



Revista Clínica Española

www.elsevier.es/rce



ARTÍCULO ESPECIAL

Diez años desde el descubrimiento de las células iPS: estado actual de su aplicación clínica

J. Aznar* y J. Tudela

Instituto de Ciencias de la Vida, Universidad Católica de Valencia, Valencia, España

Recibido el 11 de marzo de 2016; aceptado el 17 de agosto de 2016

PALABRAS CLAVE

Células iPS;
Células troncales embrionarias;
Medicina regenerativa;
Reprogramación celular

KEYWORDS

iPS cells;
Embryonic stem cells;
Regenerative medicine;
Cell reprogramming

Resumen Al cumplirse 10 años del descubrimiento de las células pluripotenciales inducidas se revisan los principales resultados en sus distintos campos de aplicación, los obstáculos con los que se ha encontrado su experimentación, así como las posibles aplicaciones en la práctica clínica. La eficacia de las células pluripotenciales inducidas en la experimentación clínica puede equipararse a la de las células troncales embrionarias humanas, pero, a diferencia de estas, no presentan la grave dificultad ética que conlleva la necesidad de destruir embriones humanos para su obtención. El hallazgo de estas células, que constituyó en su día un verdadero hito científico merecedor de un Premio Nobel de Medicina, está hoy rodeado de luces y sombras: grandes esperanzas en la medicina regenerativa frente a riesgos aún no bien controlados de reacciones imprevisibles, tanto en los procesos de desdiferenciación como en la posterior diferenciación hacia las estirpes celulares empleadas con fines terapéuticos o de experimentación.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI). Todos los derechos reservados.

Ten years since the discovery of iPS cells: The current state of their clinical application

Abstract On the 10-year anniversary of the discovery of induced pluripotent stem cells, we review the main results from their various fields of application, the obstacles encountered during experimentation and the potential applications in clinical practice. The efficacy of induced pluripotent cells in clinical experimentation can be equated to that of human embryonic stem cells; however, unlike stem cells, induced pluripotent cells do not involve the severe

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: justo.aznar@ucv.es (J. Aznar).

ethical difficulties entailed by the need to destroy human embryos to obtain them. The finding of these cells, which was in its day a true scientific milestone worthy of a Nobel Prize in Medicine, is currently enveloped by light and shadow: high hopes for regenerative medicine versus the, as of yet, poorly controlled risks of unpredictable reactions, both in the processes of dedifferentiation and subsequent differentiation to the cell strains employed for therapeutic or experimentation goals.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI). All rights reserved.

Introducción

Pocos descubrimientos biomédicos en las últimas décadas han suscitado tantas expectativas como la consecución de las células adultas reprogramadas o células troncales pluripotentes inducidas, conocidas por sus siglas en inglés como células iPS (*induced pluripotent stem*)¹. Se obtienen células pluripotentes partiendo de células adultas de distintos tejidos que, tras ser reprogramadas genéticamente, pueden desdiferenciarse hasta un estado de pluripotencialidad semejante al de las células embrionarias, lo que permite la posterior diferenciación en distintas estirpes celulares^{2,3} (fig. 1).

A nuestro juicio, la relevancia de dicho descubrimiento no solo responde a razones biomédicas, sino también éticas, pues se presupone que las células iPS podrán sustituir en la experimentación biomédica, e incluso en la práctica clínica, a las células madre embrionarias humanas, cuyo empleo tantos problemas éticos suscita. Sin embargo, tras estos 10 años, su uso es todavía impreciso. Se han cumplido algunas expectativas, pero otras, principalmente las clínicas, están aún lejos de lograrse.

Limitaciones actuales de la investigación con células iPS

Cabría destacar la baja eficacia de las técnicas empleadas para obtener un porcentaje suficiente de células iPS, lo cual constituye una dificultad para su aplicación clínica⁴. Otra limitación es la reprogramación incompleta, dependiente del tipo de células utilizadas⁵, y los problemas de la mutagénesis derivada de la inserción de genes exógenos codificantes de factores de transcripción, que pueden producir tumores en las células utilizadas⁶; trabajos recientes persiguen mitigar este efecto⁷. Recientemente se ha paralizado un ensayo clínico para tratar la degeneración macular con células del epitelio pigmentario de la retina derivadas de células iPS obtenidas de manera autógena⁸. Tras una primera experiencia exitosa con el primer paciente tratado, en el segundo la secuenciación genética de las células iPS obtenidas reveló mutaciones en 3 genes diferentes, uno de los cuales se clasifica como oncogén en el Catálogo de Mutaciones Somáticas en el Cáncer.

¿Células iPS o troncales embrionarias humanas?

Un tema muy debatido en el ámbito científico es si las células iPS son o no similares a las troncales embrionarias humanas. En relación con ello, un trabajo reciente concluye que las células madre embrionarias humanas y las células iPS son molecular y funcionalmente equivalentes⁹. El experimento consistió en comparar a nivel transcriptómico y epigenético células iPS humanas y células embrionarias humanas generadas a partir del mismo individuo, diferenciándose células embrionarias humanas en células de la piel y reprogramándolas a células iPS para poder establecer la comparación con las células embrionarias originales. Aunque en este trabajo se parte de células genéticamente idénticas, los autores no encontraron diferencias esenciales en los patrones de expresión génica, de metilación del genoma, ni en la capacidad de diferenciación de las células troncales embrionarias y las células iPS derivadas de ellas, por lo que concluyeron que son equivalentes molecular y funcionalmente.

Campos de aplicación de las células iPS

El uso de células iPS se ha centrado en 2 objetivos. El primero, la obtención de un tipo celular relevante para determinadas enfermedades que permita realizar estudios sobre sus mecanismos fisiopatológicos *in vitro*, como alternativa a la realización de biopsias y derivación de cultivos primarios de tipos celulares diferenciados¹⁰. En este campo se han logrado objetivos concretos, pues se han obtenido células iPS procedentes de células somáticas de pacientes con más de 30 enfermedades distintas, especialmente neurológicas, cardíacas y hematológicas; sin duda, un material experimental de gran calidad.

El segundo reto es la posibilidad de derivar a partir de las células iPS, células de diversos tejidos que permitan estudiar en profundidad la patogenia y el tratamiento de diversas enfermedades^{11,12}, especialmente del área cardiológica¹³. En el área preclínica se han realizado experiencias en ratones para tratar la anemia falciforme, corrigiendo mediante terapia génica las células somáticas alteradas. A partir de las células modificadas se generaron células iPS en las que se había corregido el defecto causal, posibilitando la obtención de progenitores hematopoyéticos que se inyectaron en ratones con anemia falciforme, consiguiendo mejorar

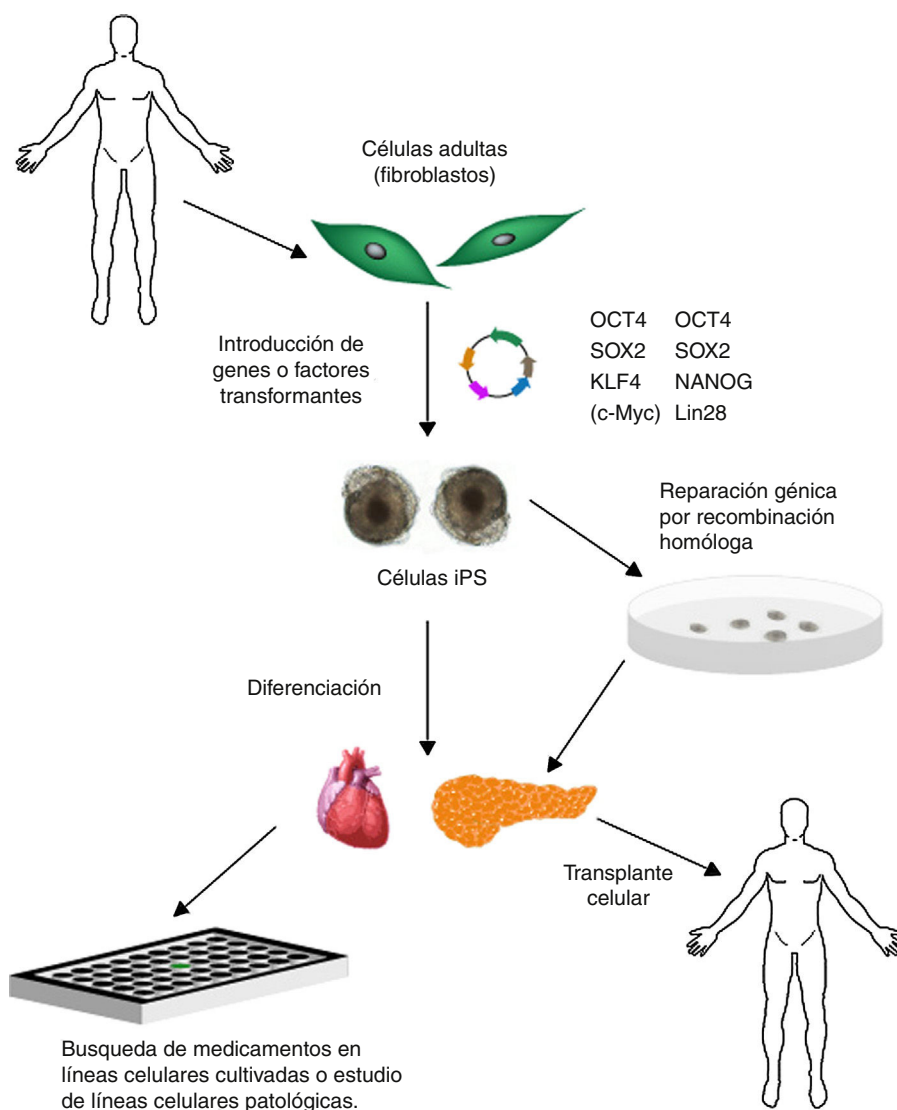


Figura 1 Esquema de la obtención de células iPS a partir de células adultas.

sensiblemente el cuadro clínico¹⁴. También se pueden producir células dopaminérgicas a partir de células iPS para tratar parkinsonismo en ratones¹⁵; o células endoteliales generadoras de factor VIII, a partir de células iPS, para el tratamiento de la hemofilia¹⁶.

Desafortunadamente, las aplicaciones clínicas de las células iPS están aún lejos de lo que se esperaba. En efecto, solamente se ha iniciado un ensayo clínico con células iPS dirigido a tratar una enfermedad ocular, la degeneración macular asociada a la edad, desarrollado en el Instituto RIKEN (Kobe, Japón)¹⁷. Como se comentó previamente, este ensayo ha sido suspendido temporalmente por la aparición de mutaciones potencialmente oncogénicas en las células reprogramadas⁸. Además, en Japón, se han introducido cambios normativos que imponen nuevas restricciones a la realización de ensayos clínicos con células pluripotentes, lo que añade barreras al uso terapéutico de las células iPS.

A pesar de la incertidumbre, se abren otros caminos que en un futuro próximo pueden ofrecer nuevas posibilidades

de uso de las células iPS. Un ejemplo sería la combinación de la reprogramación celular con la edición genética^{18,19}, utilizando una prometedora metodología conocida como *clustered regularly interspaced short palindromic repeats* o CRISPR-Cas9²⁰, que permite, de una forma más sencilla y económica que la de los procedimientos utilizados hasta ahora, modificar el genoma humano para tratar de suprimir las alteraciones causantes de enfermedad. En este sentido se podrían usar las técnicas de CRISPR-Cas9 para modificar las alteraciones genéticas que se quieren subsanar en las células iPS derivadas de las somáticas afectadas. De este modo, corregida dicha alteración sobre la célula iPS, se procedería a la diferenciación hacia la estirpe celular que será utilizada en el tratamiento; en este caso, ya libre de la anomalía genética presente en la célula somática original. Como alternativa al procedimiento CRISPR-Cas9 se pueden utilizar enzimas de restricción mediante el sistema *transcription activator-like effector nucleases* o TALEN, basado en nucleasas modificadas, que ya han sido probadas en algunos ensayos clínicos^{21,22}.

También hay nuevas expectativas en la posibilidad de producir órganos humanos en animales, que podrían contribuir a solventar su escasez para trasplantes. Hasta ahora, esto se ha conseguido en ratas, trasplantando células madre embrionarias humanas en la masa de células pluripotentes de estadios embrionarios iniciales de la otra especie (gástrula, blastocisto), de modo que prosigan en su desarrollo hasta estadios postimplantatorios²³. Sin embargo, esta práctica tiene dificultades éticas derivadas de la utilización de células embrionarias humanas, además de algunos problemas de seguridad de los ensayos realizados²⁴. Entre estos últimos cabe citar la posibilidad de que se generen neuronas humanas en el animal que formen tejido nervioso con la capacidad hipotética de crear conciencia humana; o que se generen células sexuales humanas capaces de concebir un embrión humano en el seno de un animal quimérico. El 23 de septiembre de 2015, el *National Institutes of Health* de Estados Unidos comunicó que no va a financiar este tipo de investigación, mientras que reconsidera sus normas de financiación en lo referente a la valoración ética de los ensayos propuestos, objeto de controversia en este caso²⁵. Algunos autores, no obstante, se han mostrado partidarios de continuar con estas investigaciones y critican abiertamente la decisión²⁶.

Para obviar la dificultad ética derivada de la destrucción de embriones humanos se propone sustituir las células embrionarias humanas por células iPS, que podrían utilizarse no solo para crear órganos en ratas, sino también en cerdos, lo que acercaría su uso al ser humano por el tamaño de los órganos producidos. Sin embargo, también estas experiencias suscitan importantes problemas éticos por la posibilidad de que las células iPS humanas trasplantadas originasen en el animal otros tejidos diferentes al objeto de la investigación, como células nerviosas humanas en el cerebro del animal. Ello ha propiciado que las importantes ayudas económicas para este tipo de experiencias hayan sido canceladas por las correspondientes autoridades sanitarias norteamericanas²⁴.

Perspectivas de futuro

La terapia celular usando células iPS constituye un recurso esperanzador de la medicina regenerativa, que requerirá optimizar los procesos de desdiferenciación y posterior diferenciación hacia estirpes celulares útiles en el tratamiento de algunas enfermedades. Es preciso mejorar su rendimiento y seguridad, así como el proceso de implantación en los tejidos, pues de ello pueden derivarse limitaciones en la integración y migración celular. El mayor potencial terapéutico de las células iPS se basa en su obtención a partir de células del propio paciente (autógenas), ya que los riesgos de rechazo inmunológico se evitarían. Existen propuestas de creación de bancos de células iPS, en cuyo caso el tratamiento de la compatibilidad inmunológica resultaría análogo al de los actuales trasplantes. Se hace imprescindible profundizar en el conocimiento de los mecanismos biológicos de la reprogramación celular y aquellos otros que conducen a las células indiferenciadas a transformarse en células de diferentes tejidos²⁶.

Conclusión

A los 10 años del descubrimiento de las células iPS, se da un amplio abanico tanto de logros, referidos a las nuevas posibilidades en la investigación sobre la patogenia de diferentes enfermedades y su tratamiento, como de aparentes fracasos relacionados con su aplicación clínica, que están retrasando la esperanzadora utilización en medicina regenerativa de estas células, pero que no empañan sus inmensas posibilidades en el campo biomédico experimental.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126:663–76.
2. Wilson K, Wu J. Induced pluripotent stem cells. *JAMA*. 2015;313:1613–4.
3. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131:861–72.
4. Patsch C, Challet-Meylan L, Thoma E, Urich E, Heckel T, O'Sullivan J, et al. Generation of vascular endothelial and smooth muscle cells from human pluripotent stem cells. *Nat Cell Biol*. 2015;17:994–1003.
5. Kim K, Zhao R, Doi A, Ng K, Unternaehrer J, Cahan P, et al. Donor cell type can influence the epigenome and differentiation potential of human induced pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol*. 2011;29:1117–9.
6. Selvaraj V, Plane J, Williams A, Deng W. Switching cell fate: The remarkable rise of iPS cells and lineage reprogramming technologies. *Trends Biotechnol*. 2011;28:214–23.
7. Ichida JK, Julia TCW, Williams LA, Carter AC, Shi Y, Moura MT, et al. Notch inhibition allows oncogene-independent generation of iPS cells. *Nat Chem Biol*. 2014;10:632–9.
8. Garber K. RIKEN suspends first clinical trial involving induced pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol*. 2015;33:890–1.
9. Choi J, Lee S, Mallard W, Clement K, Tagliacuzzi G, Lim H, et al. A comparison of genetically matched cell lines reveals the equivalence of human iPSCs and ESCs. *Nat Biotechnol*. 2015;33:1173–81.
10. McKernan R, Watt F. What is the point of large-scale collections of human induced pluripotent stem cells? *Nat Biotechnol*. 2013;31:875–7.
11. Tiscornia G, Vivas E, Belmonte J. Diseases in a dish: Modeling human genetic disorders using induced pluripotent cells. *Nat Med*. 2011;17:1570–6.
12. Zhu H, Lensch M, Cahan P, Daley G. Investigating monogenic and complex diseases with pluripotent stem cells. *Nat Rev Genet*. 2011;12:266–75.
13. Birket M, Ribeiro M, Verkerk A, Ward D, Leitoguinho A, den Hartogh S, et al. Expansion and patterning of cardiovascular progenitors derived from human pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol*. 2015;33:970–9.
14. Hanna J, Wernig M, Markoulaki S, Sun C, Meissner A, Cassady J, et al. Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin. *Science*. 2007;318:1920–3.
15. Wernig M, Zhao J, Pruszak J, Hedlund E, Fu D, Soldner F, et al. Neurons derived from reprogrammed fibroblasts functionally integrate into the fetal brain and improve symptoms of rats with Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:5856–61.

16. Xu D, Alipio Z, Fink L, Adcock D, Yang J, Ward D, et al. Phenotypic correction of murine hemophilia A using an iPS cell-based therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106:808–13.
17. Kamao H, Mandai M, Okamoto S, Sakai N, Suga A, Sugita S, et al. Characterization of human induced pluripotent stem cell-derived retinal pigment epithelium cell sheets aiming for clinical application. *Stem Cell Reports*. 2014;2:205–18.
18. Sun N, Yazawa M, Liu J, Han L, Sanchez-Freire V, Abilez O, et al. Patient-specific induced pluripotent stem cells as a model for familial dilated cardiomyopathy. *Sci Transl Med*. 2012;4:130ra47.
19. Hotta A, Yamanaka S. From genomics to gene therapy: Induced pluripotent stem cells meet genome editing. *Annual Rev Genet*. 2015;49:47–70.
20. Park C, Kim D, Son J, Sung J, Lee J, Bae S, et al. Functional correction of large factor VIII gene chromosomal inversions in hemophilia. A patient-derived iPSCs using CRISPR-Cas9. *Cell Stem Cell*. 2015;17:213–20.
21. Osborn MJ, Starker CG, McElroy AN, Webber BR, Riddle MJ, Xia L, et al. TALEN-based gene correction for epidermolysis bullosa. *Mol Ther*. 2013;21:1151–9.
22. Ma N, Liao B, Zhang H, Wang L, Shan Y, Xue Y, et al. Transcription activator-like effector nuclease (TALEN) mediated gene correction in integration-free β -thalassemia induced pluripotent stem cells. *J Biol Chem*. 2013;288:34671–9.
23. Wu J, Okamura D, Li M, Suzuki K, Luo C, Ma L, et al. An alternative pluripotent state confers interspecies chimaeric competency. *Nature*. 2015;521:316–21.
24. Vogel G. NIH debates human-animal chimeras. *Science*. 2015;350:261–2.
25. Sharma A, Sebastiano V, Scott CT, Magnus D, Koyano-Nakagawa N, Garry DJ, et al. Lift NIH restrictions on chimera research. *Science*. 2015;350:640.
26. Atala A, Murphy S. Regenerative medicine. *JAMA*. 2015;313:1413–4.