

Células Madre

Células Madre Embriónicas (ESC) versus Células Madre Pluripotentes Inducidas (iPSC): Ya está en juego

RESUMEN

Extraordinarios avances en investigación de células madre pluripotenciales han iniciado una era de esperanza para estrategias regenerativas de ciertas enfermedades humanas. Además células madre embriónicas, el descubrimiento de células madre pluripotentes inducidas agrandó las posibilidades de terapia con células específicas del paciente, descubrimiento de drogas y modelado de enfermedades. Aunque similares, es claro que estos dos tipos de células pluripotentes tienen diferencias significativas. En esta revisión, exploraremos el conocimiento corriente de las similitudes moleculares y funcionales y diferencias entre los dos tipos de células para enfatizar la necesidad de

la caracterización de sus propiedades como también de sus capacidades de diferenciación en el estado pluripotente. Tales estudios comparativos serán cruciales para determinar el más aprovechable tipo celular para futuras terapias basadas en células madre para enfermedades degenerativas humanas.

Key Words: *Embryonic stem cells • Induced pluripotent stem cells • Pluripotency • Disease modeling • Genome integrity • Tumorigenicity*

Palabras clave: *Células Madre Embriónicas • Células Madre Pluripotentes Inducidas • Pluripotencia • Modelamiento de enfermedades • Integridad genómica • Tumorigenicidad*

EDITORIAL

Las autoridades Facultativas en atención a las sugerencias realizadas por docentes de la facultad, con la finalidad de coadyuvar en la actualización científica de docentes y estudiantes con temas de interés científico es que toman la decisión de llegar a la comunidad facultativa con este boletín en su primer número de una publicación trimestral y hacer de la lectura una herramienta constante de superación en la reflexión, comprensión y aprendizaje de conocimiento científico en el campo de las Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas.

El devenir acelerado de la ciencia y la generación de material científico en gran volumen hace que cada día sea más difícil poder acceder a información científica seleccionada y de interés general. El campo científico, día a día requiere de actualización constante en el campo de acción que desempeña, en esta ocasión el de la Salud es uno de los más importantes toda vez que los avances referentes a tratamientos y conocimiento del gran mundo que es el cuerpo humano requiere de nuestra pronta iniciativa a que cada día logremos conocer, aprender y aplicar más conocimientos.

Las Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas son un campo de la salud que continuamente incorpora a su mundo cognitivo infinidad de nuevas aplicaciones, uso de equipos, técnicas y descubrimientos, y en este primer número de nuestro boletín "Ciencia" hemos querido compartir un tema de mucha actualidad como son las células madre, mismas que ya tienen muchas aplicaciones en estrategias regenerativas de ciertas enfermedades humanas.

Disfrutemos este Boletín Ciencia, con una serie de temáticas de actualidad de utilidad para toda la comunidad facultativa, compartamos en las aulas, pasillos y fuera de nuestra institución la información en temáticas de las Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas.

DR. TITO ESTÉVEZ MARTINI
DECANO

DR. WALTER MONTAÑO PÉREZ
VICEDECANO

PROF. DR. JUAN MIGUEL GONZÁLEZ VELASCO PH.D.
RESPONSABLE BOLETÍN

**BOLETÍN CIENCIA**

Boletín facultativo de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas

COMITÉ EDITORIAL

Dr. Tito Estevez Martini
DECANO DE LA F.C.F.B.

Dr. Walter Montaña Pérez
VICEDECANO DE LA F.C.F.B.

Dr. Gonzalo Reyes Chávez
DIRECTOR CARRERA QUÍMICA FARMACÉUTICA

Dr. Bernardo Torrico Arzady
DIRECTOR CARRERA BIOQUÍMICA

Prof. Dr. Juan Miguel González Velasco Ph.D.
RESPONSABLE DEL BOLETÍN

Informes y envío de material para publicación:
boletin@farbio.edu.bo

CIENCIA es un boletín de actualización publicado y distribuido por:
Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas
Universidad Mayor de San Andrés
D.L.: 4-3-69-13 P.O.
Av. Saavedra #2224, Miraflores
Tel.: (5912)2229021
La Paz - Bolivia
<http://www.farbio.edu.bo>

DISTRIBUCIÓN GRATUITA

Células Madre

Celulas madre embrionicas vs. celulas madre pluripotentes inducidas: Ya está en juego

Por: Puri, M y Nagi, A (2012). *Stem Cells. Concise Review - Embryonic Stem Cells versus Induced Pluripotent Stem Cells: The game is on*. *Stem Cells* 2012; 30:10-14 (www.stemcells.com)

Traducido por: Ms. Sc. Rolando S. Sánchez Montaña
Docente Titular FCFB-UMSA

INTRODUCCIÓN

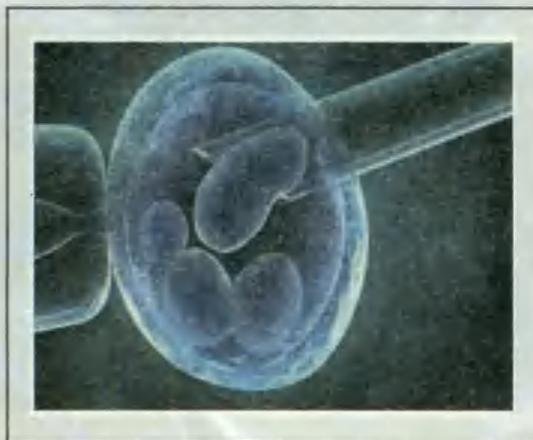
Desde el advenimiento de células madre embrionicas humanas (human embryonic stem cells, hESCs) en 1998 [1], la investigación de células madre ha estado desarrollándose a un paso asombroso. La naturaleza pluripotente de esas células les brinda la capacidad de diferenciarse en cualquier tipo de célula –incluyendo en aquellos de potencial terapéutico– y luego en prácticamente capacidad ilimitada de auto renovación al estado de células madre. Las ESCs dan enormes promesas como herramientas para entender el normal desarrollo y de enfermedad, y tan importante, para las aplicaciones terapéuticas de células para tratar enfermedades devastadoras e incurables, tales como daño de la médula espinal, enfermedades neurológicas, ceguera y diabetes tipo 1. Por otra parte, el uso de embriones humanos para derivar esas células ha encendido un diverso debate

ético en el complejo trasfondo de la historia humana, cultural y diferencias religiosas. En esta revisión, no se llegará a la discusión de cuestiones éticas pero se enfocará más sobre la potencial de las células pluripotentes en general para curar enfermedades y eliminar el sufrimiento humano.

Siguiendo la caracterización de las primeras líneas hESC a finales de los 90, protocolos estándar fueron desarrollados para futuras aplicaciones, entre ellos la manutención de esas células en ausencia de componentes de cultivo derivados de animales. Además, guiados por lo conseguido en décadas de investigación en genética molecular de desarrollo de mamíferos, muchos protocolos detallados han emergido para reproducir la generación de poblaciones enriquecidas de varias líneas celulares diferenciadas de ratón y humano, incluyendo neuronas, cardiomiocitos y células hematopoyéticas (2). Numerosos estudios preclínicos en animales han demostrado que los derivados diferenciados de ESCs pueden proveer reemplazos para asumir funciones en tejidos enfermos, tales como para la enfermedad de

Parkinson (3), y rasgos clínicos que son corrientemente sanados por terapia celular basada en hESC para daños en médula espinal y degeneración macular, en los EE.UU. y Reino Unido.

Seis años atrás, Takahashi y Yamanaka asombraron al mundo por mostrar que la expresión forzada de 4 factores transcripción clave Oct4, Sox2, Klf4, and c-Myc, pueden reprogramar células somáticas de ratón tales como fibroblastos a la pluripotencia, y lograr un potencial similar de desarrollo como ESCs, sin el requerimiento de un embrión [5]. Llamaron a estas nuevas células como “células madre pluripotentes inducidas o iPSCs”. Un año más tarde, varios grupos, incluyendo el de Yamanaka, informaron la exitosa generación de iPSCs a partir de células somáticas humanas [6, 7]. Con este adelanto, se inició una carrera. La expectativa de que las iPSCs ofrecieran el mismo potencial terapéutico como las hESCs y



el robusto método reproductor de derivados de iPSCs se han generado cientos de estudios sobre modelos in vitro de enfermedades y estrategias preclínicas de terapia celular en modelos animales. En efecto, las líneas celulares iPSC se han generado a partir de pacientes con varios trastornos genéticos monoalélicos y complejos (revisado en [8]). Estos acontecimientos han llevado este campo un paso más cerca a las promesas de la esperanza de modelos in vitro de las enfermedades, pruebas específicas de tratamiento farmacológico de enfermedades y, en algunos casos individualizados a la terapia de reemplazo celular. Se han informado varios ejemplos en el trastorno patológico en enfermedades específicas donde está implicada la diferenciación de tipos de células iPSCs, y por lo tanto, esta tecnología es particularmente atractiva para las enfermedades en las que los modelos animales no están disponibles o no representan con exactitud a la etiología de la enfermedad en humanos.

Entonces surge la siguiente pregunta: ¿pueden las iPSCs reemplazar a las ESCs en aplicación clínica y modelado de

enfermedad? Aunque todos nosotros probablemente esperaríamos un "sí", es evidente que no estamos aún en condiciones de responder a esta pregunta, a pesar de la inédita velocidad de desarrollo del área de investigación de las iPSC. Nuestra comprensión de las características completas de las iPSCs y los detalles del mecanismo de la reprogramación de la pluripotencialidad están lejos de estar completos [9]. Aunque varios análisis indican que las iPSCs comparten muchas propiedades clave de las ESCs, como la morfología, pluripotencialidad, auto-renovación, y perfiles similares de expresión génica, hay muchos ejemplos publicados que señalan sus diferencias. Existe una urgente necesidad para dar más luz sobre los complejos campos en la seguridad, la eficacia, cobertura económica, y la enfermedad asociada para el uso clínico de estos nuevos y emocionantes tipos de células pluripotentes. En el actual estado de los conocimientos, se promueve la idea de que en paralelo, se requieren estudios sobre las iPSCs y las ESCs, incluyendo la caracterización detallada de los mecanismos de la pluripotencialidad y la diferenciación para hacer efectiva la promesa de las terapias basadas en células madre en enfermedades humanas.

INTEGRIDAD DEL GENOMA

Durante la expansión y paso prolongados, las líneas de hESC fre-

cuentemente adquieren cariotipos anormales tales como la trisomía 12 y 17 [10, 11], así como la amplificación génica en 20q11.21, que se ha asociado con la transformación oncogénica [12, 13]. Líneas de iPSC también son sometidas a fuerzas selectivas similares, resultando en cultivos celulares con frecuencia de adaptación en que se manifiesta anomalías del cariotipo [14]. En este sentido, las ESC e iPSCs probablemente son equivalentes.

El origen celular diferente, sin embargo, podría tener importantes diferencias entre estos dos tipos de células madre pluripotentes. Las ESCs derivan de la masa celular interna de un blastocito en etapa de embrión antes que se separen en el soma y los linajes de células germinales. Las iPSCs, sin embargo, se derivan de las células somáticas.

Fue August Weismann quien en 1889 reconoció por primera vez que en la mayoría de los organismos, los linajes de células somáticas y germinales se separan muy temprano en el desarrollo y destacó las consecuencias evolutivas de

esta separación [15]. Weismann postuló que la información hereditaria se mueve sólo desde las células germinales a las células somáticas. La dirección inversa, de la línea somática a la línea germinal, sería imposible. Además, el genoma del linaje celular germinal se pasa a la nueva generación y a este respecto es inmortal. Por otra parte, el genoma de las células somáticas es mortal, ya que se interrumpe con la muerte del organismo. Por lo tanto, las mutaciones generadas en el soma no están sometidas a las fuerzas evolutivas selectivas, tales como selección natural o deriva genética. En su lugar, el genoma de la célula germen inmortal sigue estando en su mayoría encerrado en el linaje de células germinales con un breve paso por las etapas muy tempranas de desarrollo (previo a la implantación y postimplantación temprana en ratones y humanos), antes de la separación de línea germinal y somática (Fig. 1).

Como las fuerzas evolutivas selectivas actúan sólo sobre las mutaciones en el genoma de la línea germinal, la expectativa es que la fuerza de protección de la integridad del genoma, podría ser diferente entre la línea germinal y somática. Una protección putativa diferenciada del genoma podría tener consecuencias significativas en cuanto a la integridad del genoma de las ESCs frente a las iPSCs. Las ESCs derivadas de la masa celular interna del blastocito nunca

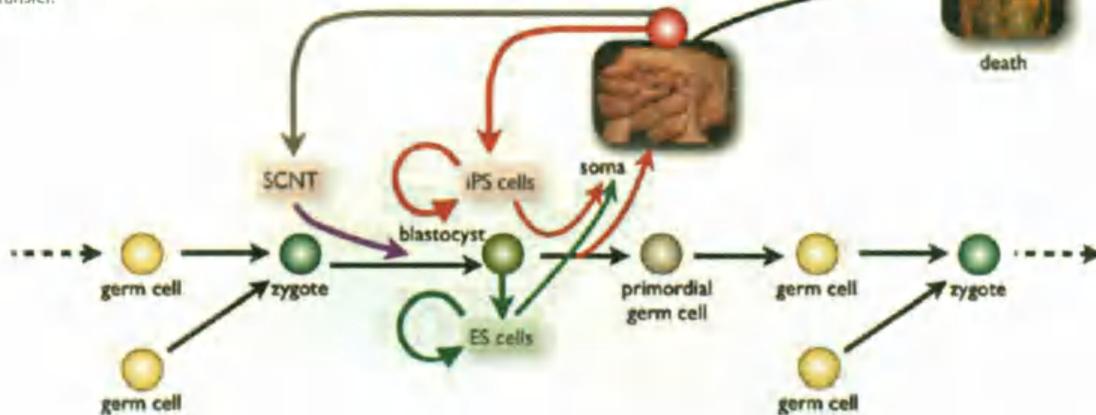


han tenido un viaje por la etapa del soma.

La transferencia nuclear de célula somática en ranas (SCNT, Somatic Cell Nuclear Transfer) de John Gurdon mostró que con la manipulación experimental es posible devolver el genoma de una célula somática a la línea germinal [16]. Este descubrimiento fue seguido más tarde con éxito en ovejas [17], ratones [18], y numerosas especies agrícolas [19]. La SCNT reprograma el genoma de la célula somática en una célula en estado totipotente (Fig. 1). La SCNT se ha convertido en un procedimiento de rutina para muchas especies de mamíferos, y se ha hecho evidente que los animales clonados sufren un mayor riesgo de anomalías que van desde la muerte prenatal al desarrollo alterado [20]. Todavía no está del todo claro qué proporción de estas anomalías se debe a la reprogramación epigenética incompleta o debido a cambios genéticos permanentes que se producen durante el desarrollo somático de las células o durante el proceso de reprogramación (ver más abajo).

FIGURA 1

Schematic representation of the germ-soma conflict theory of August Weismann and the journey of the ES, IPS and the SCNT cell genome. The black arrows show the journey of the genome in the germ line, Red and green arrows show where iPSCs and ESCs could acquire genetic alterations, respectively. The semicircle arrows show the self-renewal/expansion of iPSCs and ESCs. Purple arrow represents the reprogramming after SCNT. Abbreviations: ESCs, embryonic stem cells; iPSCs, inducible pluripotent stem cells; SCNT, somatic cell nuclear transfer.



La generación de iPSCs mediante la reprogramación usando expresión forzada de un número finito de factores de transcripción es similar a este respecto. El genoma de células somáticas completamente diferenciadas pluripotenciales incluye teóricamente la competencia de la línea germinal (Fig. 1). Por lo tanto, las iPSCs pueden adquirir alteraciones genéticas en dos fases adicionales: durante la reprogramación somática y la diferenciación. Es probable que ninguna de estas fases haya desarrollado mecanismos para proteger el genoma de respuesta a la presión evolutiva.

Varios estudios recientes han demostrado que el proceso de la reprogramación conduce a la inestabilidad genómica y anomalías genómicas, con una proporción notable de las lesiones conocidas en la cartografía cromosomal en loci causantes de cáncer [14, 21, 22]. La reprogramación provoca variaciones genómicas en número de copias (CNV, Copy Number Variations) que se producen muy temprano en el cambio a iPSC provocando mutaciones y una población de iPSC mosaico [21, 22]. Durante el paso, las iPSCs sufren una fuerte presión de selección contra la mayoría de las mutaciones y logra una carga similar al CNV de las ESCs. Sin embargo, las hiPSCs contienen mutaciones de novo que no se detectan en las hESCs, lo que sugiere que ciertas mutaciones son seleccionadas y son ventajosas para la reprogramación [14, 21, 22]. Tomando en conjunto, los datos disponibles sugieren que las células reprogramadas tienen un mayor riesgo de acumular mutaciones genómicas perjudiciales. Además, cuando la reprogramación de los factores que no son silenciados, las iPSCs están predisuestas a una inestabilidad genómica [23]. Estos hallazgos subrayan un requisito crítico para la caracterización detallada de la integridad del genoma de las iPSCs en comparación a las ESCs y el genoma humano para una correcta interpretación de resultados experimentales utilizando estas líneas

celulares, y también para aplicaciones seguras de futuros tratamientos terapéuticos.

REGULACIÓN GENÉTICA Y EPIGENÉTICA DE EL ESTADO PLURIPOTENTE

Las comparaciones de iPSCs y ESCs han indicado que las principales características del epigenoma de ESC se reproducen en las iPSCs, incluyendo los patrones de metilación del genoma a escala y el establecimiento marcadores bivalentes de histonas loci específicos [24-26]. Sin embargo, algunos análisis de la reprogramación de células de ratón han mostrado que las diferencias en la expresión génica y potencial de diferenciación se observan específicamente en estados tempranos de las iPSCs y han dado lugar al concepto de que una "memoria epigenética" de previo destino persiste en estas células [27-31]. La memoria epigenética se ha atribuido a la eliminación incompleta de la metilación del DNA célula específica somática en las regiones próximas de las islas CpG conocidas como las "playas" [28, 32]. El patrón de metilación del DNA residual y la expresión resultante de genes de la célula somática de origen se pierden durante el paso continuo de serie de derivados de las iPSCs y después del tratamiento con inhibidores moleculares de la actividad de la ADN metiltransferasa [28, 29] lo que sugiere que la memoria epigenética también identifica las células que no están completamente reprogramadas. Por otro lado, estos hallazgos sugieren que el tipo de célula de origen podrían afectar los resultados de modelización de enfermedades como las iPSCs muestran distintas características celulares y moleculares basadas en el tipo de célula de origen. Sin embargo, se ha observado que esta propiedad puede mejorar las perspectivas de generación de algunos tipos de células para la terapia de sustitución celular, en particular para aquellos que son difíciles de generar por diferenciación de

las ESC, incluyendo la insulina que producen las células beta del páncreas [27].

EXPRESIÓN GENÉTICA

De acuerdo con la similitud epigenética de los dos tipos de células pluripotentes, el análisis comparativo del transcrito utilizando "microarrays" también indican que las hESCs y las iPSCs son muy parecidas a escala global, con los mismos patrones de expresión génica pero diferente de las células somáticas [9]. Las células iPSCs pueden retener, sin embargo, una firma única de la expresión génica, incluyendo la de microRNAs y RNA grandes no codificantes [33-37]. Además, algunos estudios han señalado que algunas diferencias transcripcionales también se puede atribuir a la expresión latente de los cuatro factores de reprogramación, a los antecedentes genéticos y a las diferencias de las condiciones del microambiente *in vitro* y condiciones de manipulación en diferentes laboratorios [24, 38]. Estos hallazgos sugieren un análisis detallado colectivo y la normalización de los protocolos de reprogramación y cultivo de células para validar la importancia biológica de las pequeñas variaciones en la expresión génica observada entre las iPSCs y las ESCs.



POTENCIAL DE DESARROLLO VERSUS RIESGO DE ENFERMEDADES

Como las ESC de ratón tienen la capacidad de generar un ratón adulto normal en todo, se considera como el "gold standard" contra el cual todos los otros tipos de células son comparados con respecto a la pluripotencia. La capacidad de contribución significativa de las quimeras se considera la prueba más rigurosa de la pluripotencialidad de las iPSCs ratón. Curiosamente, los datos disponibles sugieren que, en comparación con las ESC, sólo un pequeño porcentaje de las líneas celulares de ratón iPS pueden contribuir a quimeras fuertes o muy pocas veces forman completamente animales derivados de las iPSC de embriones de complementación tetraploide [39]. Además, los primeros estudios sobre ratones quiméricos derivados de las iPSC han demostrado que eran propensos al cáncer y atribuye esta propiedad a la reexpresión del factor reprogramante *c-myc* [40]. *C-myc* es un oncogén bien estudiado y la expresión

de los otros tres factores de reprogramación se ha asociado con varias formas de cáncer humano [41]. Por esta razón, los esfuerzos que se han hecho son considerables para encontrar métodos de reprogramación que no requieran permanentes integraciones de transgenes. Durante los últimos 3 años, varios de estos métodos se han desarrollado utilizando adenovirus, el transposón piggyBac, así como la transducción directa de proteínas entre otros [42].

La pluripotencia de las ESC y de las iPSCs, se ha definido por la capacidad de diferenciación en tejidos de las tres capas germinales. También se evaluó mediante el ensayo de teratoma vivo, la única prueba de pluripotencialidad disponible para el estudio de células pluripotentes humanas.

La caracterización patológica de los teratomas en ratones inmunodeficientes recientemente ha revelado diferencias sorprendentes entre las hESCs y las iPSCs. Teratomas inducidos por las iPSC eran más agresivos, con una latencia inferior a las ESCs y frecuentemente contenían áreas con más características agresivas de teratocarcinoma [43]. Queda por determinar si estas características patológicas pueden ser directamente atribuidas a alteraciones a nivel del genoma durante la reprogramación y el paso prolongado *in vitro*. Análisis recientes sugieren que la capacidad pluri-

potente y tumorigénica de las ESC pueden regirse por vías diferentes de señalización celular [44], una propiedad que muy probablemente también se aplica a las iPSCs. Esto requiere un profundo conocimiento molecular de las diferencias entre las ESC y las iPSCs con respecto a su potencial de desarrollo y el riesgo de mal comportamiento si sus derivados se injertan en un individuo.

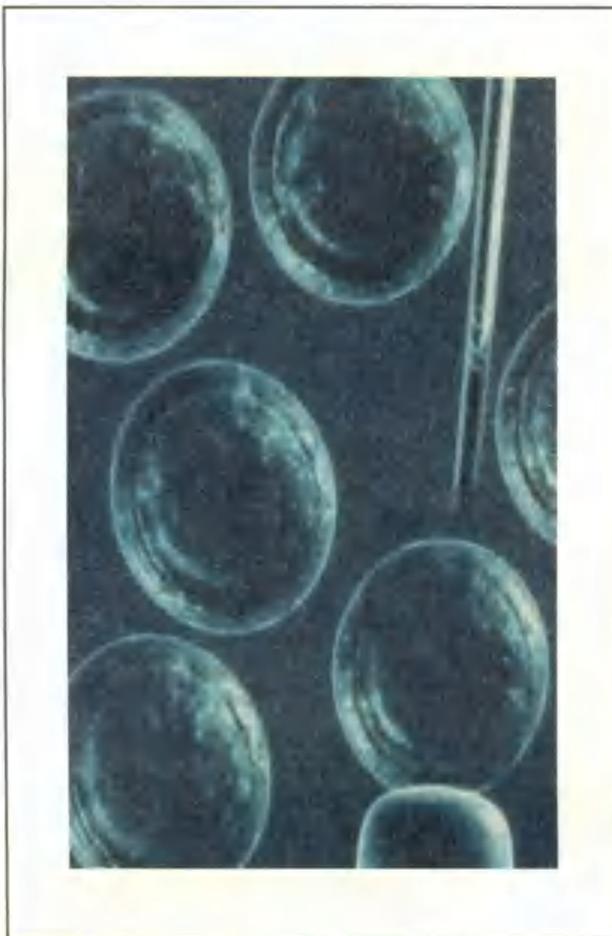
Irónicamente, la enorme proliferación y potencial de diferenciación de tejido de las iPSCs y las ESCs *in vivo* se considera que es uno de sus principales obstáculos para su uso clínico. Por ejemplo, la formación de tumores tipo teratoma se observó en una de las pruebas para la eficacia de las hESCs en un modelo de ratón para la enfermedad de Parkinson e interfirió con la capacidad de las células injertadas para restaurar la función neuronal dopaminérgica [3]. Además, un estudio de la formación de teratoma por tejido injertado neural obtenido de iPSCs que fueron derivadas de diferentes fuentes celulares y con diferentes métodos

ha identificado otro aspecto importante de seguridad de la terapia celular. La formación de tumores se correlacionó positivamente con sólo la presencia residual de células no diferenciadas pero, curiosamente, no con la presencia de c-myc o con otras variables en el proceso de derivación de iPSC [45]. Estos informes demuestran que la eliminación de las células pluripotentes residuales es un gran desafío y un problema que es igual de potente que las ESC como para las iPSCs. Con los protocolos actuales, es muy difícil producir poblaciones completamente puras de derivados diferenciados de cultivos de ESC o de iPSC para trasplante. En el futuro se tendrá que considerar, la estricta separación de células basadas en marcadores de superficie, o el agotamiento de células no diferenciadas, o modificaciones en poblaciones de partida de iPSC o poblaciones de ESC que permitan la eliminación de células no diferenciadas in vivo.

DIFERENCIACIÓN Y MODELADO DE ENFERMEDADES

Para aplicaciones clínicas, la reprogramación es el primer paso para que el objetivo final sea la diferenciación reproducible y el máximo enriquecimiento de los linajes celulares específicos. Mientras que esta propiedad se establece para las ESC, aunque aún con barreras técnicas, estudios muy recientes han comenzado a abordar la capacidad de diferenciación de las iPSCs humanas y la funcionalidad de sus derivados diferenciados. Aunque múltiples protocolos se han desarrollado para obtener tipos de células específicas in vitro, existe una variabilidad considerable en la eficiencia de la generación de linajes diferenciados entre líneas independientes de hESC y de iPSCs [46]. La producción de células hemangioblásticas y otros derivados se produjo a una eficiencia mucho menor a partir de hiPSCs que de hESCs [47]. De manera similar, la diferenciación de hiPSCs a linajes neuronales a una frecuencia mucho más baja que las ESC es independiente de los promedios de derivación [48]. La firma molecular de iPSCs puede estar influenciada por el tipo celular de origen, y en un caso, puede explicar este sesgo en el potencial de diferenciación [27]. Se ha observado una senescencia prematura de células endote-

liales diferenciadas y de epitelio pigmentario de la retina a partir de iPSCs [49, 50] lo que sugiere que la progenie diferenciada de iPSCs también puede mostrar importantes diferencias funcionales que podrían menoscabar su utilidad terapéutica. Así, es importante tener en cuenta que las características genéticas o epigenéticas que afectan a las iPSCs durante la diferenciación también podría hacerlo después del trasplante, generando células con patrones de expresión genéticas o características fenotípicas que son diferentes de los trasplantes derivados de ESC.



CONCLUSIONES

Líneas celulares permanentes de las ESC y las iPSCs pluripotentes y nuestra creciente capacidad para dirigir su derivación en cualquier tipo de célula es una gran promesa del potencial terapéutico para la medicina regenerativa del futuro. Las ESC se considera como el estándar de oro de la pluripotencia, mientras las iPSCs ofrecen el desarrollo de células a partir de cualquier individuo adulto, lo cual ofrece la posibilidad de curar enfermedades degenerativas devastadoras utilizando células o injertos de tejido con histocompatibilidad perfecta. Este potencial requiere un esfuerzo para caracterizar y comparar la naturaleza de estos tipos celulares pluripotentes en gran detalle. Sólo esos estudios profundos nos puede dar una idea suficiente de la potencialidad, eficacia y la seguridad de llegar a la decisión de cuál será la más favorable para las futuras aplicaciones clí-

nicas. En el estado actual de los conocimientos, no estamos en condiciones de tomar tal decisión. El juego entre las ESC y las iPSCs todavía no tiene ninguna indicación evidente de cual será la ganadora.

AGRADECIMIENTOS

Damos las gracias a Kristina Nagy, Tonge Pedro, y Samer Hussein por la información valiosa sobre el manuscrito. Los autores agradecen el apoyo de la Red de Células Madre (Canadá) y el Ministerio de Ontario de Ciencias de la Investigación y la Innovación, el Programa de Genoma y Vida (GL2).

DIVULGACIÓN DE CONFLICTOS DE INTERÉS. Los autores indican que no hay conflictos de interés potenciales.

REFERENCIAS

- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282:1145–1147.
- Murry CE, Keller G. Differentiation of embryonic stem cells to clinically relevant populations: Lessons from embryonic development. *Cell* 2008;132:661–680.
- Bjorklund LM, Sánchez-Pernaute R, Chung S et al. Embryonic stem cells develop into functional dopaminergic neurons after transplantation in a Parkinson rat model. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:2344–2349.
- Aboody K, Capela A, Niazzi N et al. Translating stem cell studies to the clinic for CNS repair: Current state of the art and the need for a Rosetta Stone. *Neuron* 2011;70:597–613.
- Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006;126:663–676.
- Park I-H, Zhao R, West JA et al. Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. *Nature* 2007;451:141–146.
- Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007;131:861–872.
- Wu SM, Hochedlinger K. Harnessing the potential of induced pluripotent stem cells for regenerative medicine. *Nat Cell Biol* 2011;13:497–505.
- Plath K, Lowry WE. Progress in understanding reprogramming to the induced pluripotent state. *Nat Rev Genet* 2011;12:253–265.
- Baker DEC, Harrison NJ, Maltby E et al. Adaptation to culture of human embryonic stem cells and oncogenesis in vivo. *Nat Biotechnol* 2007;25:207–215.
- Draper JS, Smith K, Gokhale P et al. Recurrent gain of chromosomes 17q and 12 in cultured human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2003;22:53–54.
- Lefort N, Feyeux M, Bas C et al. Human embryonic stem cells reveal recurrent genomic instability at 20q11.21. *Nat Biotechnol* 2008;26:1364–1366.
- Spits C, Mateizel I, Geens M et al. Recurrent chromosomal abnormalities in human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2008;26:1361–1363.
- Maysyar Y, Ben-David U, Lavon N et al. Identification and classification of chromosomal aberrations in human induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 2010;7:521–531.
- Weissman A. *Essays Upon Heredity and Kindred Biological Problems*. Oxford: Clarendon Press, 1889.
- Gurdon JB, Elsdale T, Fishberg M. Sexually mature individuals of *Xenopus laevis* from the transplantation of single somatic nuclei. *Nature* 1958;182:64–65.
- Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J et al. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997;385:810–813.
- Wakayama T, Perry AC, Zuccotti M et al. Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature* 1998;394:369–374.
- Vajta G, Gjerris M. Science and technology of farm animal cloning: State of the art. *Anim Reprod Sci* 2006;92:211–230.
- Wilmut I, Beaujean N, de Sousa PA et al. Somatic cell nuclear transfer. *Nature* 2002;419:583–586.
- Hussein SM, Batada NN, Vuorio S et al. Copy number variation and selection during reprogramming to pluripotency. *Nature* 2011;470:58–62.
- Laurent LC, Ulitsky I, Slavin I et al. Dynamic changes in the copy number of pluripotency and cell proliferation genes in human ESCs Puri and Nagy 13 www.StemCells.com and iPSCs during reprogramming and time in culture. *Cell Stem Cell* 2011;8:106–118.
- Ramos-Mejia V, Munoz-Lopez M, Garcia-Perez JL et al. iPSC lines that do not silence the expression of the ectopic reprogramming factors may display enhanced propensity to genomic instability. *Cell Res* 2010;20:1092–1095.
- Guenther MG, Frampton GM, Soldner F et al. Chromatin structure and gene expression programs of human embryonic and induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 2010;7:249–257.
- Lister R, Pelizzola M, Kida YS et al. Hotspots of aberrant epigenomic reprogramming in human induced pluripotent stem cells. *Nature* 2011;470:68–73.
- Meissner A. Epigenetic modifications in pluripotent and differentiated cells. *Nat Biotechnol* 2010;28:1079–1088.
- Bar-Nur O, Russ HA, Efrat S et al. Epigenetic memory and preferential lineage-specific differentiation in induced pluripotent stem cells derived from human pancreatic islet beta cells. *Cell Stem Cell* 2011;9:17–23.
- Kim K, Doi A, Wen B et al. Epigenetic memory in induced pluripotent stem cells. *Nature* 2010;467:285–290.
- Polo JM, Liu S, Figueroa ME et al. Cell type of origin influences the molecular and functional properties of mouse induced pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol* 2010;28:848–855.
- Ghosh Z, Wilson KD, Wu Y et al. Persistent donor cell gene expression among human induced pluripotent stem cells contributes to differences with human embryonic stem cells. *PLoS One* 2010;5:e8975.
- Marchetto MCN, Yeo GW, Kainohana O et al. Transcriptional signature and memory retention of human-induced pluripotent stem cells. *PLoS One* 2009;4:e7076.
- Doi A, Park I-H, Wen B et al. Differential methylation of tissue- and cancer-specific CpG island shores distinguishes human induced pluripotent stem cells, embryonic stem cells and fibroblasts. *Nat Genet* 2009;41:1350–1353.
- Mikkelsen TS, Hanna J, Zhang X et al. Dissecting direct reprogramming through integrative genomic analysis. *Nature* 2008;454:49–55.
- Chin MH, Mason MJ, Xie W et al. Induced pluripotent stem cells and embryonic stem cells are distinguished by gene expression signatures. *Cell Stem Cell* 2009;5:111–123.
- Loewer S, Cabili MN, Guttman M et al. Large intergenic non-coding RNA-ROR modulates reprogramming of human induced pluripotent stem cells. *Nat Genet* 2010;42:1113–1117.
- Stadtfeld M, Apostolou E, Akutsu H et al. Aberrant silencing of imprinted genes on chromosome 12qF1 in mouse induced pluripotent stem cells. *Nature* 2010;465:175–181.
- Wilson KD, Venkatasubrahmanyam S, Jia F et al. MicroRNA profiling of human-induced pluripotent stem cells. *Stem Cells Dev* 2009;18:749–757.
- Newman AM, Cooper JB. Lab-specific gene expression signatures in pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 2010;7:258–262.
- Zhao XY, Li W, Lv Z et al. iP5 cells produce viable mice through tetraploid complementation. *Nature* 2009;461:86–90.
- Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature* 2007;448:313–317.
- Ben-David U, Benvenisty N. The tumorigenicity of human embryonic and induced pluripotent stem cells. *Nat Rev Cancer* 2011;11:268–277.
- Gonzalez F, Boue S, Belmonte JCI. Methods for making induced pluripotent stem cells: Reprogramming a la carte. *Nat Rev Genet* 2011;12:231–242.
- Gutierrez-Aranda J, Ramos-Mejia V, Bueno C et al. Human induced pluripotent stem cells develop teratoma more efficiently and faster than human embryonic stem cells regardless the site of injection. *Stem Cells* 2010;28:1568–1570.
- Li Y, Yokohama-Tamaki T, Tanaka TS. Short-term serum-free culture reveals that inhibition of Gsk3b induces the tumor-like growth of mouse embryonic stem cells. *PLoS One* 2011;6:e21355.
- Miura K, Okada Y, Aoi T et al. Variation in the safety of induced pluripotent stem cell lines. *Nat Biotechnol* 2009;27:743–745.
- Osafune K, Caron L, Borowiak M et al. Marked differences in differentiation propensity among human embryonic stem cell lines. *Nat Biotechnol* 2008;26:313–315.
- Feng Q, Lu S-J, Klimanskaya I et al. Hemangioblastic derivatives from human induced pluripotent stem cells exhibit limited expansion and early senescence. *Stem Cells* 2010;28:704–712.
- Hu BY, Weick JP, Yu J et al. Neural differentiation of human induced pluripotent stem cells follows developmental principles but with variable potency. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:4335–4340.
- Narsinh KH, Sun N, Sanchez-Freire V et al. Single cell transcriptional profiling reveals heterogeneity of human induced pluripotent stem cells. *J Clin Invest* 2011;121:1217–1221.
- Kokkinaki M, Sahibzada N, Golestaneh N. Human induced pluripotent stem-derived retinal pigment epithelium (RPE) cells exhibit ion transport, membrane potential, polarized vascular endothelial growth factor secretion, and gene expression pattern similar to native RPE. *Stem Cells* 2011;29:825–835.

NOTA: AL SER UNA TRADUCCIÓN EL MANEJO DE CITA Y REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA SE MANTIENE DE LA FUENTE ORIGINAL