

Clonación y futuro de las células madre

Clonation and the future of stem cells

EMILIO JOSÉ YUNIS, JUAN JOSÉ YUNIS • BOGOTÁ, D.C.

Para escribir sobre las células madre es importante recordar la figura y el trabajo de Leroy Stevens. Inicia su trabajo en 1953 en Jackson Laboratory en Bar Harbor, Maine, con financiación de una compañía tabacalera que quería demostrar que el daño producido al humano venía del papel con el que se envolvían los cigarrillos y no del tabaco.

Uno de sus ratones desarrolló un gran teratoma (extraña mezcla de tejidos que incluye pelos, dientes, cartílago, epitelio digestivo) en el escroto, que no pasó desapercibido a sus ojos; los observó en otros ratones de la cepa 129. Seleccionó la tendencia de la cepa por desarrollar teratomas, y estudió en forma continua a las células que en algunos casos se volvían cancerosas, hacían teratocarcinomas. Esta fue la primera mención de la tendencia de las células stem a volverse cancerosas.

Teratomas y cuerpos embrioides

El trabajo de Stevens continuó con la observación siguiente: fragmentos del teratoma en la cavidad peritoneal formaban los *cuerpos embrioides*, un intento de organización de los tejidos en el teratoma; luego, Stevens y Varmus descifraron claves para señalar que al "estar en contacto los tejidos, las células sabían cuándo convertirse en riñón o en hígado", tema de actualidad cuando en el momento los primeros intentos de investigación se hacen para intentar formar órganos a partir de células madre, también llamadas stem.

Stevens desarrolló, además, teratomas a partir de las células germinales primordiales y también a partir de las células de la masa celular interna del blastocisto, trasplantándolas a los testículos del ratón adulto. Las llamó "células embrionarias stem pluripotentes". Este es el origen de las SC, stem cells.

La investigación avanza luego con los trabajos pioneros de Beatrice Mintz y Karl Illmensee del Institute for Cancer Research en Philadelphia, quienes aprendieron las técnicas de Stevens y adquirieron ratones del Jackson Laboratory. Pronto publicaron "Normal genetically mosaic mice produced from malignant teratocarcinoma". PNAS, 72:3585-89,1975. Sus investigaciones y publicaciones trastornaron el campo de la embriología, quizás el de la

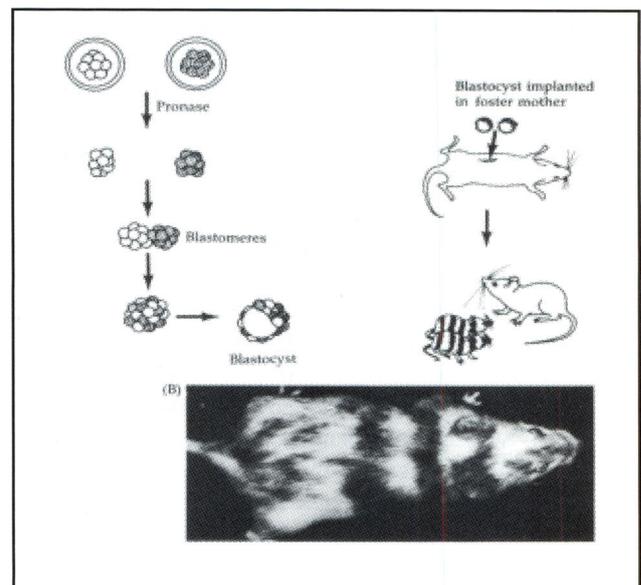


Figura 1. Producción de un ratón quimérico por fusión de embriones de ocho células que provienen de cepas diferentes. El blastocisto producto de la fusión es implantado en útero nodriza. El ratón adulto revela la contribución de dos embriones, uno pigmentado y el otro blanco. Conjunto tomado de: *Developmental Biology*, Third edition, Sinauer Ass. Inc, Mass. USA, Scott F. Gilbert, 1991, 95.

inmunología también, y en buena parte también el de la reproducción puesto que con las técnicas empleadas prefiguraban ya lo que sería el gran vuelco a la reproducción con el tema de la "Fertilización *in vitro*".

La producción de ratones quiméricos la logran Mintz y col tanto con la inyección de células stem (de la masa celular interna) de una cepa en el blastocisto de otra cepa, logran quimeras entre ratón aguti y negro con dos colores en su pelaje (Stewart y Mintz, 1981), investigación que culminan con el cruce del ratón quimérico con un ratón con un marcador adecuado, lo que los llevó a generar ratones con características del tumor parental. Las inves-

Dr. Emilio José Yunis Turbay: Instituto de Genética, Servicios Médicos Yunis Turbay & Cía.; Dr. Juan José Yunis Londoño: Instituto de Genética, Servicios Médicos Yunis Turbay & Cía. Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, D.C.

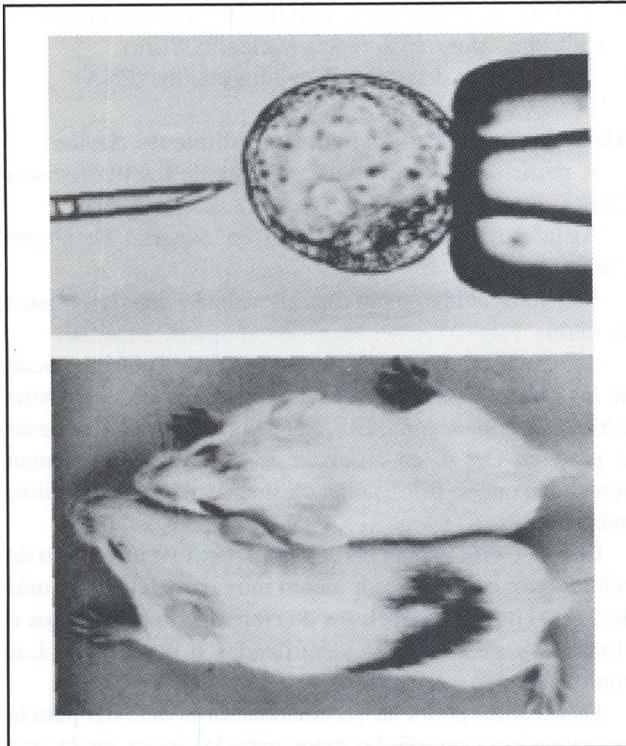


Figura 2. Inserción de una célula stem de teratocarcinoma en la masa celular interna de un blastocisto y fotografía de ratones producidos por la fusión de una célula ítem de teratocarcinoma de una cepa de ratón negro con la masa celular interna de un blastocisto de una cepa blanca. Tomado de *Developmental Biology, Third edition, Sinauer Ass. Inc, Mass. USA, Scott F. Gilbert, 1991, 243.* La fotografía es de VE Papaioannou, 1979, en NL Dourarin ed. *Cell Lineage, stem cells and cell determination, Elsevier, North-Holland, N. York, pp 141-155.*

tigaciones referidas fueron duplicadas por otros investigadores, entre ellos Markert CL, y Peters, RM (1978) (Figura 1).

Diez años después Martin, G. R. y Evans, M. y col. (1981) cultivan células stem pluripotenciales de ratón en (PNAS 78:7634-38, 1981, y Nature, 292:154-6, 1981). Se trata de cultivo directo de las células stem embrionarias (CSE) derivadas de la masa celular interna de los blastocitos, lo que estimulará la investigación en ese campo.

Células stem del adulto, a partir de la médula ósea (CSA)

Desde 1961 se conoce el poder "regenerador" de la médula ósea; Till y McCulloch inyectan células de médula ósea en ratones irradiados de la misma cepa genética. Es el mismo principio que rige los trasplantes de médula ósea inmunogenéticamente compatibles, y en los últimos años el trasplante de células stem CD34+ obtenidas del cordón umbilical.

A partir de los trasplantes de médula ósea se conoce que las células trasplantadas con éxito, son células formadoras de colonias. Una célula formadora de colonias (CFC) es una célula stem que origina nódulos, cada uno formado por eritrocitos, granulocitos y células precursoras de plaquetas.

Resuspendidas las colonias e inyectadas en otros ratones originan varias nuevas colonias (Till, JE, 1981).

Cultivo de células stem embrionarias humanas (CSEh) y células stem gonadales humanas (CSGh)

Gran conmoción ocasionaron los anuncios casi simultáneos de Thompson y col. y Gearhart y col. (1998) de la obtención de células pluripotentes embrionarias humanas (CSEh) y células pluripotentes gonadales humanas (CSGh) derivadas de "embriones excedentes" de los programas de reproducción humana asistida. Logran este éxito sorprendente cultivando las células sobre una capa de fibroblastos y demuestran que las células ítem se multiplican y siguen sin diferenciarse por las altas tasas de telomerasa que sintetizan.

Es a partir de estas dos publicaciones como se desata un número impresionante de trabajos experimentales que mostrarán una gama increíble de resultados. Destacamos entonces que células stem originan las tres capas embrionarias. CSEh se transforman en endodermo, ectodermo y mesodermo con la utilización de factores de crecimiento.

Después del trabajo de Wilmut y col que permitió la clonación de la oveja Dolly, la misma herramienta, la clonación por transferencia nuclear (SCent) produce embriones en ratón de donde se originan una gran variedad de células, neuronas dopa y sero, células germinales y finalmente adultos fértiles normales. Wakayama, T., et al. Science, Vol. 292, April 27, 2001. Es indudable que la producción de células ítem a partir de embriones clonados ocasiona gran conmoción tanto entre los científicos como en la sociedad en general. Si todo esto se puede lograr con la transferencia del núcleo de una célula adulta, uno de los dogmas centrales de la biología empieza a ceder.

A partir del descubrimiento de las células stem se demuestra que el desarrollo no ocurre en una sola vía, que una vez trazado un destino es posible el retorno y adquieren validez postulados de sabios del pasado que reproducimos:

"Comienza en cada una de las tres capas germinales un desarrollo particular, cada una quiere alcanzar su meta; sólo que cada una no es tan independiente para producir aquello para lo que está destinada. Cada una necesita la ayuda de sus acompañantes; sin embargo, las tres, hasta que alcanzan un grado específico, trabajan juntas aunque destinadas afines diferentes".

Christian Pander, 1817

"La posición es todo. Nos paramos y caminamos con partes de nuestro cuerpo que podrían usarse para pensar si se hubieran desarrollado en otra región del embrión "

Hans Spemann, 1943

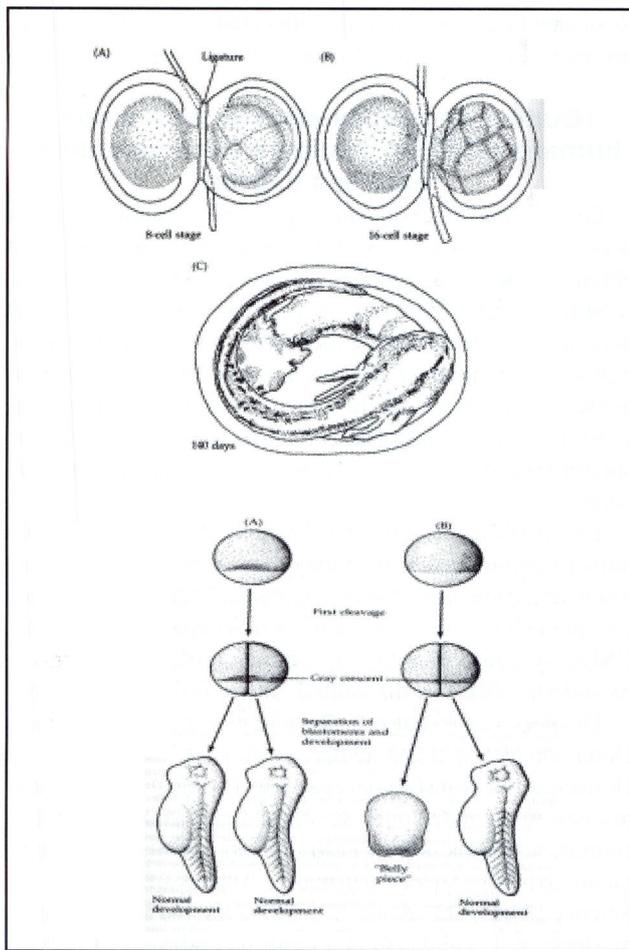


Figura 3. Asimetría en el desarrollo de un huevo de anfibio. A. Si el plano del primer clivaje lo divide en dos blastómeros, y cada una recibe la mitad de la llamada zona gris, se desarrollan en embriones normales. B. Si sólo una de las dos blastómeros recibe la totalidad de la zona gris, sólo se forma un embrión normal. La otra estructura se convierte en una masa de tejido desorganizada. Según Spemann, Hans, 1938. Tomado de: Scott F. Gilbert, *Developmental Biology*, Third edition, Sinauer Ass Inc, Mass, USA, 1991, 299.

Definición de la célula stem

Son células escasas que se renuevan ellas mismas y que originan células diferenciadas.

Las células stem embrionarias (CSE) son células pluripotenciales que pueden originar cualquier tipo celular, excepto trofoblasto, razón por la cual un embrión completo no se obtiene de ellas. Se derivan de la masa celular interna del blastocisto y de la cresta gonadal (CSG).

Pero existen también las células ítem del adulto (CSA) que se acepta tienen potencialidades múltiples pero restringidas porque tienen un primer camino de diferenciación.

Fuentes para obtener células stem

- * Tejido fetal humano después de aborto electivo (CSG).
- * Embriones humanos creados por FIV excedentes (CSE).
- * Embriones humanos creados por FIV con gametos donados como material de investigación (CSE).

- * Embriones humanos generados asexualmente, o híbridos, por transferencia nuclear (CSEtn).
- * Células stem derivadas de tejidos adultos (CSA).

Aislamiento de células stem. Procedimiento clásico

A partir de la masa celular interna de los blastocistos CSE

Aisladas de la cresta gonadal en material de aborto CSG

Requieren cultivo sobre capa alimentadora de fibroblastos de ratón

Se demuestra que persiste la capacidad pluripotencial de las células si reciben señal extracelular de la citokina inhibidora de leucemia, LIF, la línea celular debe expresar la proteína Oct 4, en ausencia de las moléculas forman agregados que se diferencian en sangre, nervios, epitelios, músculo.

Cómo se diferencian las células a partir de un cultivo de células ítem es un procedimiento muy complejo. Hay más de 2.000 citocinas y factores de crecimiento purificados o clonados y muchos más identificados o postulados. Las combinaciones son enormes.

Destacamos ahora las recomendaciones del NIH para la investigación con células ítem para la época en la que empezó la discusión fuerte sobre la utilización y la fabricación de embriones para la obtención a partir de ellos de células stem embrionarias. (Tabla 1).

La decisión del gobierno de George Bush (agosto 9, 2001) limita la investigación a "más de 60 líneas de stem cells genéticamente diversas". Puesto en términos más precisos, prohíbe el aporte de dineros oficiales para la investigación con nuevas líneas celulares, y deja el campo abierto para que los fondos privados sí la hagan. Esto se trata de corregir posteriormente con la formulación de un proyecto de ley, que en la actualidad se discute, para prohibir la investigación con líneas celulares derivadas de embriones, como se ve más adelante. La reacción fue inmediata puesto que los investigadores identificaron, entonces, sólo 10 líneas celulares y no las 64 que el NIH decía existían. (Tabla 2).

Tabla 1. Recomendación del NIH para la investigación con células stem.

Derivar nuevas líneas celulares de embriones	Prohibida
Investigar con líneas celulares derivadas de embriones de origen privado	Permitida
Obtener nuevas líneas a partir de tejido fetal	Permitida
Investigación en líneas celulares de tejido fetal	Permitida
Investigación en células stem para crear un embrión humano	Prohibida
Combinar células stem humanas con embriones animales	Prohibida
Uso de células stem para clonaje reproductivo	Prohibido
Investigar en células stem derivadas de embriones creados con propósitos investigativos	Prohibida

Tabla 2. Enmienda 18 de agosto de 2001, Congreso de los Estados Unidos de América, por la cual se prohíbe la clonación humana.

<p>To amend Title 18, Act of 2001 Record U.S. Congress, aprob. Julio 31, 2001 Prohibition on human cloning</p> <p>A. In general. It shall be unlawful for any person or entity, public or private, in or affecting interstate commerce, knowingly</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. to perform or attempt to perform human cloning; 2. to participate in an attempt to perform human cloning; or 3. to ship or receive for any purpose an embryo produced by human cloning or any product derived from such embryo. <p>B. Importation. It shall be unlawful for any person or entity, public or private, knowingly to import for any purpose an embryo produced.</p>

En ese momento se llegó a un acuerdo potencial entre los productores de células stem y los investigadores que las emplearían, en el que se destacó principalmente que se utilizarían para investigación básica, no existiría restricción en cuanto a la propiedad intelectual de los logros alcanzados, sin que se pudieran emplear las células ni en programas terapéuticos ni de diagnóstico. Todo nuevo descubrimiento con valor comercial se negociaría con el proveedor dueño de la patente que en ese momento cobraba US\$5.000 por dos viales.

Plasticidad de las células stem

Habíamos dicho antes que una vez se realizaron los primeros grandes trabajos de investigación con las células ítem se multiplicaron en la literatura científica. Destacamos: células del cerebro de ratón originan células sanguíneas (P. Bartlett, "Pluripotential hemopoietic stem cells in adult mouse brain", PNAS, 79:2722-5, 1982); el grupo de Vescovi, de Milán, publicó en Science, 283:534-7, Jan 22, 1999, el mismo trabajo, esta vez con células marcadas, Petersen y col. (Science, 283:1168-72, May 14, 1999), demostraron ubicación de células marcadas de médula ósea -trasplante de macho a hembra- en el tejido hepático deteriorado, lo que ratificó Theise y su grupo en hígado normal, Margaret Goodell (PNAS, 96:14482-6, Dec. 7, 1999) inyecta células satélites del músculo en ratones con médula ósea irradiada y demuestra que seis a doce semanas después han repoblado su tejido sanguíneo con células originadas de las células musculares trasplantadas. Kunkel y Mulligan (Nature, 401:390-4, Sept. 23, 1999) reparan la médula ósea; la producción de distrofina en ratones distrofos sumministra la evidencia del éxito del procedimiento.

Una aplicación sin precedentes se logra con la inyección de médula ósea en el músculo cardíaco, forma miocitos, regenera la función cardíaca y origina nuevos vasos sanguíneos. De 30 ratones tratados 12 mejoraron la función cardíaca. Las expectativas son ahora de trabajos a largo término, con células marcadas y replicar el estudio en M. Rhesus (D. Orlic et al. Nature, 410: 701-5, April 5, 2001) lo que gran parte se ha logrado cuando, en humanos, se ha regene-

rado la función cardíaca inclusive con el trasplante de células musculares estriadas del mismo paciente.

El auge de las células stem del adulto (CSA)

Impulsados por la polémica desatada, que cuestiona desde ángulos de la ética la producción y la utilización de embriones para obtener células ítem, investigadores se lanzan a la obtención de dichas células a partir de tejido adulto. En esa línea compañías comerciales anuncia éxitos diversos: Osiris Therapeutics reclama haber derivado tres linajes celulares diferentes a partir de células de médula ósea humana, adipocitos, condrocitos y osteocitos, vía células stem mesenquimales (Pittenger et al. "Multilineage potential of adult mesenchymal stem cells", Science, 284:143-7, April 2, 1999. Anthrogenesis Corp. (2001) reclama producción de células stem pluripotenciales derivadas de la placenta que pueden originar células del hueso, cartílago, tendón, ligamentos y músculos. No publican sus hallazgos hasta tanto tengan patentes aprobadas. La PPL (compañía formada por el Instituto Roslin) reclama la obtención de células stem pluripotenciales a partir de células bovinas de la piel y sólo divulgarán el trabajo hasta la obtención de la patente; "Células Frankenstein" se obtienen a partir de cerebros postmortem. Células progenitoras se dividen y diferencian en cultivo (Gage y col. Nature, May 3, 2001); adipocitos obtenidos por liposuction originan cartílago, hueso, músculo (P. A. Zuk, et al. Tissue Engineering, 7:211-28, April 2001).

¿La médula ósea puede formar cualquier tipo de célula?

Una sola célula de la M.O. de un ratón contribuye a formar pulmón, hígado, intestino, piel, en el ratón. Después de un doble trasplante, una célula de la M.O. marcada regenera la sangre en ratones irradiados y se demuestra en los tejidos 11 meses después (D. Krause et al. Cell, Vol. 105, 369-377, May 4, 2001).

Quimerismo tetragamético

A partir del estudio de una mujer afectada con problema renal crónico y con necesidad de un trasplante renal la paciente y su familia se estudió en la ciudad de Boston EEUU- La tipificación HLA a partir de la sangre llevaba a interpretar que dos de sus hijos eran incompatibles con la maternidad, lo que llevó a la tipificación del sistema HLA en diferentes tejidos de la paciente con la demostración de que, por fuera de la sangre, en los otros tejidos se podía demostrar la existencia de cuatro haplotipos con expresiones diferenciales de los mismos.

HLA. Árbol familiar que revela los haplotipos HLA demostrados en sangre periférica de la paciente y sus familiares. Se destaca que de acuerdo con ellos la maternidad en dos de sus hijos es incompatible. La tipificación HLA en otros tejidos reveló la presencia de los haplotipos 2 y 4. La paciente, así, contenía los cuatro haplotipos de sus progeni-

tores y la incompatibilidad materna desaparecía por el estudio HLA. (Figura 4)

- 1) A66, B41, DR4
- 2) A25, B8, DR8
- 3) A2, B40, DR4
- 4) A1 1, B27, DR1
- 5) A3, B35, DR1
- 6) A2, 15, DR4

Entramos en contacto con los investigadores de Boston y realizamos en todos los tejidos disponibles, y en todos los pacientes, determinaciones mediante STR (Short tandem repeats), segmentos repetidos cortos del ADN de amplio uso en los estudios de identificación, de poblaciones, forense y de paternidad. La tabla 3 revela los hallazgos con 18 STR

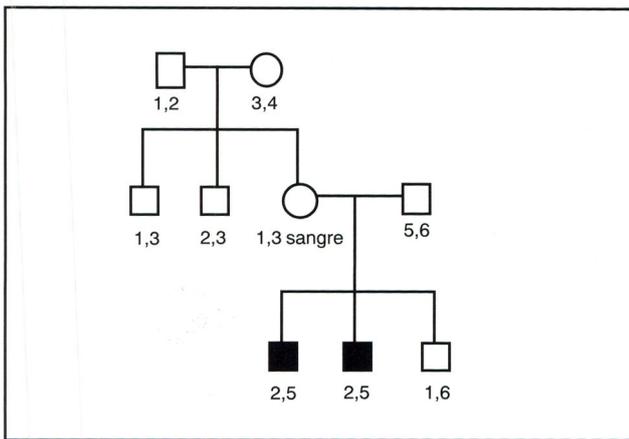


Figura 4. Arbol genealógico del estudio familiar pretransplante renal.

en sangre periférica de la paciente, sus hijos, la madre y dos hermanos. Se resaltan los marcadores en los cuales se indicaría igualmente la exclusión materna.

Sin embargo, al estudiar otros tejidos diferentes a la sangre con STR se demuestra la presencia del quimerismo con la existencia de la doble dotación genética, lo que se ilustra mediante el análisis de picos alélicos en electroferograma. (Figura 5)

En la figura anterior se puede seguir con facilidad la diferencia en alelos de los STR que se representan (D16S539, D7S820 y D13S317). La franja 1 representa los alelos en la población para cada uno de ellos, en tanto que 2, 3 y 4 revela la fórmula alélica en sangre, cabellos y tiroides. Se puede seguir con facilidad la variación en la constitución de acuerdo con el tejido.

La figura 6 indica en forma gráfica la fusión embrionaria que debió ocurrir para que se presentara el caso de quimerismo tetragamético que se describe.

Como conclusiones de esa investigación se destacan los siguientes puntos:

Se demostró por primera vez quimerismo tetragamético en una persona normal 46 XX. Se entiende como quimerismo tetragamético a la fusión temprana de dos embriones en el desarrollo embrionario, lo que cumple con el postulado claro de encontrarse dos constituciones genéticas diferentes en una sola persona. Muy importante es la discusión del origen clonal de células sanguíneas en la medida misma en que la paciente quimérica sólo muestra una constitución genética en la sangre, aunque sí existe el quimerismo en sus otros tejidos. Destacamos además la

Tabla 3. Estudio familiar pretransplante renal de una paciente con aparente incompatibilidad materna.

	Paciente	Hijo 1	Hijo 2	Hijo 3	Madre	Hermano 1	Hermano 2
D1S533	15 / 11	15 / 9	9 / 8	ND	15 / 14	14 / 8	15 / 11
TPOX	11 / 8	11 / 11	12 / 11	ND	11 / 11	11 / 8	11 / 11
D3S1358	17 / 14	15 / 15	17 / 15	ND	17 / 15	17 / 15	18 / 15
D3S1744	20 / 17	19 / 18	20 / 18	18 / 17	20 / 20	20 / 17	20 / 17
FGA	22 / 20	22 / 20	22 / 20	ND	23 / 20	23 / 22	23 / 22
D5S818	12 / 11	12 / 11	11 / 11	11 / 11	11 / 11	12 / 11	12 / 11
D7S820	10 / 10	11 / 8	11 / 8	11 / 10	10 / 8	10 / 10	12 / 8
D8S1179	16 / 13	16 / 13	16 / 11	ND	13 / 11	16 / 11	16 / 11
D9S304	12 / 4	12 / 4	12 / 9	ND	4 / 4	9 / 4	9 / 4
THO1	9.3 / 9	9.3 / 9.3	9.3 / 9.3	ND	9.3 / 9	10 / 9.3	9.3 / 9.3
vWA	17 / 14	17 / 17	19 / 17	ND	17 / 14	17 / 14	18 / 14
D12S1090	23 / 20	24 / 22	24 / 22	24 / 23	22 / 20	22 / 22	22 / 22
D13S317	11 / 8	13 / 11	11 / 11	11 / 11	13 / 11	11 / 11	11 / 11
Penta E	15 / 14	17 / 14	13 / 5	ND	15 / 14	14 / 13	14 / 14
D16S539	13 / 9	12 / 11	11 / 9	13 / 11	13 / 11	11 / 9	13 / 11
D18S51	14 / 11	13 / 11	19 / 11	ND	14 / 11	14 / 14	11 / 11
D18S849	18 / 16	18 / 16	17 / 17	18 / 17	18 / 17	17 / 16	17 / 16
D21S11	31 / 28	31 / 29	34.2 / 31	ND	31 / 30.2	31 / 30.2	31 / 28

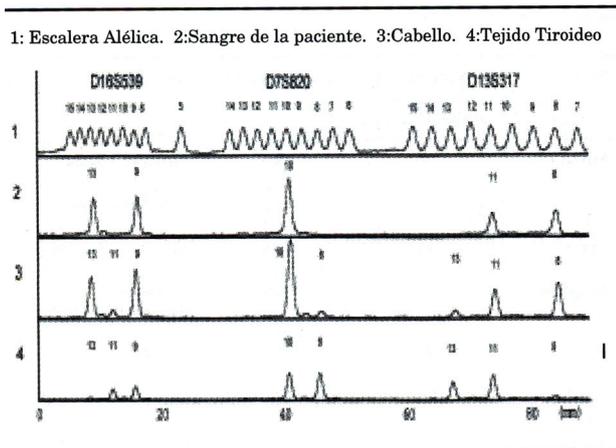


Figura 5. Análisis de picos en electroferograma.

tolerancia inmunológica de la paciente lo que indica que la madre o cualquiera de los hermanos serían útiles como donantes, sin riesgo de rechazo (Yu, N, et al. 2002).

Con los resultados descritos de diferentes investigaciones se pensó en el valor potencial que tendría este tipo de tratamientos en las enfermedades degenerativas que, como se sabe, constituyen los principales problemas que enfrenta la medicina de hoy y las que enfrentará la del futuro. La enfermedad de Parkinson como modelo de enfermedad neurodegenerativa apareció en primer lugar, por el conocimiento de qué células están afectadas, dónde se encuentran esas células, cuándo se crean en el desarrollo embrionario, en fin, cuál es su blanco.

Destacamos que la FDA avaló en 1998 un primer ensayo después de lograr investigadores que tras retirar 10-15

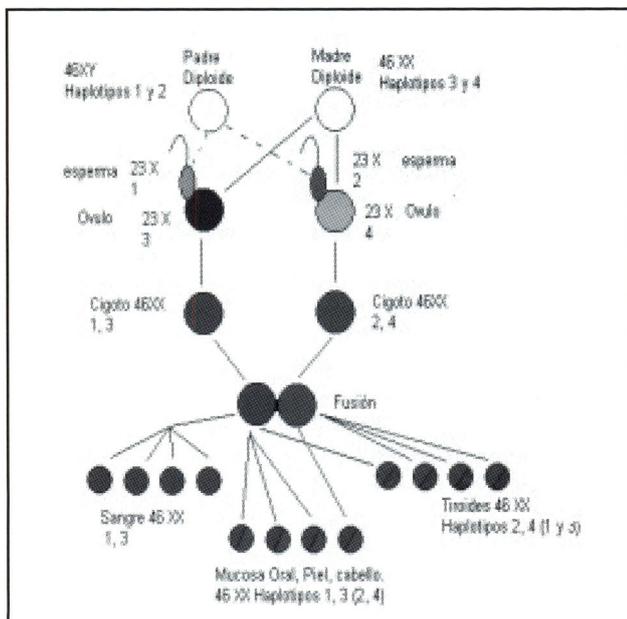


Figura 6. Fusión embrionaria que representa el caso de quimerismo tetragamético.

CS de un paciente con Parkinson e introducir 6 millones de NSC dopaminérgicas en putamen izquierdo del cerebro obtener mejoría en algunas funciones motoras del 40-50%. A esto se siguió la demostración de que células stem pueden multiplicar neuronas dopaminérgicas (Nature Biotech. 17:653-9, 1999; 18:675-9, 2000), (CSEtn en murinos permite obtener neuronas productoras de dopamina, serotonina y una gran variedad de líneas celulares (T. Nakayama et al, Science, 292:740-3, 2001).

La médula ósea, gran fuente de células stem

De la sangre al cerebro y al corazón. Células de la médula ósea del ratón se transforman en células tipo neurona (Science, Dec 1-00, pp 1775-79); la médula ósea repara el músculo cardíaco en 12 de 30 ratones con infarto y forman vasos sanguíneos (Anversa, P., Orlic, D. Nature, 410:701-705, April 5, 2001). En ratas células marcadas mejoran la función cardíaca y forman capilares (Itescu, S., y col. Nature Medicine, April-01)

Ante el empuje de la investigación en el tema, y la época dorada que se anuncia con las stem cells, se multiplican las empresas del ramo, entre las cuales destacamos las siguientes:

- Geron, USA
- Layton Bioscience, USA
- Neural STEM Biopharmaceuticals, USA
- Stem Cell Sciences, Australia
- Osiris Therapeutics, USA
- Nexel Therapeutics Inc. USA
- Neuronix Inc. USA
- Re Neuron, Inglaterra

Avances notorios con el tratamiento de problemas humanos con células stem o con células derivadas de ellas. Destacamos el tratamiento del infarto del miocardio con el trasplante de células musculares estriadas del mismo paciente. Casos realizados en USA, Italia, Francia, Japón, Argentina, España, y cinco hospitales de ese país, en Madrid, Salamanca, La Coruña, Santander realizarán en los próximos dos años cada uno doce intervenciones (Ya ha corrido un año desde el anuncio).

De enorme trascendencia fue el anuncio de la obtención de las llamadas células adultas multipotenciales (MAPC), Células adultas progenitoras multipotenciales MAPC derivadas de células mesenquimales -ratón, rata, humano- catalogadas como posibles células stem iversales. Los informes de trabajo indican que en los cultivos celulares después de 30 duplicaciones la población celular cambió y tomó una notoria similitud con las células stem embrionarias, con una gran ventaja cual es que después de su inyección a animales vivos no generó tumores. Además, las MAPC originan hueso, cartílago y tejido adiposo y a diferencia de las células mesenquimales originan células endoteliales y producen pequeños vasos en la caja de cultivo. También, originan células que funcionan y producen tejido hepático (Journal of Clinical Investigation, May 2002).

Las células MAPC se cultivan a partir de células musculares, cerebro y médula ósea de ratón y se interroga si sufren una de-diferenciación en cultivo para hacerse multipotentes. Si esto es así, resurge, entonces, el tema de la plasticidad, ¿o se trata de una célula multipotente universal, oculta en todo el cuerpo? Finalmente, ¿hacen las células MAPC innecesaria la obtención de CSE y con ello apuntan a superar el problema ético?

Las MAPC inyectadas en blastocistos de ratón originan quimeras; así, en dos animales quiméricos células multipotentes se expresaron en el 45% de los tejidos analizados. Forman, también, las tres capas embrionarias; aún no se sabe si originan células de línea germinal, característica de las células ES. MAPC inyectadas a ratones jóvenes se identifican en pulmón, tubo digestivo y otros tejidos, no en el esqueleto, corazón o cerebro (Catherine Verfaillie, *Science*, vol. 296, June 21-2002, p 2126-2129)

Algunas tablas finales sobre instituciones y stem cells, legislación sobre células stem y ventajas y desventajas de las células stem del embrión y del adulto. (Tablas 4 a 6)

Tabla 4. Ventajas y desventajas de las células stem del embrión y del adulto.

Células madres embrionarias	Células madre adultas
Ventajas	
Fáciles de multiplicar en cultivo	Posibilidad de autotrasplante
Muy maleables y flexibles	Producen células sanguíneas en trasplante
Contribuyen a líneas germinales	Crecimiento potencial indefinido
Problemas éticos	Presentes en bajo número
Limitaciones	
Forman tumores después del trasplante	Aislamiento y purificación complejos
Disparan rechazo inmune	Plasticidad o fusión celular

Tabla 5. Instituciones y células madre.

Institución	Líneas existentes
ES Cell International, Melbourne, Australia	6
María Biotech Co.Ltd, Seoul	3
Seoul National University	1
Pochon Cha University, Seoul	2
Reliance Life Sciences, Mumbai, India	7
National Centre for Biological Science, Bangalore, India	3
Technion	4
University of Gotemborg, Gotemborg, Sweden	19
Karolinska Institute, Stockholm, Sweden	6
Geron Corporation, Menlo Park, CA, USA	7
Resagen	4
Arcos-Cy Thera, San Diego Ca, USA	9
Wisconsin Alumni Research Foundation, Madison, USA	5
University of California, San Francisco, CA, USA	2

Tabla 6. Legislación sobre células madre.

País	Prohibición Clonación Reproductiva	Ley sobre SC	Ministerio
Austria	Sí	No	Justicia y Salud
Bélgica	No	No	Salud, Justicia
Francia	Sí	No-sí	Empleo y Solidaridad
Alemania	Sí	No	Ministerio Federal de Salud
Italia	Sí	Sí	Salud, Justicia
Irlanda	No	No	Dep Infancia y Salud
Holanda	Sí	Sí	Bienestar y Deportes
Portugal	Sí	No	Salud
España	Sí	No	Salud
Suecia	Sí	No	Asuntos sociales, salud y educación
Reino Unido	Sí	Sí	Dept de Salud

Bibliografía

1. Anversa, P., Orlic, D. *Nature* 2001;**410**:701-705.
2. B, Mintz. *Symp Int Soc Cell Biol* 1970;9:15.
3. Beatrice Mintz y Karl Illmensee *PNAS* 1975;**72**:3585-89.
4. Catherine Verfaillie, *Science* 2002; **296**: 2126-2129
5. CL, Markert, and Peters, RM. *Science* 1978; **202**: 56-58,
6. D. Krause et al. *Cell* 2001 ;**105**: 369-377.
7. D. Orlic et al. *Nature* 2001 ;**410**: 701-5.
8. Gage y col. *Nature* 2001; May 3.
9. JA, Thompson y col. *Science* 1998; **282**: 1145-7.
10. JE, Hill. *Am Sci* 1981 ;**69**: 522-527.
11. Kunkel y Mulligan. *Nature* 1999;**401**:390-4.
12. LC, Stevens. *Dev Biol* 1970; **21**:364-82
13. LC, Stevens. *J Natl Can Inst* 1958; **20**: 1257-1270.
14. LC, Stevens. *J Natl Can Inst* 3; 7; ; **23**:346; /; 60
15. Margaret Goodell. *PNAS* 1999;**96**:14482-6.
16. Martin, G. R. y Evans, M. y col. *PNAS* 1981 ; **78**:7634-38.
17. Martin, G. R. y Evans, M. y col. *Nature* 1981; **292**:154-6.
18. MJ, Shambly y col. *PNAS* 1998; **95**:726-31.
19. Neng Yu, Margot S. Kruskall., Juan J Yunis., Joan H.M. Knoll., Lynne Uhl., Sharon Alosco., Marina Ohashi., Olga Clavijo., Zaheed Husain., Emilio J Yunis, Jorge J Yunis, Edmond J Yunis. *N Eng J Med* 2002;**346**:1545-1552.
20. PA. Zuk, et al. *Tissue Engineering* 2001 ;**7**:213-28.
21. P. Bartlett. *PNAS* 1982;**79**:2722-5.
22. Petersen y col. *Science* 1999;**283**:1168-72.
23. Pittenger, et al. *Science* 1999;**284**:143-7.
24. T. Nakayama, et al. *Science* 2001;**4**:4:740-3.
25. Vescovi A. *Science* 3; ; =**283**:756/90
26. Wakayama T, et al. *Science* 2001 ;292.