

GENERACIÓN DE CÉLULAS PLURIPOTENTES ESPECÍFICAS DE PACIENTE

Ignasi Rodríguez-Pizà,¹ Ángel Raya,^{2,3,4} Alessandra Giorgetti,¹ Rita Vassena,¹ Anna Veiga^{1,5}
y Juan Carlos Izpisua^{2,6}

¹Banc de Cèl·lules mare, Centre de Medicina Regenerativa, Barcelona.

Dr. Aiguader, 88. 08003 Barcelona. irodriguez@cmrb.eu.

²Centre de Medicina Regenerativa, Barcelona.

³Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats.

⁴Networking Center of Biomedical Research in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine.

⁵Servei de Medicina de la Reproducció, Institut Universitari Dexeus.

⁶Gene Expression Laboratory, Salk Institute for Biological Studies.

Resumen

La generación de células madre de pluripotencialidad inducida (iPSC) mediante la expresión ectópica de una batería definida de factores ha permitido la derivación de células pluripotentes específicas de paciente y proporciona valiosas plataformas experimentales para modelos de enfermedades humanas. Las iPSC específicas de paciente presentan un gran potencial terapéutico, a pesar de que aun no se ha demostrado una evidencia directa de este hecho.

Palabras clave: iPSC, hESC, reprogramación celular, anemia de Fanconi

Abstract

The generation of induced pluripotent stem (iPS) cells by ectopic expression of a defined set of factors has enabled the derivation of patient-specific pluripotent cells and provided valuable experimental platforms to model human disease. Patient specific iPS cells are also thought to hold great therapeutic potential, although direct evidence for this is still lacking.

Key words: iPSC, hESC, cellular reprogramming, Fanconi anaemia.

Durante los últimos años, la comunidad científica ha puesto gran esfuerzo en estudiar la biología y los mecanismos de diferenciación de las células madre embrionarias humanas (hESC), ya que éstas ofrecen una gran esperanza terapéutica para muchas enfermedades de déficit de función celular. El posible uso de estas células en terapia clínica planteaba un problema de incompatibilidad inmunitaria, así como un conflicto de ética social. Sin embargo, muy recientemente, la generación de células con pluripotencia inducida (iPSC) permite proponer la obtención de células pluripotentes específicas de paciente que solucionarían ambos problemas. Las iPSC específicas de paciente, además, ofrecen una herramienta muy valiosa para el estudio de diferentes modelos de enfermedad. En la actualidad han sido descritos numerosos métodos para la reprogramación de células somáticas a iPSC. Los primeros métodos implicaban la utilización de combinaciones de 3 ó 4 vectores vi-

rales portadores de factores de transcripción tales como Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc, LIN-28 y Nanog (Takahashi *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2007).

En nuestro laboratorio hemos puesto recientemente a punto un protocolo para la generación rápida y eficaz de iPSC a partir de queratinocitos epidérmicos humanos (Aasen *et al.*, 2008). Utilizando esta metodología, así como protocolos optimizados para la reprogramación de fibroblastos, hemos generado iPSC portadoras de enfermedades concretas tales como la anemia de Fanconi y la aciduria glutárica de tipo I. Para ello, se aislaron fibroblastos o queratinocitos de pacientes portadores de ambas enfermedades y fueron infectados con una mezcla de sobrenadantes retrovirales de OCT4, SOX2 y KLF4, con o sin c-MYC. Tras 30-45 días las colonias con morfología compatible con iPSC fueron subcultivadas y expandidas. Las líneas obtenidas mostraron silenciamiento de los transgenes retrovirales y reprogramación transcripcional y epigenética hasta un estado de pluripotencia. Asimismo, el comporta-

miento de estas líneas de iPSC específicas de paciente es esencialmente indistinguible de hESC, tanto en su capacidad de proliferación como de diferenciación *in vitro* y formación de teratomas en ratones inmunodeficientes.

La generación de líneas de iPSC específicas de pacientes portadores de enfermedades genéticas permite el estudio individualizado de las enfermedades de estos pacientes, así como su corrección *in vitro*, haciendo posible una eventual terapia celular con las propias células del paciente. De esta manera se evitaría el rechazo inmunitario, pues se trataría de células compatibles genéticamente. Además, al ser células pluripotentes, las iPSC presentan una capacidad de proliferación ilimitada y esto garantiza la aportación de material suficiente para la corrección de dichas enfermedades.

La utilización de vectores virales para la reprogramación inducida plantea problemas de seguridad biológica que hacen imposible su aplicación en terapia clínica. Estos problemas están relacionados con la integración del material genético exógeno en el genoma de las células infectadas, ya que al integrarse puede alterar el funcionamiento de genes norma-

les e inducir un riesgo de oncogénesis insercional. También existe el riesgo de la reactivación de los transgenes utilizados, algunos de ellos potentes oncogenes, con el consiguiente riesgo añadido de oncogénesis. En la actualidad, se ha conseguido la generación de iPSC murinas mediante métodos no integrativos (Okita *et al.*, 2007) y la meta actual es la obtención de iPSC humanas mediante métodos similares, permitiendo de esta manera crear células pluripotentes con un alto grado de seguridad.

BIBLIOGRAFÍA

- AASEN, T. [*et al.*] (2008). «Efficient and rapid generation of induced pluripotent stem cells from human keratinocytes». *Nat. Biotechnol.*, 26: 1276-1284.
- OKITA, K. [*et al.*] (2007). «Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells». *Nature*, 448: 313-317.
- TAKAHASHI, K. [*et al.*] (2007). «Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors». *Cell*, 131: 861-872.
- YU, J. [*et al.*] (2007). «Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells». *Science*, 318: 1917-1920.