

Artículo de revisión

Células madre

José Carlos Jaime Pérez,* Idalia Garza Veloz,** Rocío Ortiz López**

RESUMEN

Las células madre tienen la capacidad de autorenovarse y diferenciarse para producir diversos tipos de células especializadas. Las células madre se clasifican por su potencial de diferenciación en totipotenciales, pluripotenciales y multipotenciales, y según el tejido de origen en embrionarias o adultas. Estas células generan gran interés por los diferentes modelos de diferenciación a los que pueden conducirse: desde el modelo convencional (célula madre-célula hija), hasta procesos de transdiferenciación y desdiferenciación celular. Estos modelos se aplican para entender el fenómeno de plasticidad. Se denomina plasticidad de las células madre a la capacidad de generar diferentes grupos celulares a los de su tejido de origen, como las de las células madre hematopoyéticas, que forman hepatocitos y miocitos en condiciones controladas. En la actualidad existen controversias éticas, ya que los estudios en células madre se realizan a partir de óvulos donados en los centros de fertilización humana; sin embargo, pueden obtenerse células madre con características pluripotenciales de otras fuentes, como las del líquido amniótico. La legislación internacional, respecto de la obtención de células madre es heterogénea y divergente, mientras que la legislación nacional resulta limitada ante los retos que plantea la investigación científica.

Palabras clave: células madre, diferenciación celular, plasticidad, replicación celular, terapia celular, transplante hematopoyético.

ABSTRACT

Stem cells are defined by their self-renewal capacity and their ability to generate diverse kinds of specialized progeny. Stem cells can be classified by their differentiation potential as totipotent, pluripotent, or multipotent, and by their tissue of origin in embryonic or adult stem cells. A great deal of interest has risen regarding their distinct differentiation models, from the conventional straightforward mother stem cell-daughter cell, to the considerably more complex transdifferentiation and undifferentiation models. These models are currently being applied to understand the phenomenon of cell plasticity that characterizes these cells. Stem cell plasticity accounts for the capacity to generate cell types different from their original tissue, a good example being the hematopoietic stem cells, which can give origin to hepatocytes and myocytes under highly regulated conditions. There are challenges and controversies regarding diverse aspects of research in stem cell plasticity studies, as a great deal of them are performed on donated ova from human fertility centers, leading to heated ethic arguments that require being dealt with in order to further improve stem cell research. Currently, it is possible to obtain pluripotent stem cells from sources other than human embryos, for example the amniotic fluid. New and spectacular developments in stem cell therapy and regenerative medicine are continuously being investigated. International legislation regarding manipulation and research on stem cells is heterogeneous and frequently divergent, whereas national laws are limited in their capacity to deal with the evolving challenges in these research and therapeutic field.

Key Words: Stem cell, cellular differentiation, plasticity, cellular replication, cellular therapy, hematopoietic transplant.

* Servicio de Hematología.

** Departamento de Bioquímica.

Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la UANL.

Correspondencia: Dr. José Carlos Jaime Pérez. Servicio de Hematología, Edificio Dr. Rodrigo Barragán Villarreal, 2º piso, Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la UANL. Ave. Francisco I. Madero y Gonzalitos s/n, colonia Mitrás Centro, CP 64460, Monterrey, Nuevo León, México. Tel./fax: 1257-2905 y 06. E-mail: carjaime@hotmail.com

Recibido: mayo, 2007. Aceptado: junio, 2007.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

Las células madre (CM) se encuentran en todos los organismos multicelulares y se distinguen por dos propiedades fundamentales: 1) son autorrenovables, es decir, se multiplican infinitamente y se conservan indiferenciadas, y 2) producen uno o varios tipos de células diferenciadas (células cutáneas, hepatocitos, miocitos, neuronas, etc.).¹⁻³

Las células madre se plantean como una estrategia terapéutica, ya que reparan o reemplazan el tejido dañado, o revierten una enfermedad o lesión. Cada

vez aumenta el número de pacientes que se curan con los distintos tipos de transplantes, o reciben terapia celular para diversas enfermedades, como diabetes mellitus, enfermedad de Parkinson y Corea de Huntington.⁴ La investigación con células madre es un tema controversial debido a las cuestiones éticas relacionadas con su origen y utilización.^{1,2,4-6}

La historia de las células madre inició con el estudio de los teratocarcinomas.⁷ Éstos son tumores complejos que comprenden diversos tipos de células diferenciadas e indiferenciadas denominadas células de carcinoma embrionario. Dichas células originan las tres líneas germinales embrionarias clásicas: ectodermo, mesodermo y endodermo,^{1,4,8} de las que se forman todos los tejidos humanos (figura 1).

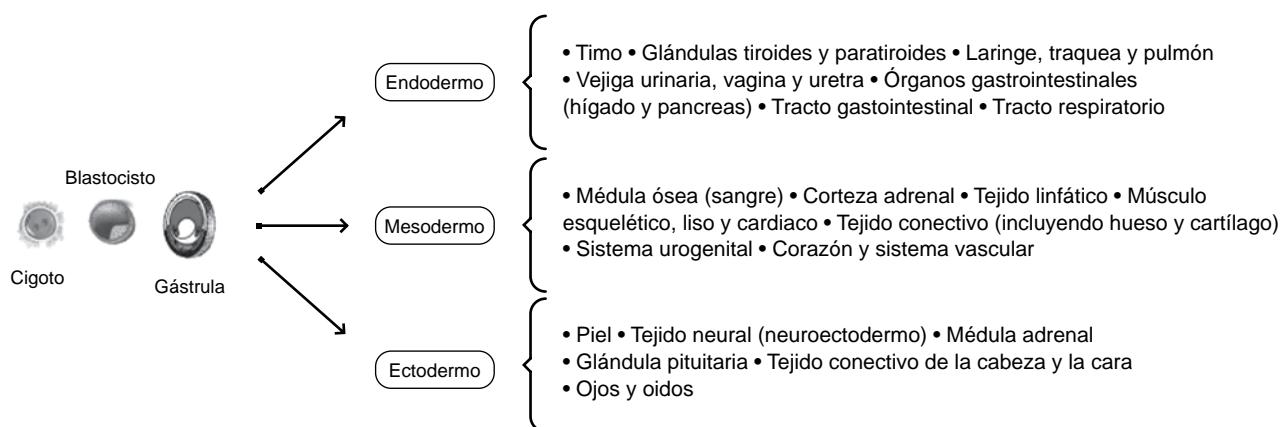


Figura 1. Esquema de diferenciación de los tejidos humanos.

A mediados del decenio de 1970 se sugirió que las células pluripotentes (embrionarias) podían ser un recurso de terapia celular, aunque no eran ideales por ser aneuploides y provenir de tumores.^{2,4} Una vez entendida la biología de las células embrionarias y los embriones tempranos, se cultivaron blastocistos que se detuvieron o retrasaron en su implantación para obtener la mejor línea celular.^{9,10} La exitosa derivación de las células madre embrionarias demostró que dichas células tienen un cariotipo normal y son pluripotenciales.⁴

Al mismo tiempo inició la investigación de las células madre humanas pluripotentes de embriones y tejidos fetales, con lo que surgió nueva información

relacionada con una clase de células madre utilizadas por años y que ahora llamamos células madre adultas.²

DESAFÍOS EN LA INVESTIGACIÓN DE CÉLULAS MADRE

Es importante comprender los desafíos o dificultades a los que se enfrenta la investigación con células madre. La mayor parte de los descubrimientos básicos en células madre embrionarias o adultas se han realizado en modelos animales, particularmente en ratones.²

La derivación de células madre embrionarias de ratón y humanas requiere condiciones especiales en

algún medio, como suero y nutrientes fibroblásticos. Hace poco se realizó el aislamiento y mantenimiento de células madre embrionarias de ratón en un medio con factor inhibidor de leucemia (LIF) y proteína-4-morfogenética de hueso (BMP4).^{3,11,12}

Es difícil aislar y detectar células madre puras, pues se requieren técnicas eficaces de selección clonal, como la citometría de flujo. Cuando se activa el citómetro de flujo por fluorescencia se detectan las poblaciones celulares en función de los marcadores de superficie. Esta técnica se utiliza frecuentemente; sin embargo, tiene algunos inconvenientes, como la variación en el potencial de error (según el instrumento o protocolo).¹³

La detección de células madre se realiza con anticuerpos marcados con fluoresceína dirigidos contra sus antígenos de superficie; por lo tanto, se requiere la determinación de varios marcadores en las mismas, ya que suelen confundirse morfológicamente con otras células progenitoras o de apariencia similar. Los tipos celulares y sus marcadores más característicos se resumen en el cuadro 1.²

Cuadro 1. Principales marcadores para el análisis por citometría de flujo de las células sanguíneas²

Tipo celular	Marcadores
Células madre/ progenitoras/o "stem"	CD34+, CD45+, CD133+
Células asesinas naturales (NK)	CD3-, CD56+ y/o CD16+
Linfocitos B	CD19+, CD20+
Linfocitos T	CD3+
Linfocitos T activados	CD3+, HLA DR+ (aka HLA clase II)
Linfocitos T reguladores	CD3+, FOXP3+
Linfocitos T supresores, o citotóxicos	CD3+, CD4+
Linfocitos T cooperadores	CD3+, CD8+
Monocitos	CD14+
Células dendríticas	CD21+, CD23+, CD35+
Células madre mesenquimales	CD49a+, CD45+

APLICACIONES Y NUEVOS ENFOQUES CURATIVOS

Existen células madre en el embrión, el feto y el adulto. La terapia celular consiste en sustituir células dañadas o ausentes por células sanas. Desde hace tiempo se utilizan los transplantes de células madre adultas de médula ósea, ya que reconstituyen la hematopoyesis trilineal para el tratamiento de enfermedades hematológicas benignas y malignas.⁶ Las células madre pluripotenciales reestablecen, de manera duradera, la inmunohematopoyesis después de la administración de terapia mieloablativa.¹⁴ También se ha demostrado que las CM adultas de la epidermis son eficaces para el tratamiento de quemaduras mediante injertos cutáneos. Gracias a los descubrimientos recientes, la terapia celular podría extenderse para tratar diversas enfermedades que actualmente son incurables, como la diabetes, las enfermedades neuromusculares, el

infarto del miocardio o incluso, las enfermedades neurodegenerativas (Parkinson y Alzheimer).^{1,2,4} Estas investigaciones se enfocan en los transplantes de células hepáticas (afecciones del hígado),¹⁵⁻¹⁷ neuronales (enfermedades degenerativas)¹⁸⁻²⁰ pancreáticas (tratamiento de la diabetes),²¹⁻²³ entre otras.

Aunque todavía se encuentran en fase experimental, algunas investigaciones recurren a células fetales en proceso de diferenciación, las cuales se obtienen después de la interrupción voluntaria del embarazo.² El futuro de estas células en el campo de la terapia celular es incierto, ya que su origen plantea problemas éticos⁵ y, sobre todo, porque podrían sustituirse favorablemente por células embrionarias o adultas.¹

TIPOS DE CÉLULAS MADRE

Células madre adultas (CMA)

Las células madre adultas se conocen y estudian desde hace tiempo en diferentes tejidos, como la epidermis, el intestino y la sangre, cuyas células se renuevan con frecuencia.^{1,2} Las células adultas demuestran que las CM se mantienen aún después del desarrollo embrionario del organismo adulto, con la función de renovar su progenie.

Hace poco se descubrió su coexistencia en diversos tejidos que tienen limitada capacidad de renovación, como los músculos, el hígado e incluso, en contra de los que se pensaba, el cerebro.²⁴ Estas células madre adultas, menos maleables que las células embrionarias, se conocen como multipotenciales, ya que generan todos los tipos celulares de un mismo tejido, como algunas células en la médula ósea que producen todas las células sanguíneas (glóbulos rojos, blancos y plaquetas).⁶

Plasticidad de las células madre adultas

Antes se pensaba que cuando una célula madre multipotencial se programaba para engendrar un tipo de célula, permanecía así de por vida. El esquema clásico de diferenciación de los tejidos humanos se expone en la figura 1.

En los últimos años se ha criticado esta concepción debido a los sorprendentes descubrimientos en el ratón. Las células madre del cerebro, cultivadas en un ambiente particular, se diferenciaron, no en neuronas,

sino en miocitos y células sanguíneas; además, algunas células madre musculares originaron células sanguíneas. Las CM de la médula ósea mostraron aún más versatilidad: el transplante de éstas estimuló la regeneración de hepatocitos y miocitos. Estos ejemplos sugieren que las células madre adultas pueden, en diversos grados, modificar su destino y despojarse de su origen embrionario.^{25,26}

Algunos estudios relacionados con la plasticidad de las células madre incluyen células cerebrales que originaron una línea celular hematopoyética: se inyectaron ratones irradiados subletalmente con células madre neurales marcadas genéticamente. A partir de estos trasplantes, los ratones produjeron células sanguíneas de los dos sublinajes: mieloide y linfoide, así como células hematopoyéticas inmaduras.²⁷ En otro estudio, las células madre neuronales de ratones y humanos se convirtieron en células musculares esqueléticas.²⁸

Diferentes estudios con células madre hematopoyéticas han demostrado que pueden originar células hepáticas: se realizaron transplantes de médula ósea de machos a hembras singénicas y se causó un daño en el hígado de los receptores para estimular su regeneración. Tiempo después se observaron células ovales hepáticas procedentes del donante, lo que sugirió que en la médula ósea existen células madre con potencialidad de generar hepatocitos.²⁹ También pueden originar células de la microglía y astroglía en varias zonas del cerebro, como se comprobó cuando se inyectaron en ratones adultos irradiados,^{30,31} o células musculares, pues la infusión de células madre de médula ósea en ratones distróficos, cuya médula se había destruido, produjo células que migraban al músculo, donde producían distrofina, y restauraron parte de la función muscular.³²

Se tienen diferentes mecanismos para explicar la plasticidad de las CM. Por ejemplo, en las CM hematopoyéticas se han propuesto cuatro modelos: 1) diferenciación de la célula madre pluripotente, 2) transdiferenciación indirecta, 3) transdiferenciación directa, o 4) fusión.²⁵ En general, los mecanismos que originan esta plasticidad aún se desconocen, pues algunos resultados se cuestionan y, con ellos, la noción de plasticidad tal como la entendemos hasta hoy.^{1,33}

Células madre embrionarias (CME)

En 1981 se produjeron CME pluripotenciales a partir de embriones de ratón progenie, es decir, capaces de diferenciarse en casi todos los tejidos del organismo. Estas células muestran propiedades extraordinarias; tienen capacidad ilimitada de renovación y conservan su pluripotencia después de varias semanas de cultivo. Cuando se controlan las condiciones de cultivo, producen toda clase de tejidos especializados en una función y pueden transplantarse para tratar enfermedades que requieran la regeneración de algún tejido dañado.³⁴

Estas células permitieron la producción de ratones transgénicos para realizar estudios sobre la función y regulación genética, además de crear modelos de varias enfermedades.

En 1998 los investigadores lograron, por vez primera, cultivar células madre embrionarias pluripotenciales humanas. La experiencia con el ratón se aplicó satisfactoriamente en el ser humano. Disponer de estas células sería de gran utilidad, ya que, además de su contribución al estudio de la génesis del embrión humano, constituyen fuentes potencialmente ilimitadas de células diferenciadas para utilizarse como terapia.³⁵ Hoy en día existen 60 líneas de células embrionarias humanas en todo el mundo.⁸

COMPARACIÓN ENTRE AMBAS CELULARES. VENTAJAS E INCONVENIENTES

Células madre embrionarias (CME)

Las célula embrionarias pluripotentes, aisladas originalmente de los teratocarcinomas, pueden originar tumores malignos en los animales en que se implantan y, después de su diferenciación hacia un tipo celular determinado, no siempre son funcionales. Por ejemplo, las células que se diferencian en células pancreáticas no siempre producen la insulina suficiente en los diabéticos.^{1,2,36} En cambio, las células madre embrionarias, aisladas de embriones humanos, conservan la capacidad casi infinita para dividirse y algunas de sus líneas guardan sus propiedades pluripotenciales aún después de diez años de cultivo.³

Las células madre embrionarias humanas provienen de dos fuentes: la primera de los embriones sobrantes o supernumerarios (conservados en con-

gelación después de un proceso de fecundación in vitro),³⁷ y la segunda la constituyen los embriones humanos obtenidos por clonación terapéutica. Estos embriones se originan a partir de una célula somática (célula asexual del cuerpo) extraída del paciente y proporcionan CM genéticamente idénticas. Lo anterior es de gran trascendencia, ya que la compatibilidad entre las células diferenciadas, obtenidas en el laboratorio, y las células adquiridas del paciente es un punto importante para evitar su rechazo cuando se realiza el trasplante. Estas fuentes requieren la manipulación de embriones, con lo que suscitan problemas éticos, controversias y opiniones divergentes.⁸

Células madre adultas (CMA)

Las CMA multipotenciales son una alternativa para las células madre embrionarias. Si se confirma su plasticidad, se concebirá la reprogramación del destino de una célula madre, de tal forma que siga nuevas vías de diferenciación, proceso conocido como transdiferenciación. Las células extraídas de un paciente y posteriormente cultivadas, permitirían reconstituir, *in vitro*, la piel, las células hepáticas, el hueso, los miocitos y las neuronas. Como estas células provienen del paciente, no existirá rechazo durante la terapia celular para reparar un tejido u órgano lesionado. La cantidad limitada de CM específicas de los tejidos puede constituir un obstáculo para su utilización en terapia celular, en tanto no se identifiquen los factores que estimulan su proliferación y maduración en cultivo.^{1,26}

Células madre hematopoyéticas (CMH)

Las células que forman la sangre y células inmunitarias se conocen como células madre hematopoyéticas (CMH). Éstas pueden aislarse a partir de la sangre o médula ósea, se renuevan a sí mismas y se diferencian en células progenitoras de linaje restringido, además de desplazarse fuera de la médula ósea y circular por la sangre.^{1,2}

En 1945 surgió la primera evidencia de CMH en el humano, cuando se observó que los pacientes expuestos a dosis letales de radiación sobrevivían con el trasplante de médula ósea de un donador sano, el cual permitía la regeneración del tejido sanguíneo.³⁸

En 1960 Till y McCulloch analizaron la médula ósea y encontraron los componentes responsables

en la regeneración sanguínea. Ellos definieron por primera vez a las CMH como células que se renuevan a sí mismas y originan los diferentes tipos de células sanguíneas.³⁹

Se estima que hay una célula madre hematopoyética por cada 10,000 células de la médula ósea, y que la proporción en la sangre periférica es de 1 por cada 100,000 células sanguíneas.²

Fuentes de obtención de las células madre hematopoyéticas

Médula ósea: en este sitio se encuentran las CMH en los adultos, pues a nivel ontogénico la hematopoyesis aparece como un fenómeno migratorio durante el desarrollo embrionario y fetal. El proceso se inicia en el saco vitelino primitivo tres semanas después de la fecundación, pasa por una fase hepática y concluye en los espacios de la médula ósea, donde la hematopoyesis tiene lugar en forma casi exclusiva durante la edad adulta.^{6,14,40,41}

Sangre periférica: en la actualidad las células hematopoyéticas se obtienen de la sangre periférica. Éstas se utilizan ampliamente en trasplantes y en la mayoría de los casos ha sustituido los de médula ósea. Los progenitores hematopoyéticos se obtienen de la sangre mediante la recolección automatizada con procesadores celulares, previa estimulación del donador o paciente mediante la administración subcutánea del factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF, Granulocyte Colony Stimulating Factor), también llamado filgrastim, el cual acelera la producción de los neutrófilos. Esta sustancia es una citosina que aumenta la producción y circulación de las células hematopoyéticas, para optimizar su obtención por leucoférésis.^{2,6,14,42,43}

Sangre del cordón umbilical y la placenta: las células sanguíneas obtenidas del cordón umbilical y la placenta son una alternativa cada vez más viable para los trasplantes. La sangre de cordón umbilical es más segura y fácil de obtener, pues no es tan crítica la compatibilidad del sistema HLA (Human Leucocytes Antigens) entre donador y receptor. Con la médula ósea se necesita la compatibilidad de seis antígenos, mientras que con la sangre del cordón umbilical se realiza un trasplante exitoso con sólo cuatro.^{2,6,44} La sangre humana umbilical y placentaria, analizada des-

pués del parto, contiene gran concentración de células progenitoras hematopoyéticas. La sangre de cordón umbilical, que normalmente se desecha, se obtiene fácilmente y de manera segura por personal experto; es una alternativa de trasplante para la anemia aplásica, leucemia, enfermedades metabólicas y otros padecimientos congénitos.⁶ Su principal limitante es el volumen obtenido, generalmente menor a 100 mL, el cual resulta suficiente para transplantar a un receptor de menos de 40 kg.⁴⁵ La sangre de cordón umbilical debe procesarse y estudiarse para descartar agentes infecciosos y determinar sus antígenos de histocompatibilidad HLA; se mantiene en criopreservación alrededor de 10 años.

Las células sanguíneas de cordón umbilical son menos aloreactivas que las células de la médula ósea; por lo tanto, son aptas para trasplantes de receptores no relacionados. Aunque el volumen de células obtenidas en una única recolección es limitado, se investiga cómo optimizar su obtención y fraccionamiento. Estas células tienen excelente capacidad de proliferación y reactividad inmunológica, lo que las hace ideales para la expansión de células madre ex vivo y terapia génica.⁶

Utilización clínica de las células madre hematopoyéticas

El trasplante de CMH alogénicas se realiza para tratar enfermedades hematológicas malignas y corregir alteraciones hereditarias de células derivadas de la médula ósea. Las células madre, reinfundidas en la sangre periférica del paciente, alcanzan los espacios de la médula ósea que constituyen el microambiente medular; una vez injertadas, garantizan la recuperación trilineal del sistema hematopoyético.^{2,6,14}

El número de CM y el grado de compatibilidad entre donante y receptor son factores importantes para realizar el trasplante. Las reacciones que determinan la compatibilidad tisular y el reconocimiento inmunológico de los antígenos de superficie de la célula, se controlan por un grupo de genes denominado complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), los cuales codifican la expresión del sistema de antígenos leucocitarios humanos (HLA). El MHC se localiza en el brazo corto del cromosoma 6. La compatibilidad de los antiguos HLA entre donador y receptor es un

requisito fundamental para el éxito del trasplante. Desafortunadamente, sólo 25% de los pacientes, por lo demás aptos para el tratamiento, tienen un donador (hermano) HLA idéntico. Para superar este problema, varios países han establecido registros de individuos con tipificación HLA dispuestos a donar progenitores hematopoyéticos de la médula ósea o sangre periférica. El más completo de todos es el Registro Internacional de Transplantes de Médula Ósea (*International Bone Marrow Transplantation Registry, IBMTR*).^{1,2,6}

Las enfermedades en las que se realiza el trasplante de células hematopoyéticas se resumen en el cuadro 2, mientras que sus aplicaciones potenciales se enumeran en el cuadro 3.^{2,46-49}

PERSPECTIVAS Y DEBATES

Perspectiva científica

Uno de los principales obstáculos para realizar el trasplante de progenitores hematopoyéticos, especialmente en pacientes adultos, es el escaso número de células progenitoras que se obtienen de la sangre de cordón umbilical.^{50,51} Por lo tanto, se siguen realizando numerosos intentos para evaluar la posibilidad de desarrollar células madre y progenitoras ex vivo.

Cuadro 2. Enfermedades tratadas con el trasplante de progenitores hematopoyéticos

Neoplasias hematológicas

- Leucemias agudas
- Leucemias crónicas
- Mieloma
- Neoplasias sólidas**
 - Linfoma
 - Cáncer de mama
- Anemia aplásica**
 - Primaria
 - Secundaria
- Síndromes mielodisplásicos**
 - Enfermedades genéticas diversas
 - Anemia de Fanconi
 - Osteopetrosis
 - Histiocitosis
- Anemias hemolíticas hereditarias**
 - Drepanocitosis
 - Diseritropoyesis congénita
- Enfermedades autoinmunitarias**
 - Lupus eritematoso sistémico
 - Artritis reumatoide

Cuadro 3. Indicaciones potenciales del transplante de células madre embrionarias para el tratamiento de distintas enfermedades^{2,46-49}

<i>Malignas</i>	<i>No malignas</i>
Neoplasias	SIDA
- Cáncer de mama	Diabetes
- Cáncer de ovario	Lupus eritematoso
- Cáncer testicular	Regeneración cardiaca
- Carcinoma renal	Esclerosis lateral amiotrófica
- Melanoma	Cirrosis
- Tumores cerebrales primarios	Infarto cerebral
	Enfermedad de Crohn

Para ello se han utilizado diferentes combinaciones de citocinas y biorreactores, y los resultados preliminares indican que el potencial de expansión de las células progenitoras de la sangre de cordón umbilical es mayor que el de sus equivalentes de la médula ósea.^{3,37}

Además, dada su mayor capacidad de respuesta a las citocinas ex vivo, las células madre hematopoyéticas pueden utilizarse como células blanco en la terapia génica. La transferencia de genes, mediada por retrovirus para corregir los trastornos genéticos, se estudia en las células hematopoyéticas de murinos y primates; actualmente se encuentra en evaluación clínica con las células madre humanas.^{6,52}

El embrión humano en el centro del debate

El desarrollo de la terapia celular, a partir de células madre embrionarias humanas, requiere la investigación compleja de dichas células, pues implica la manipulación de embriones humanos y genera la controversia en el ámbito ético. En teoría las investigaciones se efectúan en embriones supernumerarios después de la fecundación in vitro, o con embriones creados únicamente con fines de investigación. El estatus del embrión y el uso de CME constituyen el punto central de los debates éticos en todo el mundo.^{1,2,5} A partir de la concepción, ¿hablamos de una persona, de un ser humano potencial o de un simple grupo de células? ¿A partir de qué momento se otorga el estatus de persona, con toda la protección que ello implica? El estatus del embrión es un tema muy polémico y hasta la fecha no existe ningún consenso.⁵ ¿Cómo puede autorizarse o no la experimentación con un embrión humano si su estatus no está definido con precisión? En algunos países se permite la creación de embrio-

nes con fines terapéuticos,⁵³⁻⁵⁵ mientras que en otros, cualquier tipo de manipulación está explícitamente prohibida.^{53,4}

Situación de las células madre en Europa

Inglaterra tomó en este aspecto las posiciones más liberales y claras. La legislación inglesa autoriza la experimentación con un embrión humano hasta los 14 días, es decir, después de las primeras divisiones celulares. En febrero del 2002 se legalizó la clonación de embriones humanos con fines terapéuticos.⁵⁶ Inglaterra fue el primer país del mundo en adoptar una legislación que autorizó dichas investigaciones y a la vez estableció sus lineamientos. En el 2004 la Human Fertilisation and Embryology Authority (autoridad británica de regulación bioética) otorgó a la Universidad de Newcastle la autorización, durante un año, para crear embriones humanos, únicamente con fines de investigación o aplicación terapéutica.⁵⁷ Desde entonces, este equipo especializado produce embriones mediante la clonación por transferencia nuclear de células diferenciadas, embriones cuyo desarrollo se interrumpe al decimocuarto día.⁵⁸

Dinamarca y Suecia autorizan legalmente la investigación con embriones de menos de 14 días, aunque rechazan toda forma de clonación.^{55,59} En España se discute la modificación de su legislación para el estudio con embriones sobrantes de los tratamientos de fecundación.⁶⁰ En Italia el problema del embrión está contemplado en su legislación actual; sin embargo, falta poco para establecer una ley que autorice la clonación, únicamente con fines terapéuticos.^{54,61}

Algunos países adoptaron actitudes muy firmes en relación con las manipulaciones embrionarias. En Alemania, por ejemplo, la Ley Federal prohíbe la investigación con embriones humanos, considerados desde su concepción como personas; sin embargo, autoriza la importación de células madre embrionarias para establecer acuerdos con laboratorios extranjeros.⁶² Austria y Noruega también rechazan firmemente la investigación embrionaria y clonación con fines terapéuticos.^{63,64}

Suiza aprobó en el año 2004 la investigación con embriones humanos con finalidades biomédicas.⁶⁵ En Irlanda, su Constitución excluye cualquier investigación embrionaria.⁶⁶ Francia, que desde 1994 cuenta

con sus primeras leyes de bioética, muestra cierta apertura. En el 2004 el Parlamento aprobó un proyecto de ley que, aunque prohíbe las investigaciones embrionarias, autoriza excepcionalmente la investigación de las CME durante un periodo de cinco años. Esta ley autoriza también a los investigadores importar y analizar las líneas de CM embrionarias que permanecen en cultivo.^{1,67}

Situación de las células madre en Norteamérica

En Estados Unidos algunas investigaciones reciben fondos públicos y otras no. Esto deja el campo libre a los investigadores del sector privado, para no tener dificultades reglamentarias. En el 2001 el gobierno federal autorizó una partida limitada para investigar las líneas de células madre de embriones supernumerarios donados para fines científicos. Paralelamente, el Senado votó a favor de una propuesta que prohibía y tipificaba como delito cualquier forma de clonación humana.^{1,5}

Estatus de las células madre en México

Los avances en el campo de la biología molecular y, en concreto, los temas relacionados con las CME, han llevado a los investigadores a plantear interrogantes que sobrepasan el ámbito médico e incurren en el campo de la ética y su regulación jurídica.

En México no existe una legislación que regule específicamente la manipulación de las CM humanas de origen embrionario. La Ley General de Salud se encarga de regular este tipo de material biológico; en su artículo 98 incorpora la creación de una comisión de investigación y ética, en caso de realizarse investigaciones en los humanos, y de una comisión de bioseguridad para la regulación de investigaciones dedicadas a las técnicas de ingeniería genética o aplicación de radiación ionizante.

A primera instancia la Ley General de Salud parece poco idónea, ya que los términos utilizados para referirse a la medicina genómica no son los adecuados. Asimismo, la ley define conceptos como células, tejidos, embriones o reproducción artificial, pero no se refiere específicamente a la clonación o manipulación de células madre.

Aunque la Comisión de Salud de la Cámara de Diputados recibió en el año 2000 diferentes inicia-

tivas para precisar en la Ley General de Salud la naturaleza jurídica de este tipo de material biológico, la falta de consenso entre los grupos parlamentarios ha mantenido suspendido el tema.

En relación con la investigación con seres humanos y el proceso de clonación, la Ley General de Salud establece las siguientes bases en su artículo 100:⁶⁸

- I. Debe adaptarse a los principios científicos y éticos que justifican la investigación médica, especialmente en lo que se refiere a su posible contribución a la solución de problemas de salud y al desarrollo de nuevos campos de la ciencia médica.
- II. Podrá realizarse sólo cuando el conocimiento que se pretenda producir no pueda obtenerse por otro método idóneo.
- III. Podrá efectuarse sólo cuando exista razonable seguridad de no expone a riesgos ni daños innecesarios al sujeto en experimentación;
- IV. Se deberá contar con el consentimiento por escrito del sujeto en quien se realizará la investigación, o de su representante en caso de incapacidad legal de aquél, una vez enterado de los objetivos de la experimentación y de las posibles consecuencias positivas o negativas para su salud.
- V. Sólo podrá realizarse por profesionales de la salud en instituciones médicas que actúen bajo la vigilancia de las autoridades sanitarias competentes.
- VI. El profesional responsable suspenderá la investigación en cualquier momento, si sobreviene el riesgo de lesiones graves, invalidez o muerte del sujeto en quien se realice la investigación.
- VII. Las demás que establezca la correspondiente reglamentación.

La Ley General de Salud no menciona el proceso de la clonación en ninguna de sus facetas, ni se pronuncia con claridad sobre la prohibición de la clonación humana, tal y como manifiesta la comunidad científica mayoritaria, de ahí la necesidad de implementar un sistema jurídico que proteja por ley al genoma humano y establezca lineamientos precisos de la manipulación de células y embriones.

México no tiene un estatus jurídico en la materia, a pesar de los avances científicos, en la que parecie-

ra que sólo se proclamó la protección del embrión desde la concepción, tal y como queda plasmado en la Constitución, la cual señala en su artículo 14 la obligación del Estado mexicano de proteger la vida desde el momento de su concepción. En México sería congruente ratificar el marco jurídico internacional que prohíba la clonación de los seres humanos.^{68,69}

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

En la actualidad los investigadores tratan de descubrir los genes y las proteínas implicadas en la persistencia de las células madre en el organismo adulto y en los procesos de desdiferenciación de las células especializadas.^{25,26} Este hallazgo permitirá entender porqué la mayoría de los vertebrados, entre ellos el ser humano, tienen capacidades limitadas de regeneración. Se vislumbra la posibilidad de reactivar los procesos de regeneración en ciertos tipos de células humanas y en otros mamíferos para reconstituir los órganos dañados.^{2,6}

Hoy en día la investigación se centra en el campo de la terapia celular. Esta técnica consiste en extraer células madre del paciente, conducir su diferenciación hacia el tipo celular deseado e injertarlas en el tejido enfermo. En el ser humano, las células madre adultas sólo producen un número restringido de tipos celulares que corresponden a un tejido determinado. Las investigaciones actuales se enfocan en los medios de reprogramación del destino de una CM, para seguir nuevas rutas de diferenciación y permitir la reconstitución de las células de la piel, los músculos, huesos, etc.²⁶ Recientemente la terapia celular se aplica para tratar la insuficiencia vascular periférica grave en el pie diabético: se extraen CM de la médula ósea del paciente, después de procesarlas se inyectan en las pantorrillas y su éxito es notable para el proceso de revascularización.^{70,71}

Las células madre embrionarias han despertado mucha polémica y especulación, ya que su fuente de obtención es el embrión humano. Esto se modifica con el descubrimiento de nuevas fuentes de CME, como el líquido amniótico,⁷² o de células madre adultas como el folículo piloso o mesotelio peritoneal.^{73,74} La importancia de la terapia celular reside en el futuro de la medicina regenerativa.

Las legislaciones nacionales aisladas, establecidas en torno al tema de las CM, son ineficaces ante los efectos de globalización en la investigación, lo cual se logrará sólo con un consenso internacional. La reglamentación jurídica, relacionada con la clonación no reproductiva, su admisión o prohibición, dependerán exclusivamente del estatus jurídico que se otorgue a las distintas etapas del desarrollo del ser humano en formación. Corresponde a cada sociedad determinar si se autoriza o no la investigación de las células madre embrionarias.

REFERENCIAS

1. Bock G, Goode J. Stem cells: nuclear reprogramming and therapeutic applications. Novartis Foundation Symposium. Chichester UK: John Wiley & Sons, 2005.
2. National Institutes of Health. Stem cells: scientific progress and future research directions. Washington, DC: National Institutes of Health, Dept. of Health and Human Services, 2001.
3. Donovan PJ, Gearhart J. The end of the beginning for pluripotent stem cells. *Nature* 2001;414:92-97.
4. Lovell-Badge R. The future for stem cell research. *Nature* 2001;414:88-91.
5. McLaren A. Ethical and social considerations of stem cell research. *Nature* 2001;414:129-31.
6. Snyder EL, Haley NR. Cellular therapy: a physician's handbook. 1th ed. Washington, DC: American Association of Blood Banks (AABB); 2004.
7. Stevens LC, Little CC. Spontaneous testicular teratomas in an inbred strain of mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1954;40:1080-7.
8. Smith AG. Embryo-derived stem cells: of mice and men. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001;17:435-62.
9. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos. *Nature* 1981;292:154-6.
10. Evans MJ. The cultural mouse. *Nat Med* 2001;7:1081-3.
11. Schatten G, Smith J, Navara C, Park JH, Pedersen R. Culture of human embryonic stem cells. *Nat Methods* 2005;2: 455-63.
12. Raz R, Lee CK, Cannizzaro LA, d'Eustachio P, Levy DE. Essential role of STAT3 for embryonic stem cell pluripotency. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:2846-51.
13. Rivadeneyra-Espinoza L, Perez-Romano B, Gonzalez-Flores A, Guzman-Garcia MO, Carvajal-Armora F, Ruiz-Argüelles A. Instrument and protocol-dependent variation in the enumeration of CD34+ cells by flow cytometry. *Transfusion* 2006;46:530-6.
14. Jaime Pérez JC, Gómez Almaguer D. Hematología, la sangre y sus enfermedades. 1^a ed. México: McGraw-Hill Interamericana, 2005;pp:219-24.
15. Hu AB, Cai JY, Zheng QC, He XQ, Pan YL. Directional development and differentiation of mouse embryonic stem cells into hepatocytes in vitro. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2003;83:1592-6.
16. Hu A, Cai J, Zheng Q, He X, et al. Hepatic differentiation from embryonic stem cells in vitro. *Chin Med J* 2003;116: 1893-7.

17. He NH, Zhao WL, Wang YM. Human fetal liver nonparenchymal mesenchymal stem cells differentiate into functional hepatocyte-like cells in vitro. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2007;15:164-9.
18. Diaz NF, Guerra-Arraiza C, Diaz-Martinez NE, Salazar P, et al. Changes in the content of estrogen alpha and progesterone receptors during differentiation of mouse embryonic stem cells to dopamine neurons. *Brain Res Bull* 2007;73:75-80.
19. Fong SP, Tsang KS, Chan AB, Lu G, et al. Trophism of neural progenitor cells to embryonic stem cells: Neural induction and transplantation in a mouse ischemic stroke model. *J Neurosci Res* 2007;85:1851-62.
20. Lee H, Al Shamy G, Elkabetz Y, Schofield CM, et al. Directed differentiation and transplantation of human embryonic stem cell derived motoneurons. *Stem Cells* 2007;25:
21. Jiang J, Au M, Lu K, et al. Generation of Insulin-producing Islet-like Clusters from Human Embryonic Stem Cells. *Stem Cells* 2007.
22. Lees JG, Tuch BE. Conversion of embryonic stem cells into pancreatic beta-cell surrogates guided by ontogeny. *Regen Med* 2006;1:327-36.
23. Jiang W, Shi Y, Zhao D, Chen S, et al. In vitro derivation of functional insulin-producing cells from human embryonic stem cells. *Cell Res* 2007;17:333-44.
24. Temple S. The development of neural stem cells. *Nature* 2001;414:112-7.
25. Herzog EL, Chai L, Krause DS. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood* 2003;102:3483-93.
26. Ding S, Schultz PG. A role for chemistry in stem cell biology. *Nat Biotechnol* 2004;22:833-40.
27. Domanska-Janik K, Habich A, Sarnowska A, Janowski M. Neural commitment of cord blood stem cells (HUCB-NSC/NP): therapeutic perspectives. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2006;66:279-91.
28. Matus A. Actin-based plasticity in dendritic spines. *Science* 2000;290:754-8.
29. Avital I, Ferarezzo C, Aoki T, Hui T, et al. Bone marrow-derived liver stem cell and mature hepatocyte engraftment in livers undergoing rejection. *Surgery* 2002;132:384-90.
30. Eglitis MA, Mezey E. Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brains of adult mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:4080-5.
31. Hao HN, Zhao J, Thomas RL, Parker GC, Lyman WD. Fetal human hematopoietic stem cells can differentiate sequentially into neural stem cells and then astrocytes in vitro. *J Hematother Stem Cell Res* 2003;12:23-32.
32. Ozasa S, Kimura S, Ito K, UENO H, et al. Efficient conversion of ES cells into myogenic lineage using the gene-inducible system. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;357:957-63.
33. Raff M. Adult stem cell plasticity: fact or artifact? *Annu Rev Cell Dev Biol* 2003;19:1-22.
34. Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78:7634-8.
35. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282:1145-7.
36. Butler AE, Huang A, Rao PN, Bhushan A, et al. Hematopoietic stem cells derived from adult donors are not a source of pancreatic beta-cells in adult nondiabetic humans. *Diabetes* 2007;56:1810-6.
37. Spradling A, Drummond-Barbosa D, Kai T. Stem cells find their niche. *Nature* 2001;414:98-104.
38. Jacobson LO, Simmons EL, Bethard WF. Studies on hematopoietic recovery from radiation injury. *J Clin Invest* 1950;29:825.
39. McCulloch EA, Till JE. Effects of short-term culture on populations of hemopoietic progenitor cells from mouse marrow. *Cell Tissue Kinet* 1971;4:11-20.
40. Bernardo ME, Emons JA, Karperien M, Nauti J, et al. Human mesenchymal stem cells derived from bone marrow display a better chondrogenic differentiation compared with other sources. *Connect Tissue Res* 2007;48:132-40.
41. Dzierzak E. The emergence of definitive hematopoietic stem cells in the mammal. *Curr Opin Hematol* 2005;12:197-202.
42. Winkler IG, Levesque JP. Mechanisms of hematopoietic stem cell mobilization: when innate immunity assails the cells that make blood and bone. *Exp Hematol* 2006;34:996-1009.
43. Morris ES, MacDonald KP, Hill GR. Stem cell mobilization with G-CSF analogs: a rational approach to separate GVHD and GVL? *Blood* 2006;107:3430-5.
44. Kinniburgh D, Russell NH. Comparative study of CD34-positive cells and subpopulations in human umbilical cord blood and bone marrow. *Bone Marrow Transplant* 1993;12:489-94.
45. Bornstein R, Flores AI, Montalban MA, del Rey MJ, et al. A modified cord blood collection method achieves sufficient cell levels for transplantation in most adult patients. *Stem Cells* 2005;23:324-34.
46. Khurdayan VK. Stem cells: therapeutic present and future. *Drug News Perspect* 2007;20:119-28.
47. Lo KC, Whirledge S, Lamb DJ. Stem cells: implications for urology. *Curr Urol Rep* 2005;6:49-54.
48. Kim SU. Genetically engineered human neural stem cells for brain repair in neurological diseases. *Brain Dev* 2007;29:193-201.
49. Perez-Millan MI, Lorenti A. Stem cells and cardiac regeneration. *Medicina (Buenos Aires)* 2006;66:574-82.
50. Luo F, Yang YJ, Wang X, Yu XH, et al. Factors influencing successful isolation of mesenchymal stem cells from human umbilical cord blood. *Zhonghua Er Ke Za Zhi* 2006;44:509-12.
51. Skoric D, Balint B, Petakov M, Sindjic M, Rodic P. Collection strategies and cryopreservation of umbilical cord blood. *Transfus Med* 2007;17:107-13.
52. Bianco P, Robey PG. Stem cells in tissue engineering. *Nature* 2001;414:118-21.
53. De Trizio E, Brennan CS. The business of human embryonic stem cell research and an international analysis of relevant laws. *J Biolaw Bus* 2004;7:14-22.
54. Report on human embryonic stem cell research: Brussels. Commission of the European communities, 2003.
55. Jain KK. Ethical and regulatory aspects of embryonic stem cell research. *Expert Opin Biol Ther* 2005;5:153-62.
56. Great Britain. England and Wales. Supreme Court of Judicature, Court of Appeal, Civil Division. R (On the application of Quintavalle) v Secretary of State for Health. *All Engl Law Rep* 2002;2:625-39.
57. Pincock S. Newcastle centre gains licence for therapeutic cloning. *BMJ* 2004;329:417.

58. Timmons H. Britain grants license to make human embryos for stem cells. *NY Times (Print)* 2004;A4.
59. Morgan D, Nielsen L. Prisoners of progress or hostages to fortune? *J Law Med Ethics* 1993;21:30-42.
60. Bosch X. Spain approves human embryo research. *Nat Med* 2003;9:1096.
61. Pasotti J, Stafford N. It's legal: Italian researchers defend their work with embryonic stem cells. *Nature* 2006;442:229.
62. Gottweis H. Stem cell policies in the United States and in Germany. *Policy Stud J* 2002;30:444-69.
63. Morgan D, Bernat E. Austrian law on procreative medicine. *Bull Med Ethics* 1992;83:13-16.
64. Norway. Norwegian law on assisted reproduction and genetics: the act relating to the application of biotechnology in medicine. *Bull Med Ethics* 1994;No. 99:8-11.
65. Koeferl Puorger UP, Buergin M, Wunder D, Cazzolara S, Birkhaeuser MH. Surplus embryos in Switzerland in 2003: legislation and availability of human embryos for research. *Reprod Biomed Online* 2006;13:772-7.
66. Whitty N. Law and the regulation of reproduction in Ireland: 1922-1992. *Univ Tor Law J* 1993;43:851-88.
67. Verville S, Menezo Y. Human embryo research in France. *Hum Reprod* 2002;17:261-3.
68. Ley General de Salud. En: *Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión*, 1984:154.
69. González Martín N. Las células madre o troncales: su itinerario jurídico en México. *Instituto de Investigaciones Jurídicas de la UNAM* 2005;1:14.
70. Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, Ikeda U, et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet* 2002;360:427-35.
71. Huang P, Li S, Han M, Xiao Z, et al. Autologous transplantation of granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells improves critical limb ischemia in diabetes. *Diabetes Care* 2005;28:2155-60.
72. De Coppi P, Bartsch G, Siddiqui MM, Xu T, et al. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nat Biotechnol* 2007;25:100-6.
73. Amoh Y, Li L, Katsuoka K, Penman S, Hoffman RM. Multipotent nestin-positive, keratin-negative hair-follicle bulge stem cells can form neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:5530-4.
74. Gotloib L, Gotloib LC, Khrizman V. The use of peritoneal mesothelium as a potential source of adult stem cells. *Int J Artif Organs* 2007;30:501-12.