífero de los testículos se diferencian únicamente a espermatozoides (14), (Fig. 1).

El control exquisito en los procesos de diferenciación se obtiene por el alto grado de coordinación entre el nicho celular, los factores solubles, las células vecinas, la matriz extracelular, las fuerzas mecánicas y las propiedades internas de la célula troncal (estado de compactación de la cromatina, expresión diferencial de genes, etc.) que se orquestan al unísono del tiempo, espacio e historia celular (15-19).

Conocer la dinámica organelar y funcional de las células troncales es imprescindible para su fu-

turo uso en medicina regenerativa personalizada, desarrollo de fármacos e investigación biomédica. Por esa razón, esta revisión se enfoca en los aspectos celulares que regulan y participan en la dinámica funcional de las células troncales en diferentes estados de potencialidad y durante su diferenciación.

Rol de la Arquitectura nuclear en la definición del destino celular de las ESC

Las células troncales requieren un genoma altamente plástico para mantener su potencialidad o diferenciarse. Al iniciar la diferenciación, se implementan programas de expresión diferencial de genes que comprometen el destino celular brindando a cada tipo celular un perfil transcripcional único (5).

Dentro del núcleo celular existen compartimentos subnucleares que constituyen plataformas para la organización nuclear, ésta se refiere a las posiciones adoptadas por genes individuales y por regiones específicas del genoma, en los territorios cromosomales al interior del núcleo (7, 20-21). Dichas posiciones regulan la expresión diferencial de genes durante la diferenciación, al igual que otros elementos nucleares como la composición de la lámina nuclear, la ubicación y estructura del nucléolo (22-23), las histonas y los complejos de factores transcripcionales (5, 7, 23-25).

El potencial de diferenciación de las ESCs está determinado en gran parte por la interacción entre los factores de transcripción, los efectores de las vías de señalización y los reguladores epigenéticos que en conjunto regulan el silenciamiento o activación de grupos de genes específicos que desencadenan en cambios de programas de expresión génica. Esta sofisticada plasticidad requiere de una continua remodelación en la estructura y accesibilidad de dominios específicos de la cromatina, generada por el constante intercambio entre las proteínas nucleares y el DNA, que dispone a la cromatina predominantemente en dos formas, la transcripcionalmente activa y menos condensada eucromatina y la altamente condensada y usualmente reprimida, heterocromatina. La cromatina de las ESCs contiene una menor abundancia de heterocromatina constitutiva comparado con sus contrapartes diferenciadas y además se caracteriza por la deposición estratégica de las variantes de histonas en elementos clave de regulación y por la unión dinámica de proteínas estructurales de la cromatina como HP1 (26, 27).

La dinámica de la cromatina en gametos maduros, células troncales y células somáticas se puede estudiar mediante la identificación y seguimiento

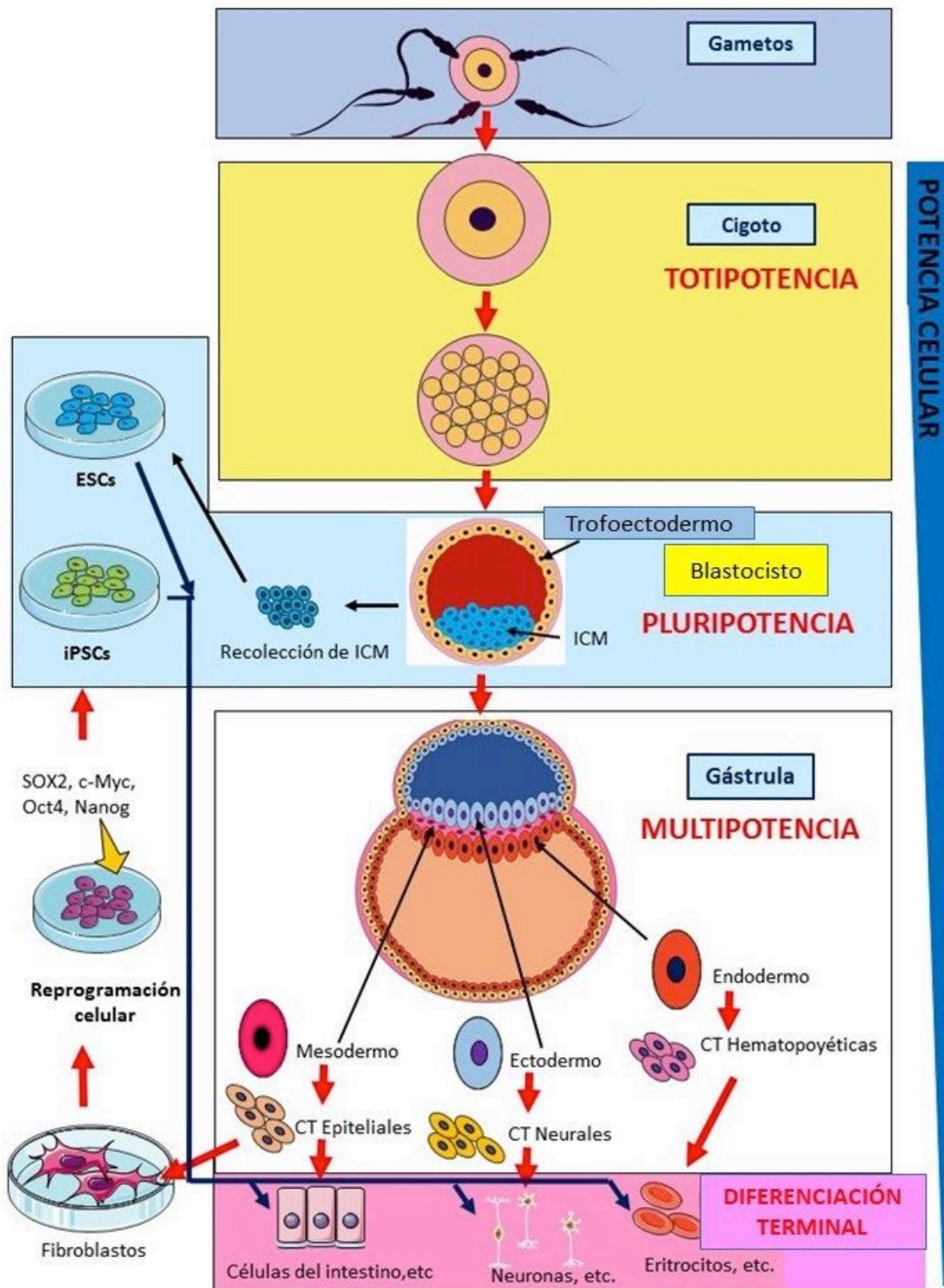
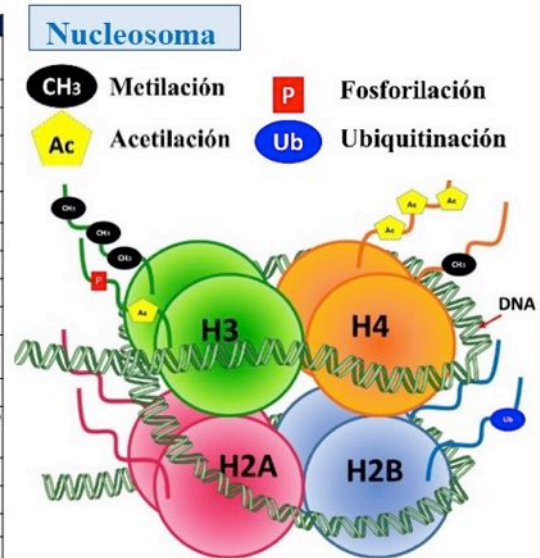


Figura 1. Células troncales. A partir del cigoto totipotente se derivan todos los tejidos embrionarios y extraembrionarios de un organismo en desarrollo. Las células troncales pluripotentes se pueden obtener la ICM del blastocisto, que al cultivarse in vitro generan las ESCs que pueden diferenciarse a los linajes de 3 capas germinales. A su vez, las células troncales multipotentes se diferencian en diversos linajes celulares derivados de una sola capa germinal. Mientras que las células troncales unipotentes pueden diferenciarse sólo a un linaje derivado de una capa germinal específica. Por otra parte, las células diferenciadas como los fibroblastos pueden reprogramarse para obtener estados pluripotentes resultando en las iPSCs.

Caja 1. Código de Histonas: Las modificaciones químicas en las histonas afectan la expresión génica a través de cambios en la estructura tridimensional de la cromatina.

El DNA eucariótico se empaqueta en nucleosomas, cada uno se compone de 8 histonas enrolladas de DNA. Las células eucariontes contienen principalmente 5 histonas: H1, H2A, H2B, H3 y H4. Las últimas 4 son las histonas centrales mientras que la H1 no es parte del nucleosoma, ya que se une al linker de DNA. El nucleosoma se forma por un tetrámero de H3-H4 y por 2 copias del dímero H2A-H2B. La región amino-terminal de las histonas se somete a modificaciones químicas, como fosforilaciones (P), metilaciones (Met), acetilaciones (Ac) y ubiquitinaciones (Ub) en algunos de sus residuos, cada modificación puede repercutir en la expresión génica, debido a que se afecta la estructura de la cromatina, a esto se le ha denominado el código de histonas (Sukesh R Bhaumik, 2007).

Histona	Residuo	Modificación	Función putativa
H3	K4	Mono-Met.	Marca de elementos regulatorios asociados con potenciadores y otros elementos distales, pero también enriquecidos río abajo del inicio de transcripción.
H3	K4	Di-Met.	Marca de elementos regulatorios asociados con potenciadores y promotores.
H3	K4	Tri-Met.	Marca de elementos regulatorios asociados con promotores
H3	K9	Mono-Met.	Preferencia por el extremo 5' de genes.
H3	K9	Di-Met.	Marca epigenética asociada con la represión transcripcional.
H3	K9	Tri-Met.	Marca de represión asociada con heterocromatina y elementos repetitivos.
H3	K9	Ac.	Activación de la Transcripción.
H3	S10	P	Activación de la Transcripción.
H3	K14	Ac.	Evita la metilación de H3-K9.
H3	K27	Tri-Met.	Marca de represión transcripcional asociada con promotores inactivos.
H3	K36	Tri-Met.	Marca que promueve la actividad de las Desacetilasas de histonas (HDACs) evitando así la transcripción.
H3	K79	Di-Met.	Marca asociada con la transcripción, con preferencia por el extremo 5' de los genes.
H4	R3	Di-Met.	Marca de activación de la transcripción que puede reclutar proteínas de unión a metilo e influir en la deposición de otras marcas postraduccionales en las proximidades.
H4	K5	Ac.	Ensamble de nucleosomas
H4	K12	Ac.	Ensamble de nucleosomas.
H4	K16	Ac.	Ensamble de nucleosomas.
H2B	K120	Ub.	Activación de la Transcripción.



de proteínas características de los distintos estados de potencia celular y diferenciación, a través de imagenología (microscopía) *in vivo* de una célula individual (28), por FRAP (*Flourescence Recovering After Photobleaching*) y DNA FISH (*Flourescence In Situ hybridization*). Utilizando esta tecnología, E. Meshorer y colaboradores (28) compararon la dinámica nuclear durante la diferenciación *in vivo* de las ESC pluripotentes y la de los precursores neurales derivados de las ESC (NPCs por sus siglas en inglés). Reportaron que las ESC presentaban un patrón de heterocromatina dispersa, mientras que, en las NPCs la cromatina se encontraba compactada y concentrada en una posición distinta a la de las células ya diferenciadas. Estos cambios fueron paralelos con un incremento de *H3-K9Met3* (marcador epigenético para la heterocromatina silenciada) en las NPCs con respecto a las ESCs, aunado a una disminución en la acetilación de las histonas H3 y H4 en las NPCs comparadas con las ESCs (Caja 1). Lo que sugiere que, las ESC preservan su pluripotencia manteniendo una fracción de cromatina libre de histonas y otra asociada a proteínas, pues el recambio libre de histonas genera un estado de activación, referido como "respiración" de la cromatina, y que la reducción en la potencia celular está directamente relacionado con un aumento

en la compactación de la cromatina, dicho de otro modo, una disminución en la "respiración" de la cromatina.

Como se mencionó anteriormente, la composición de la lámina nuclear también tiene un papel importante en la regulación de genes durante la diferenciación, las láminas (proteínas de la lámina nuclear) tipo B están presentes en la mayoría de los tipos celulares desde la primera división del cigoto hasta la adultez. Contrastadamente, las láminas tipo A solo se detectan en las células diferenciadas (29) y en la línea celular de carcinoma embrionario (30), por lo que la expresión de lámina A/C se utiliza como marcador de diferenciación en ESCs humanas y murinas (31). Esto sugiere que niveles bajos de lámina A podrían ser un prerrequisito para el estado toti/pluripotente. Sin embargo, los reportes indican que se trata de una regulación más compleja y aún desconocida, ya que la sobre expresión de lámina A en las ESCs no afecta la expresión de genes pluripotentes, ni el potencial de diferenciación o crecimiento (31).

Por otra parte, es importante considerar que la función celular no depende sólo de cambios transcripcionales, sino que también depende en gran medida de la regulación en la síntesis, plegamiento y degradación de proteínas. La traducción del RNA

mensajero (RNAm) cambia a lo largo de la diferenciación y división celular, de modo que, por lo general las células en división tienden a sintetizar más proteínas que las células que no se dividen. Una excepción a lo anterior son las ESCs, que a pesar de su alta capacidad proliferativa, mantienen bajos niveles de síntesis y acumulación proteica puesto que presentan una menor fracción de RNAm asociada con polisomas traduccionalmente activos y un aumento en la capacidad del proteosoma en comparación con células diferenciadas (32). Esto sugiere que los niveles bajos de proteínas alcanzadas por una traducción reducida y un aumento en la degradación promueven el mantenimiento de las ESCs.

Estos datos son evidencia de la naturaleza plástica de los elementos nucleares que al adquirir ciertas conformaciones estructurales regulan la expresión de genes cuyos productos proteicos se traducen y degradan diferencialmente para conservar determinado estado de potencialidad en la célula troncal o promover su diferenciación.

El Citoesqueleto se somete a una intensa remodelación durante la diferenciación

El citoesqueleto es una red intracelular compuesta por tres familias de proteínas filamentosas, los microtúbulos, filamentos de actina y filamentos intermedios. Esta red controla las funciones mecánicas y espaciales de las células, además regula las respuestas celulares dependiendo del microambiente externo, ya que convierte las fuerzas mecánicas de tensión, contracción y de corte en señales intracelulares que influyen en las respuestas fisiológicas de la célula, por ejemplo en el movimiento estructural, la contracción celular, etc. Este fenómeno, en el que un estímulo mecánico se transforma en una señal eléctrica o química que desencadena un proceso fisiológico, se denomina mecanotransducción. La diferenciación es un evento de cambios funcionales y estructurales, por lo que el citoesqueleto de las células troncales se remodela continuamente a lo largo de su transformación a una célula especializada (16, 18, 19). Liana C. Boraas y colaboradores (15) evaluaron la remodelación citoesquelética a lo largo de la diferenciación de las células troncales pluripotentes (ESCs e iPSCs), mediante inmunocitoquímica para la detección de marcadores estructurales (actina, vimetina, nesrina y Lámina A/C). Encontraron que las iPSCs y ESCs poseen una morfología pequeña y redonda, que carece de la red de citoesqueleto extensa que sí se observa en fibroblastos de ratón (MEFs) que ya son células especializadas. Interesantemente, las iPSCs reprogramadas de los mismos MEFs pre-

sentan una morfología citoesquelética intermedia entre ESCs-MEFs, es decir, en la reprogramación de MEFs a iPSCs el citoesqueleto es remodelado a un estado "menos desarrollado" en las iPSCs resultantes. (Fig 2). Adicionalmente se encontró que la aplicación de estrés de corte, una fuerza de fricción que resulta del deslizamiento de una "capa" o "corriente" de un fluido sobre otra de igual magnitud de velocidad pero en sentido opuesto

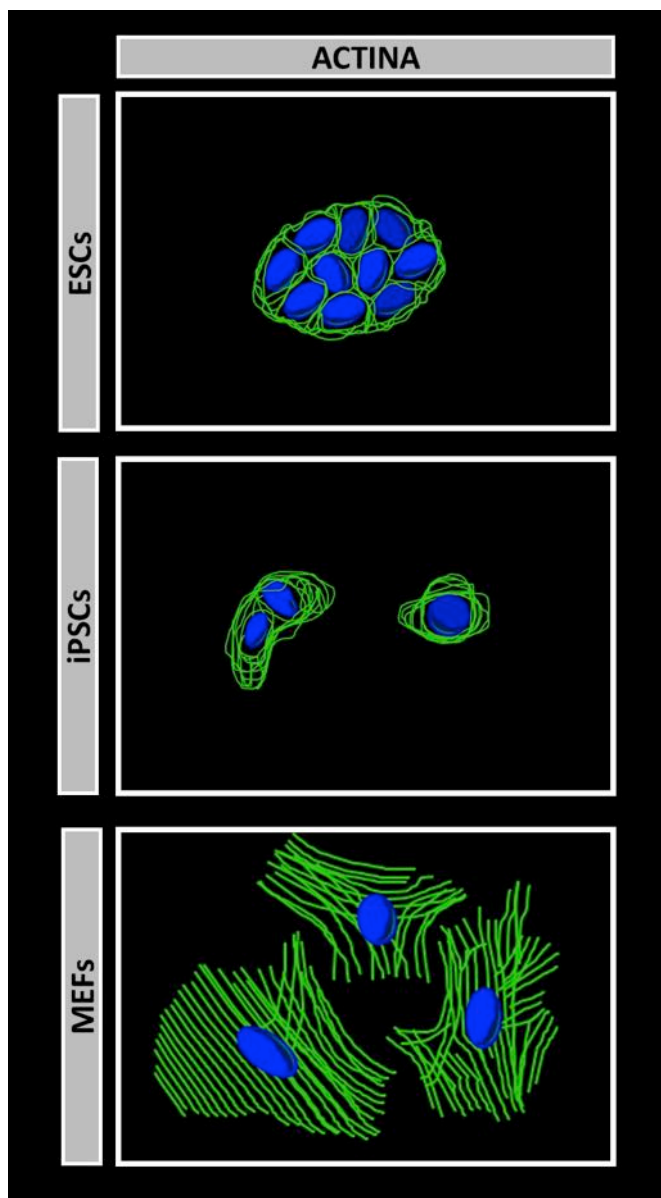


Figura 2. Organización del citoesqueleto de actina en las células troncales pluripotentes y diferenciadas. Imágenes obtenidas por Microscopía Confocal que muestran cambios en la estructura de los filamentos de actina (verde), DAPI, núcleos (azul) en las ESCs, iPSCs y los fibroblastos de embrión de ratón (MEFs) ya diferenciados. *Imagen recreada de los resultados en (15).

Caja 2. Estrés o Esfuerzo de corte en células.

El **esfuerzo o estrés de corte**, se define como la fuerza de fricción aplicada por unidad de área fuerza de fricción que resulta del deslizamiento de una “capa” o “corriente” de un fluido sobre otra de igual magnitud de velocidad pero en sentido contrario.

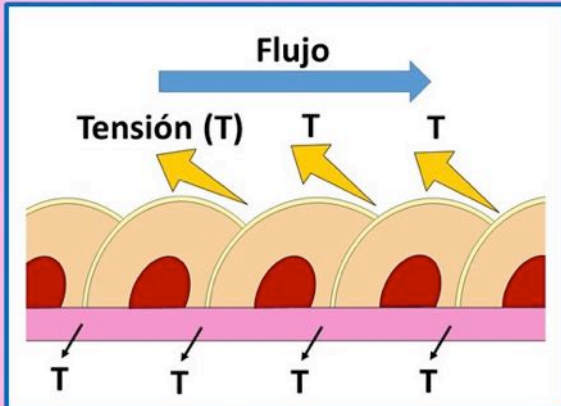


Figura 1.2. Generación de tensión en la membrana celular mediante la aplicación de estrés de corte. La tensión es menor en las uniones célula-célula inferiores y mayor en las superiores. Entre más rápido sea el flujo mayor será la tensión.

En los sistemas biológicos, en el fluido extracelular existe el estrés de corte, debido a que el fluido imparte tensión (T) a lo largo de la superficie membranal de las células. Por ejemplo el estrés del flujo sanguíneo sobre las células epiteliales de los vasos sanguíneos, será el estrés de corte. (35). **(Fig 1.2)**

El estrés de corte actúa sobre las células a través de receptores de membrana e influencia la expresión de genes mediante la fosforilación de factores de transcripción para inducir la remodelación del citoesqueleto y la activación de las vías MAPK/ERK 1/2 y SAPK/JNK 1/2 en procesos de adhesión, diferenciación, apoptosis y arresto celular.

Uno de los ejemplos más conocidos de la acción del estrés de corte en la diferenciación es la estimulación biomecánica de las células troncales mesenquimales (MSCs) como mayor contribuyente a la diferenciación exitosa hacia células endoteliales de los vasos sanguíneos (36). Este conocimiento es esencial para la fabricación de vasos sanguíneos sintéticos y el cultivo de las MSCs.

(Caja 2) promueve la diferenciación a mesodermo, lo apunta a que las fuerzas mecánicas del exterior pueden comprometer el destino celular.

Esto es importante para la medicina personalizada, debido a que las iPSCs se cultivan *in vitro*, pero se trasplantan *in vivo*, lo que implica un cambio drástico en el microambiente, y por lo tanto en las fuerzas mecánicas presentes en el nicho de la célula troncal, que pueden afectar el comportamiento de la célula troncal y por ende, la eficacia del trasplante.

Variabilidad en la estructura y función mitocondrial en las células troncales

La mitocondria es un organelo de doble membrana dentro las células eucariotas, que ejerce roles críticos en la fisiología de la célula, incluyendo, generar energía metabólica (ATP) por fosforilación oxidativa, funcionar como una plataforma para la señalización celular a través de la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), regular la homeostasis de calcio y desencadenar la apoptosis (Vía intrínseca de la apoptosis).

La mitocondria tiene su propio genoma compuesto únicamente por 37 genes, para el caso de humanos, por lo que depende del genoma nuclear para sintetizar el resto de sus proteínas y componentes. Como se describió anteriormente, la diferenciación

de las ESCs requiere cambios en la expresión de los genes nucleares, sin embargo, este requerimiento no es suficiente para terminar exitosamente la diferenciación, pues son necesarios los cambios funcionales y morfológicos de todos los componentes celulares.

El número de mitocondrias, su estado metabólico, su actividad transcripcional y de síntesis proteica se modifican durante la diferenciación, tal y como se describe en un análisis ultraestructural hecho mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) que reveló que las ESCs humanas (hESCs) poseen mitocondrias alargadas, ovaladas y tubulares, similares a las presentes en la masa celular interna (ICM) del blastocito. Mientras que las ESCs murinas (mESCs) poseen mitocondrias esféricas y ovaladas, lo que indica una morfología mitocondrial diferente entre especies, que probablemente se deba a las necesidades energéticas distintas.

Interesantemente, en las hESCs existe menor actividad del factor de transcripción del DNA mitocondrial (TFAM) y las mitocondrias son pocas y se distribuyen alrededor del núcleo, en comparación con cardiomiocitos diferenciados que presentan más mitocondrias localizadas uniformemente en el citoplasma (33). Cuando las hESCs migran separándose de su colonia de origen, exhiben un grupo de mitocondrias en solo un polo citoplasmá-

tico, este grupo eventualmente prolifera ocupando el otro polo celular, rodeando así al núcleo; este cambio se acompaña de un incremento en la expresión de genes de DNA mitocondrial (mtDNA) y de factores de transcripción de mtDNA que se refleja en un aumento en el número de mitocondrias. Sin embargo, los cardiomiocitos derivados de la diferenciación de hESCs presentan niveles reducidos de expresión de factores de factores de transcripción y replicación de mtDNA a pesar de poseer un alto contenido mitocondrial localizado bipolarmente en el citoplasma. Debido a esta observación inesperada es importante continuar con el análisis del contenido de mtDNA durante la diferenciación de las hESCs pues se debe asegurar que las células diferenciadas a partir de las hESCs pueden adoptar el metabolismo propio del tejido diferenciado por largos periodos de tiempo para su uso en terapia de trasplantes.

Los requerimientos energéticos para cada célula se reflejan en diferencias metabólicas específicas del tipo celular. En el caso de las células troncales que poseen un metabolismo glucolítico se encuentran las iPSCs, ASCs y las primed ESCs, que son ESCs derivadas del epiblasto después de la implantación del blastocisto en la cavidad uterina, en contraste con el metabolismo de las ESCs derivadas del epiblasto antes de la implantación denominadas naive ESCs y células diferenciadas, que es predominantemente oxidativo (34).

Por lo descrito en los párrafos anteriores, podemos concluir que los distintos requerimientos metabólicos en diferentes poblaciones de células troncales (ESCs, iPSCs, ASCs) y células diferenciadas se manifiesta en la heterogeneidad del número, forma y contenido de las mitocondrias que las integran.

CONCLUSIÓN

Las células troncales son células con capacidad de autorrenovación y con potencial variable para diferenciarse a diversos tipos celulares, por lo que son esenciales en la formación y mantenimiento tisular durante el desarrollo embrionario y la vida adulta. El control exquisito en diferenciación o autorrenovación depende de una dinámica altamente organizada entre los componentes internos de la célula troncal y de su nicho.

Conocer la regulación de la dinámica organelar y funcional de las células troncales es de importancia para las terapias futuras con células troncales en medicina regenerativa o para el desarrollo de fármacos o como modelo y herramienta para la investigación biomédica.

GLOSARIO

Actina: Proteína que forma filamentos (polímeros) y participa en la contracción muscular, estructura, movilidad y unión celular.

Blastocisto: Estructura embrionaria de número celular variable formada por la masa celular interna (ICM) y el trofoectodermo.

Destino celular: El tipo celular específico que incluye el comportamiento y el estado epigenético.

DNA FISH: Técnica que utiliza una secuencia específica de DNA marcada con un fluoróforo que se hibrida con su contraparte, y así permite identificar la posición de secuencias de DNA in situ (27).

FRAP: Técnica que permite la explorar dinámica de proteínas es decir, su movilidad y cinética en células individuales in vivo. Se realiza en un film delgado que posee sondas fluorescentes que se someten al blanqueamiento y cuantifica la difusión lateral en 2 dimensiones.

Fuerza de tensión: Fuerza de tracción transmitida axialmente por medio de un objeto continuo unidimensional, es también el par de fuerzas acción-reacción que actúan en cada extremo de dichos elemento.

Histonas: Familia de proteínas básicas que se asocian con el DNA en el núcleo y participan en su condensación.

Microambiente: Entorno inmediato a pequeña escala de un organismo o una parte de un organismo, especialmente como una parte distinta de un entorno más amplio.

Naive ESCs: ESCs derivadas del epiblasto naive pre-implantado del blastocisto maduro.

Nestina: Proteína de filamentos intermedios tipo VI característica de los progenitores neurales.

Nicho de una célula troncal: Sitio anatómico del tejido que provee un microambiente específico que promueve que las células troncales mantengan un estado indiferenciado y de autorrenovación. El nicho regula la participación de las CT en la regeneración, homeostasis y reparación tisular.

Potencial de diferenciación: Número de posibles destinos celulares que una célula puede adquirir.


Primed ESCs: ESCs pluripotentes derivadas el epiblasto ya implantado que ya está preparado para la especificación de linaje y compromiso en respuesta al estímulo de tejidos extraembrionarios.

Reprogramación celular: Cambio artificial del destino celular.

TEM: Técnica de microscopía que transmite un haz de electrones en un espécimen para formar una imagen.

Territorio cromosomal: Región específica que ocupa un cromosoma en el núcleo.

Vectores retrovirales: Construcción de DNA artificial derivada de un retrovirus, usada para insertar secuencias específicas en el genoma de un organismo.

Vimetina: Proteína de filamentos intermedios tipo II. 

REFERENCIAS

- Verfaillie CM (2002) Adult stem cells: Assessing the case for pluripotency. *Trends Cell Biol* 12: 502–508.
- Greulich P, Simons BD (2016) Dynamic heterogeneity as a strategy of stem cell self-renewal, *PNAS*, 113: 1–6.
- Bošković A, Eid A, Pontabry J, Ishiuchi T, Spiegelhalter C, Raghuram EVS, Meshorer E, Torres-Padilla ME (2014) Higher chromatin mobility supports totipotency and precedes pluripotency in vivo. *Genes Dev* 28: 1042–1047.
- Dang-Nguyen, TQ, Torres-Padilla ME (2015) How cells build totipotency and pluripotency : nuclear, chromatin and transcriptional architecture. *Curr Opin Cell Biol* 34: 9–15.
- Meshorer E, Misteli T (2006) Chromatin in pluripotent embryonic stem cells and differentiation, *Nat Rev Mol Cell Biol* 7: 540–546.
- Bianconi E, Piovesan A, Facchin F, Beraudi A, Casadei R, Frabetti F, Vitale L, Pelleri MC, Tassani S, Piva F, Perez-Amodio S, Strippoli P, Canaider S (2013) An estimation of the number of cells in the human body. *Ann Hum Biol* 6: 463–471.
- Borsos M, Torres-Padilla ME (2016). Building up the nucleus : nuclear organization in the establishment of totipotency and pluripotency during mammalian development, *Gen Dev* 30: 611–621.
- Ishiuchi T, Torres-Padilla ME (2013) Towards an understanding of the regulatory mechanisms of totipotency. *Curr Opin Genet Dev* 5: 512–518.
- Hardarson T, Caisander G, Sjögren A, Hanson C, Hamberger L, Ludin K (2003) A morphological and chromosomal study of blastocysts developing from morphologically suboptimal human pre-embryos compared with control blastocysts. *Hum Reprod* 18: 399–407.
- Scudellari M (2016) A decade of iPS cells. *Nature*, 534: 310–312.
- Takahashi K, Yamanaka S (2006) Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126: 663–676.
- O'Connor TP, Crystal RG (2006) Genetic medicines: treatment strategies for hereditary disorders, *Nat Rev Genet* 7: 261–276.
- Blanpain C, Horsley V, Fuchs E (2007) Epithelial Stem Cells: Turning over New Leaves, *Cell*. 128: 445–458.
- Aponte Manuel P, (2015) Spermatogonial stem cells: Current biotechnological advances in reproduction and regenerative medicine. *World J Stem Cells* 7: 669–680.
- Boraas LC, Guidry JB, Pineda ET, Ahsan T (2016) Cytoskeletal Expression and Remodeling in Pluripotent Stem Cells. *PLoS One* 11: 1–16.
- Discher DE, Mooney DJ, Zandstra PW (2010) Growth factors, matrices, and forces combine and control stem cells. *Science* 324: 1673–1677.
- Even-Ram S, Artym V, Yamada KM (2006) Matrix control of stem cell fate. *Cell* 126: 645–647.
- Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, Discher DE (2006) Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell* 126: 677–689.
- Mcbeath R, Pirone DM, Nelson CM, Bhadriraju K, Chen CS (2004) Cell shape, cytoskeletal tension, and RhoA regulate stem cell lineage commitment. *Dev Cell* 6: 483–495.

20. Cremer T, Cremer C, Schneider T, Baumann H, Hens L, Kirsch-Volders M (1982) Analysis of chromosome positions in the interphase nucleus of Chinese hamster cells by laser-UV-microirradiation experiments. *Hum Genet* 62: 201–209.
21. Parada L, Misteli T (2002) Chromosome positioning in the interphase nucleus. *Trends Cell Biol.* 12: 425–432.
22. Spector DL, Lamond AI (2011) Nuclear speckles. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 3: 1–12.
23. Peric-Hupkes D, Meuleman W, Pagie L, Bruggeman SW, Solovei I, Brugman W, Gräf S, Flicek P, Kerkhoven RM, van Lohuizen M, Reinders M, Wessels L (2010) Molecular maps of the reorganization of genome-nuclear lamina interactions during differentiation. *Mol Cell* 38: 603–613.
24. Sleeman JE, Trinkle-Mulcahy L (2014) Nuclear bodies: new insights into assembly/dynamics and disease relevance. *Curr Opin Cell Biol.* 28: 76-83.
25. Solovei I, Grandi N, Knoth R, Volk B, Cremer T (2004) Positional changes of pericentromeric heterochromatin and nucleoli in postmitotic Purkinje cells during murine cerebellum development. *Cytogenet Genome Res* 105: 302–310.
26. Eiges R, Benvenisty N (2002) A molecular view on pluripotent stem cells. *FEBS Letters*, 529: 135–141.
27. Tee WW, Reinberg D (2014) Chromatin features and epigenetic regulation of pluripotency states in ESCs. *Development* 141: 2376-2390.
28. Meshorer E, Yellajoshula D, George E, Scambler PJ, Brown DT, Misteli T (2006) Hyperdynamic plasticity of chromatin proteins in pluripotent embryonic stem cells. *Dev Cell* 10: 105–116.
29. Röber RA, Weber K, Osborn M (1989) Differential timing of nuclear lamin A / C expression in the various organs of the mouse embryo and the young animal : a developmental study. *Development* 105: 365-378.
30. Peter M, Nigg EA (1991) Ectopic expression of an A-type lamin does not interfere with differentiation of lamin A-negative embryonal carcinoma cells. *J Cell Sci.* 100: 589-598.
31. Constantinescu D, Gray HL, Sammak PJ, Schatten GP, Csoka AB (2006). Lamin A/C expression is a marker of mouse and human embryonic stem cell differentiation. *Stem Cells* 24: 177–185.
32. Buszczak M, Signer RA, Morrison SJ (2014) Cellular differences in protein synthesis regulate tissue homeostasis. *Cell* 159:242-251.
33. St John JC, Ramalho-Santos J, Gray HL, Petrosko P, Rawe VY, Navara CS, Simerly CR, Schatten GP (2005) The expression of mitochondrial DNA transcription factors during early cardiomyocyte in vitro differentiation from human embryonic stem cells. *Cloning Stem Cells* 7:141-153.
34. Margineantu, DH, Hockenbery DM (2016) Mitochondrial functions in stem cells. *Curr Opin Genet Dev* 38: 110–117.
35. White R. Charles, John A. Frangos (2007) The shear stress of it all: the cell membrane and mechanochemical transduction. *Phil. Trans R. Soc* 362: 1459-1467.
36. Kim DH, Heo SJ, Kang YG, Shin JW, Park SH, Shin JW (2016) Shear stress and circumferential stretch by pulsatile flow direct vascular endothelial lineage commitment of mesenchymal stem cells in engineered blood vessels. *J Mater Sci Mater Med* 27: 60.