



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**LAS CÉLULAS MADRE Y SUS POSIBLES
APLICACIONES EN ODONTOLOGÍA**

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A :

ROSA MARÍA HERNÁNDEZ FUENTES

DIRECTORA: MTRA. VIOLETA ZURITA MURILLO

ASESOR: MTRO. EDGAR REYNOSO ARGUETA

MÉXICO D. F.

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

GRACIAS A DIOS

Por haberme dado la oportunidad de concluir una meta importante en mi vida que es la de Titularme y por haberme mandado un Ángel maravilloso que ha dado luz a mi vida con su llegada.

ESPECIALMENTE A

DANIELA

Te dedico este trabajo con mucho cariño y amor, gracias por ser una gran bendición en mi vida, por darle alegría a cada uno de los días que hemos pasado juntas y por todos los que nos faltan; por ser mi fuerza y mi principal motivación que me ha llevado a seguir adelante, GRACIAS pequeña.

A la UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Por darme la oportunidad de cursar mis estudios en tus aulas y brindarme los cimientos para mi desarrollo profesional.

Un agradecimiento especial para:

Mi Directora de Tesina la Mtra. VIOLETA ZURITA MURILLO

Por su paciencia y ayuda para poder realizar esta Tesina, Gracias.

A mi Asesor el Mtro. EDGAR REYNOSO ARGUETA

Muchas Gracias por su valiosa ayuda, por haberme ayudado con el tema y por ser él gran Pediatra que ha cuidado de mi hija, muchísimas Gracias.

A todos LOS PROFESORES DEL SEMINARIO, por su vocación, dedicación y esfuerzo, por ser parte de esta meta, especialmente a la Dra. HIROSE, Dr. HECTOR, Dr. KAMETA.

A mis PADRES

Por su ayuda y apoyo incondicional, por sus esfuerzos para darme una educación que me permitió lograr una carrera, por su amor y comprensión y por todo lo que me han dado, los admiro mucho; los quiero, gracias por ser mis papás.

ROSA MARÍA FUENTES TREJO
VICENTE HERNÁNDEZ PALACIOS

A mis HERMANOS

Por su apoyo y por cuidar de Daniela en estos momentos, por ser un gran ejemplo para mí los admiro por que cada uno me ha enseñado cosas diferentes, Gracias por estar conmigo, incluyendo a la Pelusita.

ELIZABETH NOHEMI
ALICIA GABRIELA
MIRIAM GUADALUPE
DANIEL VICENTE

A mis AMIGAS Y AMIGOS Y A TODAS LAS PERSONAS QUE DIOSITO HA PUESTO EN MI CAMINO para llegar a este momento, por brindarme su amistad incondicional, por sus consejos, por estar conmigo en las buenas y en las malas, por su confianza, amor y apoyo tan inmenso que me brindaron, solo puedo darles las GRACIAS

DE TODO CORAZÓN:
ROSA MARÍA HERNÁNDEZ FUENTES

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN

1	ANTECEDENTES.....	02
2	CÉLULAS MADRE.....	06
	2.1 Células hematopoyéticas	06
	2.2 Definición de Células Madre	10
	2.3 Origen y diferenciación	11
	2.4 Funciones	13
	2.5 Aislamiento de las células madre	14
	2.6 Estudio en animales	16
	2.7 Consideraciones de seguridad	19
	2.7.1 Aspectos éticos	22
	2.8 Inestabilidad	27
3	CONSERVACIÓN DE CÉLULAS MADRE	29
	3.1 Criopreservación	29
	3.2 Bancos de células madre	33
	3.3 Laboratorios que cuentan con el servicio	34
4	POSIBLES APLICACIONES	38
	4.1 Generales	38
	4.2 Odontológicas	40
	CONCLUSIONES	42
	BIBLIOGRAFÍA	43

INTRODUCCIÓN

Las células madre han tomado actualmente gran importancia debido a los usos que se les han dado y a las diversas investigaciones en las que se encuentran con sus polémicas aplicaciones en los diferentes campos de la medicina.

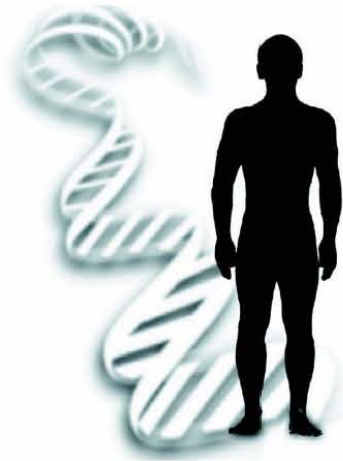
Eventualmente se pretende utilizarlas en humanos; ya que la mayoría de sus estudios han sido en animales principalmente en ratones; para curar diversas enfermedades, entre ellas se podrían mencionar, Alzheimer, diabetes, transplantes como por ejemplo de corazón, riñón, hígado, etc.

Buscando una manera menos invasiva de conseguir las células madre; se ha visto la posibilidad de extraerlas de diferentes fuentes como cordón umbilical y de la pulpa dental, pretendiendo con ello llegar a crear desde tejidos hasta órganos debido a su potencial de regeneración.

Por consiguiente el presente trabajo tiene la finalidad de dar un panorama a cerca de las células madre para poder conocer algunas de sus futuras aplicaciones tanto generales como en el ámbito odontológico.

1. ANTECEDENTES

A pesar de que el Genoma Humano lleva ya un largo tiempo en investigación, es hasta el nuevo milenio que se ha introducido en la era del genoma humano, y a logrado captar los titulares de las noticias y científicos; y probablemente la terapia génica será la medicina del futuro. El Genoma es el conjunto de instrucciones completas para construir y mantener la vida de un organismo, humano o cualquier otro, es el código que hace que seamos como somos. El genoma está constituido por cromosomas que contienen genes y los genes están hechos de ADN. Cada vez que la célula se divide en células hijas, el genoma total se duplica, en el caso del genoma humano esta duplicación tiene lugar en el núcleo celular.^{1, 2, 3}



www.infogen.org.mx

¹ Donovan, P. J.; Gearhart, J. The end of the beginning for pluripotent stem cells. Nature 2001;414; 118-121

²www.infogen.org.mx

³www.hospitalangeles.mx

La importancia de conocer el genoma es que todas las enfermedades tienen un componente genético, tanto las hereditarias como las resultantes de respuestas corporales al medio ambiente. Desde un punto de vista no científico, el mapa del genoma humano es una herramienta genética que permite estudiar la evolución del hombre y que cambiará drásticamente la medicina actual tal como la conocemos.⁴

Se han descubierto varios tipos de células provenientes del germen embrionario, feto y adulto. Cada uno de éstos ha prometido revolucionar el futuro de la medicina regeneradora a través de terapias de célula-reemplazo, tratando una variedad de enfermedades. La investigación celular recibe fondos de los medios de comunicación, levanta muchos debates éticos y religiosos y genera mucho interés público. La tremenda versatilidad de células embrionarias contra los informes inauditos que describen la plasticidad celular ha encendido los debates acerca de la opción de un tipo celular encima de otro para la aplicación futura. Sin embargo, la biología de estas células tiene que ser entendida y realizar investigación previa antes de usar dichas células en nuevas terapias.⁵

1961 Till y McCulloch, demostraron el potencial de células madre únicas para regenerar el bazo de ratones radiados en forma masiva con todas las líneas celulares sanguíneas. Los ratones fueron radiados hasta la destrucción completa de todas las células hematopoyéticas.⁶

En 1998, el mundo se conmocionó con el descubrimiento de éste tipo de células. Un grupo de investigadores estadounidenses sustrajo las células del cordón umbilical de un bebé y las utilizó para curar a su hermano mayor que sufría de una leucemia crónica. Desde entonces, la investigación de las células se convirtió en un nuevo campo de interés

4 www.hospitalangeles.mx

5 Bongso A, Richards M. History and perspective of stem cell research. Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology, Volume 18, Issue 6, December 2004, Pages 827-842

6 Shirlyn, B. M., Hematología Clínica. ed Manual Moderno. México, 1991. 19-23

científico y sus avances han arrojado resultados alentadores para la humanidad.

En noviembre de 1998, el científico de la Universidad de Wisconsin James Thomson anunció en *Science* que había alcanzado una de las metas más ambicionadas de la biología: había aislado y cultivado un tipo de célula primitiva capaz de metamorfosearse en cualquiera de los 220 tejidos del organismo.

En el 2004, un niño italiano de cinco años utilizó las células madre de su hermano gemelo para curar su talasemia (anemia), una enfermedad hereditaria de la sangre que le impedía producir hemoglobina a su médula ósea. Así se convirtió en el primer niño en la historia que superó su enfermedad.⁷

Descubrimientos más importantes de la biología celular

1967 se derivaron las células murine de las células del carcinoma embrionarias

1981 establecimiento de células murine en células madre de embriones

1984 ratón proveniente del cultivo de células

1987 primer gen obtenido en células madre de embriones

1988 descubrimiento del factor inhibidor de leucemia primer alimentador-libre cultivado de células madre de embriones

1995 primate derivado de las células madre de embriones

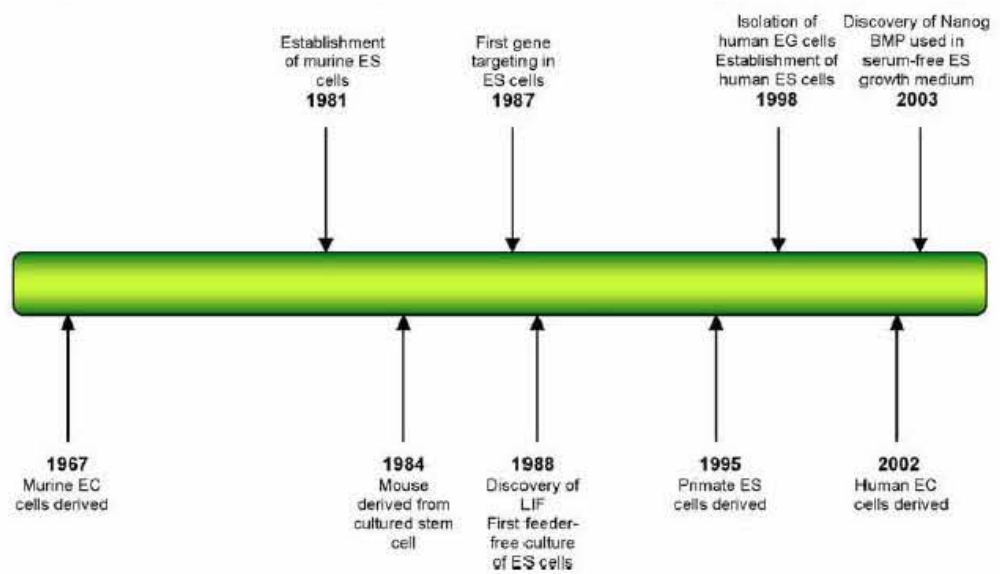
1998 aislamiento de células humanas del germen embrionario.
Establecimiento de células madre humanas de embriones.

2002 derivaron las células humanas del carcinoma embrionario

⁷ www.prodiversitas.bioetica.org/prensa69.htm

2003 descubrimiento de la proteína morfogenética del hueso Nanog, usando suero-libre como medio de crecimiento.⁸

En el siguiente esquema se muestran los descubrimientos más importantes de la biología celular.



Advanced Drug Delivery Reviews

⁸ Ruairi, F., Sjaak van der, S., Patrick J. M. Embryonic stem cells: Understanding their history, cell biology and signalling Advanced Drug Delivery Reviews 57 (2005) 1894– 1903

2. CÉLULAS MADRE

2.1 Células Hematopoyéticas

Es importante conocer acerca de las células hematopoyéticas o de la sangre, ya que se han dado diversas polémicas sobre el origen de la mayor parte de células de la sangre y hasta el momento no hay unanimidad; por ello se han sugerido diversas teorías y entre ellas encontramos:

1. Teoría dualista de Ehrlich. Reconoció que la serie granulocítica nace de un precursor granuloso en la médula ósea y que los linfocitos nacían en los ganglios linfáticos
2. Teoría monofiletista en la que participan Maximow, Jordan, Bloom y otros. Creían que el tejido mieloide podía nacer después de la vida embrionaria a partir de linfocitos
3. Teoría polifilética esta es defendida por Cunningham, Sabin y Doan, ellos afirman que cada tipo de célula adulta tiene su propio blasto precursor.

Aunque gran parte de la confusión de donde provienen las células se piensa que se debe a una falta de terminología más adecuada, ya que cada investigador nombra de manera diferente a una misma célula, para que exista unanimidad en algunas clasificaciones se ha creado un comité (Committee for Clarification of the Nomenclature of Cells and Diseases of the Blood-Forming Organs)^{1 2 3}

¹ Shirlyn, B. M., Hematología Clínica. ed Manual Moderno. México, 1991. 19-23

² S. Leavell B., A. Thorup O., Hematología Clínica. Ed. Interamericana. 4ta ed. México, 1987. 5-6

³ Phillips, R. L.; Ernst, R. E.; Brunk, B.; Ivanova, N.; Mahan, M. A.; The Genetic Program of Hematopoietic Stem Cells. Bioll 2000 362-373

Las células de la sangre son de creciente interés como una fuente potencial de material biológico para la medicina regeneradora.⁴

Son unas células a las que llamamos progenitoras y que provienen de diferentes lugares del cuerpo humano. De hecho, cualquier órgano de nuestro cuerpo puede tener células madres correspondientes a ese órgano.

Nuestro organismo funciona a base de renovación de células.⁵

Las células hematopoyéticas primitivas (CPH) tienen capacidad de auto renovación y además pueden generar los progenitores de los diferentes linajes sanguíneos. Estas características tienen gran impacto en el área clínica por la posibilidad de reconstituir la hematopoyesis con posterioridad al tratamiento quimioterápico.

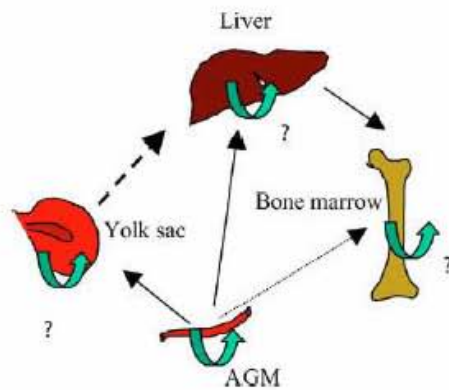
Esto ha llevado a explorar en modelos experimentales, la movilización de células hematopoyéticas primitivas, su tránsito por sangre periférica y su capacidad funcional para generar progenitores multipotentes.⁶

⁴ Hidemitsu, H., Takeshi, M., Takashi, T., Kuniaki, T., Epithelial stem cells in teeth Odontology (2002) 90:1-6

⁵ www.infogen.org.mx

⁶ Aguirre, O. M., Juaristi, J. A., Aguirre, M. V. , Alvarez, M. A., Lattman, A., Cinética de células primitivas hematopoyéticas movilizadas por acción del Paclitaxel. Cátedra de Bioquímica. INFIBAR - Facultad de Medicina - UNNE. Mariano Moreno 1240 - (3400) Corrientes - Argentina.

Los cambios hematopoyéticos provienen de la colonización celular en el embrión en vías de desarrollo. En general la mayoría aceptó el modelo de la colonización hematopoyética, que se representa con las flechas que se muestran en el siguiente esquema.



The International Journal of Biochemistry & Cell Biology

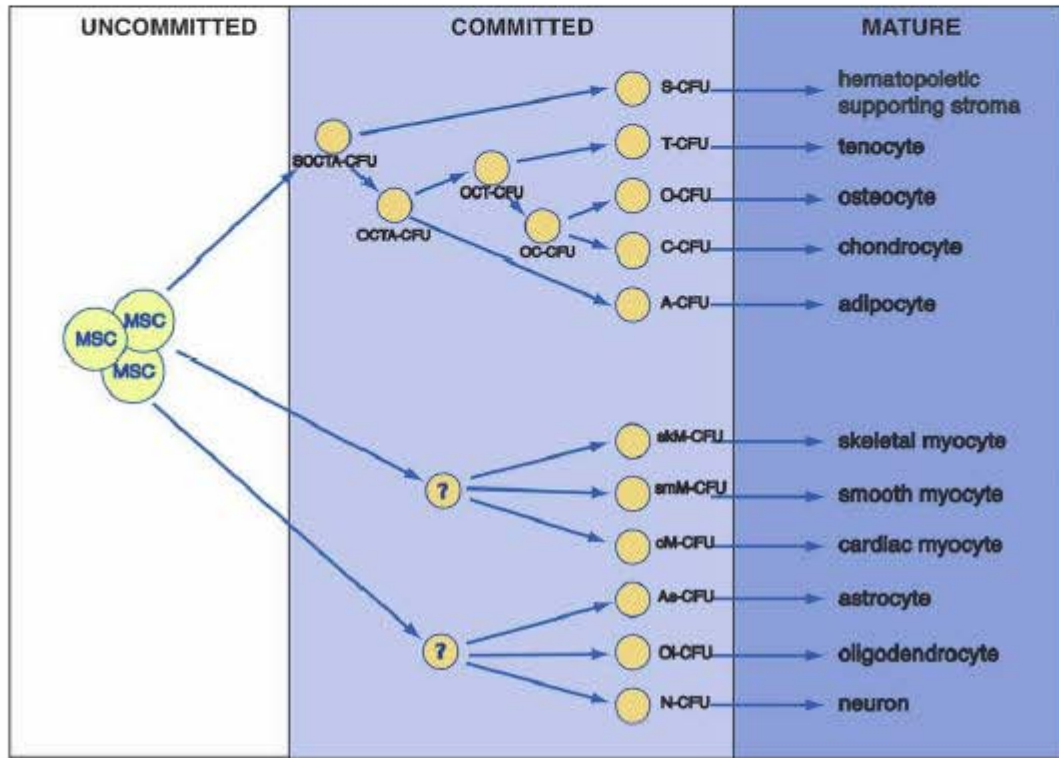
Sin embargo, la evidencia experimental sugiere que HSCs (hematopoyéticas stem cells) en la bolsa de la yema (YS) pueda desviar la región de AGM (Aorta-Gonada- Mesonephros) y directamente pueda colonizar el hígado.⁷

La hematopoyesis consiste en la generación de todas las células sanguíneas a partir de la célula troncal hematopoyética (CTH), también denominada célula madre o célula tallo. La CTH tiene un potencial de proliferación muy amplio, y tiene una capacidad multipotencial, es decir, tiene la capacidad de originar a células sanguíneas de los tres linajes: mieloide, eritroide y linfoide. El estudio de la hematopoyesis ha adquirido una gran relevancia desde hace algunos años por el surgimiento de la terapia celular, en donde se manipula el potencial y el destino celular para la aplicación clínica.⁸

⁷ Ilaria Bellantuono., Haemopoietic stem cells. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 36 (2004) 607–620

⁸ Mayani H Guilbert L, Janowska-Wiwczonek. 1992. Biology of the hemopoietic microenvironment. European Journal of Hematology. 49:225

En el siguiente cuadro se muestran los diferentes estadios de diferenciación de los tipos de células hemáticas.



The International Journal of Biochemistry & Cell Biology

2.2 Definición de células madre

Como lo menciona Shirlyn son los elementos más primitivos de la medula ósea, son las células maestras del cuerpo que tienen el potencial de desarrollarse en diferentes células especializadas que componen

diferentes órganos y tejidos del cuerpo como el corazón, hígado, pulmón, cerebro, huesos y músculos; son un tipo especial de células que tienen la capacidad de dividirse indefinidamente sin perder sus propiedades. Pueden llegar a producir y reconstruir las células débiles o faltantes del cuerpo.

Son aquellas células dotadas simultáneamente de la capacidad de autorrenovación (es decir, producir más células madre) y de originar células hijas comprometidas en determinadas rutas de desarrollo, que se convertirán finalmente por diferenciación en tipos celulares especializados.^{9,10,11}

El entusiasmo entre los científicos que investigan las *stem cells* o, células madre los lleva a imaginar un futuro, no muy lejano; en el que será posible, por ejemplo, obtener algunas de estas células de un paciente, cultivarlas en el laboratorio, inyectarlas nuevamente y..... dejar que ellas sencillamente reparen los tejidos dañados.

2.3 Origen y diferenciación

En la investigación actual, se pretende obtener células madre que se mantengan como tales en cultivo en el laboratorio, y que bajo determinados estímulos puedan conducir a poblaciones de células diferenciadas.

El cigoto (óvulo fertilizado) es una célula totipotente, capaz de dar origen a todo el organismo. Durante las primeras divisiones el embrión es una esfera compacta (mórula), en la que todas las células son totipotentes, y de hecho esto se refleja de modo natural en los gemelos

9 Shirlyn, B. M., Hematología Clínica. ed Manual Moderno. México, 1991. 19-23

10 www.prodiversitas.bioetica.org/prensa69.htm

11 www.bioetica.org

monocigóticos. A los pocos días comienza una primera especialización, de modo que se produce un blastocisto, con una capa superficial que dará origen al trofoblasto, del que deriva la placenta, y una cavidad casi hueca (rellena de fluido) en la que está la masa celular interna (m.c.i.). Las células de esta m.c.i. son pluripotentes, porque aunque por sí solas no pueden dar origen al feto completo (necesitan el trofoblasto), son el origen de todos los tejidos y tipos celulares del adulto, aunque las células de la masa celular interna del blastocisto son pluripotentes, no son en sí mismas células madre dentro del embrión, porque no se mantienen indefinidamente como tales *in vivo*, sino que se diferencian sucesivamente en los diversos tipos celulares durante la fase intrauterina. Lo que ocurre es que cuando se extraen del embrión y se cultivan *in vitro* bajo ciertas condiciones, se convierten en células “inmortales” dotadas de dos propiedades: autorrenovación y pluripotencialización.

Pluripotencia: Las células madre pueden diferenciarse *in vivo* e *in vitro* en una gran diversidad de tipos celulares.

In vivo dicha multipotencia se manifiesta cuando al incorporar células madre en blastocistos pueden dar origen a cualquier tejido u órgano.

In vitro pueden contribuir igualmente, con las señales adecuadas, a diferentes líneas celulares de las tres capas embrionarias (ectodermo, mesodermo y endodermo).

Este es el campo donde más se está investigando actualmente, por su relevancia para la clonación terapéutica.^{12, 13 14}

Otras células madre:

12 Donovan, P. J.; Gearhart, J. The end of the beginning for pluripotent stem cells. *Nature* 2001;414; 118-121

13 Iáñez, P. E. Departamento de Microbiología e Instituto de Biotecnología UNIVERSIDAD DE GRANADA

14 B.Linju Y, Hsing H,Chih-Cheng C, Hsiang-Yiang y col. Isolation of Multipotent Cells from Human Term Placenta. *Stem Cells* 2005;23:3-9

Células madre germinales (EG): se aíslan de fetos, a partir de la cresta germinal, donde se está produciendo la diferenciación de la línea germinal.

Células madre de adulto (AS): El caso paradigmático es la célula madre hematopoyética (HSC), que genera todos los tipos de células sanguíneas y del sistema inmunitario, y que reside en la médula ósea (aunque en la fase fetal se encuentra en hígado y bazo).^{15,16 ,17}

Las células madre pueden provenir de varias fuentes además de los embriones como: células adultas, cordones umbilicales que se tiran, placentas y otro tejido fetal.¹⁸

2.4 Funciones

Su principal función es la de reemplazar las células hematopoyéticas periféricas decadentes, se caracterizan por la propiedad de diferenciarse en distintas líneas celulares con funciones especializadas y por su capacidad de regenerarse de modo que se conserve el compartimiento de células madre.¹⁹

La mayoría de estas células se encuentran en reposo, pero son capaces de volver a dividirse en respuesta a las demandas de nuevas células hemáticas de cualquier tipo, las que están en actividad pueden hacer divisiones de autorrenovación para mantener el número adecuado de células madre pluripotenciales o pueden hacer divisiones de diferenciación dando lugar a la formación de células que proliferan y se diferencian en células progenitoras de cuatro tipos. Las células madre

15 Donovan, P. J.; Gearhart, J. The end of the beginning for pluripotent stem cells. *Nature* 2001;414; 118-121

16 Phillips, R. L.; Ernst, R. E.; Brunk, B.; Ivanova, N.; Mahan, M. A.; The Genetic Program of Hematopoietic Stem Cells. *Biol* 2000 362-373

17 Iáñez, P. E. Departamento de Microbiología e Instituto de Biotecnología UNIVERSIDAD DE GRANADA

18 www.bioetica.org

19 Shirlyn, B. M., Hematología Clínica. ed Manual Moderno. México, 1991. 19-23

adultas participan en la reparación tisular y en la homeostasis, además tienen la capacidad de autorrenovarse y generar otras células capaces de diferenciarse en un tejido particular.

Las células madre embrionarias, que son derivadas desde el estado de blastocisto hasta que comienza la formación del embrión, poseen el potencial natural de diferenciarse en cualquier tejido del cuerpo humano.

20

Se piensa que al controlar el desarrollo de estas células en un laboratorio, se pueden hacer crecer varios tipos de tejidos para reemplazar áreas enfermas del cuerpo. Es un futuro se busca en la terapia celular; tratar lesiones y enfermedades degenerativas.^{21 22}

2.5 Aislamiento de las células madre

Una de las líneas de investigación intenta aislar células que tengan capacidad de generar islotes pancreáticos. Habría dos candidatas, unas son las llamadas "oval cells", que en el embrión se metamorfosean en los esbozos pancreático y hepático. Las otras son verdaderas "stem cells" que se encuentran dentro del propio páncreas. Esta es una de las esperanzas en diabetes, porque se podría regenerar el páncreas, que es el órgano que produce la insulina.

Las numerosas consideraciones éticas y técnicas limitan la disponibilidad de estas células y por ello solo aísla la masa celular interna

20 Donovan, P. J.; Gearhart, J. The end of the beginning for pluripotent stem cells. *Nature* 2001;414; 118-121

21 Ruairi, F., Sjaak van der, S., Patrick J. M. Embryonic stem cells: Understanding their history, cell biology and signalling *Advanced Drug Delivery Reviews* 57 (2005) 1894– 1903

22 www.bioetica.org

de embriones; y aún todavía se debe resolver la tumorigenicidad de las células madre embrionarias.²³

Dos equipos diferentes de expertos españoles y daneses llegaron a la conclusión de que; los investigadores saben ya desde hace tiempo que las células madre tomadas de embriones pueden resultar cancerosas. En efecto, se las ha relacionado con la aparición de leucemia y cáncer de pecho. Los resultados de sus investigaciones fueron publicados en la revista especializada *Cancer Research* y en la *New Scientist*.²⁴

Pero por otra parte la búsqueda fácil y accesible de fuentes de células madre multipotentes ha llevado a varios grupos a mirar a otros tejidos, entre ellos se encuentran la sangre periférica activa, sangre del cordón umbilical, el mesenquima del cordón umbilical y recientemente en dientes deciduos. Por las controversias que hay las células madre se han estado aislando de la médula del hueso y se obtienen células madre adultas, pero con las investigaciones se ha visto que los números celulares disminuyen significativamente con la edad del individuo.²⁵

Los métodos in vitro para el cultivo de células madre humanas en agar blando han suministrado pruebas de la existencia de células madre unipotenciales que derivan de la unidad formadora-bazo.²⁶

Las células son extraídas de los embriones humanos y pueden rehacer cualquiera de las 200 variedades celulares que integran el organismo. Las células madre de embriones pueden ser mantenidas en cultivo en un laboratorio. Esto ha abierto a la posibilidad de tratar varias enfermedades que traen consigo la degeneración celular y tisular como el cáncer. A esto se le ha llamado “terapia celular”. Lo que se hace es dirigir

23 B.Linju Y, Hsing H,Chih-Cheng C, Hsiang-Yiang y col. Isolation of Multipotent Cells from Human Term Placenta. *Stem Cells* 2005;23:3 –9

24 www.bioetica.org

25 B.Linju Y, Hsing H,Chih-Cheng C, Hsiang-Yiang y col. Isolation of Multipotent Cells from Human Term Placenta. *Stem Cells* 2005;23:3 –9

26 Shirlyn, B. M., Hematología Clínica. ed Manual Moderno. México, 1991. 19-23

a las células madre cultivadas a dividirse y a crecer para ser tejidos específicos u órganos y así reparar la parte dañada en el paciente. Lo más asombroso de estas células es que pueden regenerarse solas en un laboratorio (in vitro) y ser una fuente ilimitada de células madre pluripotenciales. Sin embargo, la controversia sobre la investigación en células madre continúa debido a que el embrión si es considerado una persona o un ser vivo tiene derecho a la vida. El obtener células madre de embriones en destrucción o muerte es considerado por muchas personas como anti-ético, aún en muchos países en donde el aborto es legal.^{27 28}

Una célula madre ideal para ser utilizada en terapias celulares debería cumplir con los siguientes requisitos:

1. Debería ser efectivamente pluripotente, idealmente que se pudiera generar cualquier tipo buscado de célula
2. Debería ser inmortal, es decir, tener la capacidad de proliferar (autorrenovarse) indefinidamente
3. Debería poseer un fenotipo estable, bien caracterizado desde el punto de vista molecular
4. Debería carecer de potencial tumorigénico
5. Debería ser susceptible de manipulación genética, para permitir modificaciones genómicas precisas, incluyendo la introducción de genes terapéuticos.

La esperanza terapéutica principal que se tiene en las células madre es que se puedan emplear para terapias celulares y trasplantes de tejidos, sin los problemas actuales ligados a los aloinjertos: escasez de donantes histocompatibles, necesidad de administrar drogas inmunosupresoras (ciclosporina, corticoides) con sus efectos secundarios (riesgo de

²⁷ www.bioetica.org

²⁸ La Palabra Israelita, Enero 2006. Células madre y su criopreservación.

infecciones, de cáncer, nefropatías, etc.). Lo ideal sería derivar tejido con la identidad histológica del propio paciente para hacer autotrasplantes.²⁹

2.6 Estudio en animales

En la literatura científica abundan experiencias exitosas en las que la médula tiene la función de patrullar e ir a implantarse y regenerar tejidos donde hay agresión; en roedores, ante cualquier lesión, si se estimula la médula ósea, aparecen células reparadoras.³⁰

En un estudio realizado en ratones y moscas se vio que la biología básica está estudiando y descubriendo las moléculas que se envían unas células a otras, y cómo estos “mensajes desde el exterior” ponen en marcha una serie de factores de reproducción para activar genes, cuyos productos ejercen una serie de efectos: reorganizaciones de orgánulos y macromoléculas, divisiones simétricas y asimétricas, diferenciaciones, etc.

Observaron también que parece que las células disponen de “relojes internos” que de alguna manera les indican el número de veces que deben dividirse antes de diferenciarse totalmente. Se sabe aún poco de esta faceta, pero se piensa que están implicados varios mecanismos, entre ellos:

- Proteínas promotoras e inhibidoras del ciclo celular
- Longitud del telómero: se ha propuesto que conforme la célula se especializa, va acortando sus telómeros, hasta que finalmente llega a la senescencia.

La célula puede cambiar su patrón de expresión, lo que en determinados casos significa un paso más en su ruta de diferenciación, su

²⁹ Iáñez, P. E. Departamento de Microbiología e Instituto de Biotecnología UNIVERSIDAD DE GRANADA

³⁰ www.prodiversitas.bioetica.org/prensa69.htm

proliferación, o incluso puede significar la muerte celular programada (apoptosis).³¹

Un equipo de investigadores españoles, de la Universidad Autónoma de Madrid, estudió células madre extraídas de tejido graso.

Estas células fueron cultivadas durante un período de hasta ocho meses, durante el cual experimentaron entre 90 y 140 divisiones. Cuando fueron transplantadas en animales, los expertos observaron que las células madre más viejas formaron cáncer.

Por otra parte, el equipo de investigadores daneses del Instituto de Biología de Cáncer, sugirió que estas células podrían haberse vuelto cancerosas a causa de una duplicación excesiva.

Según los expertos, las células cancerosas habían comenzado a producir una enzima, llamada telomerase, que les permitió seguir dividiéndose mucho más allá de lo normal.³²

En los últimos años se están acumulando informes que parecen confirmar una idea hasta ahora sorprendente: el que células madre o precursoras de un linaje, cuando se trasplantan en individuos receptores, puedan dar origen a células de otros linajes. Esto pone en cuestión la idea que se tenía hasta ahora asentada de que el potencial de desarrollo de las células madre de un tejido estaba restringido a las células diferenciadas del tejido en el que residen.

Ratones irradiados subletalmente (para destruir su línea hematopoyética) fueron inyectados sistémicamente con células madre neurales marcadas genéticamente (gen *lacZ*). A partir de estos trasplantes, los ratones produjeron células sanguíneas de los dos

³¹ www.bioetica.org

³² La Palabra Israelita, Enero 2006. Células madre y su criopreservación.

sublinajes: mieloide y linfoide, así como células hematopoyéticas inmaduras

Células de la médula ósea contribuyeron a nuevas células de microglía y astrogliá en varias zonas del cerebro, cuando se inyectaron en circulación de ratones adultos irradiados.

El grupo de Petersen (usando ratones) hizo trasplantes de médula ósea de machos a hembras singénicas (para seguir la “pista” usando el gen *sry* del cromosoma Y como marcador), y dañó los hígados de los receptores para estimular su regeneración. Aparecieron células ovaes hepáticas procedentes del donante, lo que sugería que en la médula ósea existen células madre con potencialidad de generar células epiteliales del hígado. Dando un paso más, el grupo de Theise hizo trasplantes parecidos, pero sin dañar el hígado, y se detectaron hepatocitos derivados del donante, lo que significa que en la médula ósea existe alguna célula madre que en circunstancias normales puede contribuir a la renovación de los hepatocitos (siendo quizá las células los intermediarios).

La infusión de células madre de médula ósea a ratones distróficos cuya médula ósea había sido destruida conducía a células que migraban a músculo, donde producían distrofia, restaurando parte de la función muscular.³³

2.7 Consideraciones de seguridad

La esperanza terapéutica principal que se tiene en las células madre es que se puedan emplear para terapias celulares y trasplantes de tejidos, sin los problemas actuales ligados a los aloinjertos: escasez de donantes histocompatibles, necesidad de administrar drogas inmunosupresoras

(ciclosporina, corticoides) con sus efectos secundarios (riesgo de infecciones, de cáncer, nefropatías, etc.). Lo ideal sería derivar tejido con la identidad histológica del propio paciente para hacer autotrasplantes.

Por ello se está abriendo el campo de la Ingeniería Celular, un nuevo campo interdisciplinario, que aplica los principios de la ingeniería y de las ciencias de la vida a la obtención de sustitutos biológicos para restaurar, mantener o mejorar la función tisular.

El uso que más ha llamado la atención sería el empleo de células diferenciadas a partir de células madre embrionarias para terapias celulares o incluso reparación de tejidos dañados.

Una posibilidad sería tipificar muchas líneas diferentes de células madre embrionarias, con diferentes sistemas MHC (HLA Complejo Mayor de Histocompatibilidad Humano), pero la diversidad de los halotipos HLA es enorme. Una alternativa sería manipular por ingeniería genética las células madre embrionarias para crear líneas con diferentes haplotipos del HLA, de manera que se obtuvieran bancos de células apropiados para diferentes receptores de trasplantes. De todas formas, aunque se logran células con HLA similar al paciente, quedarían otros sistemas minoritarios de histocompatibilidad, cuya falta de concordancia con el paciente podría llevar a problemas no siempre controlables.

En cambio, el potencial terapéutico de las células madre embrionarias se pondría de manifiesto sobre todo empleando células madre embrionarias derivadas del propio paciente, ya que no habría problemas de rechazo de injertos: estaríamos ante un autotrasplante. Pero esto es posible en un individuo ya nacido, si por definición estas células proceden de embriones. Aquí es donde entraría el método de transferencia de núcleo de célula somática (la llamada clonación terapéutica): el paciente suministra células somáticas, se transfiere núcleo a ovocito desnucleado, se crea un "embrión artificial" (embrión somático), hasta la fase de blastocisto; se toman las células de su masa interna, se cultivan como

células madre, y finalmente se diferenciarían al tipo de célula o tejido para la terapia celular o el injerto, sin los problemas del rechazo (autotrasplante). Según algunos, es muy probable que en las próximas décadas se puedan derivar células madre autólogas para todos los que las necesiten.

El 21 de noviembre de 2001, la empresa ACT (Robert Lanza, Michael West en *J. Regenerat. Med.*) Comunicó que había logrado la primera clonación de un embrión humano. Muy debatido científicamente: 57 óvulos maduros de 7 mujeres. Con la mitad, partenogénesis. Sólo lograron mantener 6 durante 7 días, pero sin células madre (NO es embrión). Otros 17 óvulos fueron desnucleados, y se les transfirieron núcleos de adulto. Sólo 6 se dividieron hasta 4 o 6 células, y no progresaron.

Las células madre embrionarias de ratón (y quizá las humanas) son tumorigénicas: si se inyectan a un animal adulto originan teratomas y teratocarcinomas. Por lo tanto, un tema de seguridad será asegurarse de que en un cultivo diferenciado a partir de células madre embrionarias no quedan estas células troncales, o bien disponer de métodos fiables de separación y purificación de las células diferenciadas de interés respecto de las células madre embrionarias.

Pero para ello habrá que avanzar en estudios de marcadores para caracterizar todas las fases intermedias de cada ruta de diferenciación.

En general, la obtención de poblaciones celulares puras exige el empleo de técnicas eficaces de selección clonal: por ejemplo., el uso del FACS (citómetro de flujo activado por fluorescencia, que discrimina poblaciones en función de marcadores de superficie), marcadores genéticos fácilmente seleccionables en el cultivo.

Alternativamente, se puede introducir por ingeniería genética en el genoma donante un bloque de genes que permita simultáneamente la

selección de las células diferenciadas y un sistema suicida que garantice la autodestrucción de las células que no se hayan diferenciado.

¿Podrían forzar a las células madre embrionarias a diferenciarse en líneas celulares concretas? Aún se tiene una idea muy pobre de la biología básica de las señales y factores implicados en el desarrollo y diferenciación del embrión humano, pero se espera que este campo avance con rapidez.

Otras cuestiones de seguridad para asegurar la salud a largo plazo de las células a trasplantar:

Hay que asegurar la no introducción de mutaciones lesivas, que se pueden haber acumulado en el núcleo somático donante durante la vida del individuo. Será esencial garantizar que tales mutaciones no aumentan el potencial cancerígeno.

Igualmente está la muy debatida cuestión de la “edad biológica” de las células. Mientras algunos informes hablan de mayor edad, otros dicen que el propio proceso de transferencia de núcleo somático “rejuvenece” las células y estimula a la telomerasa.^{34 35}

2.7.1 Aspectos éticos

Necesitamos urgentemente algún tipo de acuerdo ético y legal para establecer de una vez una línea divisoria a partir de la cual el ser humano en desarrollo adquiera irreversiblemente estatuto merecedor de protección.

Por otra parte el biotecista australiano Peter Singer, justifica el infanticidio porque el niño aún no ha adquirido nivel psicológico de

³⁴ www.bioetica.org

³⁵ <http://news8.thdo.bbc.co>

persona y carecería por tanto de intereses y derechos. La insistencia en adscribir valor moral a lo humano en función de su contexto y de valores externos adjudicados por otras personas no puede conducir más que a inseguridad legal, y en última instancia a una sociedad que sólo protege a aquellos que pueden levantar su voz o que puedan decir de sí mismos que son personas.³⁶

Se han llevado a cabo diversos debates, llegando a la conclusión que los fondos para la investigación no deben ser usados en proyectos enfocados a las células madre embrionarias ya que se remontan a la clonación de la oveja Dolly y se recuerda que eso fue muy problemático.

³⁷

Opiniones de Comités Nacionales de Ética, del debate público y de las Legislaciones nacionales con relación a las células madre embrionarias

País	Situación legal actual y debates ante la opinión pública	¿Existen proyectos de nuevos marcos legales?
Alemania	Prohibida por la Ley de Protección del Embrión (1990)	<p>El DFB, principal organismo de financiación pública de investigación biomédica recomendó (mayo 2001) que se permitiera investigación con ES.</p> <p>Creación del Consejo Nacional de Ética, que está abordando estos temas (mayo 2001).</p> <p>El Bundestag decidió (30-1-2002) permitir la importación de células madre</p>

³⁶ www.ugr.es

³⁷ www.thelancet.com Vol 364 July 10,2004

		embrionarias para investigación, bajo controles rigurosos
Australia	Permitida investigación con embriones, incluyendo la creación de embriones para investigación	
Austria	Prohibida la investigación con embriones. No se crean embriones sobrantes.	
Bélgica	No hay legislación específica sobre la investigación en embriones humanos	Actualmente se está debatiendo un proyecto de ley gubernamental
Canadá	No legislación. El MRC financia estudios sobre embriones sobrantes hasta 17 días. Creación de embriones para investigación.	Proyecto de ley que autorizaría estudios con ES derivadas de embriones sobrantes, pero prohibiría la creación de embriones para investigación, incluida la clonación terapéutica
Dinamarca	Prohibida. Embriones sobrantes de FIV se destruyen enseguida La Ley sobre reproducción asistida sólo permite investigación para mejorar las técnicas de fertilización in vitro y el diagnóstico preimplantatorio	El Ministro de Sanidad está preparando una revisión de la legislación
España	La Ley 38/1988 sólo permite investigación con embriones “no viables” sobrantes de FIV, de hasta 14 días. En embriones viables sólo se permite intervenciones diagnósticas y preventivas para beneficio del embrión	El 2º informe de la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida ha recomendado al Gobierno que permita la investigación con embriones “sobrantes” bajo ciertas condiciones. El Gobierno no ha dado ningún

		paso, pero tampoco está permitiendo un debate social y parlamentario
Estados Unidos	<p>No financiación federal sobre embriones. Reciente aprobación de uso de líneas de células madre ya generadas, pero no al empleo de dinero público para derivar nuevas líneas ni para usar embriones en investigación.</p> <p>Libertad en el sector privado. Algunos estados tienen regulaciones restrictivas, y otros la permiten hasta el día 14.</p>	<p>Grupos de presión a favor de la clonación terapéutica:</p> <p>“Coalición para el avance de la investigación Médica”, formada por American Society for Cell Biology, Juvenile Diabetes Foundation, Universidad de Harvard, etc.</p> <p>Carta de 80 premios Nobel al Presidente Bush</p>
Francia	<p>La Ley de 1994 prohíbe la investigación no terapéutica sobre embriones. Permitida la investigación con blastómeros de hasta 14 días, pero no la investigación que suponga su destrucción</p>	<p>Consejo de Estado: recomendación para que se permita investigar en células madre con embriones sobrantes. Similar propuesta del CCNE (Comité Consultivo Nacional de Ética)</p>
Holanda	<p>Investigación sobre embriones sobrantes. Moratoria sobre creación de embriones</p>	<p>Proyecto de Ley presentado al Parlamento en 2000. Nueva legislación para regular la investigación con embriones y células madre</p>
Irlanda	<p>No hay legislación específica, pero la Constitución (1937, reformada en 1983) protege al embrión desde el inicio</p>	<p>No se está preparando nueva legislación. Pero un Comité sobre Reproducción Asistida está tratando el tema de las células madre y emitirá un informe en 2002</p>
Italia	<p>No hay legislación</p>	<p>Se está preparando un</p>

		proyecto de ley sobre fertilización asistida
Japón	Ley del Parlamento (noviembre 2000) que autoriza investigación con embriones sobrantes de FIV y la creación de embriones por clonación (transferencia de núcleo som.)	
Noruega	Prohibida	
Reino Unido	<p>Ley HFEA (1990), que aceptó parte del Informe Warnock, permite investigar con embriones para los siguientes objetivos:</p> <p>Avances en tratamiento de infertilidad</p> <p>Avances sobre causas de enfermedades congénitas</p> <p>Avances sobre causas de abortos espontáneos</p> <p>Desarrollo de nuevas técnicas anticonceptivas</p> <p>Métodos para diagnosticar en embriones enfermedades genéticas</p> <p>Además, permitida creación de embriones para investigación.</p> <p>Límite 14 días</p>	<p>Informe del Nuffield Council on Bioethics</p> <p>Nuevas Regulaciones (2001) sobre Fertilización Humana y Embriología (propósitos de investigación): ampliación de objetivos de investigación respecto de la Ley de 1990:</p> <p>Aumentar conocimiento sobre el desarrollo de embriones</p> <p>Incrementar conocimiento sobre enfermedades severas</p> <p>Aplicar tal conocimiento al desarrollo de tratamientos</p> <p>En la práctica esto significa la aprobación de la clonación terapéutica.</p> <p>Convalidación en el Parlamento en 2002.</p>
Suecia	Ley 1991. Investigación con embriones sobrantes hasta el día	Están en marcha discusiones

	<p>14.</p> <p>Tras cierta discusión, acuerdo de que esta ley también permite investigar sobre células madre (nueva interpretación de la Ley)</p> <p>No se permite la clonación terapéutica</p> <p>Prohibida la venta de material biológico humano</p>	
--	---	--

Fuentes: Comisión Europea, Dirección general de Investigación, 2002 y Current Biology 11: R414, con elaboración propia

2.8 Inestabilidad

Es un proceso ineficaz en que la mayoría de las copias se muere a menudo ante el nacimiento y los que llegan a sobrevivir padecen anomalías de crecimiento.

En un estudio realizado en un ratón que fue duplicado se encontró que el genoma celular es sumamente inestable, muchos de los animales sobrevivían a la madurez a pesar de las aberraciones que adquirieron los genes.

Se han utilizado diversas especies para ser clonadas entre ellas se encuentran la oveja, ganado, cabras, cerdos y ratones, pero no todos se llegan a desarrollar, y los que llegan a sobrevivir frecuentemente se mueren por problemas respiratorios y circulatorios; se ha mostrado que la regulación anormal de los genes es lo que afecta en el crecimiento fetal y

se piensa que también estos genes pueden contribuir a las anomalías observadas en la descendencia duplicada.³⁸

³⁸ Humpherys, D., Eggan, K., Akutsu, H., Hochedlinger, K., Rideout, W., Biniszkiewicz, D., Yanagimachi, R., Jaenisch, R. Epigenetic Instability in ES Cells and Cloned Mice *Biol* 2001341-349

3. CONSERVACIÓN DE CÉLULAS MADRE

3.1 Criopreservación

Antecedentes:

- 1949. Glicerol como crioprotector. (Polge *et al.*).
- 1951. Células madre en sangre periférica en ratones (PBSC) (Brecher *et al.*).
- 1964. Células madre en sangre periférica en humanos (Freireich *et al.*).
- 1977. Primeras células madre en sangre periférica (PBSCT) en perros (Cavins *et al.*).
- 1986. Primeras Células madre en sangre periférica y criopreservación en humanos (Kessinger *et al.*).
- 1993. Primeras Células madre en sangre periférica humano con selección de células CD34⁺ (Shpall *et al.*).¹

La criobiología (estudio de los procesos de congelación de células y tejidos) ha permitido la preservación de células por tiempos prolongados manteniendo éstas, generalmente sus propiedades biológicas una vez descongeladas. La tecnología ha desarrollado eficientes protocolos de congelación/descongelación que permiten preservar células y tejidos a temperaturas de hasta -160°C, usualmente, sin afectar o con muy poco efecto en su estructura y funcionalidad.²

¹ http://www.mariovaldez.net/docs/show_slideboard.php?d=CCMSP

² http://www.clc.cl/Programas_UMR/index.htm

Máquina de criopreservación



http://www.clc.cl/Programas_UMR/index.htm

La Criopreservación de tejidos vivos pretende la reversibilidad controlada del cese de todas las funciones biológicas, causada por la congelación a temperaturas por debajo de 150°C .³

La Criopreservación es una técnica para conservar tejidos vivos a bajas temperaturas. Es el proceso de congelar muestras para reducir su actividad metabólica y mantenerlas a temperaturas reducidas durante tiempos prolongados, preservando al mismo tiempo su viabilidad. Este proceso incluye dos pasos:

- La congelación
- El almacenamiento a bajas temperaturas

Una unidad de criopreservación debe contar por lo tanto con los siguientes equipos:

- Una cámara de congelación controlada
- Un sistema de almacenamiento en nitrógeno líquido

³ Fierros D. B., Banco de dientes una opción para la rehabilitación en odontopediatría, Mexico D.F. oct. 2004

- Un tanque de respaldo de nitrógeno líquido

Cámara de Congelación Controlada

Esta unidad permite "criopreservar" muestras, es decir congelar muestras biológicas preservando su viabilidad, por medio de un proceso controlado por computadora.

El enfriamiento es llevado a cabo con vapor de nitrógeno líquido. La velocidad con la cual cambia la temperatura es finamente controlada para evitar el deterioro de la muestra por la cristalización del agua, por fenómenos osmóticos o por toxicidad de los aditivos de criopreservación.

El proceso de congelación debe tomar en cuenta tanto el tipo de muestra, como su volumen y el medio en el cual se encuentra

Sistema de Almacenamiento

Una vez que la muestra ha alcanzado una temperatura de -90°C , se transfiere la muestra rápidamente al tanque de almacenamiento, donde se colocan en gradillas adecuadas para el tipo y volumen de muestra. Posteriormente se registran los datos de la muestra y la posición en el tanque en una base de datos.

Suministro de Nitrógeno Líquido

Las muestras en el tanque de almacenamiento se mantienen a temperaturas inferiores a -160°C con ayuda de nitrógeno líquido. Para compensar la evaporación del nitrógeno líquido del tanque de almacenamiento, se dispone de un tanque de respaldo con una capacidad de 160 l de nitrógeno líquido. De esta manera, se asegura que en caso de

alguna contingencia se pueda mantener la temperatura inferior a -160°C durante por lo menos un mes.⁴

Se ha desarrollado un perfil de congelación que constituye la base de los principios de protección de las células contra las lesiones por congelamiento:

Crioperfil: conjunto de condiciones para cada uno de los factores que pueden producir supervivencia celular óptima después de la criopreservación. Estos crioperfiles han sido desarrollados para varios tipos de células y de tejidos humanos, como los embrionarios, de la córnea y del tejido periodontal, permiten que las células funcionen biológicamente de manera similar a las no congeladas después de largos periodos de nitrógeno líquido (-196°C)⁵

Lesiones por congelación.

- Daño mecánico por formación de hielo intra- y extracelular.
- Daño mecánico por expansión térmica.
- Hiperosmolaridad extracelular y deshidratación.
- Cambios en el pH.
- Desnaturalización de proteínas.

Para la protección contra las lesiones por congelación se utilizan agentes llamados crioprotectores, estos deben contar las siguientes propiedades:

- No debe ser tóxico para las células a las concentraciones requeridas para la criopreservación.
- La concentración de los crioprotectores dependerá de la tolerancia de la célula al crioprotector.
- Debe de ser eliminable antes de la infusión o inocuo para el paciente.

⁴ <http://www.clinicarui.com/ucp/congela>

⁵ Fierros D. B., Banco de dientes una opción para la rehabilitación en odontopediatría. Mexico D.F. oct. 2004

Las sustancias crioprotectoras más utilizadas son:

- Glicerol.
- DMSO (dimetilsulfóxido).
- Soluciones salino/glucosadas.
- Proteínas.
- HES (hidroxietilalmidón).⁶

3.2 Bancos de células madre

Los bancos de células madre, procesan y guardan la sangre obtenida, para disponer de ella en el momento requerido. Los científicos del Instituto Roslin han propuesto a las autoridades británicas un proyecto consistente en obtener “bancos de células madre clonadas” por transferencia de núcleos de células pluripotentes de cordón umbilical de los recién nacidos. Cada cultivo quedaría conservado en sospecha de la necesidad futura de diferenciarlo hacia tipos celulares requeridos para autotrasplantes del individuo donante.⁷

Muchos médicos que apoyan los bancos de células madres afirman que este tipo de investigación básica puede algún día proporcionar la cura para tratar condiciones como la enfermedad de Alz-heimer, cáncer y diabetes entre otras.

En Ecuador, las primeras células madre fueron extraídas en el 2003, por el banco privado de células Cryo-Med. Las células madre en estado de criopreservación tienen un tiempo de vida de 15 años y pueden ser utilizadas para curar las enfermedades del niño donante y en un 25 por ciento, la de los padres, hermanos y familiares.⁸

⁶ http://www.mariovaldez.net/docs/show_slideboard.php?d=CCMSP

⁷ www.ugr.es

⁸ www.prodiversitas.bioetica.org/prensa69.htm

Para almacenar las células existen 2 tipos de bancos, el autólogo y el alogénico.

El autólogo es en el que una persona contrata el servicio para guardar la sangre del cordón de su bebé. Se ha comprobado que estas células que no están diferenciadas, no tienen las características inmunológicas de la persona, sino que son libres en ese aspecto, por lo que si se congelan las células de un solo miembro de la familia, todos los demás podrían ser beneficiados con ellas.

El alogénico, se cree que con el tiempo se va a tener la información inmunológica de todas las características de los humanos, por lo que podría llegar el momento en el que en un gran banco se tenga la información inmunológica de toda la población. De esta manera en un momento dado, el banco que está en Ámsterdam, por ejemplo, pueda proporcionar células para una persona en otro lado del mundo que tuviera algún problema.

3.3 Laboratorios que cuentan con el servicio

Estos son algunos de los laboratorios y hospitales que dentro de sus instalaciones cuentan con laboratorios dedicados a la recolección y conservación de las células madre.

El *Hospital Ángeles del Pedregal* cuenta con el primer banco especializado en México, el procesamiento de la sangre cuesta aproximadamente de 600 a 800 dólares, lo cual se lleva a cabo únicamente al momento de obtenerla. El almacenamiento es básicamente la renta del espacio en los congeladores y cuesta entre 60 y 80 dólares anuales.

Cuando es necesaria una terapia con esa sangre, los costos varían en función de lo que se va a realizar. El procedimiento es muy sencillo;

existen unas bolsas especiales diseñadas para transfusión, que en este caso son un poco más pequeñas para poder separar las células adecuadamente y guardarlas en el congelador. En cuanto el bebé nace, antes de que la placenta sea expulsada por la mamá, se punciona la vena umbilical y se obtienen entre 100 y 120 centímetros cúbicos de sangre. Esta es enviada al procesador, que consiste en una centrífuga para separar las células anucleadas de las nucleadas, éstas últimas, conocidas como células blancas, son las que se van a congelar. Antes de esto, se realiza un estudio completo de toda la sangre para comprobar que no exista ninguna infección que pueda ser transmisible a través de las células. Si hay alguna infección, esa sangre no se procesa. Si no la hay, la sangre se identifica, se tipifica y se congela en unos enormes tanques que funcionan a base de óxido nítrico. Todo esto se controla por computadora, los tanques se llenan automáticamente y la sangre se conserva indefinidamente.⁹

En Santiago de Chile se encuentra la *Clínica Las Condes*, en cuanto a los costos, se entregará un presupuesto que incluye los costos del procedimiento de criopreservación y los de manutención que serán expresados en cantidades (\$) semestrales.¹⁰

Cordón Vital – Un Seguro Biológico sus laboratorios están regulados por el gobierno americano a través de la Food and Drug Administration FDA. La acreditación requiere que todas las unidades sean examinadas, probadas, procesadas y almacenadas con los lineamientos más estrictos que aseguren su viabilidad en un uso futuro.

Cuentan con laboratorios en Arizona, California y trasladan muestras a 52 países alrededor del mundo. Para la recolección de muestras cuentan con:

⁹www.hospitalangeles.mx

¹⁰ http://www.clc.cl/Programas_UMR/index.htm

- Kits 100% estériles que pueden utilizarse libremente en cualquier campo quirúrgico, incluyendo cesáreas.
- Kits de triple protección que mantienen la temperatura estable y mantienen la muestra inmóvil durante su trayecto.
- Kits con anticoagulante precargado y con código de barras pre-asignado.
Ofrecen dos métodos de recolección: bolsa por gravedad o jeringas.¹¹

CRYO-CELL

Acreditada por la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB, American Association of Blood Banks) y registrada con la Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos (FDA, Federal Drug Administration), ISO 9001:2000. CRYO-CELL emplea personal calificado y usa los mejores equipos y procesos disponibles para procesar, analizar y conservar las células progenitoras de la sangre del cordón umbilical del bebé. Esta empresa se estableció como sociedad en 1989 y se ha dedicado a la conservación de sangre del cordón umbilical desde 1992, empresa especializada en la conservación U-Cord cuyas acciones se cotizan en la Bolsa de Comercio (OTC: BB Símbolo ... CCEL). En 2004 CRYO-CELL crea su propio laboratorio avanzado de procesamiento e instalaciones para almacenamiento criogénico en Oldsmar, Florida. Este laboratorio también es localizado en hospitales en México por ejemplo Medica Sur.

El costo del procesamiento y las pruebas es de \$1595 y la cuota anual de almacenamiento es de \$125. El costo del procesamiento y las pruebas cubre el costo de inscripción, el equipo de recolección, envío del equipo de recolección, envío de vuelta por el servicio del courier (solamente

¹¹ www.crdonvital.com/laboratorios.html

para clientes en los EU y Puerto Rico) y procesamiento de la Sangre Materna para las pruebas de enfermedades infecciosas. También ofrecen un plan de almacenamiento por 21 años.¹²

¹² <http://cryo-cell.com/espanol/service/>

4. POSIBLES APLICACIONES

4.1 Generales

Algunos ejemplos de terapias experimentales con células madre:

Cerebro:

- Se ha logrado el trasplante de células pluripotentes del mesencéfalo en ratas parkinsonianas, que experimentaron una recuperación transitoria.
- A partir del telencéfalo de fetos se han aislado clones de células madre neuronales, que se han logrado diferenciar en los principales linajes neurales. Se han trasplantado en zonas germinales de ratones neonatos, y allí participaron en desarrollo normal, incluyendo migración por rutas establecidas para diseminarse a regiones del SNC.

Páncreas:

- Estudios de Bernat Soria (Universidad Miguel Hernández de Elche): células secretoras de insulina a partir de células madre embrionarias de ratón. Curación después de un año de que los ratones fueran diabéticos.
- Grupo de Amon Peck (Universidad de Florida): reversión de diabetes en ratones NOD (diabéticos no obesos) por trasplante de islotes de Langerhans generados a partir de células madre del páncreas. En junio de 2000 un grupo de la Universidad de California en San Diego anunció que había reactivado la producción de insulina en células beta.
- Equipo de Susan Bonner-Weir: cultivo de células de islotes humanos a partir de células del ducto pancreático.

Corazón:

- La empresa Geron ha comprobado que células madre embrionarias humanas pueden originar cardiomiocitos. Pero todavía no se han encontrado células madre en el propio corazón.
- En 2001, un equipo del Medical College de Nueva York logró en ratones infartados la reparación del 68% del tejido cardiaco, con una recuperación funcional parcial. Se originaron células de varios tipos esenciales: músculo esquelético, endotelio y músculo liso.

Un equipo de la Universidad John Hopkins demostró que una sola célula madre hematopoyética de ratón podía desarrollarse en células epiteliales de diferentes órganos, incluyendo intestinos, pulmón y piel. A los 11 meses de los trasplantes el pulmón tenía un 20% de células diferenciadas a partir de la célula madre.

Estos ejemplos son alentadores, pero no eliminan totalmente la cuestión del uso de las células embrionarias:

No se han aislado células pluripotentes de ciertos órganos, como es el caso del corazón. Puede que haya tejidos y órganos de los que no se pueda disponer de células madre, por lo que técnicamente se tendría que volver a pensar en las células madre por clonación terapéutica.

La terapia en principio más inmediata de los cultivos de células madre será el trasplante de poblaciones celulares al propio individuo donante. Pero para conseguir el auténtico potencial terapéutico de esta tecnología habría que lograr reconstruir tejidos más complejos e incluso órganos o algunas de sus partes, con plena funcionalidad.

Se encuentran las tecnologías de “células encapsuladas”, por la que las células terapéuticas se separan del resto del organismo por una membrana sintética con permeabilidad selectiva, de modo que suministra protección al trasplante, al tiempo que permite el intercambio de nutrientes y oxígeno. Se está intentando con células secretoras de insulina (para la diabetes), con células cromafines (tratamiento del dolor

crónico), con células secretoras de hormona de crecimiento (para enanismo), etc.

“Prótesis óseas biológicas”, a base de combinaciones de células, sustancias bioactivas y matrices tridimensionales de soporte que imitan el hueso natural:

Un grupo ha usado una combinación de trozos de coral (una cerámica natural de carbonato cálcico) con células madre mesenquimales para generar implantes ortopédicos con los cuales lograron la curación al menos parcial de lesiones óseas en ovejas. Al cabo de varios meses tras la implantación, estos composites de coral se habían remodelado como huesos maduros, e incluso habían logrado su fusión completa con el hueso nativo. Parece ser que parte del éxito se debe a que el coral suministra una matriz porosa tridimensional reabsorbible, que permite la infiltración y organización de las células repobladoras.¹

4.2 Odontológicas

Un equipo de investigadores descubrió que la pulpa de los dientes deciduos es una fuente importante de células madre para usos terapéuticos. Gronthos nos menciona en su artículo que el doctor Shi al atender a su hija de seis años de edad esta perdió su primer diente, al observarlo en su interior se dio cuenta de la existencia de un tejido susceptible de contener células madre; comenzaron sus investigaciones y concluyeron que estas células podrían ser utilizadas para curar enfermedades, en sus primeras investigaciones indican que este tipo de

¹ <http://www.ugr.es/~eianez/biotecnologia/clonetica.htm>

células tienen la capacidad especial de convertirse en hueso, dientes y células nerviosas²

En estados Unidos el Doctor Shi y su equipo de investigadores quieren fundar un banco de células madre provenientes de la pulpa dental de los dientes deciduos.³

En un estudio realizado por el Doctor Shi y colaboradores identificaron una población de células posnatales de la pulpa dental humana dicho estudio se llevó a cabo en terceros molares de personas de 19 a 29 años de edad cultivaron la pulpa y demostraron que el tejido conjuntivo fue regenerado, demostrando su capacidad de autorenovación.⁴

Recientemente fueron aisladas células madres de ligamento periodontal humano, y se observó que dichas células madre son capaces de moldear cemento y tejidos de ligamento periodontal sobre el trasplante in vivo. La regeneración clínica de dientes puede ser muy difícil el desarrollo del diente depende de la interacción recíproca entre el epitelio y mesenquima, y la diferenciación celular se une a los cambios morfológicos en el germen del diente.^{5 6}

² Miura M; Gronthos S; Zhao M; Lu B; Fisher LW; Robey PG; Shi S, SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003; 100(10):5807-12

³ Gronthos S; Mankani M; Shi S; Gehron R P. Posnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo PNAS, 97, 2000: 13625-13630.

⁴ Gronthos, Brahim, W. Li, L.W. Fisher, Cherman , Boyde, DenBesten, Gehron, Shi; Stem Cell Properties of Human Dental Pulp Stem Cells J Dent Res 81(8):531-535, 2002

⁵ B-M Seo, M Miura, W Sonoyama, C Coppe, et al. Recovery of Stem Cells from Cryopreserved Periodontal Ligament Journal of Dental Research. Houston: Oct 2005. Tomo84, N° 10; pg. 907

⁶ Hidemitsu H, Takeshi M, Takashi T, Kuniaki T. Epithelial stem cells in teeth Odontology (2002) 90:1-6

CONCLUSIONES

El presente trabajo de revisión bibliográfica, me hace concluir que la investigación de las células madre en el laboratorio con animales esta muy lejos de ser aplicada en humanos, es importante buscar nuevas alternativas para el tratamiento de algunas enfermedades, aunque en México debido a la falta de apoyo y recursos a los científicos no se han logrado grandes avances y en cuestión odontológica la información es mínima.

La idea que nos dan los medios científicos acerca de las células madre se basa en un procedimiento revolucionario, sin embargo este no es capaz de dar información certera sobre los riesgos que conlleva a la mala manipulación de estas provocando cáncer.

BIBLIOGRAFÍA

Aguirre, O. M., Juaristi, J. A., Aguirre, M. V. , Álvarez, M. A., Lattman, A., Cinética de células primitivas hematopoyéticas movilizadas por acción del Paclitaxel. Cátedra de Bioquímica. INFIBAR - Facultad de Medicina - UNNE. Mariano Moreno 1240 - (3400) Corrientes – Argentina.

B-M Seo, M Miura, W Sonoyama, C Coppe, et al. Recovery of Stem Cells from Cryopreserved Periodontal Ligament Journal of Dental Research. Houston: Oct 2005. Tomo84, N° 10; pp. 907

Bongso A, Richards M. History and perspective of stem cell research
Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynecology,
Volume 18, Issue 6, December 2004, pp 827-842

B.Linju Y, Hsing-I H, Chih-Cheng C, Hsiang-Yiang y col. Isolation of Multipotent Cells from Human Term Placenta. Stem Cells 2005;23:3
–9

Donovan, P. J.; Gearhart, J. The end of the beginning for pluripotent stem cells. Nature 2001;414; 118-121

Fierros D. B., Banco de dientes una opción para la rehabilitación en odontopediatría. México D.F. oct. 2004

Gronthos, Brahim, W. Li, L.W. Fisher, Cherman , Boyde, DenBesten, Gehron,Shi; Stem Cell Properties of Human Dental Pulp Stem Cells J Dent Res 81(8):531-535, 2002

Gronthos S; Mankani M; Shi S; Gehron R P. Posnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo PNAS, 97, 2000: 13625-13630.

Hidemitsu, H., Takeshi, M., Takashi, T.,Kuniaki, T., Epithelial stem cells in teeth Odontology (2002) 90:1–6

<http://news8.thdo.bbc.com>

http://www.mariovaldez.net/docs/show_slideboard.php?d=CCMSP

http://www.clc.cl/Programas_UMR/index.htm

<http://www.clinicarui.com/ucp/congela>

<http://cryo-cell.com/espanol/service/>

<http://www.ugr.es/~eianez/biotecnologia/clonetica.htm>

Humpherys, D., Eggan, K., Akutsu, H., Hochedlinger, K., Rideout, W., Biniszkiewicz, D., Yanagimachi, R., Jaenisch, R. Epigenetic Instability in ES Cells and Cloned Mice Biol 2001, 341-349

Ilaria Bellantuono., Haemopoietic stem cells. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 36 (2004) 607–620

láñez, P. E. Departamento de Microbiología e Instituto de Biotecnología UNIVERSIDAD DE GRANADA

La Palabra Israelita, Enero 2006. Células madre y su criopreservación.

Mayani H Guilbert L, Janowska-Wiwczonek. 1992. Biology of the hemopoietic microenvironment. European Journal of Hematology. 49:225

Miura M; Gronthos S; Zhao M; Lu B; Fisher LW; Robey PG; Shi S, SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003; 100(10):5807-12

Phillips, R. L.; Ernst, R. E.; Brunk, B.; Ivanova, N.; Mahan, M. A.; The Genetic Program of Hematopoietic Stem Cells. Bioll 2000 362-373

Ruairi, F., Sjaak van der, S., Patrick J. M. Embryonic stem cells: Understanding their history, cell biology and signalling Advanced

Drug Delivery Reviews 57 (2005) 1894– 1903

Shirlyn, B. M., Hematología Clínica. Ed. Manual Moderno. México, 1991. pp19-23

S. Leavell B., A. Thorup O., Hematología Clínica. Ed. Interamericana. 4^{ta} ed. México, 1987. pp5-6

www.bioetica.org

www.crdonvital.com/laboratorios.html

www.hospitalangeles.mx

www.infogen.org.mx

www.prodiversitas.bioetica.org/prensa69.htm

www.thelancet.com Vol 364 July 10,2004

www.ugr.es

