

Origen y Migración de Células Troncales

Stem Cells Origin and Migration

*Enrique Montiel-Eulefi & **Juan F. Montiel

MONTIEL-EULEFI, E & MONTIEL, J. F. Origen y migración de células troncales. *Int. J. Morphol.*, 30(4):1332-1337, 2012.

RESUMEN: La generación de progenitores celulares, su migración y distribución a través del organismo, es determinante en la generación de divergencia morfológica y evolución de las distintas especies de vertebrados. Las células progenitoras transitan por diferentes compartimentos durante el desarrollo embrionario y su exposición a diferentes medioambientes tisulares estimula la activación de programas específicos de diferenciación. En este capítulo discutiremos el origen de diferentes poblaciones de células migratorias, tales como las células madre embrionarias, las células germinales primordiales y las células de la cresta neural, con un enfoque en los distintos factores moleculares activados durante la migración hacia distintos compartimientos embrionarios.

PALABRAS CLAVE: Origen de células madre o troncales; Células germinales primordiales; Cresta neural; Migración; Diferenciación.

BIOLOGÍA DEL DESARROLLO DE LAS CÉLULAS TRONCALES EN EL EMBRIÓN

El clivaje o división celular ocurre 20-30 horas post-fecundación, en un ambiente genético comandado por transcriptos de origen materno. Tan solo 48 horas después de la formación del cigoto se activa el genoma propio del embrión, a través, de un proceso de reprogramación génica que mediante la desmetilaciones y acetilaciones producen el inicio de la expresión de los distintos genes que marcan el estado indiferenciado como SSEA-1 (De Miguel *et al.*, 2009), DDX-4 (Montiel-Eulefi *et al.*, 2009; Montiel *et al.*, 2001). Como consecuencia, un grupo de genes inactivos por metilación comenzará a transcribirse, proceso que se incrementará con el transcurso de las horas y cuyo balance con procesos de represión determinará la cohorte de transcriptomas (mensajeros derivados de genes codificantes y no codificantes para proteínas) de cada núcleo celular. En el futuro de cada célula del organismo, la relación posicional de cada gen con sus vecinos, la inactivación por parte de otros transcriptos, la modificación en la organización de la cromatina, el procesamiento post-traducciona, junto con otros sistemas de regulación de expresión, determinarán el conjunto de proteínas que definirá el fenotipo celular o proteoma, específico para cada tipo celular. Alrededor de 90 horas post-fecundación, ocurre la etapa de compactación de la mórula, blastómeras totipotenciales se segregan para formar dos grupos celulares: el embrioblasto y trofoblasto,

que formarán el blastocisto. La compactación de la mórula tiene un significado biológico crucial para el futuro del organismo, ya que las células embrionarias perderán su totipotencialidad, siendo el primer proceso de diferenciación que determinará que las células embrioblásticas pluripotentes restrinjan su repertorio de diferenciación.

LAS CÉLULAS TRONCALES O MADRES EMBRIONARIAS

Las células troncales o madres embrionarias (CME) se originan en el embrioblasto o macizo celular interno del blastocisto, para establecerse en el epiblasto (Nichols & Smith, 2011) y en cultivo, mantienen la capacidad pluripotente de generar todos los tipos celulares del cuerpo que derivan del ectodermo, mesodermo y endodermo, a excepción de los derivados de trofoblasto o anexos embrionarios del cordón umbilical y placenta (Fig. 1). Posteriormente, a medida que progresa el desarrollo embrionario, la especificación de los distintos compartimentos anatómicos y diferenciación celular restringen progresivamente la distribución de células progenitoras de los distintos tejidos en compartimientos específicos o nichos para que mantengan sus capacidades de autorenovación y generación de nuevas células para cada tejido. En el caso de algunos tejidos tales como la epidermis, la sangre y el revestimiento intestinal, las células completamente diferenciadas tienen una vida corta y deben ser reemplazadas por células hijas

*Centro de Biotecnología en Reproducción (CEBIOR-BIOREN). Depto. de Ciencias Básicas. Fac. de Medicina. Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

**Centro de Investigación Biomédica, Fac. de Medicina, Universidad Diego Portales. Santiago, Chile.

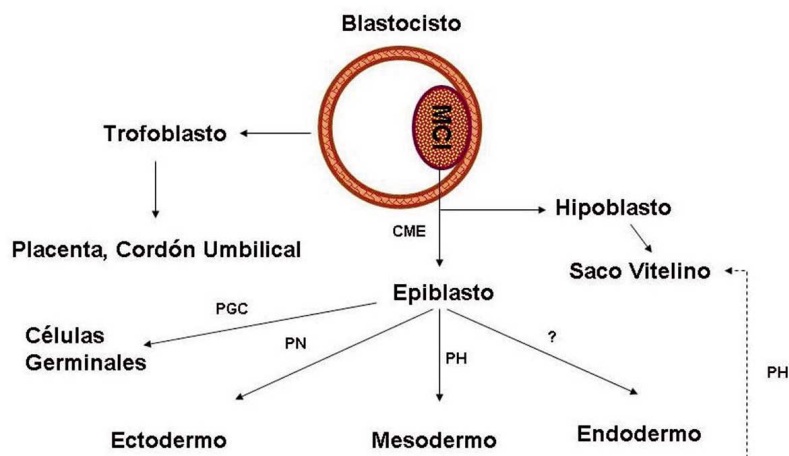


Fig. 1. Derivación de las células madre o troncales embrionarias (CME) en las tres capas germinativas. Las CME se originan en el embrioblasto o macizo celular interno (MCI) del blastocisto, el cual se transforma en el disco embrionario con un epiblasto y un hipoblasto, quedando las CME remitidas al epiblasto en estadios preimplantacionales y migran hacia las distintas capas germinativas, Ectodermo, Mesodermo y Endodermo. Durante la gastrulación las CME formaran progenitores neurales (PN) y hematopoyéticos (PH), estos últimos se asocian al saco vitelino, al igual que las células germinales que se forman por la migración de las células germinales primordiales (PGC) a la gónada, a través, de la región basal del cordón umbilical, atravesando el mesenterio para llegar a las crestas gonadales en el mesonefros.

derivadas de células que mantienen sus capacidades de autorrenovación. Estos precursores se denominan células troncales o madres adultas (CMA) y presentan un repertorio de diferenciación restringido dentro de una línea celular, definida como una capacidad limitada de diferenciación hacia algunos pocos tipos celulares, por lo que se les denomina progenitores multipotentes o cuando se restringen a tan solo un tipo celular, unipotentes; como por ejemplo los epidermoblastos, hemangioblastos, neuroblastos, osteoblastos, condroblastos, entre otros. Aunque, "bajo" ciertas condiciones como en cultivo celular, estas restricciones pueden ser liberadas.

ORIGEN Y MIGRACIÓN DE LAS CÉLULAS GERMINALES PRIMORDIALES

En las CME epiblasticas, localizadas tempranamente en el macizo celular interno del disco embrionario se determina el origen de las células germinales primordiales (PGC) (Montiel *et al.*). Este origen es compartido con las células troncales hematopoyéticas, situación que plantea la existencia de una población común de CME pluripotentes, asociada a los vasos sanguíneos durante el desarrollo embrionario y la posibilidad que originen células hematopoyéticas y del endotelio primitivo, formando así el hemangioblasto o un intermediario previo a la formación de CMA sanguíneas. Estas CME hematopoyéticas tendrían un origen común con las PGC, ya que se ha visto pueden producir células sanguíneas *in vitro* (Rich, 1995).

Migración de las Células Germinales. Estudios en modelos animales revelan que durante la migración de las CME que originarán a las PGC que

migran hacia las crestas gonadales de las gónadas tanto masculina como femenina, cambian su destino al arribar a distintos ambientes tisulares (Kucia *et al.*, 2006). Durante su camino, estas células expresan CXCR4+ un receptor de quimioquinas importante en la migración de las PGC a las crestas gonadales (Ara *et al.*, 2003; Doitsidou *et al.*, 2002) y en la migración e invasión de células tumorales (Hwang *et al.*, 2003). Levesque *et al.* (2003) ha demostrado que la movilización de los progenitores hematopoyéticos desde la médula ósea, es debido a la disrupción de la vía quimiotáctica CXCR4/CXCL12 (Levesque *et al.*). Este receptor también es expresado en células endoteliales del cordón umbilical (CU) (Volin *et al.*, 1998), estando bajo el control de la vía c-kit. También CXCR4+ se expresa en CMA de la médula y cumplen una función esencial en la implantación de la médula transplantada, potenciada por su ligando SDF1 (Peled *et al.*, 1999). La migración de las CME y PCG que expresan CXCR4+, a las crestas gonadales ocurre a través de la región aorta-gónadas-mesonefros (AGM), uno de los lugares en que se han identificado a las células madre hematopoyéticas definitivas (Kucia *et al.*, 2006; Kucia *et al.*, 2007; Medvinsky & Dzierzak, 1996).

Diferenciación de las Células Germinales Primordiales

Las células germinales primordiales migran y se dirigen a través del AGM hacia la región de inserción del saco vitelino y del cordón umbilical, desde ahí direccionan su destino hacia las crestas gonadales, atravesando el celoma intraembrionario a través de los mesenterios para llegar a la cresta genital que desarrollará la gónada en el mesonefros. Los mecanismos moleculares quimiotácticos que dirigen a las células germinales primordiales a la gónada son poco claros, pero se plantea que los factores como SCF/c-kit y SDF-1/CXCR4 estarían relacionados en la quimiotaxis y anidación de las PGC en la gónada temprana bajo la estimulación de morfógenos como BMP4 (Dudley *et al.*, 2010). La producción de factor determinante testicular (TDF) por las células que rodean a las PGC, en el día 7 después de la fecundación, promueven la diferenciación de

la gónada y formación del túbulo seminífero en el testículo, que llevará a la diferenciación de las células de Sertoli, que atrapan a las células germinales en un compartimiento basal, donde se autorrenovarán y mantendrán en un estado quiescente hasta la pubertad, donde ellas entrarán en meiosis para formar el gameto masculino. En el caso de la mujer la ausencia del cromosoma Y que posee la región SRY que codifica para el TDF, lleva a que el día 12 después de la fecundación se genere una gónada con fenotipo femenino, quedando las células germinales atrapadas en la corteza del ovario.

BIOLOGÍA DEL DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO

La neurulación, es el proceso a través del cual se forma el tubo neural (Fig. 2 A) y a su vez, se especifica y determina las regiones que darán origen al sistema nervioso central (SNC) a partir de la placa neural derivada del

ectodermo embrionario. La especificación del sistema nervioso central de vertebrados comienza después de la gastrulación, durante la inducción sobre la placa neural. En esta etapa el sistema nervioso central es especificado por claves inductivas no autónomas derivadas del mesoendoderma subyacente, los morfógenos nogina, cordina y folistatina cambian el destino de diferenciación de las células ectodérmicas hacia neuroectodérmicas. En etapas posteriores, la placa neural plana desarrolla un surco longitudinal medial y en sus lados dos pliegues paralelos neuronales que finalmente convergen durante el cierre del tubo neural, en mamíferos inicialmente en la región del tronco y desde ahí avanza hacia los niveles anteriores y posteriores, culminando con el cierre de los neuroporos anterior y posterior.

El cierre del tubo neural se produce por movimientos de extensión convergente, dependiente de la activación de la vía de señalización Wnt (Wallingford & Harland, 2002), una familia de proteínas codificada por proto-oncogenes con importancia en diversos procesos del desarrollo tales como: inducción neural, definición del plan corporal de vertebrados, mantenimiento de las células madre, desarrollo de circuitos neuronales y plasticidad neuronal (Ciani & Salinas, 2005).

Wnts actúan a través del receptor Frizzled (FZ) y la consecuente activación de la proteína de andamiaje Dischevelled (DVL), que puede modular la expresión génica, al menos, a través de tres cascadas de señalización diferentes.

Origen de la Cresta Neural. Las células de la cresta neural corresponden a una población celular que se caracteriza por presentar gran capacidad migratoria y despliegue de diversos potenciales de diferenciación, donde su destino celular obedece a influencias autónomas y no autónomas. En el sistema nervioso periférico, las células de la cresta neural dan origen a los ganglios raquídeos sensitivos a los lados del tubo neural y a células de Schwann. Aunque tradicionalmente se ha considerado que la inducción de la cresta neural ocurre después de la formación placa neural, a través de la interacción entre el tejido neural, la epidermis y mesoderma, se ha observado que la especificación temprana de las células de la cresta neural se produce durante o antes de la gastrulación, en una región positiva para el factor de transcripción PAX7 (Basch *et al.*, 2006). Posteriormente, la combinación de los mecanismos de inducción del mesodermo notocordal y ectodermo circundante participan en la especificación de la cresta neural, ya que factores epidérmicos como BMP,

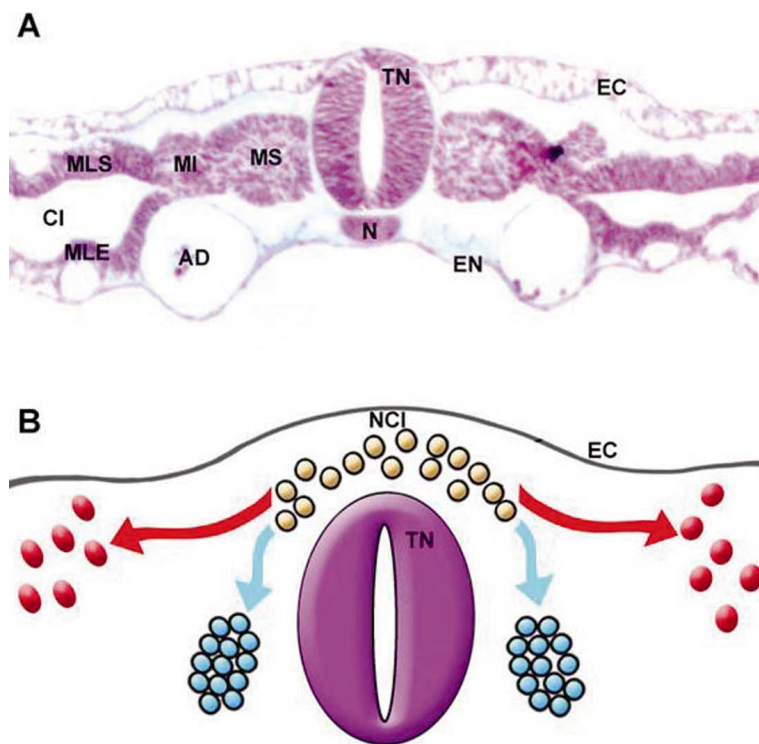


Fig. 2 A. Corte transversal de un embrión de pollo en etapa de tubo neural (TN), dorsal hacia arriba y ventral hacia abajo. AD, Aorta dorsal; CI, Celoma intraembrionario, EC, ectoderma; EN, Endoderma; MI, Mesoderma intermedio; MLE, Hoja esplácnica del mesoderma lateral; MLS, Hoja somática del mesoderma lateral; N, Notocorda. Fig. 2 B. Las células indiferenciadas de la cresta neural (NCI) se segregan tempranamente de su entorno celular y abandonan el tubo neural para adoptar dos vías migratorias: una dorsolateral, flecha en rojo para formar melanocitos y ventral en celeste para formar neuronas sensitivas del ganglio de la raíz dorsal, neuronas simpáticas, células de la médula suprarrenal y células de Schwann.

FGF y Wnt pueden inducir fenotipos de cresta neural (Gammill & Bronner-Fraser, 2003). Por ejemplo, en mutantes de pez cebra para BMP, no se forman precursores de cresta neural, lo que sugiere que la señalización de BMP es crucial para definir el destino de esta población celular (Nguyen *et al.*, 2000). En *Xenopus*, la sobre-expresión de Wnts o de su efector río abajo β -catenina lleva a expansión de la cresta neural, mientras que su inhibición produce una alteración en la formación de cresta neural (Bang *et al.*, 1999; LaBonne & Bronner-Fraser, 1998). Adicionalmente, se ha sugerido que, si bien los altos niveles de BMP especifican destino epidérmico y la ausencia de BMP especifica al neuroectoderma, los niveles intermedios de este morfógeno podría determinar la región entre ambos tejidos que generará a la cresta neural (Woda *et al.*, 2003). Precursores alojados en la parte dorsal del pliegue neural forman una población común a partir de la cual, a medida que progresa la neurulación, se segregarán las células de la cresta neural. A diferencia, las células destinadas a la placa del techo permanecerán asociadas a otras poblaciones precursoras dentro del tubo neural. Más aún, genes que se expresan específicamente en el tubo neural dorsal, tales como *slug* y *snail*, también son críticos para la especificación de la cresta neural. De esta manera, al comienzo de su migración las células de la cresta neural perderán la expresión de marcadores comunes con la placa del techo.

Migración de la Cresta Neural. Recientemente, se ha establecido que el comienzo de la migración de las células de la cresta neural está gobernado por la activación de la vía no canónica de polaridad celular planar de Wnt a través de un mecanismo de inhibición por contacto que permitiría que las células de la cresta neural escapen de su lugar de origen e invadan otros tejidos blanco, una conducta similar a la de las células cancerígenas (Carmona-Fontaine *et al.*, 2008). Meulemans & Bronner-Fraser (2005) proponen una secuencia temporal de los eventos en que en un principio, señales especificadoras de la cresta neural como BMP, Wnts, FGFs y Notch activan la expresión de especificadores del borde de la placa neural tales como *Msx*, *Zic*, *Pax3/7* y *Dlx3/5*. Posteriormente, los especificadores de la cresta neural (*Snail/Slug*, *FoxD3*, *cMyc*, *Twist*, *AP2*, *Id*, *Sox9/10*) determinarán la diferenciación de la cresta neural e inducen la expresión de genes efectores (colágeno 2a, *cRet*, *Trp2*, *caderinas*) que permiten la migración celular entre tejidos mesoendodérmicos (Aboitiz & Montiel, 2007). Dos vías migratorias principales serán adoptadas por estas células (Fig. 2B). Aquellas que migren a lo largo de la vía dorsolateral atravesarán la dermis, la lámina basal e invadirán el ectoderma para establecer melanocitos en la piel y folículos pilosos. Otras células de la cresta neural adoptarán una ruta ventral, atravesando el esclerótomo, para formar células sensitivas del ganglio de la raíz dorsal y neuronas

simpáticas, células de la médula suprarrenal y células de Schwann. Los constituyentes de la matriz extracelular son fundamentales para que ocurra esta segregación de vías migratorias. Moléculas de matriz extracelular tales como fibronectina, laminina, tenascina, distintos tipos de colágenos y proteoglicanos participan como quimioatractores y forman parte de ambos corredores migratorios. La presencia de efrina en el segmento caudal de cada esclerótomo evitará la invasión de esta región ya que esta proteína funciona como una clave repulsiva para las células de la cresta neural, quienes expresan el receptor para efrina (Gilbert, 2010).

Diferenciación de la cresta neural. Durante la migración, las células de la cresta neural serán sometidas a distintos factores de crecimiento y diferenciación que permitirán que adopten su fenotipo final. En un ambiente cardiogénico los cardiomiocitos liberan al factor inhibidor de la leucemia (LIF), esta señal determina la transformación de neuronas simpáticas adrenérgicas en neuronas colinérgicas. En territorios de desarrollo cardíaco, pulmonar y en la aorta dorsal BMP2 influencia a células de la cresta neural a diferenciarse en neuronas colinérgicas y formar ganglios simpáticos regionales. El factor de crecimiento glial (GGF o neuroregulina 1) suprime el fenotipo neuronal y lo dirige hacia destinos gliales. Factores paracrinos tales como endotelina 3 estimulan a las células de la cresta neural para alcanzar su diferenciación hacia neuronas adrenérgicas en el intestino, adicionalmente, en la piel se encontrarán con la influencia de WNT, determinando su diferenciación a melanocitos. A nivel del tronco la exposición de células de la cresta neural a glucocorticoides determinará la diferenciación a células de la médula suprarrenal (Gilbert).

CONCLUSIÓN

El desarrollo de precursores celulares involucra la activación de programas génicos celulares autónomos que son modulados progresivamente durante el desarrollo. Adicionalmente, existe una gran participación del medio ambiente tisular, esta influencia no celular autónoma determina la diferenciación final de los precursores celulares. Aunque en este capítulo nos hemos abocado a tres poblaciones celulares: las células madre embrionarias, las células germinales primordiales y las células de la cresta neural, otros contextos de desarrollo, tales como sistema músculo esquelético, cardíaco, sistema nervioso central, también involucran una gran influencia de sistemas de señalización localizados en centros de organización vecinos a las poblaciones celulares progenitoras. El profundo entendimiento de la influencia del medioambiente tisular es crítico para el éxito de las terapias de ingeniería celular.

AGRADECIMIENTOS: El Dr. Enrique Montiel agradece el apoyo del proyecto de investigación asociativa (PIA) DI10-7003 de la Dirección de Investigación y Postgrado de la Universidad de La Frontera. El Dr. Juan Montiel agrade-

ce el beneficio de un período sabático, otorgado por la Universidad Diego Portales de Santiago de Chile, que ha permitido el desarrollo este manuscrito.

MONTIEL-EULEFI, E. & MONTIEL, J. F. Origin and migration of stem cells. *Int. J. Morphol.*, 30(4):1332-1337, 2012

SUMMARY: Generation, migration and distribution of stem cells throughout the body are a major process in the generation of morphological divergence and evolution in different species of vertebrates. Progenitor cells pass through different compartments during embryonic development and the exposition to different tissue environments stimulates the activation of specific differentiation programs. In this chapter we discuss the origin of different migratory cell populations, such as embryonic stem cells, primordial germ cells and neural crest cells, with focus on the different molecular factors activated during migration to different embryonic compartments.

KEY WORDS: Stem Cells Origin; Primordial Germ Cells; Neural Crest; Migration; Differentiation.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aboitiz, F. & Montiel, J. Origin and evolution of the vertebrate telencephalon, with special reference to the mammalian neocortex. *Adv. Anat. Embryol. Cell. Biol.*, 193:1-112, 2007.
- Ara, T.; Nakamura, Y.; Egawa, T.; Sugiyama, T.; Abe, K.; Kishimoto, T.; Matsui, Y. & Nagasawa, T. Impaired colonization of the gonads by primordial germ cells in mice lacking a chemokine, stromal cell-derived factor-1 (SDF-1). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100:5319-23, 2003.
- Bang, A. G.; Papalopulu, N.; Goulding, M. D. & Kintner, C. Expression of Pax-3 in the lateral neural plate is dependent on a Wnt-mediated signal from posterior nonaxial mesoderm. *Dev. Biol.*, 212:366-80, 1999.
- Basch, M. L.; Bronner-Fraser, M. & Garcia-Castro, M. I. Specification of the neural crest occurs during gastrulation and requires Pax7. *Nature*, 441:218-22, 2006.
- Carmona-Fontaine, C.; Matthews, H. K.; Kuriyama, S.; Moreno, M.; Dunn, G. A.; Parsons, M.; Stern, C. D. & Mayor, R. Contact inhibition of locomotion in vivo controls neural crest directional migration. *Nature*, 456:957-61, 2008.
- Ciani, L. & Salinas, P. C. WNTs in the vertebrate nervous system: from patterning to neuronal connectivity. *Nat. Rev. Neurosci.*, 6:351-62, 2005.
- De Miguel, M. P.; Arnalich Montiel, F.; Lopez Iglesias, P.; Blazquez Martinez, A. & Nistal, M. Epiblast-derived stem cells in embryonic and adult tissues. *Int. J. Dev. Biol.*, 53:1529-40, 2009.
- Doitsidou, M.; Reichman-Fried, M.; Stebler, J.; Köprunner, M.; Dörries, J.; Meyer, D.; Esguerra, C. V.; Leung, T. & Raz, E. Guidance of primordial germ cell migration by the chemokine SDF-1. *Cell*, 111:647-59, 2002.
- Dudley, B.; Palumbo, C.; Nalepka, J. & Molyneaux, K. BMP signaling controls formation of a primordial germ cell niche within the early genital ridges. *Dev. Biol.*, 343:84-93, 2010.
- Gammill, L. S. & Bronner-Fraser, M. Neural crest specification: migrating into genomics. *Nat. Rev. Neurosci.*, 4:795-805, 2003.
- Gilbert, S. F. *Developmental biology*. 9th ed. Sunderland, Mass., Sinauer Associates, 2010.
- Hwang, J. H.; Chung, H. K.; Kim, D. W.; Hwang, E. S.; Suh, J. M.; Kim, H.; You, K. H.; Kwon, O. Y.; Ro, H. K.; Jo, D. Y. & Shong, M. CXC chemokine receptor 4 expression and function in human anaplastic thyroid cancer cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 88:408-16, 2003.
- Kucia, M.; Machalinski, B. & Ratajczak, M. Z. The developmental deposition of epiblast/germ cell-line derived cells in various organs as a hypothetical explanation of stem cell plasticity? *Acta Neurobiol. Exp. (Wars)*, 66:331-41, 2006.
- Kucia, M.; Wu, W. & Ratajczak, M. Z. Bone marrow-derived very small embryonic-like stem cells: Their developmental origin and biological significance. *Dev. Dyn.*, 236(12):3309-20, 2007.

- LaBonne, C. & Bronner-Fraser, M. Neural crest induction in *Xenopus*: evidence for a two-signal model. *Development*, 125:2403-14, 1998.
- Levesque, J. P.; Hendy, J.; Takamatsu, Y.; Simmons, P. J. & Bendall, L. J. Disruption of the CXCR4/CXCL12 chemotactic interaction during hematopoietic stem cell mobilization induced by GCSF or cyclophosphamide. *J. Clin. Invest.*, 111:187-96, 2003.
- Medvinsky, A. & Dzierzak, E. Definitive hematopoiesis is autonomously initiated by the AGM region. *Cell*, 86:897-906, 1996.
- Meulemans, D. & Bronner-Fraser, M. Central role of gene cooption in neural crest evolution. *J. Exp. Zool. B Mol. Dev. Evol.*, 304:298-303, 2005.
- Montiel-Eulefi, E.; Sanchez, R.; Rojas, M. & Bustos-Obregon, E. Epiblast embryo stem cells give origin to adult pluripotent cell populations: primordial germ cell, pericytic and haematopoietic stem cells. A Review. *Int. J. Morphol.*, 27:1325-33, 2009.
- Montiel, E.; Guillomot, M.; Rojas, M.; Bustos-Obregon, E. & Flechon, J. Primordial germ cell characterization by immunohistochemistry of vasa-homologue protein in preimplantational rabbit embryos. *Int. J. Dev. Biol.*, 45:S141-2, 2001.
- Nguyen, V. H.; Trout, J.; Connors, S. A.; Andermann, P.; Weinberg, E. & Mullins, M. C. Dorsal and intermediate neuronal cell types of the spinal cord are established by a BMP signaling pathway. *Development*, 127:1209-20, 2000.
- Nichols, J. & Smith, A. The origin and identity of embryonic stem cells. *Development*, 138:3-8, 2011.
- Peled, A.; Petit, I.; Kollet, O.; Magid, M.; Ponomaryov, T.; Byk, T.; Nagler, A.; Ben-Hur, H.; Many, A.; Shultz, L.; Lider, O.; Alon, R.; Zipori, D. & Lapidot, T. Dependence of human stem cell engraftment and repopulation of NOD/SCID mice on CXCR4. *Science*, 283:845-8, 1999.
- Rich, I. N. Primordial germ cells are capable of producing cells of the hematopoietic system *in vitro*. *Blood*, 86:463-72, 1995.
- Volin, M. V.; Joseph, L.; Shockley, M. S. & Davies, P. F. Chemokine receptor CXCR4 expression in endothelium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 242:46-53, 1998.
- Wallingford, J. B. & Harland, R. M. Neural tube closure requires Dishevelled-dependent convergent extension of the midline. *Development*, 129:5815-25, 2002.
- Woda, J. M.; Pastagia, J.; Mercola, M. & Artinger, K. B. Dlx proteins position the neural plate border and determine adjacent cell fates. *Development*, 130:331-42, 2003.

Dirección para correspondencia:
Enrique Montiel Eulefi
Centro de Biotecnología en Reproducción (CEBIOR).
Montevideo 0870
CP. 4811322
Temuco.
CHILE

E-mail:emontiele@gmail.com

Recibido : 16-01-2012
Aceptado: 27-06-2012