

# INGENIERÍA DE TEJIDOS: DE LA MANO CON LOS ÁCIDOS RIBONUCLEICOS INTERFERENTES Y LA EXPRESIÓN DE PIWI

## TISSUE ENGINEERING: HAND IN HAND WITH INTERFERING RIBONUCLEIC ACIDS AND PIWI EXPRESSION

**Frida Martínez-Intriago y Dulce María Sánchez-Palacios**

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Biológicas

Licenciatura en Biotecnología

[frida.martinezi@alumno.buap.mx](mailto:frida.martinezi@alumno.buap.mx)

[dulce.sanchezp@alumno.buap.mx](mailto:dulce.sanchezp@alumno.buap.mx)

### Resumen

La ingeniería tisular es una de las nuevas ramas de la medicina que se centra en el desarrollo de tejidos y órganos completos a partir de cultivos celulares; sin embargo, las técnicas actuales no logran cubrir todas las necesidades del sistema sanitario en cuanto a trasplantes de órganos se refiere. Esto se debe en gran parte a que la creación de tejidos y estructuras biológicas *in vitro* requiere de un considerable conocimiento de la célula para garantizar su supervivencia, crecimiento y en última instancia estímulo de su funcionalidad. Los piRNAs y todas las rutas biomoleculares asociadas a PIWI representan una nueva solución a la problemática del trasplante de tejidos con base en técnicas específicas que involucren la diferenciación y la división celular como medio para la regeneración y la producción de tejidos y órganos parciales o completos.

**Palabras clave:** PIWI, piRNAs, Ingeniería de tejidos, Diferenciación celular, Células madre

## Abstract

Tissue engineering is one of the new branches of medicine that focuses on the development of whole tissues and organs from cell cultures. However, current techniques fail to meet all the requirements of the healthcare system in terms of organ transplantation since, to a large extent, the creation of tissues and biological structures *in vitro* involves extensive knowledge of the cell to ensure that it survives, grows and eventually stimulates its functionality. Accordingly, piRNAs and all the biomolecular pathways associated with PIWI represent an innovative solution to the problem of tissue transplantation based on specific techniques that involve cell differentiation and division to regenerate and create a portion of or whole tissues and organs.

**Keywords:** PIWI, piRNAs, Tissue engineering, Cell differentiation, Stem cells

## 1. Introducción

Actualmente, la pérdida de tejidos y la falla de órganos constituyen algunos de los problemas más grandes, recurrentes, costosos y devastadores para los sistemas sanitarios a nivel mundial. Además, se deben agregar los datos estadísticos por la demanda de órganos y tejidos, asociados al envejecimiento progresivo de la población y al aumento de pacientes con reportes de padecimientos o enfermedades relacionadas con la disfuncionalidad de un órgano (HRSA, 2019).

En la actualidad el tratamiento para este tipo de alteraciones se basa en los trasplantes de órganos y tejidos o en el empleo de sistemas mecánicos, como los dializadores renales o hígados bioartificiales, y aunque la cantidad de trasplantes de órganos va en aumento, en realidad la cifra de pacientes que mueren en espera de un órgano que se adecue concretamente a sus necesidades sigue siendo elevada. Desde otra perspectiva, los sistemas mecánicos nunca lograrán cumplir por completo con todas las funciones del órgano al que están supliendo, razón por la cual solamente representan una solución temporal, reduciendo de tal modo, en la mayoría de los casos, la calidad de vida del paciente.

Para tales casos, la ingeniería de tejidos se considera una alternativa para solucionar este problema de desabasto empleando técnicas que se rigen por los principios de trasplante de células, las ciencias aplicadas y la ingeniería, dando como resultado una alternativa que permite llevar a cabo el desarrollo y la creación de sustitutos biológicos que logren mantener o restituir la función normal de un tejido u órgano completo (Rogers, 2018). De esta manera, la ingeniería tisular se encarga, por ejemplo, de desarrollar biomateriales, como el desarrollo de matrices de soporte extracelular artificial que reemplazan a las naturales y proveen un espacio tridimensional para que las células puedan formar el tejido nuevo con su apropiada estructura y función.

Para poder realizar estas acciones, la ingeniería de tejidos se vale de terapias celulares, que se realizan utilizando células o tejidos adultos diferenciados. La fuente de tejido a usar (donado) puede ser heteróloga (por un individuo de otra especie), alogénica (por un individuo de la misma especie) o autóloga (por el propio paciente). Lo ideal es usar células autólogas, evitando el rechazo del organismo hacia el tejido y disminuyendo el uso de inmunosupresores (Fabres, 2010). Para esto, se toma una biopsia al propio huésped (paciente) en la parte sana del órgano o tejido afectado, las células se disocian y pueden implantarse directamente, o bien, pueden expandirse en cultivo junto con una matriz de soporte para luego ser implantadas al paciente.

Los principales obstáculos a los que se ha enfrentado el uso de terapias celulares han sido la dificultad para tomar una muestra de tamaño adecuado en un órgano que está en fase terminal de su función y la dificultad para multiplicar o amplificar células específicas *in vitro* en gran cantidad. Incluso, el día de hoy hay órganos, como el páncreas, donde ha sido casi imposible lograr expandir células autólogas primarias. Por consiguiente, se buscan alternativas más específicas que cuenten con una tasa mayor de éxito, las cuales despiertan el interés por organismos que han mostrado una capacidad autoregenerativa de sus órganos, ya sea de manera total o parcial.

Por lo anterior, se han desarrollado estudios en diferentes organismos que demuestran tener una capacidad regenerativa autónoma, como las planarias que, según estudios realizados en su genoma, contienen el gen PIWI, el cual desempeña un papel importante a nivel molecular. Existen varios estudios de estos genes que han demostrado desempeñar un papel importante en la regeneración tisular. Asimismo, se ha

comprobado experimentalmente que el silenciamiento de este gen resulta en la supresión de la capacidad regenerativa de los individuos. De la misma manera, un estudio adicional en *Drosophila* reveló que este gen existe en otros organismos, como en gusanos y, más interesante aún, en el genoma humano.

## **2. Estudios del gen PIWI en planarias y otros organismos para la comprensión de procesos de diferenciación en células somáticas, germinales y madre**

Las planarias son conocidas por su capacidad para regenerar individuos completos de partes minúsculas amputadas del cuerpo. Esta extraordinaria regeneración tisular tiene su origen en una población de células madre somáticas adultas, llamadas neoblastos, las cuales se distribuyen por todo el cuerpo planariano (Sánchez Alvarado, 2006). Se ha demostrado con anterioridad que el genoma de las planarias contiene el gen PIWI, el cual después de ser silenciado en las planarias suprimió por completo la capacidad regenerativa de éstas, lo cual comprobó que este gen en particular participa en la regeneración tisular. El gen PIWI, así como 63% de los genes de las planarias se encuentran en el genoma humano, lo cual provoca que haya un enorme interés por él, por la comprensión de los procesos regenerativos en el sistema fisiológico planariano y por el papel del gen PIWI desarrollado dentro de este (Sánchez Alvarado, 2006).

De igual modo y aunado a lo ya expuesto, ciertos estudios en organismos, como *Caenorhabditis elegans* o *Drosophila. melanogaster*, han sido igual de reveladores con respecto a las variadas, pero a su vez, muy específicas funciones del gen PIWI sobre el desarrollo celular de estos, destacando su papel en procesos de división celular de la línea germinal. Todo esto significa una llave hacia el avance de terapias con células madre pluripotenciales y el diseño de nuevas técnicas de tejidos aplicables en el sistema sanitario actual.

## **3. ¿Qué son los piRNAs y cuál es su función?**

Conocidos como ARNs asociados al gen PIWI, o por sus siglas en inglés *PIWI-interacting RNAs*, abreviado simplemente como piRNAs, son una tercera clase de ARN interferente cuya longitud promedio oscila de veinticuatro a treinta y dos nucleótidos. Entre todos los

tipos de ARN codificantes y no codificantes, los piRNA son, con mucho, los más numerosos y existen en al menos cientos de miles de especies como organismos multicelulares, principalmente en su línea germinal. Este número destaca comparado con el número total de los demás tipos de ARN conocidos por completo. La característica primordial de cualquier ARN interferente es el silenciamiento post-transcripcional de genes específicos, por lo cual los ARNs asociados al gen PIWI tienen la función de silenciar y regular en gran parte su expresión.

Lo anterior es el punto más importante y de mayor relevancia para el desarrollo de técnicas de ingeniería tisular basadas en la actividad de expresión de PIWI. El hecho de que los piRNAs controlen el silenciamiento de este gen proporciona la pauta para entender el proceso inverso por el cual se puede inducir la sobreexpresión de éste, lo que a su vez desencadena un aumento de la tasa de división de células madre.

Además, estos tipos de ARNs han sido descritos en una gran cantidad de procesos donde PIWI está involucrado, por ejemplo, están implicados en el desarrollo de la línea germinal, la regulación epigenética, el silenciamiento de transposones, el recambio de ARNm y el control de su traducción (Hsueh y Haifan, 2014). Es importante destacar que las funciones de las proteínas codificadas por PIWI y la ruta de los piRNAs han sido comprobadas en diferentes organismos, lo que sugiere que este mecanismo se conserva evolutivamente y, por lo tanto, no dista de estos mismos procesos moleculares en los seres humanos.

#### **4. ¿Qué es PIWI y cuáles son sus funciones?**

##### **4.1. Gen PIWI que codifica proteínas PIWI**

Los genes PIWI codifican las proteínas PIWI y éstas adquieren su nombre por las siglas en inglés del gen de *Drosophila* que las codifica: “testículos débiles inducidos por elemento P” (del inglés P-element Induced Wimpy testis in *Drosophila*), debido a que su identificación se realizó originalmente en un grupo de genes esenciales en el desarrollo de la línea germinal, siendo ésta una molécula perteneciente a una de las subfamilias de las proteínas Argonauta presentes en diferentes organismos eucariotas simples, como las planarias, o complejos, como los seres humanos. Diversos estudios indican que estas moléculas están sumamente relacionadas con la expresión de ciertos genes que

codifican diversas proteínas, cuya función radica en la regulación de los procesos de diferenciación de células germinales y somáticas, así como de células madre (Yuka *et al.*, 2015).

#### **4.2. Función de la proteína PIWI**

Hasta el día de hoy, a través de diferentes investigaciones se ha logrado establecer el papel de los piRNAs en la regulación de los patrones de expresión de diversos genes, entre los que destacan el gen PIWI, en las células germinales y en aquellas pertenecientes a los tejidos somáticos. Incluso existen artículos que relatan el destacado papel que éstos cumplen en cuanto a su participación en diversas funciones biológicas aunado a lo anterior, como la generación y la biología de células madre, donde estas proteínas están involucradas en la división asimétrica de la línea germinal, además de participar en la vía de biogénesis de los ácidos ribonucleicos asociados a PIWI, los patrones embrionarios, la diferenciación de células germinales, la actividad neuronal e incluso el metabolismo.

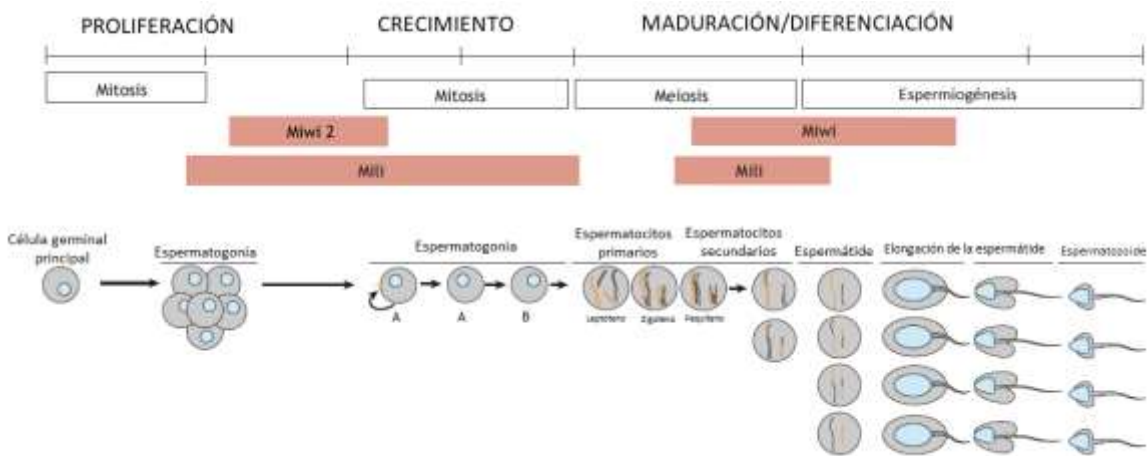
Los ARN pequeños guían las proteínas argonautas a sus objetivos específicos a través de la complementariedad de secuencia (emparejamiento de bases), que luego conduce a la escisión del ARNm o la inhibición de la traducción, tal y como se menciona en el apartado de los piRNAs.

Los piRNAs se descubrieron hace aproximadamente una década en los testículos de ratones como pequeños ARN que interactuaban con un cierto grupo de proteínas, lo que llevo al hallazgo del gen PIWI. Aunque su descubrimiento se realizó en modelos murinos, es importante mencionar que esta familia de proteínas está sumamente conservada en las diferentes especies donde se encuentran. Por lo anterior, en seres humanos se reportó la presencia de cuatro proteínas homologas de PIWI que reciben el nombre de “proteínas similares a PIWI”, las cuales son PIWIL1 (HIWI), PIWIL2 (HILI), PIWIL3 (HIWI3) y PIWIL4 (HIWI2), que han permitido llevar a cabo diversos estudios de la expresión de genes en líneas germinales y de células madre en múltiples tejidos sanos y cancerosos abriendo la brecha para hacer uso de éstos como una posible herramienta para el desarrollo de la ingeniería tisular.

### 4.3. Papel del gen PIWI en células germinales

Se ha logrado determinar que los genes PIWI controlan la formación de las células germinales. Esta afirmación parte de los resultados de diferentes análisis biológicos en los que, para determinar la importancia de estas proteínas, se hizo un silenciamiento de la expresión de éstas, lo cual causó una disminución significativa de la formación de células germinales.

Retomando la información de los homólogos de PIWI en el caso de los ratones, MILI, MIWI y MIWI2 están presentes en procesos como la espermatogénesis (Figura 1). La participación de estas moléculas depende directamente de su actividad biológica, como en el caso de MIWI, que se expresa en varias etapas de formación de espermatocitos y alargamiento de espermatozoides y que terminan su proceso de generación con la acción de MIWI2 expresada en células de Sertoli. Los ratones con deficiencias de MIWI o MIWI2 han experimentado un paro de células madre espermatogénicas y aquéllos que carecen de MIWI2 sufrieron una degradación de la espermatogonia (Ramesh, 2013).



**Figura 1.** Participación de los homólogos de PIWI, MIWI, durante la espermatogénesis de ratón, donde se observa que la expresión de las tres proteínas PIWI (en rosa) está relacionada con diferentes etapas de la diferenciación celular desde la fase de proliferación hasta la formación de la espermatídica. Imagen modificada de *The Company of Biologists* (Rojas-Ríos y Simonelig, 2018).

El ejemplo anterior comprueba que las proteínas pertenecientes a PIWI desempeñan un papel decisivo en el desarrollo y la diferenciación de las células pertenecientes a la línea

germinal, ya que desempeñan un papel importante en la viabilidad y el desarrollo de éstas, no sólo en mamíferos, sino también en organismos más simples como las planarias. En años recientes se han registrado diversos artículos que prueban que PIWI se caracteriza por presentar una funcionalidad destacable entre otras proteínas, ya que ésta cumple con la función de intervenir en dichos procesos. Estudios recientes sugieren que el papel funcional de las proteínas PIWI en la determinación de la línea germinal se debe a su capacidad para interactuar con los miRNAs (del inglés microRNAs).

En contraparte, la sobreexpresión de PIWI en las células somáticas provoca un aumento tanto en el número de células madre de la línea germinal como en la velocidad de su división, así que PIWI se considera un regulador de ambos procesos mencionados.

Finalmente, la participación de estas proteínas en las células madre ayuda a potenciar dos características importantes de éstas: la capacidad de autorrenovación y la capacidad de propagar numerosos descendientes destinados a una mayor diferenciación, por lo que PIWI representa la primera clase de genes que se requieren para la autorrenovación de células madre en diversos organismos (Cox, 2000).

#### **4.4. Relevancia de PIWI en el desarrollo de técnicas de ingeniería de tejidos**

Puesto que PIWI participa en procesos de diferenciación y desdiferenciación y en la tasa de división celular, el principio que se desea aplicar es desarrollar una técnica donde sea posible estimular la desdiferenciación y la rediferenciación y aumentar los niveles de reproducción de las células de un paciente con el fin de reparar y regenerar tejido dañado o faltante sin necesidad de recurrir a trasplantes o cultivos de tejido *in vitro*, sino de que todo el proceso se lleve *in vivo*.

Con base en lo anterior y las publicaciones de Sánchez Alvarado (2014) sobre la regeneración celular, *Rethinking Differentiation: Stem Cells, Regeneration, and Plasticity*, se puede imaginar un caso práctico donde un paciente haya sufrido una quemadura de tercer grado, así que se requeriría la regeneración total de células epiteliales y en menor medida de células musculares. El desarrollo de una técnica basada en la ruta biomolecular de PIWI nos permitiría desdiferenciar las células musculares expuestas



hasta llevarlas a un punto de células madre potenciales y, posteriormente, rediferenciarlas a células epiteliales para finalmente elevar la tasa de reproducción de éstas para que generen piel nueva en poco tiempo, sin tener que hacer una biopsia de células epiteliales sanas propias del paciente para cultivarlas *in vitro* con el propósito de llevar a cabo un trasplante.

#### **4.5. Técnicas de ingeniería de tejidos en medicina: perspectivas de PIWI**

La ingeniería de tejidos fundamentalmente utiliza células cultivadas o modificadas genéticamente en el laboratorio como material de ingeniería. En la mayoría de los casos, como se ha mencionado con anterioridad, la creación de tejidos y estructuras biológicas *in vitro* requiere de un considerable conocimiento de la célula para garantizar su supervivencia, crecimiento y, en última instancia, incentivar su funcionalidad.

Las investigaciones actuales en cuanto al papel que desempeña PIWI conducen al desarrollo de nuevas técnicas que permitan dirigir la reproducción, la desdiferenciación y la rediferenciación de las células propias del paciente para generar y sustituir tejidos y órganos dañados, disminuyendo así las pérdidas humanas causadas por la espera de un órgano de trasplante o por el propio rechazo que el organismo pueda generar hacia el tejido recibido.

### **5. Conclusión**

La medicina regenerativa es un campo en continuo crecimiento con expectativas de uso generalizado en la clínica. El desarrollo de la ingeniería tisular tiene como prioridad centrar la investigación en la biología tanto molecular como celular para reforzar y ampliar el conocimiento existente sobre el área de la desdiferenciación celular y desarrollarla como precursora de técnicas de sustitución de tejidos y órganos. El estudio del gen PIWI y los piRNAs proporciona puntos clave de entrada para dilucidar eventos moleculares que pueden hacer que los tejidos preexistentes sean aptos para restaurar partes faltantes del cuerpo después de una lesión o amputación.

En conjunto con las ramificaciones prácticas obvias e importantes para mejorar la salud humana, el estudio de la regeneración también proporciona bases fértiles y, en gran parte, inexploradas para impulsar la comprensión de los procesos moleculares y celulares básicos que rigen la función biológica.

## Referencias

- Aravin, A. A.; Naumova, N. M.; Tulin, A. V.; Vagin, V. V.; Rozovsky, Y. M. y Gvozdev, V. A. (2001). Double-stranded RNA-mediated silencing of genomic tandem repeats and transposable elements in the *D. melanogaster* germline. *Current Biology. Science Direct*. Sitio de Internet: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982201002998>.
- Ashe, A.; Sapetschnig, A.; Weick, E.-M.; Mitchell, J.; Bagijn, M. P.; Cording, A. C.; Doebley, A.-L.; Goldstein, L. D.; Lehrbach, N. J.; Le Pen, J. *et al.* (2012). piRNAs can trigger a multigenerational epigenetic memory in the germline of *C. elegans*. *Cell*, 150, 88-99. Sitio de Internet: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867412007696>.
- Cora, E.; Pandey, R. R.; Xiol, J.; Taylor, J.; Sachidanandam, R.; McCarthy, A. A. y Pillai, R. S. (2014). The MID-PIWI module of Piwi proteins specifies nucleotide- and strand-biases of piRNAs. 24 de septiembre de 2019. *Cold Spring Harbor Laboratory Press for the RNA Society*. Sitio de Internet: <https://rnajournal.cshlp.org/content/20/6/773.long>.
- Daniel N. Cox, Anna Chao y Haifan Lin. (2000). PIWI encodes a nucleoplasmic factor whose activity modulates the number and division rate of germline stem cells. 7 de octubre de 2019. *The Company of Biologists Limited*. Sitio de Internet: <https://dev.biologists.org/content/develop/127/3/503.full.pdf>.
- Daniel N. Cox, Anna Chao, Jeff Baker, Lisa Chang, Dan Qiao y Haifan Lin. (1998). A novel class of evolutionarily conserved genes defined by piwi are essential for stem cell self-renewal. 2019. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*. Sitio de Internet: <http://genesdev.cshlp.org/content/12/23/3715.short>.
- Dasaradhi Palakodeti, Magda Smielewska y Brenton R. Graveley. (2008). The PIWI proteins SMEDWI-2 and SMEDWI-3 are required for stem cell function and piRNA expression in planarians. *RNA Society*. Sitio de Internet: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2390803/?report=reader#\\_ffn\\_sectitle](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2390803/?report=reader#_ffn_sectitle).
- Health Resources and Services Administration. (2019). Estadísticas sobre la donación de órganos. <https://donaciondeorganos.gov/estadísticas-historias/r6o/estadísticas.html>.
- Hsueh-Yen Ku y Haifan Lin. (2014). PIWI proteins and their interactors in piRNA biogenesis, germline development and gene expression. 2019. *HHS AUTHOR MANUSCRIPT, National Science Review*. Sitio de Internet: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4265212/>.
- Huang, X. A.; Yin, H.; Sweeney, S.; Raha, D.; Snyder, M. y Lin, H. (2013). A Major Epigenetic Programming Mechanism Guided by piRNAs. 24 de septiembre de 2019. *Elsevier Inc*. Sitio de Internet: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23434410>.
- Julia Jehn, Daniel Gebert, Frank Pipilescu, Sarah Stern, Julian Simon, Thilo Kiefer, Charlotte Hewel y David Rosenkranz. (2018). Conserved and ubiquitous expression of piRNAs and PIWI genes in mollusks antedates the origin of somatic PIWI/piRNA expression to the root of bilaterians. 2019. *Communications Biology*. Sitio de Internet: <https://www.biorxiv.org/content/early/2018/01/19/250761.full.pdf>.
- Julia Verena Hartig, Yukihide Tomari y Klaus Förstemann. (2007). piRNAs—the ancient hunters of genome invaders. *Genes & Dev.* 21: 1707-1713. Sitio de Internet: <http://genesdev.cshlp.org/content/21/14/1707.long>.

Juliano, Celina; Wang, Jianquan y Lin, Haifan. (2011). Uniting Germline and Stem Cells: The Function of Piwi Proteins and the piRNA Pathway in Diverse Organisms. *Annual Review of Genetics*, 45, 447-469. Sitio de Internet: <https://www.proxydgb.buap.mx:2126/doi/abs/10.1146/annurev-genet-110410-132541>.

Julius Brennecke, Alexei A. Aravin, Alexander Stark, Manolis Kellis, Ravi Sachidanandam y Gregory J. Hannon. (2007). Discrete Small RNA-Generating Loci as Master Regulators of Transposon Activity in *Drosophila*. *Cell*. Sitio de Internet: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.01.043>.

Kara Rogers. (2018). Tissue engineering. Encyclopædia Britannica. Fecha de consulta: 8 de noviembre de 2019. Sitio de Internet: <https://www.britannica.com/science/tissue-engineering>.

Le Thomas, A.; Tóth, K. F. y Aravin A. A. (2014). To be or not to be a piRNA: genomic origin and processing of piRNAs. 24 de septiembre de 2019. *Genome Biology*. Sitio de Internet: <https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/gb4154>.

Patricia Rojas-Ríos y Martine Simonelig. (2018). piRNAs and PIWI proteins: regulators of gene expression in development and stem cells. 2019. *The Company of Biologists Ltd*. Sitio de Internet: <https://dev.biologists.org/content/145/17/dev161786>.

Roovers, E. F.; Rosenkranz, D.; Mahdipour, M.; Han, C. T.; He, N.; Chuva de Sousa Lopes, S. M.; van der Westerlaken, L. A.; Zischler, H.; Butter, F.; Roelen, B. A. y Ketting, R. F. (2015). Piwi proteins and piRNAs in mammalian oocytes and early embryos. 24 de septiembre de 2019. *Elsevier Inc*. Sitio de Internet: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.02.062>.

Sánchez Alvarado, A. (2006). Planarian regeneration: its end is its beginning. 1 de noviembre de 2019. *Leading Edge Essay*. Sitio de Internet: <https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0092-8674%2806%2900060-2>.

Sánchez Alvarado, A. y Yamanaka, S. (2014). Rethinking differentiation: stem cells, regeneration, and plasticity. 28 de octubre de 2019. *Leading Edge Review*. Sitio de Internet: <https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0092-8674%2814%2900282-7>.

Shane T. Grivna, Ergin Beyret y Haifan Lin. (2006). A novel class of small RNAs in mouse spermatogenic cells. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*. Sitio de Internet: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1522066/?report=reader#\\_ffn\\_sectitle](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1522066/?report=reader#_ffn_sectitle).

Sneha Ramesh Mani y Celina E. Juliano. (2013). Untangling the Web: The Diverse Functions of the PIWI/piRNA Pathway. *NIH Public Access*. Sitio de Internet: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4234069/pdf/nihms598003.pdf>.

The ENCODE Project Consortium. (2012). An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature*. Sitio de Internet: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22955616>.

V. Cecilia Fabres. (2010). Técnicas del futuro: ingeniería de tejidos y uso de células madre en medicina reproductiva. *Revista Médica Clínica Las Condes*, Vol. 21, No. 3, pp. 488-493. Sitio de Internet: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864010705629>.

Yuka W. Iwasaki, Mikiko C. Siomi y Haruhiko Siomi. (2015). PIWI-Interacting RNA: Its Biogenesis and Functions. *Annual Review of Biochemistry*, 2015, 84: 1, 405-433. Sitio de Internet: <https://www.proxydgb.buap.mx:2126/doi/pdf/10.1146/annurev-biochem-060614-034258>.