

Uso clínico y ético de las células madre pluripotentes inducidas

1. Introducción. ¿Qué son las células madre?

Las llamadas células madre son aquellas que tienen tres propiedades que las hacen distintas a otras células de un organismo. En primer lugar son células indiferenciadas, es decir no tienen las características fenotípicas de las células propias de cada tejido de un organismo adulto. En segundo lugar, se auto-perpetúan, es decir se pueden dividir para producir células idénticas a la original de manera indefinida. En tercer lugar, son capaces, en determinadas condiciones fisiológicas naturales o experimentales, de dar lugar a otras células que producirán líneas celulares ya diferenciadas o especializadas para una función determinada. Las células madre tienen la posibilidad de realizar una división asimétrica para dar lugar a una célula que sea réplica de la original y otra con la capacidad de diferenciarse. [1; 2; 3]

El cigoto es la primera célula del organismo y, por tanto, la que da origen a las demás, la madre de todas. Se habla de células madre de origen embrionario y células madre provenientes de tejidos específicos o células madre adultas. A partir de las células madre se ha logrado obtener en el laboratorio diversos tipos de células, desde células sanguíneas hasta neuronas, lo que ha llevado a plantear la posibilidad de curar, con ellas, diversas enfermedades.

Según su capacidad de diferenciación para originar tejidos especializados las células madre pueden ser:

- Totipotentes: dan origen tanto al embrión completo como a los tejidos extraembrionarios. Pueden originar un individuo completo como sucede con el cigoto que se implanta en el útero.
- Pluripotentes: dan origen a tejidos de las tres capas embrionarias: ectodermo, mesodermo y endodermo. Así sucede con la masa celular interna del blastocisto, cuyas células pueden dar lugar a todos los tipos de células somáticas y germinales, si se inyectan en un blastocisto, pero no originan el trofoectodermo. De esta masa celular interna se originan las células madre embrionarias.

- Multipotentes: dan origen a líneas celulares de una sola capa embrionaria. Las células madre adultas se suelen considerar multipotentes pero va habiendo pruebas de una mayor plasticidad. En realidad en el desarrollo embrionario se va gradualmente perdiendo la potencialidad: las células multipotentes proceden de las pluripotentes.
- Unipotentes: dan lugar a una línea celular: un solo tipo de células diferenciadas, pues han perdido la plasticidad para originar otros tejidos y tienen lo que se denomina *compromiso de linaje*. No obstante, se va comprobando que algunas de ellas conservan su pluripotencia. [4; 5]

Hay autores que sólo hablan de totipotencialidad y de células progenitoras o precursoras con distinto grado de indiferenciación. [6; 7]

Actualmente las células madre son utilizadas en algunas pocas terapias ya probadas como enfermedades hematológicas, inmunitarias y tumorales [8]; trasplante de células madre del limbo corneal para reparar úlceras [9]; terapia con células madre mesenquimales para tratar la enfermedad de injerto contra huésped en niños [10]; terapia con células madre derivadas de adipocitos expandidos alogénicos (Cx601) en pacientes con enfermedad de Crohn y fistulas perianales. [11] Pero también, como hemos puesto de manifiesto recientemente en un artículo de investigación, se ofertan terapias que aún no han sido fehacientemente demostradas, lo que constituye una falta ética importante. [12]

2. Un nuevo tipo de células madre pluripotentes: las células madre pluripotentes inducidas (iPSCs).

En 2006 surgió una nueva técnica que tiene como autor al equipo de S. Yamanaka. Estos investigadores realizaron un experimento en ratones que consistió en la reprogramación de células somáticas mediante un grupo de genes transferidos mediante un retrovirus (lentivirus). Después de muchas pruebas con 24 posibles genes que están asociados a las células madre embrionarias, Yamanaka se quedó con cuatro: Oct3/4, Sox2, Klf4 y cMyc, lo que le permitió obtener células con características troncales. Por su modo de obtención, las calificó como células madre pluripotenciales inducidas (*induced Pluripotent Stem cells*: iPSCs). [13] Esto confirmó que el proceso de diferenciación no era irreversible.

Esta técnica nació como consecuencia de una serie de investigaciones previas, como los trabajos en los que Gurdon demostró la adquisición de pluripotencia por reprogramación celular en experimentos de clonación por transferencia nuclear [14] y la producción de la oveja Dolly por la que Wilmut comprobó que la clonación podía tener lugar en mamíferos.[15] En segundo lugar, la investigación de Weintraub que mostró que los fibroblastos se pueden convertir en mioblastos por transducción con el gen *MyoD*. [16] La tercera línea de investigación fue el desarrollo de las células madre embrionarias de ratón por Evans y Martin.[17; 18] Smith identificó muchos factores esenciales para la pluripotencia[19] y Thompson generó células madre embrionarias humanas.[20] La pluripotencia puede ser inducida por factores de transcripción o por modulación de vías clave con microARN, proteínas o pequeñas moléculas, lo que ha provocado un cambio drástico en el campo de la investigación con iPSCs.[21]

3. Las células iPSCs y su aproximación a la clínica

Debido a la trascendencia del descubrimiento de las iPSCs, que mereció el Premio Nobel, parece apropiado proceder a una revisión sobre sus aplicaciones actuales y futuras. Las células madre pluripotenciales inducidas comienzan su camino hacia la clínica. Una clara utilidad de las iPSCs es la posibilidad de contar con modelos de enfermedades. [22; 23; 24; 25; 26; 27]

Aunque la mayor preocupación en el uso de iPSCs en futuras terapias es la posibilidad de formar teratomas, no cabe duda que, por el método Yamanaka se puede obtener iPSCs de prácticamente cualquier paciente. Estas líneas celulares son muy valiosas para probar nuevas terapias. Por eso la industria invierte cada vez más en esta tecnología. [28] En una combinación de reprogramación sin el transgen cMYC y la disociación enzimática de las iPSCs residuales, se han obtenido células beta-pancreáticas sin que se produzca tumores al trasplantarlas. [29]

Desde que Yamanaka y sus colaboradores descubrieron las iPSCs, hubo investigadores que sostenían que no eran equivalentes a las células de origen embrionario y que más bien son estas últimas las más adecuadas para el desarrollo de la investigación y las nuevas terapias. Sin embargo, un trabajo que compara ambos tipos de células concluye que son casi iguales y funcionalmente indistinguibles y que,

si hay algunas variaciones genéticas, éstas se deben a las células originales de la piel, a partir de las que se obtuvieron las iPSCs y no al proceso de reprogramación. [30] Los investigadores identificaron 49 genes en cuya actividad difieren las células madre embrionarias y las iPSCs. Luego evaluaron dos de ellos que tienen que ver con la absorción y la digestión de la glucosa. El resultado fue que las células iPSCs son tan eficientes como las embrionarias y funcionalmente equivalentes en lo que se refiere a la actividad de estos genes. [31] Ya anteriormente la producción de animales vivos y fértiles por complementación tetraploide a partir de células iPSCs había demostrado su pluripotencialidad. [32] Se ha comprobado también que las iPSCs cumplen lo que se ha denominado “*standard de oro*”, es decir: trasplantadas a un embrión de ratón en fase de gástrula, se incorporan sin dificultad y se desarrollan de manera normal sin producir tumores. [33]

Se ha realizado un estudio para averiguar si las iPSCs acumulan mutaciones cuando se cultivan en el laboratorio y, en consecuencia, podrían originar cáncer. Por este motivo no sería ético usarlas hasta eliminar este riesgo. Para ello se comparó la tasa de mutación entre células sanguíneas e iPSCs originadas a partir de esas mismas células. El resultado fue que la tasa de mutación de las iPSCs fue 10 veces menor a la de las células sanguíneas. Es importante destacar que ninguna de las mutaciones tuvo lugar en los genes relacionados con el cáncer. Con este trabajo se puede llegar a un mejor conocimiento del proceso de mutación de las células somáticas y entender mejor la enfermedad del cáncer. [34] Según un estudio, es necesario vigilar las mutaciones en el ADN mitocondrial (ADNmt) de las iPSCs especialmente si provienen de personas de edad avanzada porque podrían afectar al valor terapéutico de estas células. [35]

4. Aplicaciones terapéuticas experimentales

En trastornos que van desde la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la enfermedad de Parkinson, hasta la de células madre hematopoyéticas en una anemia aplásica o la de células beta en la diabetes tipo I, [36] así como la necesidad de restaurar la función endotelial en pacientes con enfermedad vascular, entre otras patologías, la diferenciación de iPSCs hacia células del tejido destruido por la enfermedad, sería teóricamente una aplicación válida de esta técnica.[37; 38; 39] También la obtención de iPSCs abre nuevas perspectivas para la investigación básica y el descubrimiento

de fármacos para las enfermedades hereditarias del músculo esquelético pues se han obtenido miocitos esqueléticos a partir de iPSCs que son electro-fisiológica y estructuralmente equivalentes a sus homólogos embrionarios. [40] Trabajos posteriores, relacionados con la bioingeniería, dan cuenta de la posibilidad de fabricar tejidos y recellularizar estructuras acelulares de corazones sometidos a un proceso de lavado con detergentes, a los que se añade células musculares cardíacas del propio paciente, obtenidas a partir de iPSCs.[41]

Un estudio con neuronas obtenidas a partir de iPSCs de enfermos ayuda a comprender la causa de un determinado tipo de demencia hereditaria que representa el 50% de los casos de demencia de personas menores de 60 años y afecta a las neuronas corticales de los lóbulos frontal y temporal del cerebro. La investigación sirvió para determinar que la vía Wnt de señalización es defectuosa. [42] También se ha podido obtener neuronas productoras de serotonina a partir de iPSCs. Esto es importante porque este tipo de sustancias intervienen en patologías psiquiátricas como la depresión, el trastorno bipolar o la esquizofrenia, además de regular el apetito, el pulso, la respiración, el sueño, la ansiedad y las emociones. [43]

En personas con un sistema inmunológico debilitado, las células T se pueden someter a reprogramación genética y transformarlas así en iPSCs. Posteriormente, estas iPSCs pueden volver a diferenciarse en células T, con unas características de vida prolongada y conservando su capacidad de reconocimiento de agentes patógenos. Esto es de singular trascendencia en enfermedades víricas como el VIH y también en algunos cánceres. [44] Todas estas aplicaciones sería lícito utilizarlas en el caso de que se compruebe su seguridad y eficacia.

5. Desarrollo de fármacos

La generación de células madre pluripotentes inducidas ofrece una interesante alternativa para su utilización en el desarrollo de fármacos. Estas células con capacidad de proliferación ilimitada en estado indiferenciado permanecen genéticamente estables. En condiciones de cultivo adecuadas, pueden ser dirigidas hacia una variedad de tipos de las diferentes capas germinales. De esta forma se pueden obtener, a partir de células somáticas de un enfermo, clones de iPSCs que darán lugar a células específicas en las que probar nuevos fármacos. [45; 46]

Los primeros estudios se han concentrado en cuatro tipos de células: cardiomiocitos, hepatocitos, neuronas y células beta de los islotes pancreáticos. Los biólogos del desarrollo han estudiado bastante estos tipos y se conoce mucho acerca de las señales moleculares y bioquímicas que llevan a su diferenciación *in vivo*. Las células humanas de esos tejidos son particularmente difíciles de cultivar y costosas de obtener, y además en cantidad limitada. Para las empresas dedicadas a la obtención de nuevos fármacos estas células son vitales ya que muchos fármacos no siguen desarrollándose por presentar cardiotoxicidad o hepatotoxicidad. Estos estudios son muy importantes además porque las enfermedades neurodegenerativas y la diabetes son causa creciente de morbilidad y mortalidad.

El desarrollo de nuevos medicamentos es un proceso costoso y lento en el que el 90 por ciento de los fármacos no son aprobados tras un ensayo clínico, debido a cuestiones de eficacia o de seguridad. Los estudios preclínicos están limitados por las líneas celulares disponibles o los modelos animales y faltan ensayos funcionales relevantes de la enfermedad. Por eso las iPSCs tienen muchas ventajas sobre los métodos tradicionales. Varios modelos experimentales de enfermedades obtenidos a partir de iPSCs han mostrado mejoría en el fenotipo en respuesta a agentes terapéuticos. A partir de estos modelos se puede proporcionar una evaluación más sensible y precisa de los compuestos a prueba. Así se ha realizado en neuronas dopaminérgicas derivadas de iPSCs con sustancias de propiedades neuroprotectoras, como una estrategia de tratamiento para el Parkinson en sus primeras etapas. Por este procedimiento se está evaluando terapias para enfermedades del sistema nervioso central. [47; 48]

Para identificar las bases genéticas de la hipertensión y las respuestas a los medicamentos la farmacogenómica recurre a modelos biológicos. Las iPSCs de pacientes hipertensos proporcionan la posibilidad de contar con células del músculo liso y conocer mejor la respuesta a los fármacos. [49] En el caso de trastorno psiquiátrico bipolar, que se caracteriza por fases de manía y depresión, el litio actúa como estabilizador pero no es efectivo en todos los pacientes. Con la técnica de iPSCs se produjeron neuronas del giro dentado del hipocampo, provenientes tanto de enfermos que respondían al tratamiento con litio como de enfermos para los que el litio no era eficaz. Se descubrieron anomalías mitocondriales e hiperexcitabilidad, que sólo se revirtió mediante litio en aquellas neuronas provenientes de los pacientes que

habían reaccionado favorablemente al tratamiento con litio. Esto lleva a concluir que la hiperexcitabilidad es un endofenotipo temprano del trastorno bipolar y que los modelos con iPSCs pueden ser útiles para el hallazgo de nuevas terapias. [50]

Una enfermedad para la que se ha producido un modelo in vitro, mediante iPSCs humanas, es el síndrome de Jervell y Lange-Nielsen que produce un grave trastorno del ritmo cardíaco y puede llevar a la muerte súbita en pacientes jóvenes. La causa tiene su origen en mutaciones homocigóticas de genes recesivos. Esto lleva a que los cardiomiocitos presenten defectos electrofisiológicos. Con este modelo se puede conocer mejor los mecanismos de la herencia recesiva y, al mismo tiempo, comprobar la eficacia de determinados medicamentos. [51]

Para una mejor comprensión de la fisiopatología de la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) se obtuvieron neuronas motoras a partir de iPSCs y se comprobó la eficacia de un medicamento al verificar una mejoría en la actividad y excitabilidad de esas neuronas al administrarlo. [52] A partir de iPSCs de enfermos de glaucoma, se ha podido obtener células ganglionares de retina lo que proporciona un modelo de esta enfermedad y facilita la búsqueda de fármacos para esta patología. [53] Desde el punto de vista ético, el nuevo medicamento no se puede prescribir hasta su comprobación como fármaco seguro y eficaz.

6. Primer ensayo clínico

Pero el primer ensayo clínico con iPSCs dio comienzo en Japón para tratar enfermos con degeneración macular debida a la edad. [54; 55] Masayo Takahashi, del Centro Riken de Biología del Desarrollo en Kobe, Japón, utilizó células de la retina derivadas de iPSCs, obtenidas a partir de la piel del paciente, en un primer experimento en una mujer japonesa de 70 años, por lo que se espera que no produzcan rechazo. [56; 57] Posteriormente este ensayo se suspendió debido a la detección de mutaciones producidas, al parecer, en el proceso de reprogramación celular. La preocupación de que se produzca un crecimiento celular descontrolado con posibles tumores llevó a tomar esta decisión. [58; 59] No sería ético exponer a una persona a un grave riesgo. Recientemente se informa del primer trasplante alogénico con células derivadas de iPSCs de un donante para tratar la degeneración macular. [60]

7. Modelos experimentales de enfermedades neurológicas basados en iPSCs

Por su importancia y la dificultad de obtener líneas celulares para el estudio de estas patologías, se exponen a continuación los avances en la utilización de las iPSCs en modelos experimentales de patologías neurológicas y sus aplicaciones en terapia celular. Parte de lo tratado a continuación se basa en los temas analizados en un trabajo de revisión de Okano y Yamanaka. [61; 62] También la Ética nos lleva a buscar alternativas que eviten el daño al ser humano al investigar diversas patologías.

La posibilidad de obtener iPSCs abre un nuevo panorama para contar con modelos experimentales de patologías neurológicas, pues es posible derivar de ellas células con el genotipo de la enfermedad. Con estos modelos, se puede conocer más sobre el comienzo y el desarrollo de la patología, así como probar nuevos fármacos en las células provenientes del enfermo. [63]

A partir de células endoteliales de la vena del cordón umbilical se ha obtenido iPSCs, a partir de las que se derivan células del linaje del sistema nervioso con alta eficiencia y que presentan la morfología y fisiología de las neuronas, astrocitos y células gliales. Con ellas se puede estudiar el desarrollo del sistema nervioso así como la fisiopatología de diversas enfermedades neurodegenerativas y los posibles nuevos medicamentos. [64] La ventaja de este procedimiento es que no es nada invasivo y se disminuye la probabilidad de mutaciones que en otras células, como los fibroblastos, resultan del envejecimiento y la exposición a rayos UV. Además tiene una alta eficiencia de reprogramación y una rápida cinética. [65]

En personas con enfermedades neurodegenerativas es difícil acceder a los lugares afectados y los modelos animales no reflejan necesariamente la patología humana. Los cambios biológicos o bioquímicos se han conocido a partir de análisis de cerebro post-mortem. Con el desarrollo de las iPSCs se hace posible obtener células madre pluripotentes a partir de células somáticas y, con ello, reproducir *ex vivo* los fenómenos que ocurren en pacientes *in vivo*, particularmente los trastornos del sistema nervioso y comprender mejor su fisiopatología.[66] Con esta tecnología se han comenzado a estudiar diversas enfermedades neurológicas como, entre otras, la esclerosis lateral amiotrófica,[67; 68; 69] la atrofia muscular espinal, [70] la ataxia de Friedreich, [71] el Alzheimer, [72] el Parkinson, [73] la enfermedad de Huntington, [74] el síndrome de X frágil, [75] la adenoleucodistrofia, [76] la esquizofrenia. [77;

78] Las pruebas de seguridad, sensibilidad y toxicidad de los nuevos medicamentos pueden acelerarse por medio de esta técnica.

7.1. Modelado de la enfermedad de Parkinson con neuronas obtenidas a partir de iPSCs

Las células dopaminérgicas derivadas de las iPSCs, obtenidas a partir de células de pacientes con Parkinson, podrían servir como modelos de la enfermedad para investigar los cambios que se producen en el tiempo desde el comienzo de la patología. Recientemente se ha podido obtener un modelo de Parkinson familiar generalmente severo con estas células. [79] En neuronas obtenidas a partir de iPSCs de determinado tipo de Parkinson se comprobó la existencia de estas alteraciones así como de acumulación de alfa-sinucleína, tal como se encontraba en análisis de cadáveres de enfermos. [80]

El principal factor de riesgo para la enfermedad de Parkinson es la mutación heterocigótica del gen de la glucocerebrosidasa que codifica la enzima lisosomal. En un trabajo de investigación con células cerebrales obtenidas de iPSCs a partir de la piel de enfermos de Parkinson con la mutación genética GBAN370S, se establece una vinculación entre la mutación GBAN370S y la acumulación de alfa-sinucleína. [81] Se ha logrado caracterizar las neuronas dopaminérgicas del mesencéfalo, procedentes de la diferenciación de iPSCs humanas de un enfermo de Parkinson, comprobando su función fisiológica en la síntesis, liberación y recaptación de dopamina. Esto constituye un magnífico modelo para el estudio de la enfermedad. [82] Las formas monogénicas de Parkinson son particularmente interesantes porque son muy similares a la forma más corriente de esta patología. Además facilitan la investigación a través de neuronas derivadas de iPSCs. [83] Induciendo mutaciones monogénicas en iPSCs derivadas de sujetos sanos, por medio de tecnologías de edición del genoma (mediante el uso de vectores adenovirales) es posible analizar con precisión los mecanismos patogénicos atribuibles a un solo gen.

7.2. Demostración de relaciones causales de genotipo-fenotipo

Como consecuencia del descubrimiento de secuenciadores de última generación a raíz de la secuenciación del genoma humano, se han identificado muchas mutaciones

relacionadas con alguna patología y polimorfismo de un solo nucleótido. En la mayor parte de enfermedades no hay una prueba formal acerca de una relación causal entre la mutación genética y el fenotipo de la enfermedad. Esto se puede verificar mediante tecnologías de edición del genoma como las nucleasas asociadas a repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas (CRISPR). [84; 85; 86; 87; 88; 89; 90] Estas técnicas se pueden utilizar para la realización de experimentos en los que se corrige el defecto genético o bien la introducción de mutaciones relacionadas con la enfermedad en iPSCs control. [91] Más recientemente se ha descubierto el modo de editar una sola base, tanto en ADN como en ARN. [92] Esto podría poner en evidencia relaciones causales genotipo-fenotipo. De momento sólo se aplica a enfermedades monogénicas. [93; 94]

8. Armonizar normas y protocolos

Por sus características de pluripotencia, el manejo de estas células conlleva mayor complejidad pues deben someterse a extensos procesos de crecimiento y un largo proceso de diferenciación para generar los fenotipos deseados y eliminar los defectuosos, además de las células pluripotentes residuales, por ello diversos autores, incluidos Ian Wilmut y Shinya Yamanaka, solicitan armonizar las normas para producir terapias clínicas a partir de células madre pluripotentes [95] Si bien las técnicas bioquímicas y biológicas para la reprogramación están ya establecidas, existen nuevos instrumentos de bioingeniería para la reprogramación, el aislamiento, la diferenciación[96] y la expansión de las iPSCs.[97] Los protocolos de diferenciación para conseguir la célula adecuada a partir de las iPSCs conducen a obtener una población heterogénea. La selección del adecuado tipo celular se hace hasta ahora con los antígenos de superficie pero no siempre es eficaz, por lo que se ha buscado una nueva biotecnología más eficiente que utiliza interruptores de microRNA que constan de secuencias de RNA sintéticos.[98] Las buenas prácticas de fabricación (GMP: good manufacturing practice) para la obtención de iPSCs son actualmente necesarias para asegurar el cumplimiento de la normativa internacional en lo que se refiere al abastecimiento de tejidos, fabricación, pruebas y almacenamiento.[99] Esta recomendación mejora la seguridad, que es condición necesaria para que un procedimiento sea ético.

9. Una forma ética de hacer investigación que puede ser mal utilizada: iPSCs y EPS

Para que una investigación se ajuste a la ética debe primero ser científicamente válida. En lo tratado anteriormente observamos la seriedad y buen hacer de los descubridores de este tipo de células y cómo se han ido obteniendo procedimientos que suponen avances en la biomedicina de cara a la curación de diversas patologías.

El origen de las iPSCs tiene un fundamento ético, como ponen de manifiesto Gámez [100] y Aznar [101; 102], puesto que se trata de evitar el uso de embriones *sobrantes* de la fertilización *in vitro*. Además, los descubridores toman en consideración las anteriores teorías científicas y abren la posibilidad de la des-diferenciación celular experimental. Los estudios pre-clínicos en animales y los ensayos clínicos se deben hacer con el respeto debido y teniendo en cuenta la dignidad absoluta de la persona humana. Yamanaka actúa con estos criterios y procura extrapolar, en lo posible, los datos obtenidos con animales al ser humano, evitando la utilización de células de origen embrionario. Sólo como último recurso, y partiendo de líneas celulares ya existentes, aprueba la comparación de las iPSCs con las embrionarias. Por otro lado advierte sobre un mal uso de su descubrimiento para obtener ovocitos y espermatozoides que puedan dar lugar a embriones humanos.

Desde luego, aunque tuviera una clara utilidad biológica, la destrucción de embriones humanos para obtener células de la masa interna del embrión invalida éticamente, en nuestro criterio, cualquier uso de células de este origen. Por tanto, las iPSCs constituyen una excelente alternativa ética al uso de las células madre embrionarias, especialmente para fines clínicos. El desarrollo de nuevas técnicas de obtención podría evitar inconvenientes como su capacidad teratogénica y ciertas anomalías genéticas.

Sin embargo, la posibilidad de producir células germinales a partir de iPSCs y, con ellas, embriones vivos abre un dilema ético nuevo. [103; 104; 105; 106] En los últimos años se informa que sería posible la fabricación de células primordiales germinales humanas, precursoras de óvulos y espermatozoides. [107; 108; 109] No es justificable obtener seres humanos con este procedimiento, como tampoco lo sería utilizar la técnica de la reprogramación celular para obtener células totipotentes, a partir de las

cuales generar blastocistos humanos. En esta línea, al parecer, están trabajando algunos investigadores, como se recoge en una publicación sobre las llamadas células *extended pluripotent stem cells* (EPS) que podrían dar lugar, no sólo a cualquier tejido de las tres capas embrionarias, sino también extraembrionario. [110] Sería algo similar a la clonación por transferencia nuclear y, por lo tanto, éticamente injustificable. "Durante el desarrollo embrionario, tanto el óvulo fertilizado como sus células iniciales se consideran totipotentes, ya que pueden dar origen a todos los linajes embrionarios y extra embrionarios. Sin embargo, la captura de células madre con tal potencial de desarrollo *in vitro* ha sido un desafío importante en la biología de células madre ", dice el profesor Izpisua Belmonte, "Este es el primer estudio que informa la derivación de un tipo estable de células madre que muestra un potencial de desarrollo biológico similar al totipotente tanto para linajes embrionarios como extra-embrionarios". [111] Después de la fertilización del óvulo, en fases muy tempranas, se produce la especialización bien hacia tejidos embrionarios, bien a extra-embrionarios, por lo que hasta ahora no es posible mantener la posibilidad de obtener ambos tipos de tejidos. El coctel que han descubierto estos investigadores permite que las células permanezcan con esa potencialidad. Los equipos del Instituto Salk y de la Universidad de Pekín comprobaron que, al combinar cuatro compuestos químicos y un factor de crecimiento y aplicar este coctel, las células pluripotentes podían pasar a un estado más inmaduro y esto facilita la formación de quimeras humano-animal para generar animales transgénicos, así como obtener órganos para trasplante, lo que conlleva otro problema ético. [112]

Por el contrario, podría admitirse la posibilidad de generación de gametos obtenidos por modificación genética de células somáticas de personas con alguna enfermedad hereditaria para dar lugar a hijos sanos. Si se recurre a la fecundación *in vitro*, conllevaría los problemas éticos propios de esta técnica.

En conclusión, la idea inicial de que las iPSCs evitarían el uso de células embrionarias aún no se ha consolidado y además ha surgido la posibilidad del uso de las iPSCs para obtener gametos y embriones humanos, lo que ensombrece su impecable punto de partida. En el fondo, esto ocurre en muchos avances científicos: su bondad depende también de los fines para los que se utiliza. En definitiva, no será suficiente dar normas para el buen uso de la tecnología con iPSCs, sino que habrá que fomentar la formación ética de las personas e instituciones para que la utilicen correctamente.

10. Agradecimiento

Mi agradecimiento a los doctores José Luis Pérez Requejo, Justo Aznar Lucea y Damián García Olmo por su orientación y asesoramiento en este trabajo.

Agradezco también a los doctores César Gutiérrez, Hans Vasquez y Pedro E. Romero sus valiosas sugerencias en la revisión del manuscrito.

Referencias

-
- 1 Cfr. García Olmo D. Ensayos clínicos actuales en terapia celular con células madre. En, II Jornadas Internacionales de Ciencia y Vida humana. Células madre: Terapia celular y medicina regenerativa. Piura (Perú): Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC) y Universidad de Piura; 2010: 21-48.
 - 2 Cfr. Nombela C. Células madre. Encrucijadas biológicas para la Medicina: del tronco embrionario a la regeneración adulta. Madrid: Editorial EDAF, S.L.; 2007.
 - 3 Millás J. Las células madre y la medicina regenerativa. De las células madre embrionarias a la reprogramación celular. *Therapia* 2010; 2: 13-27.
 - 4 Cfr. García Olmo D. o.c. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC) y Universidad de Piura, 2010: 23-24.
 - 5 Dulak J, Szade K, Szade A, Nowak W, Józkowicz A. Adult stem cells: hopes and hypes of regenerative medicine. *Acta Biochim Pol.* 2015; 62(3): 329-337.

-
- 6 Cfr. Jouve N. Las células madre. Alquimia celular para una nueva medicina. Ediciones Palabra, Madrid 2015: 83-91.
- 7 López N. Ética de la investigación en terapia regenerativa. Cuad Bioét 2008: 195-210.
- 8 Gratwohl A, Baldomero H, Passweg J. Hematopoietic stem cell transplantation activity in Europe. Curr Opin Hematol 2013; 20: 485-493.
- 9 Rama P, Matuska S, Paganoni G, Spinelli A, De Luca M, Pellegrini G. Limbal stem-cell therapy and long-term corneal regeneration. N Engl J Med 2010; 363: 147-155.
- 10 Zheng G-P, Ge M-H, Shu Q, Rojas M and Xu J. Mesenchymal stem cells in the treatment of pediatric diseases. World J Pediatr 2013; 9: 197-211.
- 11 Panés J, García-Olmo D, Van Assche G, Colombel JF, Reinisch W, Baumgart DC, Dignass A, Nachury M, Ferrante M, Kazemi-Shirazi L, Grimaud JC, de la Portilla F, Goldin E, Richard MP, Diez MC, Tagarro I, Leselbaum A, Danese S; ADMIRE CD Study Group Collaborators. Long-term Efficacy and Safety of Stem Cell Therapy (Cx601) for Complex Perianal Fistulas in Patients With Crohn's Disease. Gastroenterology. 2018; 154(5): 1334-1342.e4.
- 12 Millás-Mur J. Opinión de médicos peruanos sobre la aplicación actual de terapias con células madre. Acta Med Peru. 2017; 34(2): 82-89.
- 13 15. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell, 2006; 126: 663-676.
- 14 Gurdon J. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. J Embryol Exp Morphol 1962; 10: 622-640.
- 15 Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. Nature 1997; 385: 810-813.
- 16 Davis RL, Weintraub H, Lassar AB. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. Cell 1987; 51: 987-1000.
- 17 Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. Nature 1981, 292:154-156.
- 18 Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. Proc Natl Acad Sci U S A 1981; 78: 7634-7638.
- 19 Smith AG, Heath JK, Donaldson DD, Wong GG, Moreau J, Stahl M, Rogers D. Inhibition of pluripotential embryonic stem cell differentiation by purified polypeptides. Nature 1988; 336: 688-690.
- 20 Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science 1998; 282: 1145-1147.
- 21 Malik N, Rao MS. A review of the methods for human iPSC derivation. Methods Mol Biol 2013; 997: 23-33.
- 22 Cherry A and Daley G. Reprogrammed Cells for Disease Modeling and Regenerative Medicine. Annual Review of Medicine 2013; 64: 277-290.
- 23 Bellin M, Marchetto MC, Gage FH & Mummery CL. Induced pluripotent stem cells: the new patient? Nature Reviews Molecular Cell Biology 2012; 13: 713-726.
- 24 Garber K. Between disease and a dish. Nature Biotechnology 2014; 32: 712-715.
- 25 Merkle F, Eggan K. Modeling Human Disease with Pluripotent Stem Cells: from Genome Association to Function. Cel Stem Cell 2013; 12: 656-668.

-
- 26 Parson A. Alan Trounson, CIRM's Departed President: Surprises, Optimism, Malaise. *Cell Stem Cell* 2014; 15: 403-405.
- 27 Yang C, Al-Aama J, Stojkovic M, Keavney B, Trafford A, Lako M, Armstrong L. Concise Review: Cardiac Disease Modeling Using Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cells* 2015; 33: 2643–2651.
- 28 Complete 2013-14 Induced Pluripotent Stem Cell (iPSC) Industry Report. http://www.bioinformant.com/iPSC_report.html Consultado el 13 de setiembre de 2014.
- 29 El Khatib MM, Ohmine S, Jacobus EJ, Tonne JM, Morsy SGI, Holditch SJ, Schreiber CA, Uetsuka K, Fusaki N, Wigle DA, Terzic A, Kudva YC, Ikeda Y. Tumor-Free Transplantation of Patient-Derived Induced Pluripotent Stem Cell Progeny for Customized Islet Regeneration. *Stem Cells Transl Med* 2016; 5: 694-702.
- 30 Choi J, Lee S, Mallard W, Clement K, Tagliazucchi GM, Lim H, Choi IY, Ferrari F, Tsankov AM, Pop R, Lee G, Rinn JL, Meissner A, Park PJ, Hochedlinger K. A comparison of genetically matched cell lines reveals the equivalence of human iPSCs and ESCs. *Nat Biotechnol* 2015; 33: 1173-1181.
- 31 Leslie M. Reprogrammed stem cells work as well as those from embryos. *Science News* 26 Oct. 2015.
- 32 Zhao XY1, Lv Z, Li W, Zeng F, Zhou Q. Production of mice using iPS cells and tetraploid complementation. *Nat Protoc.* 2010; 5(5): 963-71.
- 33 Mascetti VL and Pedersen RA. Human-Mouse Chimerism Validates Human Stem Cell Pluripotency. *Cell Stem Cell* 2016; 18: 67-72.
- 34 Rouhani FJ, Nik-Zainal S, Wuster A, Li Y, Conte N, Koike-Yusa H, Kumasaka N, Vallier LI, Yusa K, Bradley A. Mutational History of a Human Cell Lineage from Somatic to Induced Pluripotent Stem Cells. *PLoS Genet* 2016; 12: e1005932.
- 35 Kang E, Wang X, Tippner-Hedges R, Ma H, Folmes CDL, Gutierrez NM, Lee Y, Van Dyken C, Ahmed R, Li Y, Koski A, Hayama T, Luo S, Harding CO, Amato P, Jensen J, Battaglia D, Lee D, Wu D, Terzic A, Wolf DP, Huang T, Mitalipov S. Age-Related Accumulation of Somatic Mitochondrial DNA Mutations in Adult-Derived Human iPSCs. *Cell Stem Cell* 2016; 18: 625-636.
- 36 Yoshihara E, Wei Z, Lin CS, Fang S, Ahmadian M, Kida Y, Tseng T, Dai Y, Yu RT, Liddle C, Atkins AR, Downes M, Evans RM. ERRγ Is Required for the Metabolic Maturation of Therapeutically Functional Glucose-Responsive β Cells. *Cell Metabolism* 2016; 23: 622–634.
- 37 Samuel R, Duda DG, Fukumura D and Jain RK. Vascular diseases await translation of blood vessels engineered from stem cells. *Science Translational Medicine* 2015; 7: 309rv6.
- 38 Prasain N, Lee MR, Vemula S, Meador JL, Yoshimoto M, Ferkowicz MJ, Fett A, Gupta M, Rapp BM, Saadatzaheh MR, Ginsberg M, Elemento O, Lee Y, Voytik-Harbin SL, Chung HM, Hong KS, Reid E, O'Neill CL, Medina RJ, Stitt AW, Murphy MP, Rafii S, Broxmeyer HE, Yoder MC. Differentiation of human pluripotent stem cells to cells similar to cord-blood endothelial colony-forming cells. *Nature Biotechnology* 2014; 32: 1151-1157.
- 39 Foxl II, Daley GQ, Goldman SA, Huard J, Kamp TJ, Trucco M. Use of differentiated pluripotent stem cells in replacement therapy for treating disease. *Science* 2014; 345: 6199.
- 40 Skoglunda G, Lainéa J, Darabib R, Fourniera E, Perlingeirob R and Tabtia N. Physiological and ultrastructural features of human induced pluripotent and embryonic stem cell-derived skeletal myocytes in vitro. *PNAS* 2014; 111: 8275–8280.
- 41 Guyette JP, Charest JM, Mills RW, Jank BJ, Moser PT, Gilpin SE, Gershlak JR, Okamoto T, Gonzalez G, Milan DJ, Gaudette GR, Ott HC. Bioengineering Human Myocardium on Native Extracellular Matrix. *Circ Res* 2016; 118: 56-72.

-
- 42 Raitano S, Ordovàs L, De Muynck L, Guo W, Espuny-Camacho I, Geraerts M, Khurana S, Vanuytsel K, Tóth B, Voets T, Vandenberghe R, Cathomen T, Van Den Bosch L, Vanderhaeghen P, Van Damme P, Verfaillie C. Restoration of Progranulin Expression Rescues Cortical Neuron Generation in an Induced Pluripotent Stem Cell Model of Frontotemporal Dementia. *Stem Cell Reports* 2015; 4: 16-24.
- 43 Lu J, Zhong X, Liu H, Hao L, Huang CT, Sherfat MA, Jones J, Ayala M, Li L, Zhang SC. Generation of serotonin neurons from human pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol* 2016; 34: 89-94.
- 44 Nishimura T, Shin Kaneko S, Kawana-Tachikawa A, Tajima Y, Goto H, Zhu D, Nakayama-Hosoya K, Iriguchi S, Uemura Y, Shimizu T, Takayama N, Yamada D, Nishimura K, Ohtaka M, Watanabe N, Takahashi S, Iwamoto A, Koseki H, Nakanishi M, Eto K, Nakauchi H. Generation of Rejuvenated Antigen-Specific T Cells by Reprogramming to Pluripotency and Redifferentiation. *Cell Stem Cell* 2013; 12: 114–126.
- 45 Engle S, Puppala D. Integrating Human Pluripotent Stem Cells into Drug Development. *Cell Stem Cell* 2013; 12: 669-677.
- 46 Yamashita A, Morioka M, Kishi H, Kimura T, Yahara Y, Okada M, Fujita K, Sawai H, Ikegawa S & Tsumaki N. Statin treatment rescues FGFR3 skeletal dysplasia phenotypes. *Nature* 2014; 513: 507–511.
- 47 Yu D, Marchetto M, Gage F. Therapeutic Translation of iPSCs for Treating Neurological Disease. *Cell Stem Cell* 2013; 12: 678–688.
- 48 Moreno EL, Hachi S, Hemmer K, Trietsch SJ, Baumuratov AS, Hankemeier T, Vulto P, Schwamborn JC and Fleming RMT. Differentiation of neuroepithelial stem cells into functional dopaminergic neurons in 3D microfluidic cell culture. *Lab Chip* 2015; 15: 2419-2428.
- 49 Biel NM, Santostefano KE, DiVita BB, El Rouby N, Carrasquilla SD, Simmons C, Nakanishi M, Cooper-DeHoff RM, Johnson JA, Terada N. Vascular Smooth Muscle Cells From Hypertensive Patient-Derived Induced Pluripotent Stem Cells to Advance Hypertension Pharmacogenomics. *Stem Cells Transl Med* 2015; 4: 1380-1390.
- 50 Mertens J, Wang QW, Kim Y, Yu DX, Pham S, Yang B, Zheng Y, Diffenderfer KE, Zhang J, Soltani S, Eames T, Schafer ST, Boyer L, Marchetto MC, Nummerger JI, Calabrese JR, Ødegaard KJ, McCarthy MJ, Zandi PP, Alba M, Nievergelt CM; Pharmacogenomics of Bipolar Disorder Study, Mi S, Brennand KJ, Kelsoe JR, Gage FH, Yao J. Differential responses to lithium in hyperexcitable neurons from patients with bipolar disorder. *Nature* 2015; 527: 95-99.
- 51 Zhang M, D'Aniello C, Verkerk A, Wrobel E, Frank S, Ward-van Oostwaard D, Piccini I, Freund C, Rao J, Seeböhm G, Atsma D, Schulze-Bahr E, Mummery C, Greber B and Bellin M. Recessive cardiac phenotypes in induced pluripotent stem cell models of Jervell and Lange-Nielsen syndrome: Disease mechanisms and pharmacological rescue. *PNAS* 2014; 111: E5383–5392.
- 52 Naujock M, Stanslowsky N, Bufler S, Naumann M, Reinhardt P, Sternecker J, Kefalakes E, Kassebaum C, Bursch F, Lojewski X, Storch A, Frickenhaus M, Boeckers TM, Putz S, Demstre M, Liebau S, Klingenstein M, Ludolph AC, Dengler R, Kim KS, Hermann A, Wegner F, Petri S. 4-Aminopyridine Induced Activity Rescues Hypoexcitable Motor Neurons from ALS Patient-Derived Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cells* 2016. doi: 10.1002/stem.2354.
- 53 Ohlemacher SK, Sridhar A, Xiao Y, Hochstetler AE, Sarfarazi M, Cummins TR, Meyer JS. Stepwise Differentiation of Retinal Ganglion Cells from Human Pluripotent Stem Cells Enables Analysis of Glaucomatous Neurodegeneration. *Stem Cells*. 2016. doi: 10.1002/stem.2356.
- 54 Cyranoski D. iPS cells in humans. *Nature Biotechnology* 2013, 31: 775.
- 55 Barfoot J, Blackburn C, Doherty K, Gavai A, Karlsson A, Kemp E, Sengoku S, van Servellen A. Trends and Perspectives on the Evolving International Landscape. *Stem Cell Research* 2013: 17.
- 56 Cyranoski D. Japanese woman is first recipient of next-generation stem cells. *Nature Breaking News* 12 de setiembre de 2014.

-
- 57 Reardon S & Cyranoski D. Japan stem-cell trial stirs envy. Researchers elsewhere can't wait to test iPS cells in humans. *Nature* 2014; 513: 287-288.
- 58 Garber K. RIKEN suspends first clinical trial involving induced pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol* 2015; 33: 890-891.
- 59 <http://www.signalsblog.ca/the-waiting-game-first-human-ipsc-clinical-trial-on-hold/> Consultado el 8 de setiembre de 2015.
- 60 Cyranoski D. Japanese man is first to receive 'reprogrammed' stem cells from another person. *Nature news* 28 March 2017. doi:10.1038/nature.2017.21730
- 61 Okano H and Yamanaka S. iPS cell technologies: significance and applications to CNS regeneration and disease. *Molecular Brain* 2014; 7: 22.
- 62 Ichida JK, Kiskinis E. Probing disorders of the nervous system using reprogramming approaches. *The EMBO Journal* 2015; 34: 2307-2383.
- 63 Cai S, Chan YS, Shum DK. Induced pluripotent stem cells and neurological disease models. *Sheng Li Xue Bao (Acta Physiologica Sinica)* 2014; 66: 55-66.
- 64 Haile Y, Nakhaei-Nejad M, Boakye PA, Baker G, Smith PA, Murray AG, Giuliani F and Jahroudi N. Reprogramming of HUVECs into Induced Pluripotent Stem Cells (HiPSCs), Generation and Characterization of HiPSC-Derived Neurons and Astrocytes. *PLoS One* 2015; 10: e0119617.
- 65 Panopoulos AD, Ruiz S, Yi F, Herrerías A, Batchelder EM, Izpisua Belmonte JC. Rapid and Highly Efficient Generation of Induced Pluripotent Stem Cells from Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *PLoS One* 2011; 6: e19743.
- 66 Mattis VB, Svendsen CN. Induced pluripotent stem cells: a new revolution for clinical neurology? *Lancet Neurol* 2011; 10: 383-394.
- 67 Dimos JT, Rodolfa KT, Niakan KK, Weisenthal LM, Mitsumoto H, Chung W, Croft GF, Saphier G, Leibel R, Golland R, Wichterle H, Henderson CE, Eggan K. Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science* 2008; 321: 1218-1221.
- 68 Egawa N, Kitaoka S, Tsukita K, Naitoh M, Takahashi K, Yamamoto T, Adachi F, Kondo T, Okita K, Asaka I, Aoi T, Watanabe A, Yamada Y, Morizane A, Takahashi J, Ayaki T, Ito H, Yoshikawa K, Yamawaki S, Suzuki S, Watanabe D, Hioki H, Kaneko T, Makioka K, Okamoto K, Takuma H, Tamaoka A, Hasegawa K, Nonaka T, Hasegawa M, et al. Drug screening for ALS using patient-specific induced pluripotent stem cells. *Sci Transl Med* 2012; 4: 145ra104.
- 69 Li Y, Balasubramanian U, Cohen D, Zhang PW, Mosmiller E, Sattler R, Maragakis NJ, Rothstein JD. A Comprehensive Library of Familial Human Amyotrophic Lateral Sclerosis Induced Pluripotent Stem Cells. *PLOS ONE* 2015; 10: e0118266.
- 70 Ebert AD, Yu J, Rose FF Jr, Mattis VB, Lorson CL, Thomson JA, Svendsen CN. Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient. *Nature* 2009; 457: 277-280.
- 71 Ku S, Soragni E, Campau E, Thomas EA, Altun G, Laurent LC, Loring JF, Napierala M, Gottesfeld JM. Friedreich's ataxia induced pluripotent stem cells model intergenerational GAATTC triplet repeat instability. *Cell Stem Cell* 2010; 7: 631-637.
- 72 Kondo T, Asai M, Tsukita K, Kutoku Y, Ohsawa Y, Sunada Y, Imamura K, Egawa N, Yahata N, Okita K, Takahashi K, Asaka I, Aoi T, Watanabe A, Watanabe K, Kadoya C, Nakano R, Watanabe D, Maruyama K, Hori O, Hibino S, Choshi T, Nakahata T, Hioki H, Kaneko T, Naitoh M, Yoshikawa K, Yamawaki S, Suzuki S, Hata R, et al. Modeling Alzheimer's disease with iPSCs reveals stress phenotypes associated with intracellular Abeta and differential drug responsiveness. *Cell Stem Cell* 2013; 12: 487-496.

-
- 73 Devine MJ, Ryten M, Vodicka P, Thomson AJ, Burdon T, Houlden H, Cavaleri F, Nagano M, Drummond NJ, Taanman JW, Schapira AH, Gwinn K, Hardy J, Lewis PA, Kunath T. Parkinson's disease induced pluripotent stem cells with triplication of the alpha-synuclein locus. *Nat Commun* 2011; 2: 440.
- 74 Zhang N, An MC, Montoro D, Ellerby LM. Characterization of human Huntington's disease cell model from induced pluripotent stem cells. *PLoS Curr* 2010; 2: RRN1193.
- 75 Urbach A, Bar-Nur O, Daley GQ, Benvenisty N. Differential modeling of fragile X syndrome by human embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 2010; 6: 407-411.
- 76 Jang J, Kang HC, Kim HS, Kim JY, Huh YJ, Kim DS, Yoo JE, Lee JA, Lim B, Lee J, Yoon TM, Park IH, Hwang DY, Daley GQ, Kim DW. Induced pluripotent stem cell models from X-linked adrenoleukodystrophy patients. *Ann Neurol* 2011; 70: 402-409.
- 77 Brennand KJ, Simone A, Jou J, Gelboin-Burkhart C, Tran N, Sangar S, Li Y, Mu Y, Chen G, Yu D, McCarthy S, Sebat J, Gage FH. Modelling schizophrenia using human induced pluripotent stem cells. *Nature* 2011; 473: 221-225.
- 78 Hooke V, Brennand K, Kim Y, Toneff T, Funkelstein L, Lee K, Ziegler M, Gage F. Human iPSC Neurons Display Activity-Dependent Neurotransmitter Secretion: Aberrant Catecholamine Levels in Schizophrenia Neurons. *Stem Cell Reports* 2014; 3: 531-538.
- 79 Kouroupi G, Taoufik E, Vlachos IS, Tsioras K, Antoniou N, Papastefanaki F, Chroni-Tzartou D, Wrasidlo W, Bohl D, Stellas D, Politis PK, Vekrellis K, Papadimitriou D, Stefanis L, Bregestovski P, Hatzigeorgiou AG, Masliah E, Matsas R. Defective synaptic connectivity and axonal neuropathology in a human iPSC-based model of familial Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 May 2;114(18):E3679-E3688.
- 80 Imaizumi Y, Okada Y, Akamatsu W, Koike M, Kuzumaki N, Hayakawa H, Nihira T, Kobayashi T, Ohyama M, Sato S, Takanashi M, Funayama M, Hirayama A, Soga T, Hishiki T, Suematsu M, Yagi T, Ito D, Kosakai A, Hayashi K, Shouji M, Nakanishi A, Suzuki N, Mizuno Y, Mizushima N, Amagai M, Uchiyama Y, Mochizuki H, Hattori N, Okano H. Mitochondrial dysfunction associated with increased oxidative stress and alpha-synuclein accumulation in PARK2 iPSC-derived neurons and postmortem brain tissue. *Mol Brain* 2012; 5: 35.
- 81 Fernandes HJR, Hartfield EM, Christian HC, Emmanouilidou E, Zheng Y, Booth H, Bogetofte H, Lang C, Ryan BJ, Sardi SP, Badger J, Vowles J, Evetts S, Tofaris GK, Vekrellis K, Talbot K, Hu MT, James W, Cowley SA, Wade-Martins R. ER Stress and Autophagic Perturbations Lead to Elevated Extracellular α -Synuclein in GBA-N370S Parkinson's iPSC-Derived Dopamine Neurons. *Stem Cell Reports* 2016; 6: 342-356.
- 82 Hartfield EM, Yamasaki-Mann M, Ribeiro Fernandes HJ, Vowles J, James WS, Cowley SA, Wade-Martins R. Physiological characterisation of human iPS-derived dopaminergic neurons. *PLoS One* 2014 Feb 21; 9: e87388.
- 83 Rakovic A, Seibler P, Klein C. iPS models of Parkin and PINK1. *Biochem Soc Trans* 2015; 43: 302-307.
- 84 Smith C, Abalde-Atristain L, He C, Brodsky BR, Braunstein EM, Chaudhari P, JangYY, Cheng L and Ye Z. Efficient and Allele-Specific Genome Editing of Disease Loci in Human iPSCs. *Molecular Therapy* 2015; 23: 570-577.
- 85 Wu Y, Liang D, Wang Y, Bai M, Tang W, Bao S, Yan Z, Li D, Liemail J. Correction of a Genetic Disease in Mouse via Use of CRISPR-Cas9. *Cell Stem Cell* 2013; 13: 659-662.
- 86 Wang H, Yang H, Shivalila C, Dawlaty M, Cheng A, Zhang F, Jaenisch R. One-Step Generation of Mice Carrying Mutations in Multiple Genes by CRISPR/Cas-Mediated Genome Engineering. *Cell* 2013; 153: 910-918.

-
- 87 Hsu P, Lander E, Zhang F. Development and Applications of CRISPR-Cas9 for Genome Engineering. *Cell* 2014; 157: 1262-1278.
- 88 Platt R, Chen S, Zhou Y, Yim M, Swiech L, Zhang F et al. CRISPR-Cas9 Knockin Mice for Genome Editing and Cancer Modeling. *Cell* 2014; 159: 440–455.
- 89 Doudna J, Charpentier E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science* 2014; 346: 1258096.
- 90 Dance A. Core Concept: CRISPR gene editing. *PNAS* 2015; 112: 6245–6246.
- 91 Hockemeyer D, Jaenisch R. Induced Pluripotent Stem Cells Meet Genome Editing. *Cell Stem Cell*. 2016; 18(5): 573-586.
- 92 Cohen J. 'Base editors' open new way to fix mutations. *Science*. 2017 Oct 27; 358(6362): 432-433.
- 93 Vasileva EA, Shuvalov OU, Garabadiu AV, Melino G and Barlev NA. Genome-editing tools for stem cell biology. *Cell Death and Disease* 2015; 6: e1831.
- 94 Kim EJ, Kang KH, Ju JH. CRISPR-Cas9: a promising tool for gene editing on induced pluripotent stem cells. *Korean J Intern Med*. 2017; 32(1): 42-61.
- 95 Andrews P, Cavanagro J, Deans R, Feigel E, Horowitz E, Keating A, Rao M, Turner M, Wilmut I & Shinya Yamanaka. Harmonizing standards for producing clinical-grade therapies from pluripotent stem cells. *Nature Biotechnology* 2014; 32, 724–726.
- 96 Kang S, Chen X, Gong S, Yu P, Yau S, Su Z, Zhou L, Yu J, Pan G, Shi L. Characteristic analyses of a neural differentiation model from iPSC-derived neuron according to morphology, physiology, and global gene expression pattern. *Sci Rep*. 2017 Sep 25; 7(1): 12233.
- 97 Hirschi KK, Li S, Roy K. Induced pluripotent stem cells for regenerative medicine. *Annu Rev Biomed Eng* 2014; 16: 277-294.
- 98 Miki K, Endo K, Takahashi S, Funakoshi S, Takei I, Katayama S, Toyoda T, Kotaka M, Takaki T, Umeda M, Okubo C, Nishikawa M, Oishi A, Narita M, Miyashita I, Asano K, Hayashi K, Osafune K, Yamanaka S, Saito H, Yoshida Y. Efficient Detection and Purification of Cell Populations Using Synthetic MicroRNA Switches. *Cell Stem Cell* 2015; 16: 699-711.
- 99 Baghbaderani BA, Tian X, Neo BH, Burkall A, Dimezzo T, Sierra G, Zeng X, Warren K, Kovarcik DP, Fellner T, Rao MS. cGMP-Manufactured Human Induced Pluripotent Stem Cells Are Available for Pre-clinical and Clinical Applications. *Stem Cell Reports* 2015; 5: 647-659.
- 100 Cfr. Gámez J. Las iPS paradigma ético de la investigación biomédica. *Cuadernos de Bioética* 2013; XXIV: 419-442.
- 101 Cfr. Aznar J, Martínez M. Reflexión ética alrededor de la reprogramación celular. *Cuad. Bioét.* 2012; XXIII: 287-299.
- 102 Cfr. Aznar, J. Could iPS cells be clinically useful? *Medicina e Morale* 2010; 2: 227-239.
- 103 Cfr. Park, TS., Galic, Z., Conway, AE., et al. Derivation of primordial germ cells from human embryonic and induced pluripotent stem cells is significantly improved by coculture with human fetal gonadal cells. *Stem Cells* 2009; 27: 783-795.
- 104 Cfr. Kee, K., Angeles, VT., Flores, M., et al. Human DAZL, DAZ and BOULE genes modulate primordial germ-cell and haploid gamete formation. *Nature* 2009; 462: 222-225.
- 105 Cfr. Deng, JM., Satoh, K., Wang, H., et al. Generation of viable male and female mice from two Fathers. *Biology of Reproduction* 2011; 84: 613-618.

-
- 106 Cfr. Tetsuya Ishiiemail, Renee A. Reijo Pera, Henry T. Greely. Ethical and Legal Issues Arising in Research on Inducing Human Germ Cells from Pluripotent Stem Cells. *Cell Stem Cell* 2013; 13: 145–148.
- 107 Medrano JV, Martínez-Arroyo AM, Míguez JM, Moreno I, Martínez S, Quiñonero A, Díaz-Gimeno P, Marqués-Marí AI, Pellicer A, Remohí J, Simón C. Human somatic cells subjected to genetic induction with six germ line-related factors display meiotic germ cell-like features. *Sci Rep* 2016; 6: 24956.
- 108 Cfr. Irie N, Weinberger L, Tang W, Kobayashi T, Viukov S, Manor Y, Dietmann S, Hanna J, Surani M. SOX17 Is a Critical Specifier of Human Primordial Germ Cell Fate. *Cell*. 2015;160 (1-2):253-68.
- 109 Cfr. Cyranoski D. Rudimentary egg and sperm cells made from stem cells. *Nature News* 24 December 2014.
- 110 Yang Y, Liu B, Xu J, Wang J, Wu J, Shi C, Xu Y, Dong J, Wang C, Lai W, Zhu J, Xiong L, Zhu D, Li X, Yang W, Yamauchi T, Sugawara A, Li Z, Sun F, Li X, Li C, He A, Du Y, Wang T, Zhao C, Li H, Chi X, Zhang H, Liu Y, Li C, Duo S, Yin M, Shen H, Belmonte JC, Deng H. Derivation of Pluripotent Stem Cells with In Vivo Embryonic and Extraembryonic Potency. *Cell*. 2017; 169(2): 243-257.
- 111 <http://www.salk.edu/news-release/salk-scientists-expand-ability-stem-cells-regrow-tissue-type/>
Consultado el 6 de noviembre de 2017.
- 112 <http://blogs.tiu.edu/bioethics/2017/04/20/do-extended-pluripotent-stem-cells-raise-ethical-issues/>
Consultado el 6 de noviembre de 2017.