



## REPROGRAMACIÓN CELULAR Y SU APLICACIÓN EN INFERTILIDAD POR CARENCIA DE GAMETOS FEMENINOS\*

### CELLULAR REPROGRAMMING AND ITS APPLICATION IN INFERTILITY BY DEFICIENCY OF FEMALE GAMETES\*

Anaya-Pico Katy<sup>1</sup>  
Monterrosa-Castro Álvaro<sup>2</sup>

Correspondencia: alvaromonterrosa@gmail.com

Recibido para evaluación: Diciembre – 21 – 2011. Aceptado para publicación: Octubre – 13 – 2012.

#### RESUMEN

**Introducción:** la infertilidad afecta del 10 al 15% de las parejas. Una causa importante en ambos miembros de la pareja es la disrupción o ausencia de células germinales. Se han realizado modelos de experimentación in vitro para el estudio de los mecanismos moleculares o genéticos implicados y para el posterior desarrollo de futuros tratamientos para esta condición.

**Objetivo:** puntualizar sobre los adelantos que se han sucedido en reprogramación celular e inferir sobre su potencial aplicación en infertilidad por ausencia de gametos femeninos.

**Metodología:** revisión temática. Se realizó búsqueda informática en Pubmed, Cochrane, Core Journals, Clinical trials, Ovid, SciELO y LILACS. También búsqueda manual en los periódicos o portales científicos: Cell, Cold Spring Harbor Laboratory Press (CSHL), The Hadassah Human Embryonic Stem Cell Research Center, American Journal of Clinical Pathology, Center for iPS Cell Research and Applications (CIRA). Sin límite de edad, género, en lengua inglesa y en español, publicados desde el año 1950 hasta el año 2012. Se incluyeron estudios en humanos y animales. 98 resúmenes de artículos fueron obtenidos, 51 considerados pertinentes y todos fueron revisados en texto completo.

**Resultados:** se encontraron importantes publicaciones en los últimos cincuenta años que documentan los adelantos y el desarrollo tecnológico cumplido con las células madres hasta llegar a la reprogramación celular. Estudios en modelos de experimentación, en animales de diferentes especies y en células humanas han demostrado que la especialización celular puede hacerse reversible, permitiendo la creación de herramientas terapéuticas para distintas patologías, incluida la infertilidad por ausencia de gametos, sobre todo por falla ovárica temprana. Nueva terminología ha sido propuesta, para identificar a las células creadas luego de reprogramación a partir de factores génicos de transcripción cada vez mejor conocidos.

**Conclusión:** la reprogramación celular es un campo en desarrollo, de grandes adelantos que rápidamente se ha convertido en la llave para en un futuro próximo abordar patologías que hoy no tienen tratamiento. La entrega del Premio Nobel de Medicina en el 2012 a dos de sus pioneros (John B. Gurdon y Shinya Yamanaka), es una expresión de reconocimiento y también de las expectativas que se tienen en la reprogramación celular para la salud en general, y en particular para la infertilidad por carencia de gametos masculinos y femeninos. **Rev.Cienc.Biomed. 2012;3(2):317-326**

\* Un producto del Grupo de Investigación Salud de la Mujer. Universidad de Cartagena. Colombia.

<sup>1</sup> Médico General. Egresado Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia. Pasante por el Grupo de Investigación Salud de la Mujer. Universidad de Cartagena. Colombia.

<sup>2</sup> Médico. Especialista en Ginecología y Obstetricia. Docente. Director Grupo de Investigación Salud de la Mujer. Facultad de Medicina. Universidad de Cartagena. Colombia.

**PALABRAS CLAVES**

Células madre embrionarias; Células pluripotentes inducidas; Células humanas pluripotentes inducidas; Reprogramación celular; Infertilidad; Gametos; Falla ovárica temprana.

**SUMMARY**

**Introduction:** *The infertility affects 10 to 15% of the couples. An important cause in both members of the couple is the disruption or absence of germinal cells. Models of in vitro experiments have been carried out to study the molecular or genetic mechanisms involved and for the development of future treatments for this condition.*

**Objective:** *To specify about the advances that have followed in cellular reprogramming and to infer about its potential application in infertility by absence of female gametes.*

**Methods:** *Thematic review. A computer research was done in Pubmed, Cochrane, Core Journals, Clinical trials, Ovid, SciELO and LILACS. Also manual search in the newspapers or scientific websites: Cell, Cold Spring Harbor Laboratory Press (CSHL), The Hadassah Human Embryonic Stem Cell Research Center, American Journal of Clinical Pathology, Center for iPS Cell Research and Applications (CIRA). There were included those without limit of age or gender and in Spanish and English that were published since 1950 to 2012. Studies in humans and animals were included. 98 summaries of articles were gotten and 52 were considered pertinent. All of these were reviewed in complete text.*

**Results:** *There were found important publications in the last fifty years that document the advances and the technological development got with the Stem Cell until the cellular reprogramming. Studies in experimentation models, in animals of different species and in human cells have proved that cellular specialization can become reversible, allowing the creation of therapeutics tools for different pathologies, included the infertility by absence of gametes, above everything by premature ovarian failure. New terminology has been proposed to identify to the cells that were created after the reprogramming as of gene factors of transcription every time better known.*

**Conclusion:** *Cellular reprogramming is a field in development, that have become the key to tackle pathologies in a future that today don't have treatment. The delivery of the Nobel Prize of Medicine in 2012 to two of its pioneers (John B. Gurdon y Shinya Yamanaka), is an expression of recognition and also about the expectations that exist in the cellular reprogramming for the health in general, and in particular for the infertility by absence of male and female gametes. **Rev.Cienc.Biomed. 2012;3(2):317-326***

**KEYWORD**

*Embryonic stem cells; Induced pluripotent stem cells; Induced pluripotent human stem cells; Cellular reprogramming; Infertility; Gametes; Premature ovarian failure.*

**INTRODUCCIÓN**

Las células madre embrionarias (ESCs) son pluripotentes y pueden diferenciarse en tejido maduro y funcional, son distintas de las células madre adultas (SCs) por su grado de multipotencialidad. Tienen la facultad de autorrenovarse periódicamente por mitosis y regenerarse cuando se produce daño tisular (1,2). Estas células primitivas son el estado más temprano del organismo humano y se encuentran en la masa interna del blastocisto, cuya formación ocurre cuatro a seis días después de la fecundación y antes de la implantación en el endometrio. Una vez el trofoblasto y las células de la masa interna del blastocisto están formadas, son expresados diferentes genes que contribuyen al proceso de crecimiento y diferenciación celular (3).

Las células somáticas no tienen la capacidad para generar un organismo completo. El núcleo de una célula somática debe ser reprogramado si se quiere que esta participe en el desarrollo de ovocitos que previamente han sido enucleados (4). Sin embargo, debido a las consideraciones éticas de trabajar con modelos y embriones humanos, se ha desarrollado la opción de producir células pluripotentes a partir de células somáticas adultas, añadiendo factores inductores que reprogramen el material genético, sin el uso de ovocitos, obteniendo así células pluripotentes inducidas genéticamente (iPS), que posteriormente pueden ser cultivadas y permiten obtener diferentes líneas celulares, incluyendo células germinales y subsiguientes gametos masculinos y femeninos (5).

En el marco de esta opción terapéutica, el estudio de los procesos complejos como la reprogramación genética, el estudio de mecanismos biomoleculares de la fecundación y del desarrollo embrionario, es preciso preguntarse desde el punto de vista clínico: ¿Existirá la posibilidad de generar a partir de una célula somática humana, gametos y embriones que lleguen a término?

El objetivo de este artículo es realizar una revisión temática para examinar los alcances de la reprogramación celular, puntualizar sobre los adelantos e inferir sobre su potencial aplicación en infertilidad por carencia de gametos sobre todo femeninos. La Tabla No. 1 presenta un breve glosario que incluye nueva terminología.

## METODOLOGÍA

**Tipos de estudios:** se incluyen en la revisión todo tipo de publicaciones, sin distinciones en las modalidades (meta-análisis, estudios experimentales, de revisión y reportes de casos), tanto estudios en células humanas como en diferentes especies o modelos de experimentación, cuyo contenido presentara conceptos de reprogramación celular y su potencial aplicación en infertilidad por carencia de gametos. Los estudios se incluyeron sin restricción de diseño ni nivel de evidencia.

**Estrategia de búsqueda:** se realizó búsqueda bibliográfica informática en Pubmed, Cochrane, Core Journals, Clinical trials, Ovid, SciELO y LILACS. También se realizó búsqueda manual en los periódicos o portales científicos como: Cell, Cold Spring Harbor Laboratory Press (CSHL), The Hadassah Human Embryonic Stem Cell Research Center, American Journal of Clinical Pathology, Center for iPS Cell Research and Applications (CIRA). Se incluyeron estudios de todos los países, sin límite de edad ni género, en lengua inglesa y en español, publicados desde el año 1950 hasta el año 2012.

<b>TABLA N° 1. GLOSARIO</b>	
CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS (ESCs)	Células madre pluripotentes obtenidas de la capa interna del blastocisto
CÉLULAS MADRE ADULTAS (SCs)	Células de un solo linaje
CÉLULA TOTIPOTENTE	Célula con la capacidad de dar origen a todas las células de un organismo, incluyendo la línea germinal y el tejido embrionario y extraembrionario. El cigoto es la célula totipotente por excelencia
CÉLULAS PLURIPOTENTES	Capaces de formar células de todos los linajes del organismo, pero no al tejido extraembrionario. En los mamíferos solamente lo son el cigoto, los primeros blastómeros y las células madre embrionarias
CÉLULAS MULTIPOTENTES	Capaces de formar células de todos los tipos celulares pero de un determinado linaje del cuerpo, son las denominadas células madre adultas, células madre hematopoyéticas o mesenquimales
TRANSGEN (TRANSGENE)	Gen o material genético que ha sido transferido naturalmente o por técnicas de ingeniería genética de un organismo a otro
TRANSDUCCIÓN GENÉTICA	Proceso de la síntesis proteica, que convierte una secuencia de ARNm en una cadena de aminoácidos para formar una proteína
CÉLULA PLURIPOTENTE INDUCIDA (iPS)	Célula somática que ha sido sometida a un proceso de reprogramación nuclear mediante la expresión ectópica de factores de transcripción específicos y que adquiere características moleculares y funcionales de pluripotencia que la hacen semejante a una célula madre embrionaria
OOGONIALES	Nombre que se le da a las células que durante y después de la embriogénesis, entre la quinta y treinta semana se diferenciarán dando origen a los ovocitos
XENOTRASPLANTE HETEROTRASPLANTE O TRASPLANTE HETERÓLOGO	Es el trasplante de células, tejidos u órganos de una especie a otra, idealmente entre especies próximas para evitar rechazo, como de cerdos a humanos.

**Términos claves utilizados:** se utilizaron los términos MESH: (Embryonic stem Cells (ESCs), induced pluripotent stem cells (iPS), Human induced pluripotent stem cells (hiPS), cellular reprogramming e infertility).

**Método de revisión:** los resúmenes fueron revisados de forma separada e independiente. Se escogieron los considerados subjetivamente como pertinentes y se adquirieron las publicaciones completas. Ellas a su vez fueron revisadas y seleccionadas las que permitían cumplir con el objetivo de la revisión.

## RESULTADOS

98 resúmenes de artículos fueron obtenidos luego de las búsquedas y de eliminar las repeticiones. 51 resúmenes fueron considerados pertinentes, de mayor trascendencia y aporte. Todos fueron adquiridos en texto completo, revisados y citados a lo largo de la presente revisión temática.

## EVOLUCIÓN HISTÓRICA

El desarrollo de los mamíferos está regulado por una serie de mecanismos de activación y represión genética, manejado por las células a través de un proceso de diferenciación unidireccional. Este proceso está caracterizado por la progresiva especialización de las células. El núcleo dotado de gran plasticidad puede ser transformado a un estado pluripotente cuando ha sido expuesto al entorno apropiado (6). La primera evidencia conocida fue descrita por Briggs y King [1952], obteniendo sapos clonados por medio de la técnica de transferencia nuclear, empleando óvulos y epitelio intestinal (7). En este estudio se reemplazó el núcleo de una célula inmadura (óvulo) por el de una célula intestinal madura, demostrando que el óvulo modificado podía desarrollarse en un embrión normal. Este hallazgo mostró que el ADN de una célula madura podía contener toda la información necesaria para convertirse en cualquier tipo de célula en el organismo (7). A partir de ese momento se trabajó en clonación de anfibios y otras especies. El británico John B. Gurdon (4) en 1962 logró reprogramar células de una rana adulta, demostrando que la especialización celular podía artifi-

cialmente ser reversible, concepto contrario a lo ampliamente aceptado hasta entonces. Gurdon extrajo el núcleo de una célula del intestino de un renacuajo y lo introdujo en el huevo de una rana. El huevo se convirtió en un renacuajo y luego en una rana. Por primera vez se observó que las células que habían madurado y convertido en tipo específico, seguían conservando la información genética necesaria para diferenciarse en cualquier tipo celular. La técnica utilizada por Gurdon en su estudio es considerada pionera y básica para el posterior desarrollo de otros estudios y experimentos que llevaron al primer mamífero clonado. Por ser sus estudios fundamentales, que abrieron campo para otras experimentaciones, recibió en el año 2012 el Premio Nobel de Medicina. Desde la propuesta de Gurdon, solo hasta 1995 en el Instituto Roslin (Escocia), se obtendrían los primeros mamíferos [Megan y Morag], dos ovejas clonadas a partir de células diferenciadas (8).

Por otro lado con los estudios de McCulloch y Till realizados en la década de los sesenta, se aumentó el interés en el campo de las células madre o Stem Cells (SCs), convirtiéndose en pioneros de la técnica para la manipulación de estas células y crearon el primer método cuantitativo de clonación (9). En 1992 se publicaron las primeras experiencias, demostrando que las células madre de tejidos adultos, se podían diferenciar en células de su mismo tejido y de otros tejidos. Se descubrió que las células madre mesenquimales de médula ósea, podían transformarse en células cardíacas, óseas, de cartílago, adiposas y endoteliales (10).

Lo estudios continuaron y se obtuvieron finalmente los primeros mamíferos transgénicos clonados, [Molly y Dolly en 1997] quienes poseían el gen para expresión de la proteína del factor de la coagulación IX en su leche, como un experimento de tratamiento para la hemofilia. Al año siguiente nació el primer mamífero clonado, también llamado Dolly, a partir de células adultas, hecho mundialmente publicitado (11). Estos experimentos demostraron que el genoma de las células plenamente diferenciadas, permanece totipotente y tiene la capacidad de soportar el desarrollo de un organismo completo (12).

Como evidencia adicional de la plasticidad del núcleo de las células somáticas, se encontró la generación de células híbridas pluripotentes, producto de la unión de una célula somática con una célula embrionaria. Tada y colaboradores (13) en el año 2001 realizaron con esta técnica, la fusión de las células de un ratón masculino, con células somáticas (timocitos) de un ratón femenino, expresando una proteína verde fluorescente bajo el control del factor de transcripción *Oct3/Oct4*, también llamado *Pou5f1*. El gen *Oct4*, que normalmente está desactivado en los timocitos, se activó 48 horas después a la fusión celular, quedando así demostrando que la expresión celular de los factores reprogramadores, es similar a la de los ovocitos.

Muchos factores pueden contribuir a la reprogramación de las células somáticas, ya sea por transferencia nuclear o fusión celular. Por esta razón, ha sido difícil elucidar los mecanismos que hacen parte de este proceso y la participación de los diferentes factores implicados (6). La hipótesis acerca de que la sobreexpresión de factores de transcripción específicos en las células somáticas, podría modificar su estado final por medio de la activación de genes específicos, fue generada por primera vez en la *Drosophila melanogaster* (14). Posteriormente la misma observación fue realizada en mamíferos, mostrando que la sobreexpresión de la proteína 1 de diferenciación miogénica (*myoD*), es un gen regulador de la miogénesis, capaz de convertir directamente fibroblastos en mioblastos (15). Recientemente Leda y colaboradores en el 2010 (16) demostraron que la sobreexpresión de la combinación de factores de transcripción cardiacos (*GATA4*, *Mef2c*, *Tbx5*) son suficientes para convertir en el ratón, fibroblastos de corazón en cardiomiocitos funcionales.

Woo-Suk Hwang y colaboradores en el 2005 afirmaron la obtención de once líneas celulares de células embrionarias humanas por transferencia nuclear, a partir de la piel de diferentes individuos con enfermedades genéticas establecidas. Su resultado indicaba que las células obtenidas se caracterizaban por ser pluripotentes, cromosómicamente normales, inmunológicamente compatibles y encajaban con el ADN del donante (17).

Este estudio captó el interés ante una potencial obtención del primer "clon" humano y la posibilidad de adelantar estudios en las áreas genéticas y biomoleculares del desarrollo embrionario. Sin embargo otros investigadores empleando las mismas técnicas en sus experimentos no obtuvieron éxito, por lo que se generaron dudas en torno a la exactitud y valor de los resultados. A finales del año 2006 en el editorial de la misma revista donde se realizó la publicación, se planteó la necesidad de rectificación, aclaración y se solicitó a los autores que se retractasen en sus apreciaciones (18).

French A y colaboradores (19) lograron la obtención de embriones (blastocisto) humanos por medio de la técnica clásica de transferencia nuclear somática (clonación) utilizando células adultas de piel y ovocitos de mujeres jóvenes. A partir de ese logro, se desplegó un número importante de experimentos en ratas, demostrando que cardiomiocitos generados a partir de Células Madres Embrionarias Humanas (hESCs) podían mejorar la función cardiaca de corazones de rata infartadas (20).

El primer estudio en humanos con (hESCs) fue aprobado finalmente por la FDA de los Estados Unidos, cambiando las políticas previas acerca de la investigación con células madres embrionarias. Se inició un estudio fase 1, multicéntrico, tratando diez pacientes que habían sufrido lesión grave de médula espinal en las dos semanas anteriores (21).

Para ese momento se calculaba que la posibilidad de reprogramar células adultas humanas y convertirlas en Células Humanas Pluripotentes Inducidas Genéticamente (hiPS) tardaría al menos veinte años. Sin embargo, solo 16 meses después de los experimentos de reprogramación celular en animales, la revista Science anunció que Yamanaka y Thomson consiguieron la reprogramación de células adultas humanas, convirtiéndose en el avance más importante de la ciencia en el año 2008 (22).

Se ha venido demostrando que las Células Pluripotentes Inducidas Genéticamente (iPS) tienen similitudes con las Células Madres Embrionarias (ESCs) en la integridad

genómica, el perfil de expresión genética, el potencial de desarrollo y la capacidad de diferenciarse en linajes de las tres capas germinales (23). Las células iPS ya han sido derivadas de diferentes tipos tejidos: hepatocitos, células estomacales, células b-pancreáticas, linfocitos, células de sangre periférica, queratinocitos y astrocitos (6). Todo ello se deriva del aporte del japonés Shinya Yamanaka, quien descubrió que las células adultas podían ser reprogramadas para crear grupos de células polivalentes, algo así como retrocederles el reloj biológico y cambiarlas de estadios diferenciados a indiferenciados. Yamanaka con cuatro genes reprogramó una célula de piel de un ratón para generar una célula troncal polivalente (iPS) en el año 2006 (2), y la generación de células humanas (hiPS) en el año 2007 (24). Esos adelantos fueron los que abrieron puertas para reprogramación de células somáticas humanas y formar células específicas de órganos para tratamiento genéticos, Yamanaka obtuvo el Premio Nobel de Medicina del 2012 en compañía de John B. Gurdon que había realizado importantes aportes en la misma área muchos años antes. En el portal del Center for iPS Cell Research and Applications (CIRA) del cual Yamanaka es director, se señala que dijo luego de ganar el Premio Nobel expresó: "Voy a trabajar duro con mis colegas para desarrollar medicamentos efectivos y terapias nuevas para enfermedades intratables, recurriendo a (iPS)". [<http://www.cira.kyoto-u.ac.jp/e/pressrelease/other/121008-183500.html>]

## REPROGRAMACIÓN CELULAR

La reprogramación celular es el proceso mediante el cual células madre pluripotentes inducidas (iPS) son generadas. Consiste en la conversión o "reprogramación" de una célula somática adulta, utilizando un set definido de factores inductores de pluripotencia y un adecuado medio de cultivo, para así obtener una célula muy parecida a la del estado embrionario (2). Las células madre pluripotentes inducidas (iPS) son células madre derivadas de una célula adulta que inicialmente no era pluripotencial (24).

La primera generación de células (iPS), fue creada por Yamanaka y colaboradores,

iniciando con 24 genes reprogramadores inductores de pluripotencia en células de ratones (25). Posteriormente definieron un set de solo cuatro factores inductores: la combinación de factores de transcripción fue denominada OSKM, por la presencia de los genes *Oct4*, *Sox2*, *Klf4*, *c-Myc*, demostrando que funcionaban en el mantenimiento de la pluripotencia en varios tipos de células somáticas (26). También demostraron que podía aplicarse con éxito en células humanas (27).

La reprogramación directa fue lograda exitosamente también por otro grupo de investigadores usando una combinación distinta de factores: *Oct4*, *Sox2*, *Nanog* y *Lin28* (28). Este estudio sugiere que *Oct4* y *Sox2* son factores indispensables para la reprogramación, mientras que *Nanog*, *Lin28*, *Klf4* y el gen *c-Myc*, son factores alternativos de soporte. Debido a que uno de los cuatro genes utilizados (*c-Myc*) es un oncogén, el 20% de los ratones quiméricos formados desarrolló teratomas (5). Estudios posteriores han progresado a la utilización de cada vez menos factores, demostrando que para reprogramar una célula, se requiere la presencia del factor *Oct4* o el oncogén *c-Myc*, asociados a factores inhibidores, aunque con diferencias significativas en la eficiencia en la generación de la célula (iPS) (29).

Se ha asumido que biológicamente no hay diferencias entre las células iPS y las células embrionarias humanas, aunque para confirmarlo totalmente, habría que experimentar produciendo embriones humanos por clonación a partir de las células iPS, y así comprobar la similitud biológica de las células embrionarias con embriones obtenidos por fecundación in vitro o transferencia nuclear somática. Este procedimiento es actualmente imposible de llevar a cabo por razones éticas (22).

La habilidad de reprogramar células somáticas adultas, ha permitido considerar una amplia gama de aplicaciones clínicas, investigar en células iPS conseguidas a partir de una célula previamente enferma, los mecanismos celulares de la enfermedad (30-32), explorar los procesos que hacen que una célula adulta retorne al estado pluripotencial,

estudiar estados tempranos del desarrollo embrionario y descubrir los pasos que permiten ser usadas como material pluripotente para la generación de linajes celulares y la futura fabricación de órganos o tejidos, en el contexto de una nueva medicina regenerativa (6,33-35).

## REPROGRAMACIÓN EN INFERTILIDAD POR CARENCIA DE GAMETOS

Tendencias mundiales señalan un sensible incremento en la prevalencia de infertilidad humana por diversas razones, algunas de ellas aún poco claras. Afecta del 10-15% de las parejas, con igual incidencia en ambos sexos. Es de relevancia sobre todo la causada por la pérdida irrecuperable, temprana o tardía de los gametos (36,37). Los cuadros de infertilidad conyugal incluyen diferentes patologías que pueden tener asiento en el aparato genital masculino o femenino, e incluso en el eje hipotálamo-hipofisario-gonadal. Diversas entidades pueden comprometer reversible o irreversiblemente el tracto tubárico, la función ovulatoria o la producción espermática. Se señala la importancia de factores ambientales, el estilo de vida (tabaco, obesidad, estrés, consumo de sustancias, alcoholismo) y la disfunción sexual (37). Existe un estado de pérdida natural e irreversible de la fertilidad, denominada por algunos como infertilidad fisiológica, que está en directa relación con la edad.

La infertilidad causada por interrupción o ausencia de células germinales, es un problema también en aumento, crónico e incurable. Ha sido abordada en los últimos años con la donación de gametos (ovo donación o inseminación heteróloga). El constituir nuevas terapias que permitan disponer de nuevo de células germinales homólogas o que reconstituyan los órganos reproductivos, requiere de una profunda comprensión de la biología del desarrollo. Un alto porcentaje de casos de infertilidad por causa del gameto, son debidos a aberraciones cromosómicas y/o mutaciones genéticas balanceadas (37).

El conocimiento acerca del desarrollo embrionario humano ha sido derivado de las

observaciones en ratones, el cual es un importante modelo, pero también es claro que los requerimientos genéticos para el desarrollo de la raza humana son únicos (38-43). El acceso necesariamente invasivo a las gónadas y los órganos reproductivos femeninos y masculinos, demandan que se usen modelos in vitro con células humanas para el estudio tanto normal como patológico del desarrollo (1). Una estrategia prometedora de generar estos modelos in vitro constituye utilizar Células Pluripotentes Humanas (hiPS), con la capacidad de autorrenovarse y poseer pluripotencia, definidas como la capacidad de proliferar y diferenciarse en todos los tipos celulares incluyendo las tres capas germinales (1).

Los avances en transferencia nuclear somática han logrado a partir de una variedad de diferentes tipos celulares adultos, como fibroblastos o neuronas, producir gametos y luego ratones sanos que han llegado a término, a la vida adulta y conservada su fertilidad, que abre la pregunta de la validez y aplicabilidad en la reproducción de los humanos (44,45). No obstante, aún no se comprenden las razones por las cuales la efectividad del resultado es limitado.

La insuficiencia ovárica primaria también conocida como falla ovárica prematura (POF) es causa importante de infertilidad en la mujer. Su etiología puede ser variada: desórdenes autoinmunes, disregulación hormonal, infecciones virales, quirúrgica, quimio/radioterapia o mutaciones genéticas (1). Estudios que han usado ratones genéticamente modificados han asociado varios genes ováricos a POF como *BMP15*, *BMPR1B*, *DAX1*, *FMR1*, *FOXL2*, *POF1B*, *SF1*, sin embargo aún el mecanismo por el cual estos genes están involucrados es desconocido (46). La intervención en esas mutaciones genéticas utilizando hESCs/iPSCs, podría ser una excelente manera de desarrollar algunos tratamientos. Basados en diferentes estudios, Yamanaka (1,45) ha propuesto tratar la infertilidad humana por carencia de gametos usando hESCs/iPSCs y propone dos alternativas terapéuticas.

Primera alternativa para obtener células germinales. Aislado y expandiendo células

madre adultas de los mismos órganos reproductivos y diferenciar células germinales a partir de células madre pluripotentes. En ratones, células madre germinales masculinas han podido ser cultivadas, manteniendo su capacidad de autorrenovarse y la funcionalidad (47). Virant-Klun y colaboradores (48) reportaron que las células parecidas a células madre ováricas que expresaban *SSEA4*, *Oct4*, *nanog*, *c-KIT*, existen en la superficie del epitelio ovárico en mujeres adultas con POF y pueden ser aisladas. Más recientemente White y colaboradores (49) reportan que células madre ovogoniales mitóticamente activas (OSCs) pueden ser aisladas clasificándolas según la expresión *Vasa* presente en la superficie celular de ovarios de ratones adultos y del tejido cortical de ovarios humanos (49). Las OSCs pueden replicarse durante meses en cultivos y espontáneamente generar ovocitos de 35-50mm determinados por su morfología, expresión genética y estatus Haploide (1n). La inyección de OSCs en la corteza de biopsias de ovario humano produce la formación de folículos que contienen ovocitos una o dos semanas después del xenotransplante en ratones masculinos inmunodeficientes (49). Estos hallazgos sugieren que las mujeres en edad reproductiva pueden poseer un tipo de células germinales mitóticamente activas, que potencialmente pueden ser propagadas in vitro y generar ovocitos tanto in vitro como in vivo (1).

También teóricamente se pueden derivar células de los órganos reproductivos adultos, para realizar modelos in vitro de las enfermedades, sin embargo hay desventajas. Acceder a los órganos reproductivos para biopsia es un método invasivo y limitado, el aislamiento y mantenimiento en expansión y diferenciación de estas células sigue siendo un procedimiento difícil de llevar a cabo (1).

La segunda alternativa propuesta por Yamanaka para obtener células germinales es la transdiferenciación o reprogramación de células somáticas para obtener células germinales. Hua y colaboradores (50) reportaron que hay un tipo de células en la médula ósea fetal que expresan marcadores de células germinales. Drusenheimer y colaboradores

(51) también reportaron una pequeña población de células de médula ósea que expresan en estadios tempranos los marcadores de células germinales *Oct4*, *Fragilis*, *Stella*, *Vasa*, y los marcadores específicos masculinos *Dazl* y *Stra8* (51).

Estas primeras aproximaciones son importantes para la generación de células germinales a partir de células somáticas y llegar a aplicaciones terapéuticas en medicina reproductiva, no obstante aún no se ha confirmado si estas células transdiferenciadas pueden tener la misma funcionalidad que las células germinales (1).

## CONCLUSIONES

El campo de la reprogramación celular y sus potenciales aplicaciones diagnósticas y terapéuticas en la salud humana están en permanente crecimiento. Estudios en desarrollo ampliarán el entendimiento del desarrollo de las células en general, pero sobre todo las germinales y la embriogénesis.

La reprogramación celular permitirá potencialmente más adelante resolver la infertilidad por carencia de gametos masculinos (Azoospermia) y femeninos (Falla ovárica temprana), situaciones que hoy en día no tienen solución y solo se enfrentan con la ovodonación o la donación espermática. El éxito terapéutico de estas nuevas células podrá ser medido únicamente según su funcionalidad posterior al trasplante. Aunque están descritos resultados en ratones, hay aún inconvenientes con el uso de las hESCs/hiPSCs, en especial la baja eficiencia.

La entrega del Premio Nobel de Medicina (fisiología) a dos investigadores y pioneros de la reprogramación celular, es mensaje de la importancia de los adelantos cumplidos y una señal de las expectativas acerca del desarrollo de una terapéutica génica para la salud en general y para la reproducción humana.

**CONFLICTOS DE INTERESES:** ninguno que declarar.

**FINANCIACIÓN:** recursos propios de los autores.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hayashi Y, Saitou M, Yamanaka S. Germline development from human pluripotent stem cells toward disease modeling of infertility. *Fertil Steril*. 2012;97(6):1250-1259.
2. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126(4):663-676.
3. De Miguel MP, Arnalich F, Lopez P, Blazquez A, Nistal M. Epiblast-derived stem cells in embryonic and adult issues. *Int J Dev Biol*. 2009;53(8-10):1529-1540.
4. Gurdon JB, Wilmot I. Nuclear Transfer to eggs and oocytes. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2011;3(6):1-14.
5. Takahashi k, Tanabe k, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131(5):861-872.
6. Pietronave S, Prat M. Advances and applications of induced pluripotent stem cells *Can J Physiol Pharmacol*. 2012;90(5):317-325.
7. Briggs R, King T, Transplantation of living nuclei from blastula cells into enucleated frogs' eggs. *Proc Natl Acad Sci*. 1952;38(5):455-463.
8. Bruce D. Polly, Dolly, Megan, and Morag: a view from Edinburgh on cloning and genetic engineering. *Phil & Tech*. 1997;3(2):82-91.
9. Worton RG, McCulloch EA, Till JE. Physical separation of hemopoietic stem cells differing in their capacity for self-renewal. *J Exp Med*. 1969;130(1): 91-103.
10. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA, Verfaillie CM. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*. 2002;418(6893):41-49.
11. Wilmot I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*. 1997; 385 (6619):810-813.
12. Stadtfeld M, Hochedlinger K. Induced pluripotency: history, mechanisms, and applications. *Genes Dev*. 2010;24(20):2239-2263.
13. Tada M, Takahama Y, Abe K, Nakatsuji N, Tada T. Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells. *Curr Biol*. 2001;11(19):1553-1558.
14. Schneuwly S, Klemenz R, Gehring WJ. Redesigning the body plan of *Drosophila* by ectopic expression of the homoeotic gene *Antennapedia*. *Nature* 1987;325(6107): 816-818.
15. Davis RL, Weintraub H, Lassar AB. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell*. 1987 51(6):987-1000.
16. Ieda M, Fu J, Delgado-Olguin P, Vedantham V, Hayashi J, Bruneau B, Srivastava D. Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. *Cell*. 2010;142(3): 375-386.
17. Hwang WS, Ryu YJ, Park JH, Park ES, Lee EG, Koo JM, Jeon HY, Lee BC, Kang SK, Kim SJ, Ahn C, Hwang JH, Park KY, Cibelli JB, Moon SY. Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst. *Science*. 2004; 303(5664):1669-1674.
18. Kennedy D. Retraction of Hwang et Al. *Science*. 2006; 311(5729):335.
19. French AJ, Adams CA, Anderson LS, Kitchen JR, Hughes MR, Wood SH. Development of human cloned blastocysts following somatic cell nuclear transfer with adult fibroblasts. *Stem Cells*. 2008;26(2):485-493.
20. Laflamme MA, Chen KY, Naumova AV, Muskheli V, Fugate JA, Dupras SK, Reinecke H, Xu C, Hassanipour M, Police S, O'Sullivan C, Collins L, Chen Y, Minami E, Gill EA, Ueno S, Yuan C, Gold J, Murry CE. Cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells in pro-survival factors enhance function of infarcted rat hearts. *Nat Biotechnol*. 2007;25(9):1015-1024.
21. Singer E. FDA Lets human embryonic stem cells trials resume. *Technology review*. 2010;6.
22. Vogel G. Breakthrough of the year. Reprogramming cells. *Science*. 2008; 322 (5909):1766-1767.
23. Kim H, Studer L. iPSCs put to the test. *Nat Biotechnol*. 2011;29: 233-235
24. Takahashik, Tanabek, OhnukiM, Narita M, IchisakaT, Tomoda K, Yamanaka S, Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131(5):861-872.
25. Chaparro O, Beltrán O. Reprogramación nuclear y células pluripotentes inducidas. *Rev. fac. Med*. 2009;2(17):252-263.
26. Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature*. 2007;448(7151):313-317.
27. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, Nie J, Jonsdottir GA, Ruotti V, Stewart R, Slukvin II, Thomson JA. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*. 2007;318(5858):1917-1920.
28. Maherali N, Sridharan R, Xie W, Utikal J, Eminli S, Arnold K, Stadtfeld M, Yachechko R, Tchieu J, Jaenisch R. Directly reprogrammed fibroblasts show global epigenetic remodeling and widespread tissue contribution. *Cell Stem Cell*. 2007;1(1):55-70.
29. Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, Takahashi K, Ichisaka T, Aoi T, Okita K, Mochiduki Y,

- Takizawa N, Yamanaka S. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nat Biotechnol.* 2008; 26(1):101-106.
30. Ananiev G, Williams EC, Li H, Chang Q. Isogenic pairs of wild type and mutant induced pluripotent stem cell (iPSC) lines from Rett syndrome patients as in vitro disease model. *PLoS One.* 2011;6(9):e252-255.
  31. Priori SG. Induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes and long QT syndrome: is personalized medicine ready for prime time? *Circ Res.* 2011;109(8):822-824.
  32. Chang T, Zheng W, Tsark W, Bates S, Huang H, Lin RJ, Yee JK. Brief report: phenotypic rescue of induced pluripotent stem cell-derived motoneurons of a spinal muscular atrophy patient. *Stem Cells* 2011;29(12):2090-2093.
  33. Park IH, Arora N, Huo H, Maherali N, Ahfeldt T, Shimamura A, Lensch MW, Cowan C, Hochedlinger K, Daley GQ. Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell* 2008;134(5):877-886.
  34. Dimos JT, Rodolfa KT, Niakan KK, Weisenthal LM, Mitsumoto H, Chung W, Croft GF, Saphier G, Leibel R, Goland 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(5893):1218-1221.
  35. Saha K, Jaenisch R. Technical challenges in using human induced pluripotent stem cells to model disease. *Cell Stem Cell.* 2009;5(6):584-595.
  36. Chandra A, Martinez GM, Mosher WD, Abma JC, Jones J. Fertility, family planning, and reproductive health of U.S. women: Data from the 2002 National Survey of Family Growth. *Vital Health Stat.*
  37. Joffe M. What has happened to human fertility? *Human Reproduction*, 2010;25(2)295-307.
  38. Cooke HJ, Saunders PT. Mouse models of male infertility. *Nat Rev Genet.* 2002;3(10):790-801.
  39. Ferlin A, Raicu F, Gatta V, Zuccarello D, Palka G, Foresta C. Male infertility: role of genetic background. *Reprod Biomed Online.* 2007;14(6):734-745.
  40. Hwang K, Yatsenko AN, Jorgez CJ, Mukherjee S, Nalam RL, Matzuk MM, Lamb DJ. Mendelian genetics of male infertility. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;12(14):e1-17.
  41. Shelling AN. Premature ovarian failure. *Reproduction.* 2010;140(5):633-641.
  42. Persani L, Rossetti R, Cacciatori C. Genes involved in human premature ovarian failure. *J Mol Endocrinol.* 2010;45(5):257-279.
  43. Walsh TJ, Pera RR, Turek PJ. The genetics of male infertility. *Semin Reprod Med.* 2009;27(2):124-136.
  44. Betts DH, Kalionis B. Viable iPSC mice: a step closer to therapeutic applications in humans? *Hum Reprod.* 2010;16(2): 57-62.
  45. Yamanaka S. Strategies and new developments in the generation of patient-specific pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell.* 2007;1(1):39-49.
  46. Edson MA, Nagaraja AK, Matzuk MM. The mammalia ovary from genesis to revelation. *Endocrine Reviews.* 2009;30(6):624-712.
  47. Kanatsu-Shinohara M, Ogonuki N, Inoue K, Miki H, Ogura A, Toyokuni S. Long-term proliferation in culture and germline transmission of mouse male germ line stem cells. *Biol Reprod.* 2003;69(2):612-616.
  48. Virant-Klun I, Zech N, Rozman P, Vogler A, Cvjeticanin B, Klemenc P, Malicev E, Meden-Vrtovec H. Putative stem cells with an embryonic character isolated from the ovarian surface epithelium of women with no naturally present follicles and oocytes. *Differentiation.* 2008;76(8):843-856.
  49. White YA, Woods DC, Takai Y, Ishihara O, Seki H, Tilly JL. Oocyte formation by mitotically active germ cells purified from ovaries of reproductive-age women. *Nat Med.* 2012;18(3):413-421.
  50. Hua J, Pan S, Yang C, Dong W, Dou Z, Sidhu KS. Derivation of male germ cell-like line age from human fetal bone marrow stem cells. *Reprod Biomed Online.* 2009;19(1):99-105.
  51. Drusenheimer N, Wulf G, Nolte J, Lee JH, Dev A, Dressel R, Gromoll J, Schmidtke J, Engel W, Nayernia K. Putative human male germ cells from bone marrow stem cells. *Soc Reprod Fertil Suppl.* 2007;63:69-76.



## GRUPO DE INVESTIGACIÓN: BYME

LÍNEAS: Errores innatos del metabolismo. Factores de riesgo cardiovascular

Email: [cialse@hotmail.com](mailto:cialse@hotmail.com)