



LA INVESTIGACIÓN CON CÉLULAS TRONCALES EMBRIONARIAS. EJEMPLO DE PROGRESO BIOTECNOLÓGICO BAJO PRESIONES EXTRACIENTÍFICAS

THE EMBRYONIC STEM CELLS RESEARCH. EXAMPLE OF BIOTECHNOLOGY PROGRESS UNDER EXTRA-SCIENTIFIC PRESSURE

JOSÉ ANTONIO GÁMEZ ESCALONA

Universidad Monteávila

1060a Caracas

jgamez@uma.edu.ve

RESUMEN:

Palabras clave:

células troncales embrionarias humanas, racionalidad científica y ética, fecundación in vitro, embriones humanos, clonación terapéutica, células troncales de pluripotencialidad inducida

Recibido: 20/06/2013

Aceptado: 22/10/2012

La posibilidad de aislar, cultivar, conservar, caracterizar y diferenciar las células troncales embrionarias humanas (ES) descubierta por James Thomson y sus colaboradores en 1998, significó un hito dentro de la historia de la investigación con Células Troncales. Inmediatamente después de este hallazgo se hicieron muchas especulaciones sobre las posibilidades terapéuticas de las ES, motivadas por razones ideológicas, políticas y económicas. Este episodio sirvió para dejar en evidencia la falta de racionalidad científica y ética que puede dominar los ambientes científicos, a la hora de valorar realidades tan significativas como la de los embriones humanos obtenidos mediante técnicas de Fecundación *in vitro* (FIV), o los óvulos humanos. La Clonación Terapéutica como posibilidad de obtener Células Troncales a “la medida” descrita por Hwang y su equipo en el año 2004, terminó siendo un gran escándalo por las falsedades de sus datos. Las dificultades técnicas y las controversias éticas que surgieron con la obtención de las ES se mostraron insuperables. En el año 2010, sólo existían en los Estados Unidos dos ensayos clínicos que usaban este tipo de células y fueron abandonados a finales de 2011, argumentando causas financieras. El descubrimiento de las células troncales de Pluripotencialidad Inducida (iPS), en el año 2006 en ratones y en el año 2007 en humanos, significó la posibilidad de obtener Células Troncales Pluripotentes sin la necesidad de destruir embriones. En la actualidad la ausencia de ensayos clínicos que usen ES, causada por dificultades financieras a consecuencia de su ineficacia, anticipa que su uso quedará limitado a determinados controles experimentales. Posiblemente el principal aporte de las células troncales embrionarias será el aprendizaje de que la investigación biomédica debe seguir un método riguroso que esté fundamentado racional y éticamente.

ABSTRACT:

Keywords:

Human embryonic stem cells, scientific rationality and ethics, in vitro fertilization,

The possibility to isolate, cultivate, preserve, characterize and differentiate Human Embryonic Stem Cells (ES) discovered by James Thomson and his colleagues in 1998 was a milestone in the history of Stem Cell Research. Immediately after this discovery many speculations were made about the therapeutic possibilities of ES, motivated by ideological, political and economic aspects. The episode made clear the lack of scientific rationality and ethics when assessing realities as meaningful as those of human embryos obtained by in vitro fertilization techniques (IVF) or human eggs. Therapeutic Cloning as a promise to

embryo human
therapeutic cloning,
induced pluripotent
stem cell

produce "tailored" Stem Cells reported by Hwang and his team in 2004, ended up being a scandal within the scientific community. The technical difficulties and ethical controversies that arose from obtaining ES were insurmountable. In 2010 only two clinical trials were reported using these cells. Those trials were abandoned in late 2011 arguing financial reasons. The discovery of Induced Pluripotent Stem Cell (iPS) in 2006 in mice and in 2007 in humans, represented the possibility of obtaining pluripotent stem cells without the need to destroy embryos. Today, the absence of clinical trials using ES, caused by financial difficulties as a result of its ineffectiveness, anticipates that the use of ES will be limited to certain experimental controls. Probably, the main contribution of Embryonic Stem Cells will be the understanding that biomedical research should follow an ethically and rationally based rigorous method that cannot be ignore.

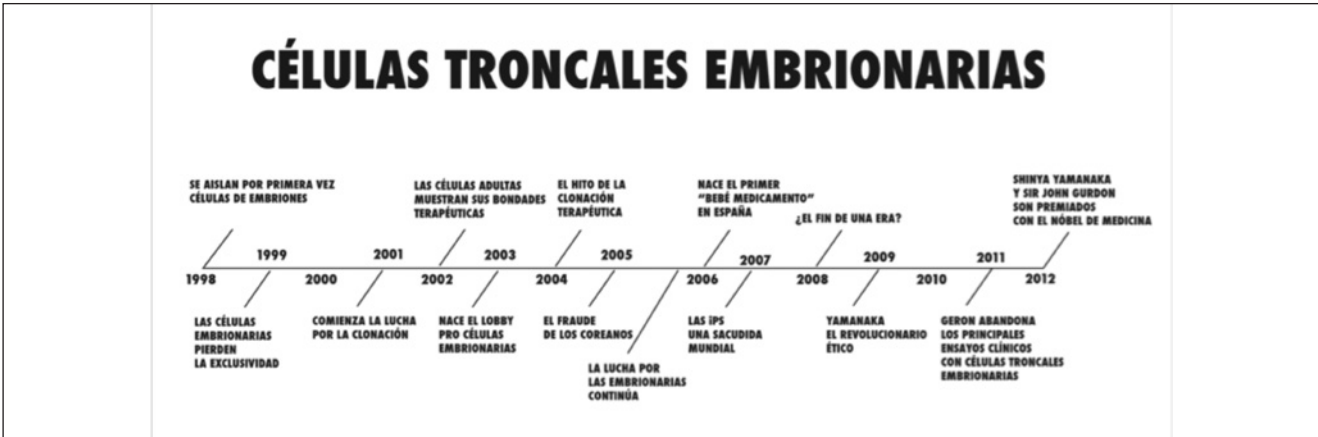


Gráfico que reúne los hitos más importantes en relación a las células troncales embrionarias.

1. Células Troncales Embrionarias

Se entienden como células troncales embrionarias aquellas que:

- a) provienen de un blastocito obtenido por técnicas de fecundación *in vitro*.
- b) tienen la capacidad de dividirse indefinidamente sin diferenciarse.
- c) conservan la propiedad estable de diferenciarse en cualquiera de las tres capas germinales (ectodermo, endodermo y mesodermo), aún después de un prolongado periodo de cultivo.

A continuación, basándose en los trabajos de otros investigadores harán una caracterización más precisa de las células troncales embrionarias. Esta incluye: su morfología, marcadores de superficie, actividad de telomerasa y fosfatasa alcalina y formas de transcripción genética. No se incluye la propiedad de producir un amplio rango de tejidos adultos provenientes de quimeras, ya que la producción de quimeras no está permitida, por razones

éticas, en la mayoría de los primates incluyendo los seres humanos (Thomson, Skovit-Eldor, & Shapiro, 1998).

2. La caracterización de las Células Troncales Embrionarias

La caracterización de las células troncales de origen embrionario incluye principalmente los siguientes parámetros:

1. Morfología celular.
2. Respuesta a factores inhibidores de la diferenciación.
3. La presencia de marcadores de membrana.
4. Análisis de los factores de transcripción de los genes responsables de la pluripotencialidad.
5. Respuesta de crecimiento y diferenciación en variados medios de cultivo cita (Smith & Hooper, 1987) (Smith, Nichols, Robertson, & Rathjen, 1992) (Ball & Risbridger, 2003) (Friel, van der Sar, & Mee, 2005) (Jiang & Ng, 2008) (Ma, et al., 2012).

3. Diferenciación de las ES. Formación de cuerpos embrioides EB

La diferenciación de las células troncales embrionarias se desarrolla en unas condiciones que son, por un lado bastantes precisas, y por otro, a las que se puede acceder por distintos métodos. El método más usado para diferenciar a las ES consiste en separarlas del contacto con las células de soporte, o del LIF (factor inhibidor de leucemia) (Keller, 1995).

El cultivo posterior lleva a la formación de las estructuras conocidas como Cuerpos Embrioides. Estos cuerpos contienen células precursoras de las tres capas germinales. Los diferentes métodos consensuados para lograr la diferenciación de la ES son:

1. La formación de cuerpos embrioides.
2. Modificación de la composición del medio de cultivo.
3. Manipulación genética de las ES.
4. Uso de matriz extracelular y co-cultivo con células estromales (Kurosawa 2007).

Los principales linajes en que se han diferenciado las ES son: células hematopoyéticas, células endoteliales, células musculares y nerviosas.

Este sistema ha servido para esclarecer conocimientos acerca del desarrollo embrionario, y ofrecer oportunidades para la medicina regenerativa. El dilema que se presenta actualmente es, hasta que punto este sistema de células troncales embrionarias (humanas o de ratón), es el estándar dorado para medir la pluripotencialidad celular. Un sistema de células troncales embrionarias, que en el caso de las humanas, ha tenido un costo impagable.

“Si se acepta que tanto las EScs como las iPScs son células artificiales generadas en el laboratorio, podremos estar en capacidad de hacer otra importante pregunta: ¿Son realmente las EScs el control último o estándar dorado para las iPScs? Yo pienso que probablemente la respuesta es no” (Yamanaka, 2012).

4. Colonias clónicas de células troncales embrionarias

Una vez que se han derivado varias líneas de células troncales embrionarias humanas ES (Thomson, Skovit-

Eldor, & Shapiro, 1998), los científicos responsables proceden a producir colonias de clones a partir de estas células. Las colonias clónicas sirven para probar que las ES son capaces de mantener sus peculiaridades después de pasar por múltiples divisiones *in vitro* (Amit, et al., 2000).

Mientras que los embriones se encuentran en estadio de segmentación, sus células tienen el potencial de aportar a cualquier tipo de tejido embrionario o extraembrionario. Así como las ES humanas, ES murinas y las células del carcinoma embrionario tienen la misma morfología (Andrews, 1998), las EG (células embrionarias germinales), tienen una morfología diferente (Shamblott, et al., 1998). Sin embargo, no resulta claro que éstas diferencias fenotípicas signifiquen un comportamiento disímil entre los distintos linajes (Thomson & Odorico, 2000).

En el trabajo citado anteriormente Thomson reconoce que es ética y legalmente inviable, manipular los embriones humanos que ya han sido implantados en el útero. Esto hace imposible realizar trabajos sobre el desarrollo embrionario post-implantación. Los eventos que suceden en el desarrollo embrionario temprano, están profundamente implicados en la infertilidad humana, los embarazos y las malformaciones congénitas. Tanto las ES como las EG abren una nueva línea de investigación para conocer a profundidad la biología reproductiva humana (Thomson & Odorico, 2000).

Existe por tanto una continuidad entre los métodos de reproducción asistida y la tecnología de las células troncales embrionarias humanas. De alguna forma, la FIV ofrece una “*materia prima*” que puede ser transformada por la tecnología de células troncales embrionarias, en función de mejorar las técnicas de reproducción (Reyftmann, Dechaud, Hamamah, Pucéat, & Hédon, 2004).

En trabajos sucesivos se comenzarán a descubrir los marcadores moleculares que están estrechamente relacionados con cada etapa del desarrollo embrionario. De esa forma, se hizo posible conocer que la autorenovación de las células troncales y su diferenciación respondía a un sistema de factores bioquímicos (Michalowsky & Jones, 1989). Estos factores podían dirigir el compor-

tamiento celular no sólo en las etapas embrionarias del desarrollo, sino también en las células adultas (Schuldiner, Yanuka, Itskovitz-Eldor, Melton, & Benvenisty, 2000) (Era & Witte, 2000) (Gualandris, Annes, Arese, Noguera, Jurukovski, & Rifkin, 2000) (Kutsuzawa, Maruyama, Akiyama, Akaike, & Chowdhury, 2008) (Rao, 2004).

5. Diferencias Epigenéticas entre las ES

Las células troncales embrionarias ES pueden provenir de blastocitos cultivados *in vitro* o *in vivo*. La mayoría de las ES humanas obtenidas hasta el momento provienen de blastocitos producidos y cultivados *in vitro*. Sin embargo, una gran parte de estos embriones poseen variaciones epigenéticas que pueden ocasionar múltiples de enfermedades (Horii, Yanagisawa, Kimura, Morita, & Hatada, 2010).

Los resultados de estos trabajos muestran que las ES *in vitro* poseen una marcada tendencia a presentar *más variaciones epigenéticas* (impresiones génicas anormales), desde los primeros momentos de su proliferación. En las ES *in vivo* sólo se observan estas variaciones después de múltiples divisiones. Lo que inquieta a los investigadores es: ¿hasta dónde llega la estabilidad epigenética de las colonias celulares cultivadas *in vitro*, después de múltiples divisiones? (Rugg-Gunn, Ferguson-Smith, & Pedersen, 2007).

6. El reloj biológico embrionario

“De manera intrigante también hay oscilaciones circadianas distribuidas de manera difusa a lo largo del cuerpo, así como ha sido encontrado que los genes involucrados en los mecanismos de reloj del SNC, se expresan rítmicamente en otras áreas del cerebro, en órganos periféricos e inclusive en cultivos de líneas celulares inmortales” (Reppert & Weaver, 2002).

Todo un mecanismo intracelular que no se conoce completamente hace que puedan activarse o inhibirse de manera cíclica procesos vitales que van desde la regulación metabólica controlada en el SNC, hasta los procesos de división celular indefinida que se observan en los tejidos cancerígenos o embrionarios. Una caracte-

terística fundamental de estos ritmos circadianos es la posibilidad de que los mecanismos del ritmo sean “*reseteados*” por estímulos ambientales. En los mamíferos la luminosidad es el más potente estímulo externo.

Existe una relación entre el control estructural de la cromatina y la expresión de los genes que controlan el reloj circadiano. Estos cambios estructurales en la cromatina son otro factor que influye en la capacidad de controlar a las células troncales embrionarias (Belden, Lewis, Selker, Loros, & Dunlap, 2011). Aunque se han identificado los factores implicados en la alternancia de la cromatina como estructura abierta o cerrada, y además la relación de cada uno de estos estados con la pluripotencialidad, no ha sido posible dilucidar el mecanismo de regulación de la estructura de la cromatina (Sim & Reinberg, 2009). Este mecanismo de control estructural de la cromatina parece que no podrá ser conocido con precisión antes de que estén disponibles otras alternativas a las células embrionarias. Los avances que se evidencian muestran que estos cambios además están relacionados con marcas en las histonas, influyendo decisivamente en la posibilidades de transcripción del ADN (Belden, Loros, & Dunlap, 2006).

7. Variaciones en los sistemas de diferenciación de las ES *in vivo* e *in vitro*

Para estudiar los mecanismos que llevan a la diferenciación de las ES *in vivo*, se han hecho diferentes tipos de ensayos (Spagnoli & Hemmati-Brivanlou, 2006). Las células del sistema nervioso central son seleccionadas con preferencia para estos experimentos. De los experimentos descritos, algunos se hacen con células troncales embrionarias humanas (Muotri, Nakashima, Toni, Sandler, & Gage, 2005) (James, Noggle, Swigut, & Brivanlou, 2006), y otros con células diferenciadas a partir de ES (Tabar, et al., 2005).

En el caso del uso directo de las ES, se han implantado en embriones de ratón en estadio de blastocito (James, Noggle, Swigut, & Brivanlou, 2006), y en cerebros de ratones en fase de desarrollo embrionario (Muotri, Nakashima, Toni, Sandler, & Gage, 2005). Ambos estudios que se ponen como ejemplo, buscan conocer la respues-

ta de las ES a las señales moleculares y al ambiente embrionario *in vivo*. De esta forma, se pretende conocer con más detalle cómo es el proceso de desarrollo embrionario de las ES. Las estructuras resultantes en ambos casos son quimeras y teratomas respectivamente.

Cuando se utilizan células diferenciadas *in vitro* (Reubinoff, Pera, Fong, Trounson, & Bongso, 2000) (Zhang, Wernig, Duncan, Brüstle, & Thomson, 2001), específicamente células neuronales, éstas se implantan en cerebros, sanos y dañados, de ratones adultos (Tabar, et al., 2005). En este caso se busca medir la respuesta de las células diferenciadas; neuronas, oligodendrocitos y astrocitos, a las señales moleculares de un cerebro adulto (Studer, 2001).

Al diferenciar las células lo que se busca es una aproximación a posibles aplicaciones clínicas. La diferencia de base en estos estudios, radica en que los primeros (James, Noggle, Swigut, & Brivanlou, 2006) (Muotri, Nakashima, Toni, Sandler, & Gage, 2005), parecen seguir una lógica científica que da prioridad a la experimentación con animales, mientras que los segundos (Reubinoff, Pera, Fong, Trounson, & Bongso, 2000) (Zhang, Wernig, Duncan, Brüstle, & Thomson, 2001) (Tabar, et al., 2005), procuran obtener resultados en humanos que puedan ser instrumentalizados.

También desde el comienzo se buscó la diferenciación de las células troncales embrionarias en células hematopoyéticas, con cierto éxito (Xu, Qiao, Huang, Li, & Wu, 2000). Cuando los sistemas de experimentación no son rigurosos en su metodología se corre el riesgo de caer en lo que muchos autores denominan el *imperativo tecnológico* (Llano, 1985). Esta forma de llevar adelante el consorcio ciencia-tecnología responde, más que a un deseo, a una necesidad de producir efectos relevantes que permitan una pronta aplicación.

8. Las técnicas de Transferencia Nuclear

El primero en utilizar las técnicas de transferencia nuclear fue el científico británico John Gurdon. (Gurdon J., 1962a) (Gurdon J., 1962). La transferencia nuclear es un procedimiento conceptualmente sencillo y consiste en la extracción del núcleo de un ovocito, y el núcleo de una

célula somática es introducido en el ovocito anucleado y por procedimientos de microinyección o electrofusión es estimulado a formar un cigoto (Byrne & Gurdon, 2002). Normalmente se usan óvulos en Metafase II y aunque el desarrollo embrionario puede comenzar mediante la electrofusión, comúnmente se usa un ionóforo junto a un inhibidor de la proteína quinasa. El origen de las células donante del núcleo, así como el momento dentro del ciclo celular en que se encuentre dicha célula son determinantes para el éxito de la transferencia nuclear (Wolf, Mitalipov, & Norgren, 2001).

La clonación terapéutica se refiere a la obtención de blastocitos genéticamente idénticos, a partir de una célula somática de una persona con una enfermedad grave (enfermedades degenerativas o crónicas), mediante el uso de las técnicas de transferencias nuclear (Byrne & Gurdon, 2002). Dentro de su estructura los blastocitos poseen una masa celular interna de la cual se pueden extraer ES. El blastocito es un estadio dentro del desarrollo embrionario de un nuevo individuo (López-Moratalla & Iraburu Elizalde, 2006).

9. Epigenética de la Reprogramación

Después de la clonación de Dolly (Wilmut, Schnieke, McWhir, Kind, & Campbell, 1997), muchos científicos, entre ellos John Gurdon (premio Nobel de Medicina 2012), confiaban en que la transferencia nuclear que había desarrollado en anfibios, era el mecanismo más fiable para lograr células pluripotentes a partir de células adultas (Gurdon, Byrne, & Simonsson, 2003). La meta en ese momento era hacer la reprogramación nuclear más eficiente. La hipótesis planteada es: el citoplasma de los óvulos es capaz de reprogramar los núcleos de las células somáticas. Lo que Gurdon buscaba, al igual que muchos de sus pares, era la pluripotencialidad que hipotéticamente tendrían las células de los embriones obtenidos mediante la transferencia nuclear. Se trataba de obtener células troncales (gran potencial regenerativo) a partir de células somáticas (con escaso potencial de desarrollo).

Mediante la transferencia de núcleos de células adultas a óvulos no fecundados, tanto en anfibios como en mamíferos, se obtiene una muy baja tasa de organismos

desarrollados hasta el estadio adulto (Gurdon, Byrne, & Simonsson, 2003). Dentro de las causas de esta baja efectividad se encuentran: la imposibilidad que tiene la célula reprogramada de replicar sus cromosomas en relativamente poco tiempo (~90 min en anfibios), y aunque el tiempo es mayor en el caso de mamíferos, los mamíferos poseen *genes marcados* que obstaculizarían la reprogramación (Surani, 2001). Otra causa del fallo en la reprogramación podría ser la eliminación de las proteínas que conforman el citoesqueleto, que se produce con la remoción del núcleo del óvulo. La ausencia o disfunción del centriolo de las células adultas también se ha mencionado como posible causa (Gonda, Fowler, Katoku-Kikyo, Haroldson, Wudel, & Kikyo, 2003). La mayoría de los investigadores reconocen que en el año 2003, no se tenía conocimiento real de las causas del fallo en los resultados de la transferencia nuclear (Gurdon, Byrne, & Simonsson, 2003).

La pregunta que se hacen es: ¿Hasta qué punto la metilación del ADN de un célula somática restringe su potencialidad de ser reprogramada? Para esto procedieron a eliminar las proteínas del núcleo a reprogramar, y posteriormente introducir un ADN metilado (en estado natural) y desmetilado. Los resultados indicaron en el caso del ADN desmetilado se produjo sin retraso, la actividad del factor Oct4 que es signo de transcripción y reprogramación (Sinmonsson & Gurdon, 2004) (Mitalipov, Kuo, Hennebold, & Wolf, 2003). De esta forma Gurdon daba otro paso, pequeño pero significativo, en la comprensión de la reprogramación celular mediante la transferencia nuclear.

10. Aislamiento, cultivo, conservación y caracterización de las Células Troncales Embrionarias Humanas (ES)

Como refiere el propio James Thomson, la posibilidad de derivar las células troncales embrionarias humanas (ES), tuvo un retraso respecto a sus equivalentes en ratón de casi dos décadas. Este retraso se debió principalmente a las diferencias específicas de las especies, y a que no existían medios óptimos para el cultivo de los embriones hasta el estadio de blastocito (Yu & Thomson, 2008).

Según el relato de Thomson, el avance definitivo para lograr el cultivo de la ES fue la posibilidad de cultivar embriones en estadio de blastocito. Para el año 1997, “el principal problema para la transferencia de blastocitos en la Fecundación *in vitro* (FIV), es que los medios de cultivo actuales no son capaces de sustentar el desarrollo de los blastocitos viables *in vitro*” (Gardner, Vella, Lane, Wagley, Schlenker, & Schoolcraft, 1998). La posibilidad de transferir embriones en estadio de blastocito podía mejorar las tasas de implatación, y reducir la frecuencia de embarazos múltiples.

Mediante el uso de un sistema de *medios de cultivos secuenciales*, Gardner y sus colaboradores lograron llevar a los embriones hasta el día 5 y 7 de desarrollo. Esto además ayudó a mejorar el análisis morfológico de los embriones escogidos para ser implantados. Esta mejora lograda por Gardner se acompañó de la experiencia desarrollada por Thomson y su equipo, al aislar células troncales embrionarias de primates (Thomson J., et al., 1995) (Thomson J., Kalishman, Golos, Durning, Harris, & Hearn, 1996).

Esta trayectoria que antecede a la derivación de la ES, contribuyó a conocer mejor muchos aspectos del desarrollo embrionario de los primates. Sin embargo, en ambos casos el mejoramiento de los medios de cultivo y la derivación de células troncales embrionarias de primates, significaron el refinamiento de unas técnicas. Por esta razón, cabe la pregunta: ¿Se puede considerar realmente ésta trayectoria como un avance en el conocimiento científico?

Sin pretender dar ahora una respuesta definitiva, el aislamiento de las ES parece más bien el final del camino que llevó al mejoramiento de las técnicas de Fecundación *in vitro* (Lorthongpanich, Yang, Piotrowska-Nitsche, Parnpai, & Chan, 2008).

El primer anuncio de extracción y cultivo de células troncales embrionarias se hace en el año 1994. Posiblemente el primero en publicar un trabajo en el que se derivan 19 líneas celulares fue Bongso y sus colaboradores (Bongso, Fong, Ng, & Ratnam, 1994). Este trabajo logra que las células pluripotentes mantengan esa capacidad solo durante dos ciclos de división. Después de estos dos ciclos o se diferenciaban, o morían.

Lo que realmente presenta Thomson en 1998 (Thomson, Iskovit-Eldor, & Shapiro, 1998) a la comunidad científica, es una metodología para mantener *in vitro*, por tiempo indefinido células pluripotenciales, sin que éstas se diferencien necesariamente. Desde el comienzo del trabajo en que se anuncia la derivación de las células troncales embrionarias, se deja ver una posición muy clara por parte de sus autores, al señalar que las células aisladas se obtienen a partir de las células “totipotenciales” del blastocito de mamífero, lo cual muestra indirectamente el estatus ético que se otorga al embrión humano. Esta visión del blastocito contradice las últimas conclusiones de la biología del desarrollo que dejan en evidencia que:

“El cigoto es la única realidad unicelular totipotente capaz de desarrollarse a organismo completo siguiendo la trayectoria vital generada, que permite un crecimiento como organismo según ejes. Un crecimiento diferencial y ordenado en el que las multiplicaciones celulares se acompañan de diferenciación celular según el sitio que ocupan” (López Moratalla, 2007).

Las células de origen embrionario obtenidas ofrecen entre otras cosas: una gran ayuda para conocer aspectos fundamentales del desarrollo embrionario humano, especialmente en las etapas cercanas a la implantación. Los autores de este trabajo reconocen con cautela que los resultados obtenidos pueden tener implicaciones clínicas, en orden a describir los mecanismos de muchos defectos congénitos, infertilidad y abortos espontáneos. También, para el estudio de los tejidos que diferencian a los humanos de los ratones, y para identificar genes claves para el desarrollo de nuevas drogas. Llegando a comprender a fondo el mecanismo de diferenciación se puede hacer mucho más eficiente la obtención de las respectivas líneas celulares para un desarrollo indefinido de drogas y la posibilidad de regenerar células y tejidos, en enfermedades como el Parkinson o la diabetes tipo I. Proponen establecer bancos de células troncales con HLA definido o manipulado genéticamente, para disminuir las posibilidades de incompatibilidad inmunológica. Además de establecer modelos de rechazo inmunológi-

co utilizando a monos Rhesus (Thomson, Iskovit-Eldor, & Shapiro, 1998).

El trabajo de Shambloott (Shambloott, et al., 1998), está más centrado en células germinales embrionarias, obtenidas de embriones de 5-9 semanas de fecundación producto de abortos terapéuticos. Las células germinales embrionarias cultivadas por estos investigadores presentan las características propias de las células pluripotenciales encontradas en ratones y otras especies de mamíferos. No presentan inmortalidad celular, pero si se induce su diferenciación pueden producir células pertenecientes a las tres capas germinales.

Aunque la posición de los autores es clara respecto a la manipulación de embriones, en ninguno de los casos se aventuraron a hacer predicciones fuera de lo que sus estudios honestamente podían ofrecer. La magnificación del hallazgo pareció estar promovida más por las agencias de noticias y algunas revistas de divulgación científica, que por los mismos protagonistas del avance (Haran & Kitzinger, 2009).

11. Intervención de la Comisión Nacional Consejera en Bioética NBAC

En una carta del 14 de noviembre de 1998 dirigida a la NBAC, el presidente Bill Clinton solicita una profunda revisión de los aspectos relacionados con la investigación de células troncales humanas, que haga un adecuado balance de los aspectos éticos y médicos. El 7 de septiembre de 1999 Harold. T Shapiro, director de la comisión, envía al presidente Clinton el informe de la comisión que se denomina: Aspectos Éticos en la Investigación con Células Troncales. En la carta dirigida al presidente Clinton, Shapiro da testimonio de un cierto acuerdo en el “respeto” que merece el embrión humano como una forma de vida humana, pero al mismo tiempo refiere que no existe acuerdo sobre la forma en que debe manifestarse ese “respeto”, ni en el nivel de protección que corresponde a cada estadio del desarrollo embrionario. El Informe presenta 13 recomendaciones en diferentes áreas. Las recomendaciones más importantes se refieren a la fuente de donde se obtienen las células troncales embrionarias, que según el informe debe estar

limitada al material fetal cadavérico y a los “embriones sobrantes” de los tratamientos de infertilidad. En segundo lugar, recomiendan que los fondos federales sólo patrocinen las investigaciones que estén sometidas a un sistema nacional abierto, de seguimiento y revisión. También hacen referencia a las formas de consentimiento y posible venta del material fetal y embrionario. Finalmente se exhorta al sector privado para que siga los mismos requerimientos que se exigen para el uso de los fondos federales (National Bioethics Advisory Commission, 1999) (Lanza, Cibelli, & West, 1999).

Un matiz muy interesante en el informe de la NBAC es que desde el principio y sin ninguna base científica, más allá de la opinión de la mayoría de los investigadores involucrados, se considera a las células troncales y germinales de origen embrionario como referentes de cualquier avance en el conocimiento de la pluripotencialidad y sus consecuencias para la investigación básica y clínica. Así mismo, el informe deja de lado cualquier consideración respecto a las células troncales adultas, ya que éstas presentan notables diferencias biológicas respecto a las células embrionarias. Aunque existen intereses extra científicos (políticos, económicos e ideológicos) especialmente dirigidos a mostrar las supuestas bondades de las células troncales humanas de origen embrionario, los ambientes académicos y científicos no dejan de avanzar en las investigaciones con células troncales adultas.

El criterio fundamental usado para dar preeminencia a las células troncales embrionarias es la pluripotencialidad. Todas las células troncales se pueden clasificar dependiendo de su potencial de diferenciación, en cinco grupos: Totipotenciales, Pluripotenciales, Multipotenciales, Oligopotenciales y Unipotenciales. Naturalmente la única célula Totipotente es el Zigoto, las únicas células pluripotentes son las células embrionarias y algunas de la médula ósea. Se entiende la pluripotencialidad como la capacidad de diferenciarse en células de cualquiera de las tres capas germinales embrionarias.

La pluripotencialidad, que incluye también la auto-renovación o *inmortalidad celular*, se convierte en el criterio último, y casi exclusivo, para juzgar la utilidad y asignar los recursos en las investigaciones con células

troncales. Este criterio teniendo validez se muestra insuficiente. Las únicas células que cumplen plenamente con el grado de pluripotencialidad son las de origen embrionario, pero al mismo tiempo son las que más dificultades presentan para sus aplicaciones clínicas. La supuesta exclusividad que se les quiere dar no es tal, ya que esta exclusividad depende de su utilidad. Simultáneamente, el criterio de pluripotencialidad hace prácticamente imposible, por lo menos hasta los ensayos de Yamanaka (2007), que ningún otro grupo de células puedan compartir el lugar que se les quiere otorgar. No son ni exclusivas, ni inclusivas.

12. Obstáculos en el camino de las células troncales embrionarias

Los principales obstáculos que se presentan para el uso de las ES son: la tumorigenicidad, la contaminación con productos animales de los medios de cultivo, y la incompatibilidad inmunológica (Rossant & Papaioannou, 1984) (Mummery, Feyen, Freund, & Shen, 1990) (Gruen & Grabel, 2006).

Una de las primeras dificultades para la utilización de las ES viene dada por la alta probabilidad que tienen de formar tumores, cuando son implantadas en otros tejidos u organismos (Kulis and Esteller 2010) (Gruen and Grabel 2006). Otro obstáculo que encuentran las células troncales embrionarias, es el rechazo por incompatibilidad inmunológica y por otra parte, los fracasos en los intentos de lograr ES a partir de embriones clónicos.

Desde el punto de vista técnico se presenta la dificultad de seleccionar el estadio adecuado de diferenciación para los implantes de las células troncales. La realidad es que hasta la fecha no se conoce con exactitud los linajes celulares de la mayoría de las células somáticas *in vivo*. Los modelos más seguros que se han logrado en ratones son con neuronas y oligodendrocitos, pero no parece viable trasladar el éxito de esos modelos a los humanos (Gage, 2000) (Gruen & Grabel, 2006) (Duprat, Lemaître, & Onteniente, 2010) (Yang, Lin, & Liao, 2011). Parece que lo que impide el uso clínico de las células troncales embrionarias no es simplemente su origen, sino sobre todo su comportamiento.

Por la proximidad que tienen con las clínicas de reproducción asistida, las investigaciones con células troncales embrionarias nunca han padecido dificultades económicas. Toda la presión en los Estados Unidos para el uso de los fondos federales o en Europa para usar fondos públicos están dominados por una mentalidad cierta de rendimiento económico que había proyectado este campo de investigación como un "área de negocio".

Al pasar algunos años del aislamiento de las ES, se da el fenómeno de que simultáneamente existe un consenso respecto a la potencialidad de estas células, como en las dificultades que muestran para ser realmente útiles desde el punto de vista clínico (Yamanaka, 2012).

13. Células troncales embrionarias fuera de control

Leyendo detenidamente el trabajo de Thomson del año 1998 es fácil prever cuáles serían las dificultades para el desarrollo de las células de origen embrionario (Thomson, Skovit-Eldor, & Shapiro, 1998). El alto grado de actividad de la telomerasa dejaba ver que el comportamiento de estas células sería difícil de controlar (Flores, Benetti, & Blasco, 2006). Esta enzima juega un papel fundamental en el apareamiento cromosómico y el envejecimiento celular. Hoy sabemos que la actividad de la telomerasa está regulada por factores genéticos y epigenéticos, que mantienen su actuación dentro de un balance entre los factores moleculares que la fijan a los telómeros, y aquellos mecanismos de retroalimentación negativa que mantienen el tamaño de los telómeros dentro de un determinado rango. El mecanismo logra que la telomerasa alargue selectivamente aquellos telómeros más cortos (Flores, Benetti, & Blasco, 2006). Todo el modelo de actividad de la telomerasa se relaciona con la capacidad de las células embrionarias de producir tumores.

Al analizar las ventajas técnicas de las células troncales embrionarias encontramos que:

- a) Crecen muy rápidamente y muchas veces sin control.
- b) Son células que pueden generar muchos tipos celulares diferentes.

El interrogante que surge como consecuencia de estas características es: ¿Por qué tomar como punto de

partida en la regeneración de un tejido específico un tipo de célula que tiene un grado de indiferenciación tan elevado? ¿No sería mejor utilizar como punto de partida un tipo celular que de alguna forma ya esté comprometido con el tejido que se quiere regenerar?

La cantidad de células embrionarias disponibles para los ensayos clínicos, junto a la posibilidad de generar teratomas y el rechazo inmunológico, siguen siendo problemas a superar. Esta imposibilidad tiene su origen en las diferencias que se dan entre las distintas líneas celulares derivadas de células embrionarias. Estas diferencias están basadas en varios factores:

- a) Las diferentes condiciones de los medios de cultivo utilizados.
- b) Variaciones en los protocolos experimentales.
- c) La estabilidad genética de origen, por las diferencias poblacionales de los embriones de donde se extraen las células troncales.
- d) La estabilidad epigenética (Bibikova, Laurent, Ren, Loring, & Fan, 2008) (Klose & Bird, 2006) (Horii, Yanagisawa, Kimura, Morita, & Hatada, 2010) (Allegrucci & Young, 2007).

El rechazo inmune como consecuencia de usar las células de origen embrionario para terapias regenerativas es un problema que se plantea desde el comienzo de las investigaciones (Bradley, Bolton, & Pedersen, 2002). Este impedimento sigue sin resolverse a pesar de diferentes soluciones propuestas como:

1. Creación de bancos de células troncales.
2. Modificación de la inmunogenicidad de las células del donante.
3. Inducción de la tolerancia a los implantes (Grinemo, Sylvén, Hovatta, Dellgreen, & Corbascio, 2008).

Algunos estudios revelan que los bancos de células troncales son inviables como primera propuesta de solución; por la cantidad de líneas celulares que se necesitan para poder encontrar celular que sean compatibles para los injertos, y la imposibilidad de conocer el origen genético de los embriones de dónde provienen (Taylor, Bolton, Pocock, Sharples, Pedersen, & Bradley, 2005). Numerosos reportes y revisiones siguen afirmando que el rechazo in-

munológico de las células embrionarias es prácticamente insuperable. Esto es debido a lo complicado que es conocer los mecanismos que regulan la respuesta inmune para modelar su capacidad e inducir tolerancia al receptor del implante (Deuse, et al., 2011) (Nelson, et al., 2005).

14. El comienzo de la Clonación Terapéutica

En septiembre del año 1999 el presidente Bill Clinton escribía a los miembros del Comité Nacional Consejero en Bioética: “(La) creación de una célula troncal embrionaria que sea parcialmente humana y parcialmente bovina, alerta las más serias convicciones éticas, médicas y legales (...) Yo estoy profundamente preocupado por las noticias de estos experimentos que incluyen la mezcla de la especie humana con especies no humanas” (National Bioethics Advisory Commission, 1999).

La preocupación del presidente Clinton estaba muy bien fundamentada, como lo comprueba las siguientes declaraciones de un grupo de científicos y accionistas de la compañía biotecnológica ACT. “Hace bastantes años (1990), nosotros transferimos núcleos desde células somáticas humanas, (18 linfocitos y 34 células epiteliales de la mucosa oral) a óvulos de vaca para formar un embrión preimplantatorio (pre-embrión), que en teoría podría ser usado para crear células para trasplantes” (Lanza, Cibelli, & West, 1999).

Esta noticia aunque fue muy publicitada a través de los medios de comunicación, se recibió con bastante escepticismo dentro de la comunidad científica. Las causas de las dudas planteadas se basaban principalmente en lo poco efectivo del protocolo usado, y además antes del anuncio no se presentó ningún trabajo publicado que sustentara el supuesto logro de ACT (López Moratalla, 2005). Muchos de los principales portavoces de las compañías de biotecnología calificaron el anuncio de ACT como oportunismo, debido a que se hizo una semana después de que Thomson y Shambloott hicieran públicos sus trabajos de derivación de células embrionarias. ACT a través de sus accionistas negó esta acusación diciendo que en realidad sólo querían dejar constancia pública de los trabajos que venían haciendo desde 1990 (Lanza, Cibelli, & West, 1999).

En cuanto a los *pioneros* de la clonación terapéutica podemos resumir:

- a) Existen noticias de que posiblemente desde el año 1990 se comenzaron a hacer ensayos para la obtención de clones a partir de gametos femeninos de mamíferos, a los que les fue transferido el núcleo de una célula somática humana.
- b) Las pruebas de que alguno de estos experimentos haya sido viable, no fueron bien valoradas por la comunidad científica.
- c) No se sabe en realidad si la petición del presidente Bill Clinton al Comité Nacional Consejero en Bioética de investigar y valorar esta posibilidad estaba basada en estudios que cumplieran con los cánones de rigurosidad científica, o por el contrario respondía a un interés de ciertas empresas de posicionar este tema en la opinión pública.

En informes posteriores Comité Nacional Consejero en Bioética realizó varias declaraciones en contra de la posibilidad de la clonación reproductiva.

15. Establecimiento del lobby de las células troncales embrionarias

Desde que en agosto del año 2001 el recién nombrado presidente Bush interviniera en la disponibilidad de fondos federales para las investigaciones con células troncales de origen embrionario, el panorama económico para los laboratorios involucrados se hizo cada vez más complicado. La política del presidente Bush se concretó principalmente en limitar los fondos federales a investigaciones con líneas celulares embrionarias que ya fueron derivadas, antes del anuncio.

El rechazo generalizado al anuncio del presidente Bush en gran parte del sector privado que realizó inversiones para desarrollar patentes a partir de las células embrionarias, y la argumentación utilizada en el debate público muestran cómo no parecía buscarse una aproximación a la realidad biológica, sino más bien una cierta imposición biotecnológica (Klimanskaya, Chung, Becker, Lu, & Lanza, 2006)

La agenda del lobby tiene una línea clara:

- a) No permitir que el debate se centre en la discusión científica de resultados.

- b) Tratar de mostrar el problemas como una guerra entre ciencia y religión.
- c) Hacer creer que la motivación de los investigadores que usan ES tienen motivaciones exclusivamente científicas (López Moratalla, 2005).

En los Estados Unidos y en gran parte de los países desarrollados comenzó un debate público que mostró cómo las posiciones respecto a las células embrionarias sobrepasaban el ámbito científico. Las compañías de biotecnología mostraron desde el primer momento cual era el móvil de su actuación: el financiamiento.

Como señalamos anteriormente se dejan fuera del debate, de manera deliberada, las posibilidades terapéuticas que ofrecen las células troncales adultas. La gran cantidad de trabajos a nivel de experimentación básica y de ensayos clínicos podrían haber orientado en ese momento, usando argumentos verdaderamente científicos, el desarrollo de la medicina regenerativa.

A partir de la intervención de la NABC la posición frente a las células adultas se resume en:

- a) Negar a priori su valor terapéutico.
- b) Ocultar o disminuir la importante de los avances logrados mediante el uso de las células adultas.
- c) Destacar las desventajas técnicas del uso de las células adultas.
- d) Argumentar que se desconocen los mecanismos de acción de estas células adultas.

La crítica a la destrucción de embriones para obtener ES se ha querido solventar con la idea de usar un solo blastómero de un embrión vivo. La técnica de obtener esa biopsia está en la base del diagnóstico genético previo a la implantación desarrollado en estos años. La vía de obtener ES sin dañar el embrión no ha dado resultados (Amit & Itskovitz-Eldor, 2006) (Holm, Bergstrom, Strom, & Hovatta, 2008) (Master, 2006) (Guo & He, 2000) (Klimanskaya, Chung, Becker, Lu, & Lanza, 2006).

16. El final de la clonación terapéutica. El escándalo de Hwang

Los años 2004 y 2005 serán el marco temporal donde se desarrolle uno de los más grandes fraudes en la historia de la ciencia. El anuncio por parte de Woo Suk

Hwang y su equipo de haber logrado aislar células pluripotenciales embrionarias a partir de un embrión proveniente de la transferencia del núcleo de una célula somática adulta a un óvulo de mujer (Hwang W., et al., 2004) fue la noticia científica del año. La fama del profesor Hwang llegó al punto de convertirse en un héroe nacional en Sur Corea y ser uno de los nombres más sonado para el premio Nobel de medicina. En noviembre del 2005 comienzan los problemas para el investigador y su equipo, con la denuncia hecha por Gerald Schatten coautor de su trabajo, quien acusó a Hwang de engañarlo sobre el origen de los óvulos usados para la investigación (Resnick, Shamoo, & Krimsky, 2006). Con las consecuencias éticas que tiene este hecho dentro de los protocolos de investigación científica (Vogel & Normile, 2006) antes de que llegara el año 2006 Hwang sería puesto en evidencia por una comisión de la Universidad de Seúl (Normile, Vogel, & Couzin, 2006). El sur coreano no sólo pagó a varios miembros jóvenes de su equipo para obtener los ovocitos (Hyun, 2006), sino que además falsificó los datos de coincidencia con el ADN de los donantes de las células somáticas.

Las reacciones en el mundo de la ciencia, y específicamente en el de la investigación con células troncales, fueron de muy desigual estilo. Algunos como el caso de ACT se sintieron estimulados a dar un nuevo impulso en busca de la "promesa" de la clonación terapéutica, línea que habían abandonado por la razón comercial de que no hay premio para el segundo lugar. Además, de que los indicadores financieros de muchas de las empresas biotecnológicas mostraron una notable mejoría (Mason, 2006), dejando claro que para una gran parte de los involucrados, no existe otra ley que la del mercado dentro de la investigación biomédica.

Otros sectores más académicos, manifestaron la necesidad de revisar los protocolos de investigación y de revisión de las publicaciones científicas, mejorar la regulación internacional sobre investigación biomédica, insistir en la educación y formación ética de los investigadores y promover la auditoria y validación de los datos de investigaciones de alto impacto (Resnick, Shamoo, & Krimsky, 2006). Algunos especialistas en bioética y encargados de la educación de investigadores plantearon

los temas más profundos sobre los límites de la investigación científica con células embrionarias y propusieron buscar alternativas para la manipulación y destrucción de embriones (Brenner, Kubisch, & Pierce, 2004) (Whittaker, 2005).

El lobby a favor de las células troncales embrionarias comienza a expresar el temor de que sus oponentes aprovechen este caso para atacar a los investigadores en un campo que está lleno de controversias por requerir la destrucción de embriones. La complejidad del debate es enorme porque se ha entrado ya en el contexto de la clonación humana reproductiva.

“Los medios, la comunidad científica, y aquellos que son responsables de la regulación de ésta área, están intensamente concentrados tanto en la investigación fraudulenta como en la explotación de técnicos jóvenes y estudiantes de doctorado. Aquello en lo que parecen menos interesados, en detrimento de estos, es la destrucción de embriones humanos” (Jackson, 2006).

Nuevamente en mayo de 2013, se presenta el tema de una supuesta clonación para obtener células troncales embrionarias mediante el uso de las técnicas de transferencia nuclear (Tachibana, et al., 2013). Aunque es un protocolo con las mismas características del de Hwang (Hwang W. S., et al., 2004) que requerirá los controles pertinentes, no resuelve el problema del uso de los óvulos humanos, ni tampoco asegura que esas células troncales puedan realmente servir para el desarrollo de aplicaciones clínicas. Es un trabajo que, aplicando algunas variaciones que se vienen probando desde hace algunos años (Noggle, et al., 2011), hace coincidir la transferencia nuclear con la reprogramación de ADN. Es un trabajo que no presenta las líneas celulares de ES que se obtuvieron, en consecuencia no caracterizan a las ES ni muestran de que forma se comportan frente a la posibilidad de rechazo inmunológico, ni su potencialidad de formar tumores (Tachibana, et al., 2013). Al analizar la posibilidad de células pluripotenciales obtenidas por técnicas de transferencia nuclear, se puede afirmar que con independencia de las dudas y críticas que existen respecto a los resultados obtenidos por el equipo de Mitalipov, estos avances ayudarán a descubrir nuevos

factores de transcripción que seguramente permitan lograr nuevas iPS de mayor calidad (Sancho-Martinez & Izpisua Belmonte, 2013).

17. La sacudida de las IPS

A finales de 2007 el investigador japonés Shinya Yamanaka publica un trabajo donde presenta los resultados de la inducción al estado de pluripotencialidad, mediante la reprogramación genética, de un fibroblasto de la piel de la cara de una mujer de 36 años (Takahashi, et al., 2007). Este trabajo que fue recibido con asombro y admiración en gran parte de la comunidad científica significó un aporte robusto y definitivo a la investigación con células troncales (Zacharias, 2011). Las alternativas disponibles para sustituir la investigación con células embrionarias reciben con este avance un aporte definitivo. A partir de este momento se hace muy difícil justificar racionalmente el seguir experimentando con embriones humanos.

Para los miembros del lobby de células embrionarias significó un duro golpe. No fue casual que la revista *Science* hiciera coincidir la publicación del trabajo de Yamanaka con la publicación de un trabajo, en la misma línea y con resultados similares, de una de las celebridades de la investigación con células troncales embrionarias: James Thomson (Frane, et al., 2007). Indudablemente, el trabajo de Yamanaka en su presentación y métodos resulta más definitivo y robusto que el de Thomson, pero el lobby no deja de presentarle como uno de los precursores de las iPS. Afortunadamente en el año 2006 Yamanaka había publicado un trabajo en el que presentaba los mismos resultados con células de ratón, dejando claro ante la ciencia los fundamentos de sus resultados (Takahashi & Yamanaka, 2006).

Adicionalmente, las publicaciones del lobby quisieron dar una especial relevancia al problema de las patentes de las líneas celulares que se deriven usando la técnica de Yamanaka (Cyranski D., 2008). Aún así y sin que podamos señalar una relación causa efecto, el año 2007 fue un año de recuperación de la industria de la medicina regenerativa. La actividad económica privada de este sector quintuplicó el capital invertido respecto

al año 2003. Además, las unidades de negocio dedicadas a este campo pasaron de 89 unidades en el 2003 a 171 unidades en el 2007 (Nerem, 2011).

A partir del premio Nobel 2012 la estrategia ha consistido en confrontar las técnicas de transferencia nuclear con las iPS.

18. Escacés de ensayos clínicos con células embrionarias

A finales de 2005 nadie ignora que el intento de dirigir las células troncales embrionarias hacia el tipo celular deseado para transferirlas a un enfermo (Terapia regenerativa), ha resultado imposible. Mantener la promesa de curar enfermedades con estas células es el mayor fraude a las expectativas de enfermos incurables. La enfermedad de Parkinson y la diabetes, son las más citadas. Ahora bien:

a) No se ha logrado una tecnología eficiente para aislar y cultivar las células troncales de origen embrionario y mantener estables las líneas celulares derivadas de ellas, como pone de manifiesto entre otros el trabajo de Stojkovic, del 2004, en que a pesar de todo sigue «pidiendo» más tiempo y más investigaciones —más embriones— para conseguir «domesticarlas».

b) Los experimentos realizados en modelos animales ponen de manifiesto que las células troncales de origen embrionario no son aptas para uso terapéutico” (López Moratalla, 2005). Este uso está impedido por la posibilidad de rechazo inmune y, sobre todo, por el hecho de que inducen la formación de tumores (Erdö, et al., 2003).

Esto hace concluir que expresiones como: rango terapéutico de las células embrionarias, o uso terapéutico de las células embrionarias e inclusive el de “clonación terapéutica” carezcan de fundamento. Lo cierto hasta la fecha es que las células troncales embrionarias no han logrado demostrar su capacidad terapéutica en ningún ensayo clínico importante.

Inclusive algunas revisiones claramente favorables al desarrollo de las investigaciones con ES reconocen que existen todavía muchas condiciones de investigación pre-clínica que no se han resuelto, refiriéndose explícitamente al rechazo inmunológico y la capacidad de

formar tumores de las células de origen embrionario (Ben-David, Kopper, & Benvenisty, 2012).

En 2009, la FDA aprobó el primer ensayo clínico de derivados de células troncales embrionarias humanas en los Estados Unidos. Este estudio debía demostrar la seguridad y la eficacia de los avances de inyectar en pacientes con lesión aguda de la médula espinal, células progenitoras de oligodendrocitos, obtenidas a partir de la diferenciación en el laboratorio de células troncales embrionarias humanas (www.geron.com) (Philonenko, Shutova, Chestkov, Lagarkova, & Kiselev, 2011). En otra noticia inesperada la compañía biotecnológica Geron anuncia que abandona por motivos financieros el único ensayo clínico actual con células embrionarias. “Geron va a detener su trabajo sobre células troncales para poder centrarse en medicamentos para el cáncer. En una declaración, John A. Scarlett, que se unió a Geron en septiembre como director general, echó la culpa de la decisión al *“ambiente de escasez de capital y condiciones económicas difíciles”*”¹.

Al revisar la página web www.clinicaltrials.gov, se puede verificar que en la actualidad sólo existen 5 ensayos clínicos que usen las ES. Todos están enfocados en la Degeneración Macular (tres en la degeneración debida a la edad y dos en la degeneración macular por la distrofia macular de Stargardt). Todos los ensayos se encuentran en fase 1.

Con la suspensión del ensayo clínico de la compañía Geron y la falta de resultados que presentan todavía los ensayos en degeneración macular, se puede prever que la investigación clínica con ES no muestra signos de desarrollo.

19. Los últimos avances

Aunque la evidencia acumulada desde el año 1998 sería suficiente para que se abandonaran los intentos de clonación terapéutica y destrucción de embriones para derivar células troncales, la realidad es que no han sido las razones científicas las que motivaron la disminución, o el abandono de esta área de investigación.

¹ Por Antonio Regalado Traducido por Lía Moya (Opinno) Technology Review Jueves, 24 de noviembre de 2011

Una querrela introducida en el Tribunal Supremo Europeo por Greenpeace de Alemania, en contra de la creación en patentes de líneas celulares de origen embrionario, tiene un resultado sin precedentes, donde se prohíbe la creación de dichas patentes en conformidad con la dignidad del embrión humano.

“En el texto de la Sentencia, se resuelve «la exclusión de la “patentabilidad” en relación con la utilización de embriones humanos con fines industriales o comerciales», pero también “la utilización de embriones con fines de investigación científica, pudiendo únicamente ser objeto de patente la utilización con fines terapéuticos o de diagnóstico que se aplica al embrión y que le sea útil”, es decir un bien para el propio embrión. Además, añade la sentencia que “el artículo 6 de la Directiva 98/44 excluye la patentabilidad de una invención cuando la información técnica objeto de la solicitud de patente requiera la destrucción previa de embriones humanos o su utilización como materia prima, sea cual fuere el estadio en el que éstos se utilicen y aunque la descripción de la información técnica reivindicada no mencione la utilización de embriones humanos”².

20. La investigación con las ES: el final de un camino

Desde su inicio, las investigaciones con células troncales embrionarias humanas han estado sostenidas por intereses ideológicos, políticos y especialmente económicos. La continuidad y cercanía con las técnicas de reproducción asistida, dejan ver que en su origen forman parte de unas expectativas muy ligadas a los avances en la reproducción humana artificial.

Esa proximidad parece influir decisivamente en la escogencia del material de partida —embriones humanos— para los procedimientos de producción de líneas celulares, la manera de caracterizarlas y de diferenciarlas. Los obstáculos que aparecen desde muy temprano en estas investigaciones, no han sido debidamente juz-

gados por los biotecnólogos que han pretendido darle usos a las ES en la terapéutica. Esa incapacidad de hacer un juicio eminentemente científico y técnico sobre las ES ha estado influenciado por las mismas presiones, políticas, ideológicas y económicas que encontramos al inicio del camino.

Esa presión podría explicar por qué se busca repetidamente superar los obstáculos mediante otra técnica que se ha mostrado inviable: la clonación terapéutica. De esa manera se vuelve a colocar a los investigadores en una posición de escoger indebidamente su materia prima de trabajo —en este caso óvulos humanos— entrando de nuevo en una calle sin salida, al no tener como librar unos obstáculos que superan los conocimientos científicos disponibles, ni tampoco los. El fracaso de la generación de ES por técnicas de transferencia nuclear se ha confirmado de manera clara, por lo menos en dos oportunidades en los últimos diez años. Sin embargo, los intereses ajenos a la ciencia vuelven a insistir en presentar esta técnica como una panacea, que pone en la opinión pública el tema de la clonación reproductiva. Una forma muy astuta, utilizada por la industria de fecundación *in vitro*, de banalizar el valor de la reproducción humana. De hecho en una entrevista posterior al premio Nóbel Sir John Gurdon expresó su opinión de que posiblemente dentro de los próximos 50 años sea técnicamente posible la clonación reproductiva de seres humanos.

Al final de la carrera son estos mismos intereses económicos los que abandonan los ensayos clínicos con ES y hacen pensar que esta área de trabajo será, en el futuro inmediato, un capítulo olvidado en la historia de la Biomedicina.

Referencias

- Allegrucci, C., & Young, L. E. (2007). Differences between human embryonic stem cell lines. *Human Reproduction Update*, 13 (2), 103-120.
- Amit, M., & Itskovitz-Eldor, J. (2006). Sources, Derivation, and Culture of Human Embryonic Stem Cells. *Seminars in Reproductive Medicine*, 24 (5), 298-303.
- Amit, M., Carpenter, M., Inokuma, M., Chiu, C.-P., Harris, C., Waknitz, M., y otros. (2000). Clonally Derived Hu-

² Nicolás Jouve. La sentencia del Tribunal de Justicia Europeo a favor de la vida humana en estado embrionario y las Leyes españolas. Publicado en Páginas Digital el 3 de Noviembre de 2011

- man Embryonic Stem Cell Lines Maintain Pluripotency and Proliferative Potential for Prolonged Periods of Culture. *Developmental Biology*, 227 (2), 271–278.
- Andrews, P. (1998). Teratocarcinomas and human embryology: Pluripotent human EC cell lines. *APMIS*, 106 (1), 158-168.
- Bailey, K., Maslov, A., & Pruitt, S. (2004). Accumulation of mutations and somatic selection in aging neural stem/progenitor cells. *Aging Cell*, 3 (6), 391–397.
- Ball, E., & Risbridger, G. (2003). New perspectives on growth factor-sex steroid interaction in the prostate. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 14 (1), 5–16.
- Belden, W., Lewis, Z., Selker, E., Loros, J., & Dunlap, J. (2011). CHD1 Remodels Chromatin and Influences Transient DNA Methylation at the Clock Gene frequency. *PLoS Genetics*, 7 (7), 1-13.
- Belden, W., Loros, J., & Dunlap, J. (2006). CLOCK leaves its mark on histones. *Trends in Biochemical Sciences*, 31 (11), 610-613.
- Ben-David, U., Kopper, O., & Benvenisty, N. (2012). Expanding the Boundaries of Embryonic Stem Cells. *Cell Stem Cell*, 10 (6), 666-677.
- Bibikova, M., Laurent, L., Ren, B., Loring, J., & Fan, J.-B. (2008). Unraveling Epigenetic Regulation in Embryonic Stem Cells. *Cell Stem Cell*, 2 (2), 123-134.
- Bongso, A., Fong, C., Ng, S., & Ratnam, S. (1994). Isolation and culture of inner cell mass cells from human blastocysts. *Human Reproduction*, 9 (11), 2110-2117.
- Bradley, J. A., Bolton, E. M., & Pedersen, R. A. (2002). Stem cell medicine encounters the immune system. *Nature Reviews Immunology*, 2 (11), 859-871.
- Brenner, C., Kubisch, H., & Pierce, K. (2004). Role of mitochondrial genome in assisted reproductive technologies and embryonic stem cell-based therapeutic cloning. *Reproduction, fertility and development*, 16, 743-751.
- Byrne, J., & Gurdon, J. (2002). Commentary on human cloning. *Differentiation*, 69 (4-5), 154-157.
- Cyranoski, D. (2008). Japan ramps up patent effort to keep iPS lead. *Nature*, 453 (7186), 406-408.
- Cyranoski, D. (2012). Stem-cell pioneer banks on future therapies. *Nature*, 488 (7410), 139.
- Cyranoski, D. (2008). Stem Cell; 5 things to know before jumping on the iPS bandwagon. *Nature*, 452 (7186), 406-408.
- Deuse, T., Seifert, M., Philips, N., Fire, A., Tyan, D., Kay, M., y otros. (2011). Immunobiology of naive and genetically modified HLA-class-I-knockdown human embryonic stem cells. *Journal of Cell Science*, 124 (17), 3029-37.
- Duprat, S., Lemaître, G., & Onteniente, B. (2010). Cellules souches embryonnaires et applications thérapeutiques. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2010 (427), 41-46.
- Era, T., & Witte, O. (2000). Regulated expression of P210 Bcr-Abl during embryonic stem cell differentiation stimulates multipotential progenitor expansion and myeloid cell fate. *PNAS*, 97 (4), 1737–1742.
- Erdö, F., Bührle, C., Blunk, J., Hoechn, M., Xia, Y., Fleischmann, B., y otros. (2003). Host-Dependent Tumorigenesis of Embryonic Stem Cell Transplantation in Experimental Stroke. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 23 (part 7), 780-785.
- Flores, I., Benetti, R., & Blasco, M. A. (2006). Telomerase regulation and stem cell behavior. *Current Opinion in Cell Biology*, 18 (3), 254-260.
- Frane, J. L., Tian, S., Nie, J., Jonsdottir, G. A., Ruotti, V., Stewart, R., y otros. (2007). Induced Pluripoten Stem Cell Lines Derived from Somatic Cells. *Science*, 318 (5858), 12.
- Friel, R., van der Sar, S., & Mee, P. (2005). Embryonic stem cells: Understanding their history, cell biology and signalling. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57 (13), 1894-1903.
- Gage, F. (2000). Mammalian Neural Stem Cells. *Science*, 287 (5457), 1433-1438.
- Gage, F. (2004). Structural plasticity of the adult brain. *Dialogues Clinical Neuroscience*, 6 (2), 135-141.
- Gage, F., Coates, P., Palmer, T., Kuhn, H., Fisher, L., Suhonen, J., y otros. (1995). Survival and differentiation of adult neuronal progenitor cells transplanted to the adult brain. *PANS*, 92 (25), 11879-11883.
- Gage, F., Kempermann, G., Palmer, T., Peterson, D., & Ray, J. (1998). Multipotent Progenitor Cells in the

- Adult Dentate Gyrus. *Journal of Neurobiology*, 36 (2), 249 – 266.
- Gardner, D., Vella, P., Lane, M., Wagley, L., Schlenker, T., & Schoolcraft, W. (1998). Culture and transfer of human blastocysts increases implantation rates and reduces the need for multiple embryo transfers. *Fertility And Sterility*, 69 (1), 84-88.
- Gonda, K., Fowler, J., Katoku-Kikyo, N., Haroldson, J., Wudel, J., & Kikyo, N. (2003). Reversible disassembly of somatic nucleoli by the germ cell proteins FRGY2a and FRGY2b. *Nature Cell Biology*, 5 (3), 205-210.
- Grinnemo, K.-H., Sylvé, C., Hovatta, O., Dellgreen, G., & Corbascio, M. (2008). Immunogenicity of human embryonic stem cell. *Cell Tissue Research*, 331 (1), 67-78.
- Gruen, L., & Grabel, L. (2006). Scientific and Ethical Roadblocks to Human Embryonic Stem Cell Therapy. *Stem Cells*, 24 (10), 2162-2169.
- Gualandris, A., Annes, J., Arese, M., Noguera, I., Jurukovski, V., & Rifkin, D. (2000). The latent transforming growth factor-beta-binding protein-1 promotes in vitro differentiation of embryonic stem cells into endothelium. *Molecular Biology of the Cell*, 11 (12), 4295-4308.
- Guo, X., & He, F. (2000). Properties and applications of embryonic stem cells. *Chinese Science Bulletin*, 45 (14), 1258-1265.
- Gurdon, J. (1962). The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, 10 (4), 505-526.
- Gurdon, J. (1962a). The transplantation of nuclei between two species of xenopus. *Developmental Biology*, 5 (1), 68-83.
- Gurdon, J., Byrne, J., & Simonsson, S. (2003). Nuclear reprogramming and stem cell creation. *PNAS*, 100 (suppl. 1), 11819-11822.
- Haran, J., & Kitzinger, J. (2009). Modest witnessing and managing the boundaries between science and the media: A case study of breakthrough and scanda. *Public Understanding of Science*, 18 (6), 634-652.
- Holm, F., Bergstrom, R., Strom, S., & Hovatta, O. (2008). Derivation, maintenance and cryostorage of human embryonic stem cells. *Drug Discovery Today: Technologies*, 5 (4), e131-e137.
- Holm, S. (2008). Time to reconsider stem cell ethics—the importance of induced pluripotent cells. *Journal of Medical Ethics*, 34 (2), 63-64.
- Horii, T., Yanagisawa, E., Kimura, M., Morita, S., & Hatada, I. (2010). Epigenetic Differences between Embryonic Stem Cells Generated from Blastocysts Developed In Vitro and In Vivo. *Cellular Reprogramming*, 12 (5), 551-563.
- Hua, J., & Sidhu, K. (2008). Recent Advances in the Derivation of Germ Cells from the Embryonic Stem Cells. *Stem Cells and Development*, 17 (3), 399-411.
- Hwang, W. S., Ryu, Y. J., Park, E. S., Lee, E. G., Koo, J. M., Chun, H. Y., y otros. (2004). Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst. *Science*, 303 (5664), 1669-1674.
- Hwang, W., Ryu, Y., Park, J., Park, E., Lee, E., Koo, J., y otros. (2004). Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst. *303*, 1669-1674.
- Hyun, I. (2006). Magic Eggs and the Frontier of Stem Cell Science. *The Hastings Center Report*, 36 (2), 16-19.
- Hyun, I. (2010). The bioethics of stem cell research and therapy. *The Journal of Clinical Investigation*, 120 (1), 71-75.
- Jackson, E. (2006). Fraudulent Stem Cell Research and Respect for the Embryo. *BioSocieties*, 1 (3), 349-356.
- James, D., Noggle, S., Swigut, T., & Brivanlou, A. (2006). Contribution of human embryonic stem cells to mouse blastocysts. *Developmental Biology*, 295 (1), 90-102.
- Jiang, J., & Ng, H.-H. (2008). TGFb and SMADs Talk to NANOG in Human Embryonic Stem Cells. *Cell Stem Cell*, 3, 127-128.
- Jiang, J., Chan, Y.-S., Loh, Y.-H., Cai, J., Tong, G.-Q., Lim, C.-A., y otros. (2008). A core Klf circuitry regulates self-renewal of embryonic stem cells. *Nature Cell Biology*, 10 (3), 353-U103.
- Keller, G. (1995). In vitro differentiation of embryonic stem cells. *Current Opinion in Cell Biology*, 7 (6), 862-869.

- Klimanskaya, I., Chung, Y., Becker, S., Lu, S.-J., & Lanza, R. (2006). Embryonic and extraembryonic stem cell lines derived from single mouse blastomeres. *Nature*, 439 (7073), 216-219.
- Klose, R., & Bird, A. (2006). Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *TRENDS in Biochemical Sciences*, 31 (2), 89-97.
- Kutsuzawa, K., Maruyama, K., Akiyama, Y., Akaike, T., & Chowdhury, E. (2008). Efficient transfection of mouse embryonic stem cells with cell-adhesive protein-embedded inorganic nanocarrier. *Analytical Biochemistry*, 372 (1), 122-124.
- Lanza, R., Cibelli, J., & West, M. (1999). Human therapeutic cloning. *Nature*, 5 (9), 975-977.
- Llano, A. (1985). *El futuro de la libertad*. Pamplona: EUNSA.
- Lorthongpanich, C., Yang, S.-H., Piotrowska-Nitsche, K., Parnpai, R., & Chan, A. (2008). Chemical Enhancement in Embryo Development and Stem Cell Derivation from Single Blastomeres. *Cloning and Stem Cells*, 10 (4), 503-512.
- López Moratalla, N. (2007). Células troncales rejuvenecidas y el final de la clonación. *Cuadernos de Bioética*, XVIII (64), 387-392.
- López Moratalla, N. (2005). El lobby de las células embrionarias. Telón de fondo del fraude de la clonación. *Cuadernos de Bioética*, XVI (58), 419-439.
- López Moratalla, N. (2007). ¿Qué hay de nuevo sobre las células troncales? La utopía de la "clonación terapéutica". *Cuadernos de Bioética*, XVIII (64), 367-385.
- López Moratalla, N. (2004). Uso terapéutico con células troncales humanas: racionalidad científica. *Cuadernos de Bioética*, XV (53), 77-97.
- López Moratalla, N., & Beunza, M. (s.f.). *Los del Lobby pro uso de embriones y clonación terapéutica reconocen al fin su gran error*. Recuperado el 10 de 10 de 2011, de <http://blogs.lainformacion.com&cronicas-de-la-ciencia/page/2/>
- López-Moratalla, N. (2011). La Bioética de los informes ACRE. *Cuadernos de Bioética*, XXII (75), 277-281.
- López-Moratalla, N., & Iraburu Elizalde, M. (2006). *Los Quince Primeros Días de una Vida Humana* (2 edición ed.). Pamplona, Navarra, España: EUNSA.
- Ma, D., Bonaguidi, M., Ming, G.-l., & Song, H. (2009). Adult neural stem cells in the mammalian central nervous system. *Cell Research*, 19 (2), 672-682.
- Ma, D., Marchetto, M., Guo, J., Ming, G.-l., Gage, F., & Song, H. (2010). Epigenetic choreographers of neurogenesis in the adult mammalian brain. *Nature Neuroscience*, 13 (11), 1338-1344.
- Ma, Y., Gu, J., Li, C., Wei, X., Tang, F., Shi, G., y otros. (2012). Human foreskin fibroblast produces interleukin-6 to support derivation and self-renewal of mouse embryonic stem cells. *Stem Cell Research & Therapy*, 29 (3), 11.
- Mason, C. (2006). The Korean Stem cells fiasco: Shifting the Focus. *Medical Device Technology*, 17 (2), 24-26.
- Master, Z. (2006). Embryonic stem-cell gametes: the new frontier in human reproduction. *Human Reproduction*, 21 (4), 857-863.
- Michalowsky, L., & Jones, P. (1989). DNA Methylation and Differentiation. *Environmental Health Perspectives*, 80 (3), 189-197.
- Mitalipov, S., Kuo, H.-C., Hennebold, J., & Wolf, D. (2003). Oct-4 Expression in Pluripotent Cells of the Rhesus Monkey. *Biology of Reproduction*, 69 (6), 1785-1792.
- Mummery, C., Feyen, A., Freund, E., & Shen, S. (1990). Characteristics of embryonic stem cell differentiation: a comparison with two embryonal carcinoma cell lines. *Cell Differentiation and Development*, 30 (3), 195-206.
- Muotri, A. (2009). Modeling epilepsy with pluripotent human cells. *Epilepsy & Behavior*, 14 (1), 81-85.
- Muotri, A. (2009). Modeling epilepsy with pluripotent human cells. *Epilepsy & Behavior*, 14 (1), 81-85.
- Muotri, A., Nakashima, K., Toni, N., Sandler, V., & Gage, F. (2005). Development of functional human embryonic stem cell-derived neurons in mouse brain. *PNAS*, 102 (51), 18644-18648.
- National Bioethics Advisory Commission. (7 de September de 1999). *Ethical Issues in Human Stem Cell research*. Recuperado el 9 de 1 de 2012, de National Bioethics Advisory Commission: bioethics.georgetown.edu/nbac/stemcell.pdf

- Nelson, C. M., Jean, R. P., Tan, J. L., Liu, W. F., Sniadecki, N. J., Spector, A. A., y otros. (2005). Emergent patterns of growth controlled by multicellular form and mechanics. *PNAS*, 102 (33), 11594-599.
- Nerem, R. M. (2011). Medicina regenerativa: el surgimiento de una industria. *Dendra Médica. Revista de Humanidades*, 10 (2), 126-137.
- Noggle, S., Fung, H.-L., Gore, A., Martínez, H., CrummSatriani, K., Prosser, R., y otros. (2011). Human oocytes reprogram somatic cells to a pluripotent state. *Nature*, 478 (7367), 70-75.
- Normile, D. (2008). Shinya Yamanaka: modest researcher, results to brag about. *Science*, 319 (2), 562.
- Normile, D., Vogel, G., & Couzin, J. (2006). South Korean team's remaining human stem cell claim demolish. *Science*, 311 (5758), 156-57.
- Owen, R. (1945). Immunogenetic Consequences of Vascular Anastomoses between Bovine Twins. *Science*, 400-401.
- Philonenko, E., Shutova, M., Chestkov, I., Lagarkova, M., & Kiselev, S. (2011). Current Progress and Potential Practical Application for Human Pluripotent Stem Cells. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 292, 153-196.
- Rao, M. (2004). Conserved and divergent paths that regulate self-renewal in mouse and human embryonic stem cells. *Developmental Biology*, 275 (2), 269-286.
- Reppert, S., & Weaver, D. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 418 (6901), 935-941.
- Resnick, D. B., Shamoo, A. E., & Krinsky, S. (13 de January-March de 2006). *Fraudulent Human Embryonic Stem Research in South Korea: Lessons Learned. Accountability in Research*. Recuperado el 17 de May de 2013, de Bioethic Research Library at Georgetown University: http://xr8el9yb8v.search.serialssolutions.com/?version=1.0&url_ver=Z39.88-2004&rft_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:journal&atitle=Fraudulent+human+embryonic+stem+cell+research+in+South+Korea:+lessons+learned&title=Accountability+in+Research&volume=13&issue=1&date=20060100&au=Resnik,+David+B.;+Shamoo,+Adil+E.;+Krinsky,+Sheldon
- Reubinoff, B., Pera, M., Fong, C.-Y., Trounson, A., & Bongso, A. (2000). Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation in vitro. *Nature Biotechnology*, 18 (4), 399-404.
- Reyftmann, L., Dechaud, H., Hamamah, S., Pucéat, M., & Hédon, B. (2004). Cellules souches embryonnaires: une place pour le gynécologue-obstétricien. Première partie. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 32 (10), 866-871.
- Rossant, J., & Papaioannou, V. (1984). The relationship between embryonic, embryonal carcinoma and embryo-derived stem cells. *Cell Differentiation*, 15 (2-4), 155-161.
- Rugg-Gunn, P., Ferguson-Smith, A., & Pedersen, R. (2007). Status of genomic imprinting in human embryonic stem cells as revealed by a large cohort of independently derived and maintained lines. *Human Molecular Genetics*, 16 (Review Issue 2), R243-R251.
- Sancho-Martinez, I., & Izpisua Belmonte, J. (2013). Will SCNT-ESCs Be Better than iPSCs for Personalized Regenerative Medicine? *Cell Stem Cell*, 13, 141-142.
- Schuldiner, M., Yanuka, O., Itskovitz-Eldor, J., Melton, D., & Benvenisty, N. (2000). Effects of eight growth factors on the differentiation of cells derived from human embryonic stem cells. *PNAS*, 97 (21), 11307-11312.
- Shamblott, M. J., Axelman, J., Wang, S., Bugg, E. M., Littlefield, J. W., Donovan, P. J., y otros. (1998). Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *PNAS*, 95 (23), 13726-13731.
- Sim, R., & Reinberg, D. (2009). Escaping fates with open states. *Nature*, 460 (7257), 802-803.
- Sinmonsson, S., & Gurdon, J. (2004). DNA demethylation is necessary for the epigenetic reprogramming of somatic cell nuclei. *Nature Cell Biology*, 6 (10), 984-990.
- Smith, A. (2005). The Battlefield of Pluripotency. *Cell*, 123 (5), 757-760.
- Smith, A., & Hooper, M. (1987). Buffalo Rat Liver Cells Produce a Diffusible Activity Which Inhibits the Differentiation of Murine Embryonal Carcinoma and Embryonic Stem Cells. *Developmental Biology*, 121 (1), 1-9.

- Smith, A., Nichols, J., Robertson, M., & Rathjen, P. (1992). Differentiation Inhibiting Activity (DIA/LIF) and Mouse Development. *Developmental Biology*, 151 (2), 339-351.
- Spagnoli, F., & Hemmati-Brivanlou, A. (2006). Guiding embryonic stem cells towards differentiation: lessons from molecular embryology. *Current Opinion in Genetics & Development*, 16 (5), 469-475.
- Studer, L. (2001). Stem cells with brainpower. *Nature Biotechnology*, 19 (12), 1117-1118.
- Surani, M. (2001). Reprogramming of genome function through epigenetic inheritance. *Nature*, 414 (6859), 122-128.
- Tabar, V., Panagiotakos, G., Greenberg, E., Chan, B., Sadelain, M., Gutin, P., y otros. (2005). Migration and differentiation of neural precursors derived from human embryonic stem cells in the rat brain. *Nature Biotechnology*, 23 (5), 601-606.
- Tachibana, M., Amato, P., Sparman, M., Gutierrez, N., Tippner-Hedges, R., Ma, H., y otros. (2013). Human Embryonic Stem Cells Derived by Somatic Cell Nuclear Transfer. *Cell*, 153 (5).
- Takahashi, K. (2012). Cellular reprogramming - lowering gravity on Waddington's epigenetic landscape. *Journal of Cell Science*, 125 (11), 2553-2560 .
- Takahashi, K. (2010). Direct reprogramming . *Development, Growth & Differentiation*, 52 (3), 319-333.
- Takahashi, K., & Yamanaka, S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 126 (4), 663-676.
- Takahashi, K., Mitsui, K., & Yamanaka, S. (2003). Role of ERas in promoting tumor-like properties in mouse embryonic stem cells. *Nature*, 423 (6939), 541-545.
- Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., y otros. (2007). Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. *Cell*, 131 (11), 861-872.
- Taylor, C. J., Bolton, E. M., Pocock, S., Sharples, L. D., Pedersen, R. A., & Bradley, J. A. (2005). Banking of human embryonic stem cells: estimating the number of donor cell lines needed for HLA matching. *Lancet*, 366 (9502), 2019-25.
- Taylor, J., Wilmut, I., & Sullivan, G. (2010). What are the limits to cell plasticity? *Cell Research*, 20, 502-503.
- Thomson, J. A., & Odorico, J. S. (2000). Human Embryonic Stem Cell and Embryonic Germ Cell Lines. *Trends in Biotechnology*, 18 (2), 53-57.
- Thomson, J., Iskovit-Eldor, J., & Shapiro, S. S. (1998). Embryonic stem line derived from human blastocysts. *Science*, 282 (5391), 1145-1147.
- Thomson, J., Kalishman, J., Golos, T., Durning, M., Harris, C., & Hearn, J. (1996). Pluripotent Cell Lines Derived from Common Marmoset (*Callithrix jacchus*) Blastocysts. *Biology of Reproduction*, 55 (2), 254-259.
- Thomson, J., Kalishman, J., Golos, T., Durning, M., Harris, C., Becker, R., y otros. (1995). Isolation of a primate embryonic stem cell line. *PNAS*, 92 (17), 7844-7848.
- Vogel, G. (2000). New Excitement, Persistent Questions. *Science*, 290 (5497), 1672-1674.
- Vogel, G. (2003). Stem Cells Lose Market Luster. *Science, New Series*, 299 (5614), 1830-1831.
- Vogel, G., & Normile, D. (2006). Picking up the Pieces after Hwang. *Science, New Series*, 312 (5773), 516-517.
- Whittaker, P. A. (2005). Therapeutic cloning The ethical limits. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 270 (2 suppl), S689-S691.
- Wilmut, I., Schnieke, A. E., McWhir, J., Kind, A. J., & Campbell, K. H. (1997). Viable Offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, 385 (6619), 810-813.
- Wolf, D., Mitalipov, S., & Norgren, R. (2001). Nuclear Transfer Technology in Mammalian Cloning. *Archives of Medical Research*, 32 (6), 609-613.
- Xu, C. (2012). Differentiation and enrichment of cardiomyocytes from human pluripotent stem cells. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 52 (6), 1203-1212.
- Xu, C., Inokuma, M., Denham, J., Golds, K., Kundu, P., Gold, J., y otros. (2001). Feeder-free growth of undifferentiated human embryonic stem cells. *Nature Biotechnology*, 19 (10), 971-974.
- Xu, C., Jiang, J., Sottile, V., McWhir, J., Lebkowski, J., & Carpenter, M. (2004). Immortalized Fibroblast-Like Cells Derived from Human Embryonic Stem Cells Su-

- pport Undifferentiated Cell Growth. *Stem Cells*, 22 (6), 972-980.
- Xu, C., Police, S., Rao, N., & Carpenter, M. (2002). Characterization and Enrichment of Cardiomyocytes Derived From Human Embryonic Stem Cells. *Circulation Research*, 91 (6), 501-508.
- Xu, L., Qiao, C., Huang, S., Li, S., & Wu, X. (2000). Induction of embryonic stem cells to hematopoietic cells in vitro. *Chinese Science Bulletin*, 45 (18), 1-5.
- Xu, L., Xu, C.-j., Lü, H.-Z., Wang, Y.-X., Li, Y., & Lu, P.-H. (2010). Long-term Fate of Allogeneic Neural Stem Cells Following Transplantation into Injured Spinal Cord. *Stem Cell Review and Reproduction*, 6 (1), 121-136.
- Xu, R.-H., Sampsell-Barron, T., Gu, F., Root, S., Peck, R., Pan, G., y otros. (2008). NANOG Is a Direct Target of TGFb/Activin-Mediated SMAD Signaling in Human ESCs. *Cell Stem Cell*, 3 (2), 196-206.
- Yamanaka, S. (2012). Induced pluripotent stem cells: past, present and future. *Cell Stem Cell*, 10, 678-684.
- Yang, J.-R., Lin, Y.-T., & Liao, C.-H. (2011). Application of Embryonic Stem Cells on Parkinson's Disease Therapy. *Genomic Medicine and Biomarker Health*, 3 (1), 17-26.
- Yang, X., Smith, S., Tian, X., Lewin, H., Renard, J.-P., & Wakayama, T. (2007). Nuclear reprogramming of clones embryos and its implications for therapeutic cloning. *Nature Genetics*, 39 (3), 295-302.
- Yang, Z., & Wu, J. (2007). Micro RNAs and regenerative medicine. *DNA and Cell Biology*, 26 (4), 257-264.
- Yu, J., & Thomson, J. (2008). Pluripotent stem cell lines. *Genes & development*, 22 (15), 1987-1997.
- Zacharias, D. G. (2011). The science and ethics of induced pluripotency: what will become of embryonic stem cells? *Mayo Clinic Proceedings*, 7 (86), 634-40.
- Zhang, F., Citra, F., & Wang, D.-A. (2011). Prospects of Induced Pluripotent Stem Cell Technology in Regenerative Medicine. *Tissue Engineering*, 17-B (2), 115-124.
- Zhang, J., Wilson, G., Soerens, A., Koonce, C., Yu, J., Palecek, S., y otros. (2009). Functional Cardiomyocytes Derived From Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Circulation Research*, 104 (4), E30-E41.
- Zhang, S.-C., Wernig, M., Duncan, I., Brüstle, O., & Thomson, J. (2001). In vitro differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells. *Nature Biotechnology*, 19 (12), 1129-1133.
- Zhang, X.-Y., Yamanaka, S., Kim, S., Miura, K., & Iwao, H. (1999). NAT1, a homologue of the eukaryotic translation initiation factor 4G, is essential for cell differentiation and mouse development. *Japanese Journal of Pharmacology*, 79 (SUPPL.1), 163P.