
Células madre adultas
Adult stem cells

F. Prósper¹, C.M. Verfaillie²

RESUMEN

Uno de los campos de la medicina que más expectativas han levantado en los últimos años es la terapia celular con células madre. El aislamiento de células embrionarias humanas, la aparente e inesperada potencialidad de las células madre adultas y el desarrollo de la terapia génica nos lleva a imaginar un futuro esperanzador para un importante número de enfermedades actualmente incurables. A lo largo de las siguientes páginas vamos a tratar de dibujar el panorama de la investigación con células madre, describiendo los principales logros en este campo así como algunas de las preguntas pendientes de responder. A pesar de las grandes expectativas, es fundamental que mantengamos un espíritu crítico y realista a la hora de analizar los avances científicos en esta área.

Palabras clave. Células madre adultas. Transdiferenciación. Células embrionarias. Terapia celular. Regeneración celular.

ABSTRACT

One of the fields of medicine that has created the greatest expectations in recent years is cellular therapy with stem cells. The isolation of human embryo cells, the apparent and unexpected potential of adult stem cells, and the development of gene therapy lead us to imagine a hopeful future for a significant number of diseases that are at present incurable. In the following pages we offer a sketch of the panorama of research with stem cells, describing the main achievements in this field as well as some of the questions awaiting answers. In spite of the great expectations, it is essential that we maintain a critical and realistic spirit when it comes to analysing the scientific advances in this area.

Key words. Adult stem cells. Transdifferentiation. Embryo cells. Cellular therapy. Cellular regeneration.

An. Sist. Sanit. Navar. 2003; 26 (3): 345-356.

Servicio de Hematología y Área de Terapia Celular.

1. Clínica Universitaria. Universidad de Navarra.
 2. Stem Cell Institute, University of Minnesota.
- Aceptado para su publicación el 2 de octubre de 2003.

Felipe Prósper
Servicio de Hematología y Área de Terapia Celular
Clínica Universitaria
Avda. Pío XII, 36
31008 Pamplona
Tfno. 948 255400
Fax 948 296500
E-mail: fprosper@unav.es

INTRODUCCIÓN

En los últimos años hemos visto cómo las células madre o troncales han pasado de ser un concepto de interés científico principalmente en el campo de la biología del desarrollo, a ocupar tantas páginas en las revistas científicas como en la prensa. Los conocimientos que en este campo de la medicina se vienen produciendo de forma casi diaria ha disparado las expectativas de los enfermos y de los médicos de que las células madre vayan a contribuir a la curación de múltiples enfermedades humanas devastadoras como la diabetes, la enfermedad de Parkinson, el infarto de miocardio u otras muchas. En el centro del debate científico, político y ético se ha situado la utilización e investigación con células madre embrionarias. A lo largo de las siguientes líneas discutiremos algunos conceptos básicos sobre lo que son las células madre, que se entiende por versatilidad de las células madre adultas y qué evidencias apoyan la existencia de células madre adultas pluripotenciales. Finalmente, comentaremos cuáles son algunas de las aplicaciones clínicas en desarrollo en la actualidad y cuál puede ser, al menos desde nuestro punto de vista, el futuro en este campo.

CELULAS MADRE, POTENCIALIDAD Y VERSATILIDAD

Una célula madre o troncal es aquella que es capaz de dividirse indefinidamente y diferenciarse a distintos tipos de células especializadas, no sólo morfológicamente sino también de forma funcional (Fig. 1). Las células madre se pueden clasificar

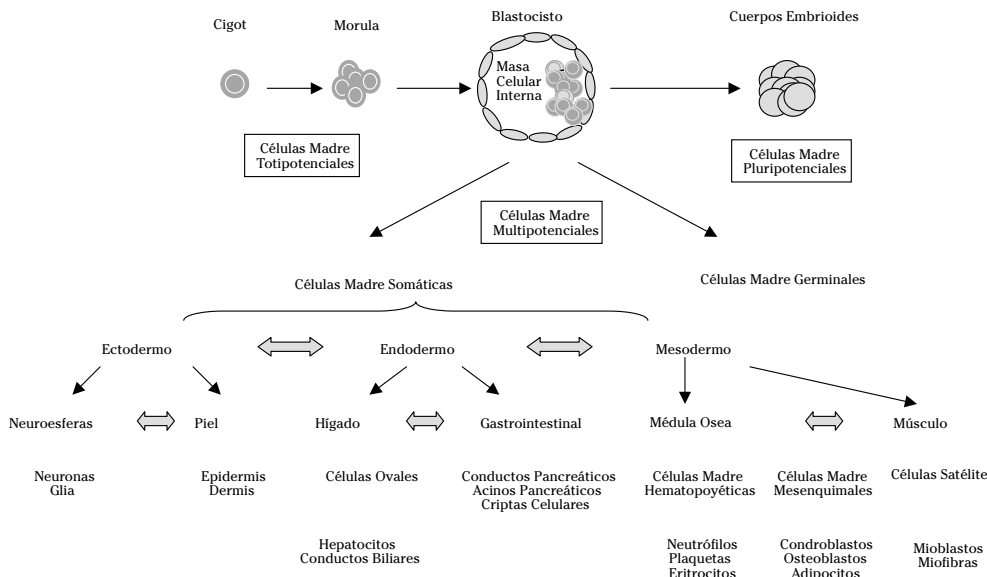


Figura 1. Modelo jerárquico de las células madre de acuerdo con su potencial.

según su potencial de diferenciación: las células madre totipotenciales son capaces de producir tejido embrionario y extraembrionario; las células madre pluripotenciales tienen la habilidad de diferenciarse a tejidos procedentes de cualquiera de las tres capas embrionarias y, por último, las células madre multipotenciales, son capaces de diferenciarse a distintos tipos celulares procedentes de la misma capa embrionaria¹.

Tradicionalmente se han considerado a las células madre embrionarias como células pluripotenciales, a diferencia de las células madre adultas que se han caracterizado sólo como multipotenciales. Sin embargo, trabajos publicados recientemente sugieren que la potencialidad de algunos tipos de células madre adultas podría ser mayor de lo esperado, existiendo células troncales pluripotenciales en algunos órganos adultos con capacidad de diferenciarse en tejidos derivados de cualquiera de las capas embrionarias^{2,3}. Es importante destacar que para que una célula madre pueda considerarse pluripotencial tiene que cumplir las siguientes condiciones: en primer lugar, una única célula debe ser capaz de diferenciarse a células especializadas procedentes de cualquier capa embrionaria; en segundo lugar, demostrar la funcionalidad *in vitro* e *in vivo* de las células a las que se han diferenciado y, finalmente, que se produzca un asentamiento claro y persistente de estas células en el tejido diana, tanto en presencia o ausencia de daño en los tejidos en los cuales se injerta. En estos momentos no existe ningún estudio que cumpla todos estos criterios de forma estricta, aunque algunos trabajos indican de manera bastante evidente la posible existencia de células madre adultas pluripotenciales^{2,3}.

La existencia de células madre adultas en distintos tejidos, incluyendo hematopoyético, neuronal, epidérmico, gastrointestinal, músculo esquelético, músculo cardíaco, hígado, páncreas o pulmón no admite controversia. Sin embargo, cada vez parece más evidente que las células madre adultas derivadas de estos órganos, no sólo pueden generar células maduras de dicho tejido sino también tejidos derivados de otras capas embrionarias, siendo el caso más típico el de las células madre hematopoyéticas capaces de diferenciarse a tejidos como hepatocitos⁴, músculo cardíaco⁵, endotelio³ o a tejidos derivados de las tres capas embrionarias⁶. Este fenómeno, denominado versatilidad o capacidad de transdiferenciación de las células madre adultas, no está exento de controversia, ya que mientras algunos estudios lo apoyan, otros trabajos recientes cuestionan la existencia de una auténtica versatilidad de las células, justificando algunos de los hallazgos de versatilidad en función de fenómenos de fusión celular⁷⁻⁹ o incluso cuestionando abiertamente los resultados experimentales¹⁰. En las siguientes líneas revisaremos los distintos tipos de células madres así

como algunas de las evidencias que apoyan la existencia de versatilidad y los mecanismos que la justifiquen.

CÉLULAS MADRE DE LA MÉDULA ÓSEA

Se han descrito diferentes tipos de células madre en la médula ósea: hematopoyéticas (HSC)¹, mesenquimales (MSC)¹¹, las llamadas *Side Population Cells* (SP)¹² y recientemente las células progenitoras adultas multipotenciales o MAPCs¹³.

Células madre hematopoyéticas (HSC)

Las HSC han sido identificadas tanto *in vitro* como *in vivo* por varios laboratorios y utilizadas clínicamente desde hace más de 50 años. El trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos ha demostrado definitivamente que existen células madre multipotenciales hematopoyéticas en la médula ósea y en la sangre periférica¹⁴. Mientras que en animales de experimentación es posible aislar e identificar las HSC, en el hombre no se ha podido identificar de igual modo la célula responsable de la regeneración del resto de líneas celulares hematopoyéticas, entre otras cosas porque la demostración definitiva de las células madre hematopoyéticas depende de la realización de experimentos de repoblación, que obviamente no se pueden realizar en humanos.

Además del potencial hematopoyético, diversos trabajos recientes indican que las HSC bajo ciertas circunstancias pueden ser más potentes de lo esperado dando lugar a tejidos derivados de distintas capas embrionarias. Las células madre hematopoyéticas de médula ósea y de sangre periférica son capaces de contribuir a la angiogénesis y vasculogénesis *in vivo* de tal forma que las células CD34⁺ no sólo contienen progenitores hematopoyéticos sino también células progenitoras endoteliales. Hoy en día se acepta que existe un progenitor común endotelial y hematopoyético (hemangioblasto), lo cual vendría apoyado por estos hallazgos de la potencialidad endotelial de las células troncales hematopoyéticas de la médula ósea³. También se han publicado recientemente trabajos que apoyarían la capacidad de las HSC de diferenciarse en células de músculo cardíaco. El grupo de Orlic y Anversa han demostrado, en un modelo de infarto de miocardio murino, que una inyección de células de médula ósea Lin⁻ y c-kit⁺ (fenotipo de marcadores de superficie típico de HSC) en el corazón dañado, resulta de la colonización de estas células en más de la mitad del área infartada. Estas posibles HSC adquirieron un fenotipo característico de células de miocardio y contribuyen a la mejora y supervivencia de los animales⁵. La contribución de las células madre adultas a la regeneración cardíaca ha sido sugerida en modelos de trasplante cardíaco en humanos:

en un grupo de pacientes varones trasplantados con corazones de donantes mujer, el análisis de biopsias cardíacas permitió identificar que un porcentaje de entre el 7-10% de los cardiomiocitos provenían del propio receptor ya que en ellos se podía identificar el cromosoma Y¹⁵. Aunque el origen de dichas células no se pudo determinar, claramente estos hallazgos sugieren la capacidad de células adultas de diferenciarse a tejido cardíaco. Es necesario, sin embargo, establecer una nota de precaución en relación con muchos de los trabajos existentes en este campo y es que los resultados experimentales de ciertos trabajos no han podido ser reproducidos por otros grupos. Estas discrepancias pueden deberse a diferencias en los modelos experimentales, las técnicas de laboratorio o incluso al entusiasmo de los investigadores. Sirva el ejemplo de que mientras que en el trabajo que hemos mencionado el porcentaje de quimerismo era del 7-10%, 4 trabajos adicionales utilizando un modelo muy similar han encontrado que el nivel de quimerismo oscila entre el 0-1%¹⁶.

Basándose en que las células ovales (células madre hepáticas) expresan marcadores de superficie tradicionalmente asociados a HSC (c-kit, flt-3, Thy-1 y CD34), se ha sugerido que éstas podrían diferenciarse a células ovales y hepatocitos. El grupo de Lagasse y col han demostrado que células madre hematopoyéticas de médula ósea con el fenotipo Lin⁻, c-kit⁺, Thy-1, Sca-1 son capaces de regenerar un hígado murino en un modelo de daño hepático fulminante⁴ mientras que utilizando modelos de quimerismo en pacientes sometidos a trasplantes de médula ósea o de hígado, y aprovechando la posibilidad de utilizar el cromosoma Y como marcador del origen de la célula, también se ha podido demostrar que un porcentaje de hepatocitos provienen de células madre de origen no hepático^{17,18}.

El potencial de las HSC para adquirir características de músculo esquelético, neuronas adultas así como células de la glía, y de contribuir a otros tejidos como el epitelio pulmonar, gastrointestinal, renal o a la piel ha sido descrito recientemente principalmente *in vivo*¹⁹. A pesar de todos estos esfuerzos, ninguno de los estudios publicados hasta el momento demuestra que una única célula madre hematopoyética contribuya de forma robusta y funcional a la regeneración de un tejido distinto del hematopoyético y por tanto en sentido estricto no cumple los criterios necesarios para hablar de versatilidad. Cada uno de los trabajos mencionados pueden ser criticados en este sentido. Sin embargo, si tomamos los estudios de forma conjunta, sí que aportan evidencias de la existencia de HSC con estas características y potencialidades^{3-6,20}.

Células madre mesenquimales (MSC)

La médula ósea también contiene células madre mesenquimales, también denominadas células madre estromales o

MSC. En los últimos años se han descrito distintos marcadores de superficie que han permitido identificar y aislar células MSC, tales como SH2, SH3, CD29, CD44, CD71, CD90 y CD106²¹. Las MSC no expresan antígenos de superficie típicos de las HSC, como CD34, CD45 o CD14. Experimentos recientes han demostrado *in vitro* que las MSC son capaces de diferenciarse a tejidos mesodérmicos funcionales, como osteoblastos, condroblastos, adipocitos y mioblastos esqueléticos¹¹.

Varios grupos afirman haber conseguido diferenciar MSC a células derivadas del neuroectodermo, basándose en la adquisición de ciertos marcadores de origen neuronal por parte de dichas células cuando son sometidas a sistemas de cultivo específicos. Sin embargo, los autores no llegan a demostrar que estas células adquieran características funcionales similares a neuronas o células de la glía²². A pesar de su probada multipotencialidad mesodérmica y de su habilidad para diferenciarse a neuroectodermo, las MSC no se diferencian a tejido derivado del endodermo y, por lo tanto, no se pueden considerar células madre pluripotenciales. Las MSC constituyen un modelo muy útil en aplicaciones clínicas para un número de enfermedades, tanto en terapia regenerativa como en terapia génica²³.

Células “side population” (SP)

Las llamadas células SP han sido aisladas tanto a partir de médula ósea como de músculo utilizando técnicas de citometría de flujo (FACS). Se sabe que las SP son capaces de diferenciar a HSC en humanos, roedores y otras especies^{12,24}. Además algunos estudios describen que las SP podrían dar lugar a otros tipos de células especializadas e integrarse en distintos tejidos *in vivo*. Así, el grupo de Jackson y col demostró en 1999 que las SP podían diferenciar a células con características de músculo cardíaco y endotelio en un modelo murino de infarto de miocardio²⁴.

Células progenitoras multipotenciales adultas (MAPC)

Esta población celular de la médula ósea ha sido descrita recientemente por el grupo de Catherine Verfaillie². Su descubrimiento ha suscitado la atención del mundo científico ya que se han descrito como auténticas células pluripotenciales con una capacidad diferenciadora muy similar a las células madre embrionarias. Las MAPCs han sido aisladas tanto de médula humana como murina. Estas MAPCs son capaces de proliferar *in vitro* más de 120 divisiones celulares sin un aparente envejecimiento ya que mantienen unos niveles altos de telomerasa durante todo el tiempo de cultivo. Se ha descrito que las MAPCs no expresan CD34, CD44, MHC I, MHC II, CD45 y c-kit; expresan niveles bajos de Flk-1, Sca-1 y Thy-1, y altos

de CD13, SSEA-1 (ratón/rata) y SSEA-4 (humano). Al igual que las células madre embrionarias, en las MAPCs se detecta la activación de los factores de transcripción Oct-4 nanog y Rex-1, factores que son necesarios para mantener la célula en un estado proliferativo e indiferenciado. Además se han realizado experimentos de clonaje que prueban que es una única célula la que es capaz de diferenciarse a tejidos procedentes de cualquiera de las tres capas embrionarias (endodermo, mesodermo o ectodermo). *In vitro*, las MAPCs pueden ser inducidas a diferenciar a tejidos derivados del mesodermo como hueso, cartílago, adipocitos, músculo esquelético, estroma hematopoyético o endotelio. Pero de momento no han sido capaces de diferenciar a tejido hematopoyético maduro o cardiomiocitos. Estas células también han sido capaces de diferenciar a hepatocitos y funcionar como tales, ya que son capaces de producir urea, albúmina, inducir el citocromo p450 con fenobarbital y almacenar glucógeno. La diferenciación de las MAPCs a tejidos derivados del ectodermo como neuronas, astrocitos y oligodendrocitos también ha sido demostrada *in vitro*²⁵.

Aunque el proceso de aislamiento de las MAPC todavía es largo y laborioso, y aún no se han publicado experimentos que prueben que no existen fusiones celulares, estos experimentos con MAPCs son los que más se han aproximado a la demostración de la existencia de células madre pluripotenciales, mostrando su potencialidad no sólo en el campo terapéutico, sino como un instrumento para poder comprender mejor los eventos que inducen a las células madre a la diferenciarse.

PLURIPOTENCIALIDAD Y CÉLULAS MADRE NO DERIVADAS DE LA MÉDULA ÓSEA

La existencia de células madre en diferentes tejidos como el sistema nervioso central, hígado, corazón, piel y músculo no admite controversia. La visión tradicional de que órganos como el corazón o el sistema nervioso central no son capaces de regenerarse ya que carecen de células con potencial de proliferar y diferenciarse han quedado claramente obsoletos. Sin embargo, por limitaciones de espacio, no vamos a entrar en detalle en los distintos tipos de células madre, sino que exclusivamente vamos a hacer una breve referencia a algunos estudios que indican la posibilidad de que células madre obtenidas de alguno de estos órganos tengan un mayor potencial del esperado, es decir que existan células pluripotenciales en estos órganos. Los argumentos tanto contrarios como a favor de la versatilidad de las células madre derivadas de tejidos adultos, que hemos mencionado en el párrafo anterior, son también válidos en este caso.

Uno de los mejores experimentos donde se prueba la existencia de células madre adultas pluripotenciales de origen

neural y su capacidad diferenciadora fue el publicado por el grupo de Clarke y col²⁶. Este grupo inyectó células madre neuronales o neuroesferas procedentes de un ratón transgénico para el gen reportero LacZ en embrión de ratón. Aproximadamente el 25% de los embriones presentaban quimerismo no sólo en el tejido neuronal, sino también en tejidos del mesodermo y del endodermo. Cuando estas mismas neuroesferas fueron inyectadas dentro de un blastocito de ratón, la contribución se extendió al sistema nervioso central, corazón, hígado, intestino y otros tejidos. Debido a que los animales no fueron evaluados después del nacimiento, no se pudo realizar una valoración objetiva de la funcionalidad de las células donadas.

El grupo de Qu-Petersen y col²⁷ ha sido capaz de aislar diferentes poblaciones de células madre musculares murinas basándose en su capacidad de adhesión y proliferación. Estas células pueden mantenerse en cultivo durante más de 60 divisiones celulares sin anormalidades cromosómicas siendo capaces de diferenciarse *in vitro* e *in vivo* a endotelio, músculo, y células del linaje neuronal. Una vez más la crítica que los investigadores hacen es la ausencia de experimentos clonales que prueben que es una única célula y no una población heterogénea la causante del potencial diferenciador.

De la epidermis humana y murina se han aislado células madre con capacidad de diferenciarse a células especializadas procedentes de dos capas embrionarias distintas. Estas células se pueden mantener en cultivo durante más de 12 meses sin diferenciarse y se puede inducir diferenciación *in vitro* a neuroectodermo (neuronas y células de la glía) o a linajes mesodérmicos (adipocitos y músculo liso). Su potencial de diferenciación a tejidos derivados del ectodermo y mesodermo ha sido demostrado a nivel clonal, pero no existen evidencias de una multipotencialidad *in vivo* y tampoco que los tejidos diferenciados sean funcionales. Además el porcentaje de las células con características morfológicas neuronales o mesodérmicas es menor al 10%²⁸.

De forma casi continua aparecen nuevos estudios en los que se aíslan células madre a partir de tejidos adultos con capacidad multipotencial. Uno de los trabajos que más expectativas ha levantado sugiere que es posible aislar en el músculo cardíaco, células madre multipotenciales capaces de diferenciarse *in vitro* e *in vivo* a cualquiera de los tejidos necesarios para reconstituir un corazón dañado, esto es endotelio, músculo liso y músculo cardíaco²⁹. Incluso más sorprendente es el hecho de que dichas células son fácilmente identificables en el corazón gracias a la expresión de c-kit junto con la ausencia de expresión de marcadores específicos de línea (c-kit⁺, Lin⁻). Si estos resultados pudieran ser reproducidos

por otros grupos en animales así como en humanos, las perspectivas terapéuticas serían enormes.

VERSATILIDAD, FUSION CELULAR Y CÉLULAS MADRE ADULTAS

A pesar de los múltiples estudios publicados que sugieren la existencia de células madre adultas pluripotenciales o incluso de la capacidad de ciertas células madre de transdiferenciarse, existen importantes interrogantes e incluso nuevas evidencias científicas que han cuestionado la verdadera naturaleza de estos fenómenos de diferenciación: quizá la pregunta fundamental radica en cuál es el posible mecanismo(s) que justifica las observaciones que hemos comentado. Cuatro serían las hipótesis que se barajan en la actualidad (Fig. 2). 1- La mayor parte de los estudios publicados hasta el momento que sugieren la existencia de células madre adultas pluripotenciales no han sido capaces de demostrar esta potencialidad a nivel clonal, es decir, una única célula dando origen a dos poblaciones celulares diferentes. En este sentido es posible que muchas de las observaciones realizadas, correspondan realmente a la heterogeneidad de las células estudiadas, pudiendo existir diversas células madre en la misma población, cada una con distintas capacidades. En este sentido, sin embargo, si existen trabajos en los que se demuestra a nivel clonal, la potencialidad de las células madre identificadas^{3,13}. 2- Varios trabajos recientes han demostrado que al menos algunas de las observaciones de pluripotencialidad podrían estar

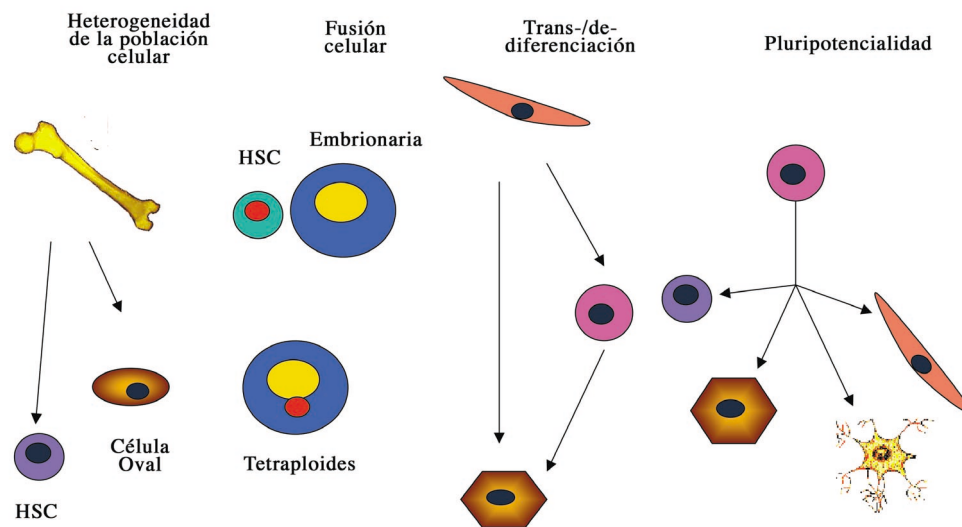


Figura 2. Posibles mecanismos de “potencialidad” de las células madre adultas.

justificadas por procesos de fusión entre las células madre transplantadas y las células residentes^{7,9}. El fenómeno de fusión se suele acompañar con la formación de células con características de ambas poblaciones fusionadas y generalmente con doble dotación cromosómica, lo que induce una desventaja proliferativa. La existencia del fenómeno de fusión es indudable y la pregunta que cabe hacer es si podría justificar todas las observaciones de pluripotencialidad realizadas hasta la fecha, lo cual parece poco probable, e incluso hasta qué punto este fenómeno puede ser ventajoso para la regeneración de un órgano o tejido^{8,30}. 3- De igual forma que durante el proceso de clonación, el núcleo de la célula somática sufre un proceso de reprogramación, es posible que las células madre adultas, en determinadas circunstancias, puede dediferenciarse para posteriormente diferenciarse hacia células de distinta estirpe^{31,32}. 4- Finalmente, es posible que en el organismo adulto persistan células madre indiferenciadas, remanentes de tejido embrionario con capacidad pluripotencial.

CONCLUSIÓN

A pesar de todas las controversias existentes en este campo, no cabe duda de que la utilización de células madre en el futuro ha despertado unas enormes expectativas. Bien como materia prima para terapia regenerativa de enfermedades hasta ahora incurables como la enfermedad de Parkinson, diabetes o enfermedades cardíacas crónica o bien como vehículo de terapia génica, sólo hemos empezado a imaginar las posibilidades terapéuticas de las células madre. Sin embargo, es fundamental recordar que para conseguir que las células madre se trasformen en una realidad terapéutica es imprescindible continuar haciendo investigación rigurosa y estricta que nos permita llegar a conclusiones. A pesar de la presión social, es imprescindible que ni los científicos, ni los políticos, ni los periodistas ni la sociedad en general levanten expectativas que lejos de la realidad, llevaran a la frustración y desencanto de los enfermos.

BILIOGRAFÍA

1. WEISSMAN IL, ANDERSON DJ, GAGE F. Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001; 17: 387-403.
2. JIANG Y, VAESSEN B, LENVIK T, BLACKSTAD M, REYES M, VERFAILLIE CM. Multipotent progenitor cells can be isolated from postnatal murine bone marrow, muscle, and brain. *Exp Hematol* 2002; 30: 896-904.
3. GRANT MB, MAY WS, CABALLERO S, BROWN GA, GUTHRIE SM, MAMES RN et al. Adult hematopoietic stem cells provide functional hemangioblast activity during retinal neovascularization. *Nat Med* 2002; 8: 607-612.
4. LAGASSE E, CONNORS H, AL-DHALIMY M, REITSMA M, DOHSE M, OSBORNE L et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med* 2000; 6: 1229-1234.

5. ORLIC D, KAJSTURA J, CHIMENTI S, JAKONIUK I, ANDERSON SM, LI B et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701-705.
6. KRAUSE DS, THEISE ND, COLLECTOR MI, HENEGARIU O, HWANG S, GARDNER R et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001; 105: 369-377.
7. TERADA N, HAMAZAKI T, OKA M, HOKI M, MASTALERZ DM, NAKANO Y et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature* 2002; 416: 542-545.
8. WANG X, WILLENBRING H, AKKARI Y, TORIMARU Y, FOSTER M, AL-DHALIMY M et al. Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature* 2003; 422: 897-901.
9. YING QL, NICHOLS J, EVANS EP, SMITH AG. Changing potency by spontaneous fusion. *Nature* 2002; 416: 545-548.
10. WAGERS AJ, SHERWOOD RI, CHRISTENSEN JL, WEISSMAN IL. Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. *Science* 2002; 297: 2256-2259.
11. PITTINGER MF, MACKAY AM, BECK SC, JAISWAL RK, DOUGLAS R, MOSCA JD et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-147.
12. ASAKURA A, SEALE P, GIRGIS-GABARDO A, RUDNICKI MA. Myogenic specification of side population cells in skeletal muscle. *J Cell Biol* 2002; 159: 123-134.
13. JIANG Y, JAHAGIRDAR BN, REINHARDT RL, SCHWARTZ RE, KEENE CD, ORTIZ-GONZALEZ XR et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418: 41-49.
14. ARMITAGE JO. Medical progress: bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 1994; 330: 827-838.
15. QUAINI F, URBANEK K, BELTRAMI AP, FINATO N, BELTRAMI CA, NADAL-GINARD B et al. Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med* 2002; 346: 5-15.
16. LAFLAMME MA, MYERSON D, SAFFITZ JE, MURRY CE. Evidence for cardiomyocyte repopulation by extracardiac progenitors in transplanted human hearts. *Circ Res* 2002; 90: 634-640.
17. THEISE ND, NIMMAKAYALU M, GARDNER R, ILLEI PB, MORGAN G, TEPERMAN L et al. Liver from bone marrow in humans. *Hepatology* 2000; 32:11-16.
18. KORBLING M, KATZ RL, KHANNA A, RUIFROK AC, RONDON G, ALBITAR M et al. Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells. *N Engl J Med* 2002; 346: 738-746.
19. MARTIN-RENDON E, WATT SM. Stem cell plasticity. *Br J Haematol* 2003; 122: 877-891.
20. LABARGE MA, BLAU HM. Biological progression from adult bone marrow to mononucleate muscle stem cell to multinucleate muscle fiber in response to injury. *Cell* 2002; 111: 589-601.
21. DEANS RJ, MOSELEY AB. Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. *Exp Hematol* 2000; 28: 875-884.
22. SANCHEZ-RAMOS J, SONG S, CARDOZO-PELAEZ F, HAZZI C, STEDEFORD T, WILLING A et al. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro. *Exp Neurol* 2000; 164: 247-256.
23. KOC ON, LAZARUS HM. Mesenchymal stem cells: heading into the clinic. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27: 235-239.
24. JACKSON KA, MAJKA SM, WANG H, POCIUS J, HARTLEY CJ, MAJESKY MW et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest* 2001; 107: 1395-1402.
25. JIANG Y, HENDERSON D, BLACKSTAD M, CHEN A, MILLER RF, VERFAILLE CM. Neuroectodermal differentiation from mouse multipotent adult progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100 Suppl 1: 11854-11860.

26. CLARKE DL, JOHANSSON CB, WILBERTZ J, VERESS B, NILSSON E, KARLSTROM H et al. Generalized potential of adult neural stem cells. *Science* 2000; 288: 1660-1663.
27. QU-PETERSEN Z, DEASY B, JANKOWSKI R, IKEZAWA M, CUMMINS J, PRUCHNIC R et al. Identification of a novel population of muscle stem cells in mice: potential for muscle regeneration. *J Cell Biol* 2002; 157: 851-864.
28. TOMA JG, AKHAVAN M, FERNANDES KJ, BARNABE-HEIDER F, SADIKOT A, KAPLAN DR et al. Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 778-784.
29. BELTRAMI AP, BARLUCCHI L, TORELLA D, BAKER M, LIMANA F, CHIMENTI S et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 2003; 114: 763-776.
30. VASSILOPOULOS G, WANG PR, RUSSELL DW. Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature* 2003; 422: 901-904.
31. RIDEOUT WM, 3RD, EGGAN K, JAENISCH R. Nuclear cloning and epigenetic reprogramming of the genome. *Science* 2001; 293: 1093-1098.
32. ODELBERG SJ, KOLLHOFF A, KEATING MT. Dedifferentiation of mammalian myotubes induced by *msx1*. *Cell* 2000; 103: 1099-1109.