

# Descubrimientos sobre reprogramación nuclear merecen el Premio Nobel en 2012

Dra. Lilia Cruz de Montbrun

Individuo de Número

e-mail: lcruz987@gmail.com

## RESUMEN

*Este artículo fue escrito para honrar a JB Gurdon y S. Yamanaka, laureados con el Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2012 “por el descubrimiento de que las células maduras pueden ser reprogramadas para volverse pluripotentes”. Se presentan en forma concisa sus aportes científicos y reseñas biográficas. J.B. Gurdon, en Inglaterra, demostró hace 50 años en anfibios que al trasplantar el núcleo de una célula intestinal a un huevo u ovocito enucleado se obtiene una célula totipotente que se convierte en un embrión y se desarrolla hasta convertirse en una rana adulta, lo cual implica la conservación de genoma en el proceso de diferenciación y la reversibilidad de dicho proceso. Estos descubrimientos llevaron a que otros autores realizaran la clonación de mamíferos utilizando el núcleo de células somáticas y la obtención de células madre pluripotentes a partir de los embriones que se producen in vitro por el desarrollo de las células totipotentes. Se mencionan varias aplicaciones y las contribuciones de Gurdon para comprender el proceso de reprogramación. S. Yamanaka, en Japón, hace seis años, reprogramó al estado embrionario fibroblastos cutáneos de ratones y humanos adultos insertando mediante vectores retrovirales una combinación de los genes de cuatro factores de transcripción: Oct3/4, Sox2, Klf4 y c-Myc. Las células reprogramadas fueron denominadas células madre pluripotentes inducidas. Utilizando la técnica desarrollada por Yamanaka y otras surgidas a raíz de sus descubrimientos, miles de personas obtienen ahora células madre pluripotentes inducidas a partir de muchas especies y tejidos, incluyendo seres humanos sanos y enfermos. Las células madre pluripotentes o sus derivadas tienen un amplio potencial de aplicación, entre ellas, estudios de embriología y fisiopatología, modelos de enfermedades, descubrimiento de drogas y terapias celulares.*

*Palabras clave: Premio Nobel. Células madre pluripotentes. Reprogramación nuclear. Transferencia de núcleo de células somáticas. Clonación reproductiva. Clonación terapéutica. Células madre pluripotentes inducidas.*

## SUMMARY

*This paper was written to honor JB Gurdon y S. Yamanaka, 2012 Nobel Prize laureates in Physiology or Medicine for “the discovery that mature cells can be reprogrammed to become pluripotent”. Their main scientific contributions and biography are presented in a concise manner. JB Gurdon, in England, showed fifty years ago in amphibians that the transplantation of the nucleus of an intestinal cell to an enucleated egg or oocyte produces a totipotent cell that develops into an embryo and adult frog. This implies that cellular differentiation is reversible and the genome is conserved in that process. The discoveries led to the cloning of mammals by other authors using the nucleus of somatic cells and to obtain pluripotent stem cells in vitro from the embryos produced by development of the totipotent cells. Some applications are considered. Gurdon’s contribution to the understanding of the reprogramming process is mentioned. S. Yamanaka six years ago in Japan reprogrammed skin fibroblasts from adult mice and humans to the embryonic state by introducing via retroviral vectors a combination of the genes of 4 transcription factors, Oct3/4, Sox2, Klf4 and c-Myc. The reprogrammed cells were named induced pluripotent stem cells. Thousands of people are now producing induced pluripotent stem cells from many tissues and species, including healthy and ill humans, using Yamaka’s methods and other techniques stimulated by his work. Pluripotent*

*stem cells or their derivatives have great potential for a wide range of applications including research in embryology and pathophysiology, disease modeling, drug discovery and cell transplantation therapies.*

*Key words: Nobel Prize. Pluripotent stem cells. Nuclear reprogramming. Somatic cell nuclear transfer. Reproductive cloning. Therapeutic cloning. Induced pluripotent stem cells. Induced pluripotent stem cells*

El Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2012 fue otorgado el 10 de diciembre de ese año a Sir John Bertrand Gurdon y Shinya Yamanaka “por el descubrimiento de que las células maduras pueden ser reprogramadas para volverse pluripotentes” (1). (Figura 1).



Figura 1. A. Diploma otorgado a J B Gurdon. B. Ceremonia de entrega del Premio Nobel, Sala de Conciertos de Estomolco, Suecia. C. Diploma otorgado a Shinya Yamanaka. Fotos tomadas de <http://www.nobelprize.org/> y editadas.

y luego a ranas adultas, fértiles. Los experimentos que condujeron a estos resultados fueron publicados en 1962 (2,3) y en 1966 (4).

Al integrarse el núcleo de la célula somática con el óvulo enucleado se obtiene una célula madre totipotente similar a un huevo fertilizado. Es decir, que factores presentes en el citoplasma de los ovocitos determinan que los núcleos de células somáticas trasplantados adquieran las propiedades de los núcleos de las células embrionarias (reprogramación nuclear). Los organismos adultos que se desarrollan a partir de esas células son clones de los donantes del núcleo (clonación reproductiva). Ello puso en evidencia que las células maduras, diferenciadas, conservan la totalidad de la información genética codificada en las moléculas de ADN, el genoma, y que la diferenciación se asocia con cambios reversibles de la expresión genética (5), cambios epigenéticos.

Briggs y King en 1952 fueron los primeros en realizar trasplantes de núcleo a huevos enucleados

### Los descubrimientos científicos:

**1.- Células madre totipotentes se producen por trasplante del núcleo de células somáticas a óvulos enucleados. Conservación del genoma en el proceso de diferenciación. Reprogramación nuclear y reversibilidad de la diferenciación. Clonación reproductiva.**

La contribución fundamental de JB Gurdon fue la demostración de que el núcleo de una célula madura, diferenciada, se puede desdiferenciar y comportarse como el de un cigoto normal capaz de desarrollarse hasta adulto, al ser reprogramado cuando se transfiere a un ovocito enucleado de la misma especie. Núcleos de células maduras del epitelio intestinal trasplantados a huevos no fertilizados de la rana sudafricana *Xenopus laevis*, enucleados, dieron origen primero a renacuajos

de *Rana pipiens*. Obtuvieron renacuajos normales capaces de nadar, a partir de núcleos de blástula tardía, pero no tuvieron éxito con trasplantes de núcleo de células de gástrula o más diferenciadas (6). Esto los llevó a pensar erróneamente que la diferenciación se acompaña de cambios nucleares irreversibles (7).

En 1996 Wilmut y col, lograron, después de 277 intentos, clonar una oveja, Dolly, con el núcleo de una célula de glándula mamaria transferido a un óvulo enucleado y luego implantado en el útero de una hembra sustituta (8). Dolly vivió desde el 5/7/1996 hasta el 14/2/2003, tuvo seis descendientes y fue sacrificada por una adenomatosis pulmonar viral. Su cuerpo está preservado en el Museo Nacional de Escocia (9). Desde entonces muchos laboratorios han clonado individuos de varias especies como perro, gato, cerdo, cabra, ratón, rata, venado, conejo, lobo, vaca, caballo, mula, pollo, etc. (10,11). La clonación puede constituir un recurso para preservar especies en vías de extinción (11). La Administración de Alimentos y Drogas de Estados Unidos emitió el 15

de enero de 2008 una noticia donde dice: “la FDA ha concluido que la carne y la leche de clones de ganado vacuno, porcino y caprino y de su descendencia son tan seguros para la alimentación como los animales criados en forma convencional” (12). Dado el alto costo de la clonación de animales, la mayoría de los que son producidos para los granjeros son usados con fines reproductivos, con el fin de preservar características deseadas, como por ejemplo alta producción de leche, carne magra o lana; resistencia a enfermedades, patrones de alimentación, ejemplo: ganado que se alimenta con pasto en lugar de granos (13). Ya existen en el comercio servicios de clonación de mascotas (14). Es interesante la clonación de ratones para obtener animales genéticamente idénticos para experimentación biomédica, o de cerdos transgénicos que pueden ser utilizados como donantes de órganos para trasplantes a humanos o para ingeniería de tejidos, o para la producción de proteínas humanas como la insulina o factores de coagulación (11,14). Con respecto a la clonación reproductiva humana, la Organización de las Naciones Unidas en una declaración aprobada en 2005 afirma que: “Los estados miembros habrán de prohibir todas las formas de clonación humana en la medida en que sean incompatibles con la dignidad humana y la protección de la vida humana” (15). JB Gurdon predijo recientemente que será factible en los próximos 50 años.

En su “Nobel Lecture” presentada el 7 de diciembre de 2012 en el Instituto Karolinska de Estocolmo titulada “El huevo y el núcleo: una batalla por la supremacía” (16), Gurdon plantea el proceso de reprogramación como una lucha entre el núcleo de la célula adulta, programado para mantenerse muy estable en su estado diferenciado, que ofrece resistencia al ataque del citoplasma del huevo, el cual intenta convertirlo en un cigoto, de manera similar a lo que ocurre cuando el huevo es fertilizado por la entrada del núcleo del espermatozoide.

La resistencia de los núcleos trasplantados a la reprogramación se manifiesta por la baja eficiencia del proceso, puesto que solo el 1 % o 2 % de los que provienen de una célula totalmente diferenciada, tanto de mamíferos como de batracios, se desarrollan hasta formar un organismo adulto. El éxito de la reprogramación depende del grado de diferenciación de la célula donante del núcleo: a menor grado de diferenciación, mayor es la posibilidad de reprogramar el núcleo al estado totipotente. Lo más difícil es lograr que un núcleo totalmente diferenciado se rejuvenezca

y regrese al estado embrionario. Así, el 80 % de los núcleos de células de la blástula en comparación con 30 % de los núcleos de células adultas de intestino, músculo o tejido nervioso pueden dar origen a un embrión que se desarrolle hasta el término del embarazo (5,16).

JB Gurdon y sus colegas han estudiado cambios en la transcripción genética y factores que favorecen o se oponen al proceso de reprogramación, con el propósito de mejorar su eficiencia, eficacia y seguridad (16). Las principales transformaciones que sufre el núcleo durante la reprogramación son: aumento de tamaño, des-condensación de la cromatina, modificación de la expresión genética y de-metilación del ADN. Son importantes el aumento de la polimerasa II y la histona B4. Estudios de transcripción de la totalidad de los genes de núcleos trasplantados de *Xenopus* demuestran la selectividad de la activación y represión de los genes: 48 horas después del trasplante se observa que: 1 176 (7 %) genes inicialmente reprimidos alcanzan altos niveles de transcripción, 3 805 (23 %) genes inicialmente activos se reprimen y dejan de transcribirse, 3 368 (21 %) genes que estaban activos continúan transcribiéndose activamente y 7 890 (49 %) con baja actividad continúan estando de la misma manera.

La resistencia a la reprogramación es específica para el tipo celular y los genes. Depende de modificaciones de histonas y otros componentes estables de los cromosomas. La resistencia a la reprogramación es independiente del ARN presente en el núcleo trasplantado pero si depende de sus proteínas. La remoción de las proteínas del núcleo borra la memoria del origen de la célula diferenciada y aumenta la transcripción de genes involucrados en la reprogramación como el Oct3/4. MacroH2A, una proteína de la cromatina, ayuda a explicar la resistencia a la reprogramación. Su eliminación favorece la transcripción de factores reprogramadores. WAVE-1 se requiere para la reprogramación. La histona H1 de las células somáticas es reemplazada por la histona B4 del oocito, la cual se requiere para la activación de genes. La polimerización de la actina nuclear mejora la transcripción y se ha propuesto un modelo que implica su participación junto con la polimerasa II en la activación del gen del factor de transcripción Oct3/4.

## 2.- Líneas de células madre embrionarias pluripotentes. Clonación terapéutica.

De la masa celular interna de la blástula de los

embriones obtenidos por transferencia nuclear es posible obtener células madre pluripotentes, que se distinguen de las totipotentes porque no pueden dar origen a los tejidos extraembrionarios que forman parte de las membranas que envuelven al feto y la placenta. Las pluripotentes son autorrenovables y capaces de diferenciarse en todos los tipos celulares del embrión y del adulto. Se cultivan *in vitro* y pueden utilizarse con muchos propósitos, entre los cuales tiene gran relevancia la posibilidad de producir células diferenciadas para ser aplicadas en el tratamiento de enfermedades en el donante del núcleo, quien recibiría el tipo de célula diferenciada específico requerido para el tratamiento de una enfermedad determinada, sin complicaciones inmunológicas. Se ha denominado clonación terapéutica la obtención de embriones por el método de transferencia del núcleo de células somáticas a óvulos, para utilizarlos como fuente de células madre pluripotentes. Además de células específicas, también se puede generar tejidos y órganos para trasplante (17). Hasta ahora los estudios se realizan en animales de experimentación, principalmente ratones. En el año 2007 fue reportada por primera vez la obtención de embriones de primates no humanos (18) por transferencia de núcleo de fibroblastos cutáneos a ovocitos de macaco rhesus. De allí derivaron dos líneas de células madre pluripotentes para estudiar la diferenciación celular. No ha sido posible obtener primates adultos clonados por transferencia de núcleo de células somáticas (19). Tampoco se ha obtenido embriones humanos por transferencia de núcleo de células somáticas para clonación terapéutica.

Las líneas de células madre embrionarias pluripotentes humanas empleadas actualmente en la investigación científica básica y la orientada hacia la medicina regenerativa, terapia génica y otras aplicaciones, derivan, directa o indirectamente, de células de la masa celular interna de embriones producidos por clínicas de fertilización *in vitro*, después de que James Thomson y su grupo (20) las cultivaran por primera vez en 1998, basándose en los aportes de Martin J. Evans y MH Kaufman, los primeros en aislar y cultivar las células madre embrionarias de la blástula de ratón en 1981 (21), seguidos por Martin GR (22). Martin J. Evans compartió el premio Nobel de Fisiología o Medicina en 2007 con Mario R. Capecchi y Oliver Smithies por “sus descubrimientos de los principios para introducir modificaciones genéticas específicas en ratones por el uso de células madre embrionarias” (23).

La utilización de embriones humanos para la investigación científica y el hecho de que son destruidos para obtener células madre embrionarias ha ocasionado grandes debates por sus implicaciones éticas. La prohibición de la clonación reproductiva humana en la legislación de muchos países también afecta la clonación terapéutica. En Venezuela, el Artículo 22 de la Ley sobre donación y trasplante de órganos, tejidos y células en seres humanos, establece que células madre embrionarias y fetales no pueden ser utilizadas con fines de investigación salvo con autorización específica del Ministerio del Poder Popular con competencia en materia de salud (24).

### **3.- Reprogramación nuclear y celular por factores de transcripción definidos. Creación de células madre pluripotentes inducidas a partir de células diferenciadas.**

Shinya Yamanaka desarrolló una técnica que permite convertir células diferenciadas en células madre pluripotentes mediante la inserción simultánea *in vitro* de cuatro genes que codifican los factores de transcripción del mismo nombre: *OCT3/4*, *SOX2*, *KLF4* y *c-MYC*. Los factores de transcripción proteicos que se sintetizan como resultado de la co-expresión de esos genes desencadenan el proceso de reprogramación nuclear y celular. Los genes de los factores reprogramadores fueron insertados por medio de vectores retrovirales en el núcleo celular de fibroblastos embrionarios y adultos de ratón cultivados *in vitro*. Las células reprogramadas fueron denominadas células madre pluripotentes inducidas (CMPi) (iPSC en inglés). El trabajo pionero, seminal, fue publicado en el año 2006 (25) con una descripción detallada de los procedimientos empleados, lo cual permitió la pronta confirmación de los resultados en otros laboratorios. Al año siguiente lograron la reprogramación de fibroblastos humanos (26). La eficiencia fue 0,01 %, es decir, se reprograma 1 de cada 10 000 células expuestas a los transgenes; el tiempo requerido: 3 semanas (25,26).

El descubrimiento de que solo cuatro factores de transcripción son suficientes para inducir que una célula diferenciada adquiera las propiedades de una célula madre embrionaria pluripotente es realmente sorprendente. Yamanaka relata en su “Nobel Lecture” (27) que su trabajo es resultado de la convergencia de varias líneas de investigación: a) la reprogramación del núcleo de células somáticas descubierta por JB Gurdon (2) y aplicada en mamíferos por I Wilmut (8); b) el cultivo *in vitro* de

líneas de células madre embrionarias iniciado por M Evans en el ratón (21) y por James Thomson (20) en el humano, con la idea de utilizarlas en medicina regenerativa para obtener células diferenciadas destinadas a reemplazar células muertas o dañadas, aplicables en el tratamiento de enfermedades como la de Parkinson (neuronas dopaminérgicas), diabetes (células beta pancreáticas) insuficiencia cardíaca (células cardíacas), quemaduras (células de la piel), insuficiencia hepática (células hepáticas), etc. y c) la demostración por Harold Weintraub de que el gen del MyoD, un factor de transcripción, es capaz de convertir fibroblastos en células musculares (28). El objetivo de su trabajo, iniciado en el año 2000, era obtener células pluripotentes a partir de células somáticas de pacientes sin la intervención de embriones u óvulos, con el fin de evitar los problemas éticos que estos ocasionan, la dificultad de lograr donaciones y el rechazo inmunológico. Comenzaron identificando 24 genes de factores de transcripción que participan en el mantenimiento de la pluripotencia o en la alta capacidad de reproducción de las células madre embrionarias o que son expresados específicamente en células madre embrionarias o que tienen altos niveles de expresión en células cancerosas. Individualmente, ninguno de ellos fue capaz de inducir la formación de CMPi pero al administrarlos conjuntamente a fibroblastos embrionarios de ratón, obtuvieron CMPi.

De la mezcla de 24 fueron retirando uno por uno los distintos factores para observar el efecto sobre la generación de CMPi. Encontraron 10 factores cuyo retiro individual ocasionaba pérdida o disminución importante de la producción de CMPi. Con la combinación de estos 10 producían la reprogramación mejor que con los 24 factores juntos. Continuaron el proceso de descarte hasta que finalmente lograron los mejores resultados con la administración simultánea de *Oct3/4*, *Sox2*, *Klf4* y *c-Myc*, cuya identificación fue realizada por el laborioso Kazutoshi Takahashi. Posteriormente comprobaron que los 4 factores, actualmente conocidos como los factores de Yamanaka (4FY), eran también eficaces para reprogramar fibroblastos adultos de ratón y de seres humanos (25-27). Al éxito de estos experimentos contribuyó mucho el empleo de un ensayo simple y sensitivo, desarrollado con la colaboración de Yoshimi Tokuzawa y Tomoko Ichisaka, que permitía identificar sin lugar a dudas la presencia de células reprogramadas (27): los fibroblastos eran obtenidos de ratones transgénicos homocigotos para un constructo de genes que confiere resistencia al antibiótico G418 y que se expresa solo en las células embrionarias. Así, en un medio de cultivo óptimo para células madre embrionarias con G418 en alta concentración, los fibroblastos no reprogramados mueren y solo las CMPi quedan vivas (25).

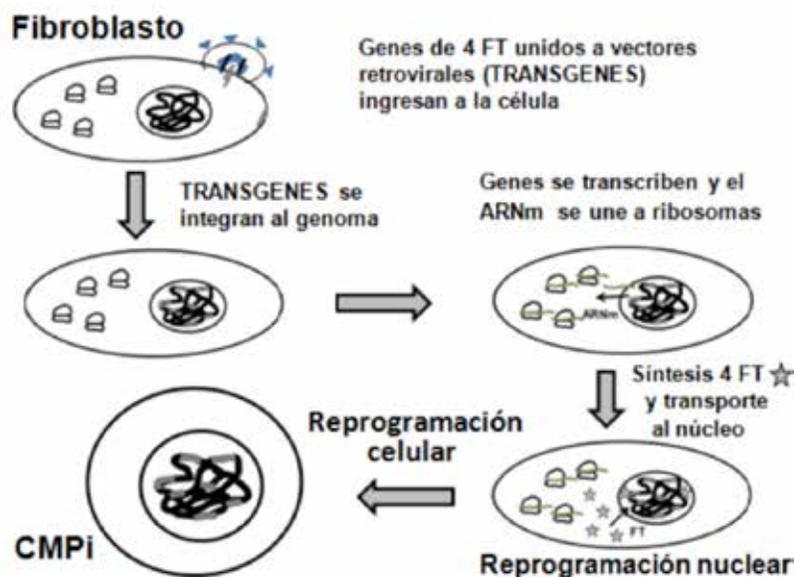


Figura 2. Reprogramación nuclear y celular por genes de factores de transcripción unidos a vectores retrovirales.

Un esquema de lo que sucede en la reprogramación por genes de factores de transcripción (FT) se muestra en la Figura 2 (29). Los genes de 4 factores de transcripción unidos a vectores retrovirales (transgenes) atraviesan la membrana celular, penetran hasta el núcleo del fibroblasto y se integran al genoma al azar. Dichos genes son transcritos y el ARN mensajero migra al citoplasma, se une a los ribosomas y se produce la síntesis de los factores de transcripción; estos penetran al interior del núcleo y se unen al ADN. Como resultado se produce la reprogramación del núcleo, la cual determina la reprogramación de la célula que se convierte en una CMPi. Luego los transgenes son silenciados y los factores de transcripción que caracterizan a las células madre pluripotentes son expresados a partir de los genes endógenos que se activan, al mismo tiempo que otros genes se inactivan.

En apenas seis años se ha avanzado rápidamente en la producción de células madre pluripotentes inducidas por factores de transcripción en el hombre y numerosas especies de mamíferos, a partir de gran variedad de células diferenciadas, mediante diversas combinaciones de pocos factores de transcripción (entre uno y siete) y utilizando diversas técnicas para llevar al núcleo los factores de transcripción

reprogramadores: genes, ARN mensajero y proteínas (29-31).

### Aplicaciones del las CMPi

Miles de personas en el mundo están produciendo CMPi, debido a su enorme potencial de aplicación en medicina clínica, farmacología, toxicología y ciencias básicas (Figura 3).

Las células madre pluripotentes son capaces de producir indefinidamente copias de sí mismas (auto-renovación) y su elevado potencial de desarrollo les permite dar origen a todos los tipos celulares presentes en el embrión y el organismo adulto (diferenciación, especialización). Por ello, constituyen una fuente infinita de material para estudiar los factores que determinan la estabilidad y la plasticidad del fenotipo celular, el desarrollo y la diferenciación celular, la oncogénesis, la fisiopatología y el tratamiento de enfermedades hereditarias, traumáticas y degenerativas y el diseño de métodos de alto rendimiento para el descubrimiento de drogas y pruebas toxicológicas, los cuales podrían llevar a un cambio de paradigma en la industria farmacéutica (29,31).

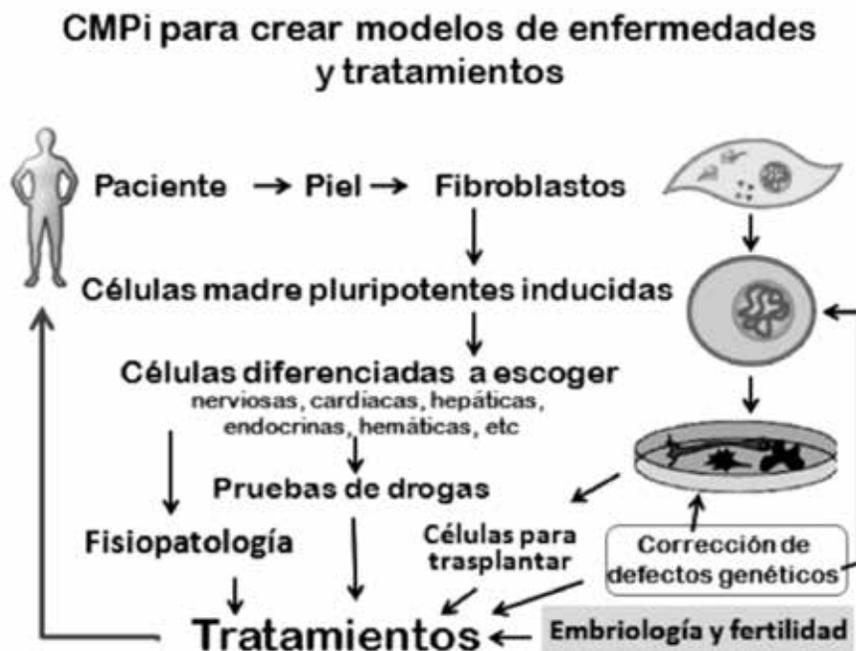


Figura 3. CMPi para creación de modelos de enfermedades y tratamientos específicos para el donante de las células somáticas y otros (29).

Con CMPi o sus derivados ha sido posible crear: 1.- Modelos de desarrollo embriológico normal y patológico, de formación de gametos y reproducción asistida. 2.- Modelos experimentales de enfermedades en animales: Se ha tratado con CMPi o sus derivados: anemia de células falciformes, enfermedad de Parkinson, lesiones de la médula espinal, trastornos de la mielinización en el ratón tembloroso (*shiverer mouse*), hemofilia A, infarto del miocardio, diabetes mellitus tipos 1 y 2 y se ha reconstituido el sistema hematopoyético de animales tratados con dosis letales de radiación. Se han creado animales con modificaciones genéticas para estudio de enfermedades (29)

Ha sido posible obtener células madre pluripotentes inducidas humanas (CMPih) a partir de células somáticas de personas con varios tipos de enfermedades para el cultivo de líneas celulares patológicas, ejemplo, en las enfermedades genéticas: inmunodeficiencia severa combinada relacionada con deficiencia de adenosina-deaminasa, síndrome de Shwachman-Bodian-Diamond (SSBD), enfermedad de Gaucher tipo III, distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular de Becker, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, diabetes mellitus juvenil tipo 1, síndrome de Down /trisomía 21, el estado de portador del síndrome de Lesch-Nyha,  $\beta$ -talasemia y otras enfermedades como cáncer (29,31).

Están publicados ingeniosos estudios paciente-específicos de enfermedades que constituyen modelos *in vitro* de la fisiopatología y el tratamiento: atrofia muscular espinal, anemia de Fanconi, disautonomía familiar (DF) o neuropatía sensorial y autonómica hereditaria III (síndrome de Riley-Day), síndrome de QT largo, síndrome Leopard, enfermedad de Parkinson, distrofia muscular de Duchenne, síndrome de progeria Hutchinson-Gilford (modelo de envejecimiento). Estos modelos permiten recapitular en corto tiempo el inicio y desarrollo de enfermedades humanas (29,31).

La terapia celular de numerosas enfermedades en humanos utilizando células reprogramadas y/o sus derivadas es una de las metas más ambiciosas de los investigadores. La presencia de material genético extraño en las células reprogramadas, aunque esté silenciado, constituye un factor que limita su aplicación en la clínica por la posibilidad de generar mutaciones en el sitio de inserción viral en el genoma, tumores y otros trastornos genéticos impredecibles. Las técnicas de reprogramación que no involucran modificación del genoma son más seguras. Muchos

obstáculos se interponen todavía para llevar estas tecnologías a la práctica clínica, pero las perspectivas son excelentes (29-31).

## Las personas

### Sir John Bertrand Gurdon

Nació el 2/10/1933 en Dippenhall, Hampshire, Inglaterra. En el Colegio Eton figuró como el último entre 250 compañeros de estudio en un curso de biología (32). Uno de sus maestros escribió un reporte, actualmente enmarcado y colgado en la pared del laboratorio de Gurdon, donde dice "I believe he has ideas about becoming a scientist; on his present showing this is quite ridiculous". Gurdon explica que esto sucedió durante la guerra y que como no había libros de texto, tenía que memorizar hechos y tomar notas de clase, para lo cual no era muy bueno (33). Sus estudios de pregrado fueron realizados en el colegio Christ Church, de la Universidad de Oxford, donde se inscribió para estudiar los clásicos pero fue transferido a zoología porque había un déficit de estudiantes de ciencias. Con el apoyo de sus padres tomó cursos particulares para nivelar sus conocimientos (33). Sus estudios doctorales también fueron realizados en Oxford. Bajo la tutoría de Michael Fischberg realizó su tesis de PhD titulada "*Studies on nucleocytoplasmic relationships during differentiation in vertebrates*" (1961). Ya en 1958 había obtenido una rana adulta como producto de sus trasplantes de núcleos a huevos de *Xenopus laevis*. En el Instituto Tecnológico de California abordó durante un año un tema completamente diferente, los bacteriófagos. Entre 1962 y 1971 trabajó en el Departamento de Zoología de la Universidad de Oxford. Desde 1971 hasta el presente trabaja en la Universidad de Cambridge, Reino Unido, primero en el Laboratorio MRC de Biología Molecular (hasta 1983) y luego en el Departamento de Zoología. En 1989 fue miembro fundador del Wellcome/CRC *Institute for Cell Biology and Cancer* en Cambridge, denominado Instituto Gurdon en su honor desde 2004. (*Wellcome Trust/Cancer Research UK Gurdon Institute*). Fue "chair" del mismo hasta 2001 y actualmente figura como "Distinguido Líder de Grupo" del Instituto y Profesor Emérito en Biología del Desarrollo en la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad de Cambridge. Trabaja con otros siete investigadores en su laboratorio. Ha obtenido importantes premios y reconocimientos por sus trabajos. En 1971 fue nombrado *Fellow de la Royal Society* y en 1995 fue investido como Caballero (32-34).

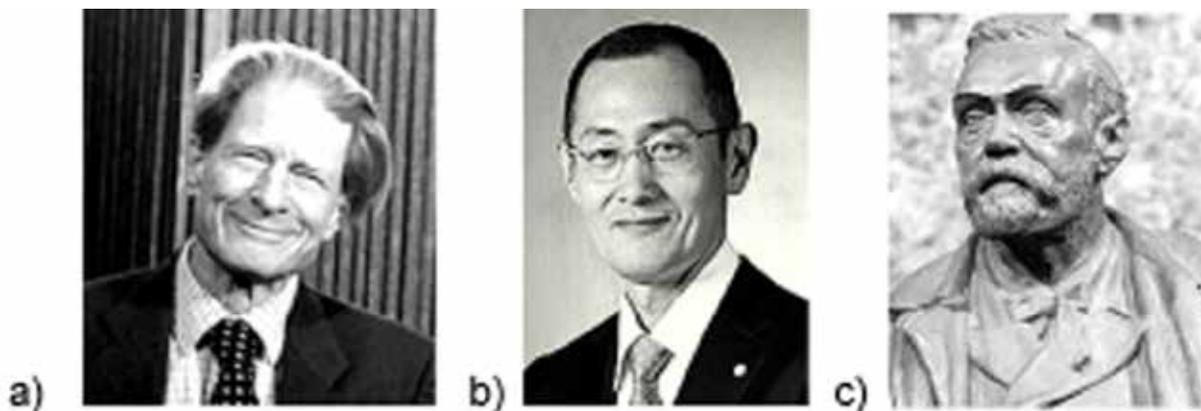


Figura 4. : a) JB Gurdon, b) Shinya Yamanaka, c) Alfred Nobel. (Tomadas de <http://www.nobelprize.org/>, editadas por la autora)

### Shinya Yamanaka

Nació en Osaka, Japón, el 5/9/1962. Se graduó de médico en la Universidad de Kobe (1987). Fue residente de cirugía ortopédica en el Hospital Nacional de Osaka (1987-1989). Al constatar que no tenía habilidad para la cirugía, decidió dedicarse a la investigación científica (35). Obtuvo su PhD en Farmacología en la Universidad de la ciudad de Osaka, bajo la tutoría del Dr. Katsuyuki Miura en 1993 y luego trabajó como “postdoctoral fellow” en el Instituto Gladstone en San Francisco, California con el Dr. Tom Innerarity como mentor (1993-1996). Después de su regreso a Japón fue nombrado profesor asistente en la Escuela de Medicina de la Universidad de la ciudad de Osaka en 1996 y en 1999 Investigador principal en el *Nara Institute for Science and Technology*, donde, en su propio laboratorio, comenzó el trabajo que lo llevó a obtener el Premio Nobel. Allí permaneció hasta el 2005 y ascendió a profesor titular. Entre 2004 y 2010 fue profesor en el “Institute for Frontier Medical Sciences”, de donde se separó para dirigir el CiRA (*Center for iPS Cell Research and Application*), ambos afiliados a la Universidad de Kyoto, en Japón. El CiRA tiene 250 empleados. En Gladstone Institutes en San Francisco, California, es investigador sénior y colabora con un grupo de siete personas. Es profesor de anatomía de la Universidad de California, SF. En el CiRA dirige también la “Facility for iPS Cell Therapy”, cuyo propósito es “preparar CMPi de grado clínico,

de acuerdo a criterios establecidos por el gobierno japonés, y evaluar si son apropiadas para trasplantes”. Ha recibido numerosos premios y reconocimientos por sus trabajos (36-38).

Yamanaka refiere que durante los últimos 5 años, con su grupo en la Universidad de Kyoto (que es pública), ha realizado grandes esfuerzos para proteger mediante patentes en Japón, Estados Unidos y Europa la propiedad intelectual de las técnicas que permiten producir las CMPi, con el fin de garantizar no el monopolio de las mismas, sino, por el contrario, para ponerlas libremente a disposición de quien las necesite (39). Dice que su vida está dedicada a llevar la tecnología de las CMPi a la clínica con el propósito de beneficiar el mayor número de pacientes con nuevos fármacos o con terapia celular (39,40). El grupo japonés utiliza robots para probar miles de drogas *in vitro* con modelos de enfermedades basados en células somáticas derivadas de CMPi humanas. Están realizando estudios preclínicos orientados a terapia celular de enfermedades como la degeneración de la mácula (células de la retina), enfermedad de Parkinson (neuronas dopaminérgicas), insuficiencia cardíaca (células cardíacas), lesiones de la médula espinal (precursores neurales) y deficiencia plaquetaria (plaquetas) (27). Es casado con una dermatóloga, tiene una hija y practica el atletismo. En su juventud era judoca y karateca (35). Recientemente ha corrido en maratones para promover la donación de fondos para las investigaciones con CMPi.

## REFERENCIAS

1. "The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2012". Nobelprize.org. 11 Oct 2012 [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2012/](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2012/) Consultado el 5/1/2013
2. Gurdon JB. Adult frogs derived from the nuclei of single somatic cells. *Dev Biol.* 1962;4:256-273.
3. Gurdon JB. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. *Journal of embryology and experimental morphology.* 1962;10:622-640. PMID 13951335
4. Gurdon JB, Uehlinger V. "Fertile" intestine nuclei. *Nature.* 1966;210(5042):1240-1241.
5. Gurdon JB, Melton DA. Nuclear Reprogramming in Cells. *Science.* 2008;322:1811-1815. doi:10.1126/science.1160810. PMID 19095934
6. Briggs R, King TJ. Transplantation of living nuclei from blastula cells into enucleated frogs' eggs. *Proc Natl Acad Sci USA* 1952;38:455-463.
7. Briggs R, King TJ. Changes in the nuclei of differentiating endoderm cells as revealed by nuclear transplantation. *J Morphol.* 1957;100:269-311.
8. Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature.* 1997;385:810-813. Erratum. *Nature* 1997;386(6621):200. (doi:10.1038/385810a0) doi: 10.1038/385810a0. [PubMed] [Cross Ref]
9. Dolly the sheep. Roslin Institute. Universidad de Edimburgo. Disponible en: <http://www.roslin.ed.ac.uk/public-interest/dolly-the-sheep/a-life-of-dolly/> Consultado el 5/1/2013
10. List of animals that have been cloned. Wikipedia. 11/2011. Disponible en [http://en.wikipedia.org/wiki/List\\_of\\_animals\\_that\\_have\\_been\\_cloned](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_animals_that_have_been_cloned). Consultado el 5/1/2013
11. Cloning. National Genome Research Institute. National Institute of Health. USA Disponible en <http://www.genome.gov/25020028#al-7> 2012. Consultado el 5/1/2013
12. FDA Issues documents on the safety of food from animal clones. Federal U.S. Drug and Food Administration. News and Events 15/1/2008. Actualizada el 18/6/2009. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/2008/ucm116836.htm> Consultado el 5/1/2013
13. Cloning: Revolution or evolution in animal production? *U.S Food & Drug Administration Veterinarian Newsletter 2003 September/October; XVIII (5). Actualizado el 28/10/2009* <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/NewsEvents/FDAVeterinarianNewsletter/ucm106070.htm> Consultado el 5/1/2013
14. Horton J. 5 Most cloned animals. Discovery, Channel. Science and Society. Disponible en <http://dsc.discovery.com/tv-shows/curiosity/topics/5-cloned-animals.htm>. Consultado el 5/1/2013
15. ONU. Declaración de las Naciones Unidas sobre la Clonación Humana. Aprobada en la 82ª sesión plenaria de la Asamblea General el 8 de marzo de 2005. Disponible en Humanah <http://daccess-dds-ny.un.org/doc/UNDOC/GEN/N04/493/09/PDF/N0449309.pdf?OpenElement>. Consultada el 11/1/2013
16. Gurdon JB. The egg and the nucleus: a battle for supremacy. Nobel Lecture pronunciada el 7 de diciembre de 2012. Video disponible en <http://www.nobelprize.org/mediaplayer/index.php?id=1864>. Láminas disponibles en [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2012/gurdon-lecture\\_slides.pdf](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2012/gurdon-lecture_slides.pdf) Consultadas el 3/1/2013
17. Atala A, Koh CJ. Tissue engineering applications of therapeutic cloning. *Ann Rev Biomed Eng.* 2004;6:27-40.
18. Byrne JA, Pedersen DA, Clepper LL, Nelson M, Sanger WG, Gokhale S, et al. Producing primate embryonic stem cells by somatic cell nuclear transfer. *Nature.* 2007;450(7169):497-502. Epub 2007 Nov 14.
19. Sparman ML, Tachibana M, Mitalipov SM. Cloning of non-human primates: The road "less traveled by". *Int J Dev Biol.* 2010;54(11-12):1671-8. doi: 10.1387/ijdb.103196ms.
20. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science.* 1998;282:1145-1147.
21. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature.* 1981;292:154-156.
22. Martin GR. Isolation of pluripotent cell line from early mouse embryos cultures in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1981;78:7634-7638.
23. La Asamblea Nobel en el Instituto Karolinska, Suecia. Anuncio de Prensa 8/10/2007 [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2007/press.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2007/press.html) Consultado el 9/1/2013.
24. Asamblea Nacional de la República Bolivariana de Venezuela. Ley sobre donación y trasplante de órganos, tejidos y células en seres humanos. Gaceta Oficial N° 39.808 del 25 de noviembre

## DESCUBRIMIENTOS SOBRE REPROGRAMACIÓN NUCLEAR

- de 2011. Disponible en <http://app.mpps.gob.ve/sinidot/pantallas/LEY%20SOBRE%20DONACION%20Y%20TRASPLANTE%20DE%20ORGANOS%20TEJIDOS%20Y%20CELULAS%20EN%20SERES%20HUMANOS.pdf> Consultada el 11/1/2013.
25. 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. doi:10.1016/j.cell.2006.07.024. PMID 16904174
  26. 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;131:861-872.
  27. Yamanaka S. Winding road to pluripotency. Nobel Lecture. Pronunciada el 7 de diciembre de 2012. Video disponible en <http://www.nobelprize.org/mediaplayer/index.php?id=1866>. Láminas en [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2012/yamanaka-lecture\\_slides.pdf](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2012/yamanaka-lecture_slides.pdf) Consultados el 5/1/2013
  28. Davis R L, Weintraub H, Lassar A B. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell*. 1987;51:987-1000.
  29. Cruz L. Conversión de células diferenciadas en células madre pluripotentes inducidas por factores de transcripción definidos (reprogramación nuclear y celular). En: Briceño-Iragorry L, Colmenares Arreaza G, editores. Trabajos de Incorporación y Discursos de Recepción en la Academia Nacional de Medicina. Tomo XIX. Caracas: Editorial Ateproca; 2013.p.1-124.
  30. Okita K, Yamanaka S. Induced pluripotent stem cells: Opportunities and challenges. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2011;366(1575): 2198-2207. doi: 10.1098/rstb.2011.0016
  31. Stadtfeld M, Hochedlinger K. Induction of pluripotency. History, Mechanisms, and Applications. *Genes Dev*. 2010;24:2239-2263.
  32. John Gurdon. Wikipedia. Disponible en [http://en.wikipedia.org/wiki/John\\_Gurdon](http://en.wikipedia.org/wiki/John_Gurdon). 11/1/2013. Consultado el 14/1/2013
  33. Williams R. "Sir John Gurdon: Godfather of cloning". *The Journal of Cell Biology*. 2008;18-(2):178-179. doi:10.1083/jcb.1812pi
  34. Gurdon Institute. John Gurdon Kt DPhil DSc FRS. Disponible en <http://www.gurdon.cam.ac.uk/gurdon.html> 8/8/2012. Consultado el 14/1/2013
  35. After failure as a surgeon, Yamanaka rises to stem cell glory. *The Asahi Shimbun*. [http://ajw.asahi.com/article/behind\\_news/social\\_affairs/AJ201210090063](http://ajw.asahi.com/article/behind_news/social_affairs/AJ201210090063). Octubre 09, 2012. Consultado el 14/1/2013
  36. Lendahl U. (Presidente del Comité Nobel para Fisiología o Medicina) Presentación del Dr. Yamanaka. Video. <http://www.nobelprize.org/mediaplayer/index.php?id=1865> Dic 7/2012. Consultado el 14/1/2013
  37. Yamanaka S. Message from the Director. Center for iPSP Research and Application <http://www.cira.kyoto-u.ac.jp/e/about/director.html> Consultado el 14/1/2013
  38. Shinya Yamanaka, MD, PhD. Senior Investigator. Gladstone Institutes. Disponible en: <http://gladstoneinstitutes.org/scientist/yamanaka> Consultado el 14/1/2013
  39. Nobel Minds. 2012. Nobel laureates in discussion. Conversación entre los premiados en medicina, química, física y economía. Moderadora Z. Madawi. Nobel Prize.org. Video disponible en [www.nobelprize.org](http://www.nobelprize.org). Consultado 5/1/2013.
  40. Smith A. "Shinya Yamanaka - Interview". Nobelprize.org. 11 Oct 2012. Disponible en [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2012/yamanaka-telephone.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2012/yamanaka-telephone.html) Consultada 15/11/2012