



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO: Células madre en medicina regenerativa.

Autor: Noelia Domínguez Martín

D.N.I.: 70065773-E

Yolanda Hernández Hermida

D.N.I.: 04631632-F

Tutor: Margarita Fernández García de Castro

Convocatoria: Junio 2016

ÍNDICE

1. Resumen/Abstract	3
2. Introducción	4-5
3. Objetivos	6
4. Material y métodos	6
5. Resultados	6-18
5.1. Diabetes.....	6-7
5.2. Enfermedades renales.....	7-9
5.3. Enfermedades del tracto urinario.....	9-10
5.4. Enfermedades digestivas.....	11-12
5.5. Trastornos neurológicos.....	13-15
5.6. Alteraciones pulmonares.....	15-16
5.7. Enfermedades cardiovasculares.....	16-17
5.8. Trasplante de precursores hematopoyéticos.....	17
5.9. Otros.....	18
6. Conclusiones	19
7. Bibliografía	20

ABREVIATURAS

-Células madre adultas (ASC)	-Células madre de líquido amniótico (AFSC)
-Células madre embrionarias (ESC)	-Células madre derivadas de músculo (MDSC)
-Células madre pluripotentes inducidas (iPSC)	-Células madre derivadas de tejido adiposo (ADSC)
-Células madre epiteliales (EPSC)	-Células madre hematopoyéticas (HSC)
-Célula precursora endotelial circulante (EPC)	-Células madre neurales (NSC)
-Células madre mesenquimales (MSC)	
-Células madre mesenquimales derivadas de médula ósea (BM-MSC)	

1. RESUMEN/ABSTRACT

Uno de los campos de la medicina que más expectativas ha levantado en los últimos años es la medicina regenerativa dentro de la cual se encuadra la terapia celular basada en el empleo de células madre. El aislamiento de células madre embrionarias humanas, la aparente e inesperada potencialidad de las células madre adultas (células madre mesenquimales, células madre derivadas de médula ósea...), y el desarrollo de células madre pluripotentes inducidas, nos lleva a imaginar un futuro esperanzador para un importante número de enfermedades, actualmente, incurables tales como enfermedades neurodegenerativas, enfermedades cardíacas... Aunque, se han publicado numerosos estudios, algunas cuestiones que conciernen a las células madre aún están siendo debatidas, tales como: los mecanismos moleculares de diferenciación, los métodos para prevenir la formación de teratomas tras el trasplante o las cuestiones éticas o religiosas que conciernen, especialmente, a la investigación con células madre embrionarias. 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.

Palabras clave: Células madre, Terapia celular, Medicina regenerativa, Células madre embrionarias, Células madre pluripotentes inducidas, Células madre adultas.

One of the fields of medicine that has raised more expectations in recent years is regenerative medicine in which the cell therapy based on the use of stem cells highlights. The isolation of human embryo stem cells, the apparent and unexpected potentiality of adult stem cells (mesenchymal stem cells, bone marrow stem cells...) and the development of induced pluripotent stem cells (iPSCs) lead us to imagine a hopeful future for a significant number of diseases that at present are incurable such as: neurodegenerative diseases, cardiac diseases... Although multiple studies were published, several issues concerning the stem cells are still debated, such as: the molecular mechanisms of differentiation, the methods to prevent teratoma formation or the ethical and religious issues regarding especially the embryonic stem cell research. In this review we will sketch out the panorama of stem cell research, describing the main achievements in this field as well as some of the questions that await an answer.

Key words: Stem cells, Cell therapy, Regenerative medicine, Human embryo stem cells, Induced pluripotent stem cells, Adult stem cells

2. INTRODUCCIÓN^{8, 18}

Durante los últimos años, el aumento de la esperanza de vida y el consecuente envejecimiento de la población ha dado lugar a la aparición de nuevas enfermedades a menudo complejas y crónicas muchas de ellas de difícil tratamiento. Debido a ello, la medicina moderna está intentando desarrollar nuevas técnicas terapéuticas que puedan aplicarse en estas enfermedades prescindiendo de tratamientos farmacológicos de por vida. En este contexto nace la medicina regenerativa.

Aunque no se ha establecido una definición clara de **medicina regenerativa**, ésta podría definirse como un campo emergente e interdisciplinario que tiene como objetivos la regeneración de células de tejidos u órganos dañados, estructural o funcionalmente, como consecuencia del envejecimiento, enfermedad, daño o defecto congénito. Para ello, utiliza distintos abordajes tecnológicos basados en la tecnología de las células madre, moléculas solubles que tienen efectos sobre estas células e ingeniería de tejidos entre otros.

Actualmente, la medicina regenerativa ha obtenido buenos resultados en el tratamiento de diversas enfermedades. Sin embargo, a pesar de las prometedoras expectativas de ésta, son muchas las aplicaciones que todavía no se han llevado a cabo debido a la falta de los conocimientos necesarios para el desarrollo de las mismas.

Los avances en el campo de la medicina regenerativa se han vinculado estrechamente con los nuevos conocimientos adquiridos sobre las células madre y su capacidad de convertirse en células de diferentes tejidos, lo cual ha contribuido significativamente a calificarlas como el pilar central de la medicina regenerativa.

Las **células madre** son aquellas que se caracterizan por su capacidad de diferenciación (plasticidad) en distintos tipos celulares en condiciones específicas y señales apropiadas, y capacidad de división (auto-renovación) durante un periodo indefinido de tiempo. Según su potencial de diferenciación, las células madre pueden clasificarse en distintos tipos:

- Las **células madre totipotentes** son aquellas que pueden dar lugar a todos los tipos celulares. Únicamente el cigoto y las descendientes de las dos primeras divisiones son células totipotenciales ya que tienen la capacidad de formar tanto el embrión como el trofoblasto de la placenta.
- Las **células madre pluripotentes** son las células de la masa celular interna del blastocisto y pueden diferenciarse en las tres líneas germinales (endodermo, mesodermo y ectodermo), pero pierden la capacidad de formar la placenta.
- Las **células madre multipotentes** son células capaces de producir un rango limitado de linajes celulares diferenciados de acuerdo a su localización.

- Las **células madre oligopotententes** tienen una capacidad de diferenciación mucho más reducida que las células madre multipotentes como progenitores linfoides, mieloides, megacariocíticos y eritroides.
- Las **células madre unipotentes** solo dan lugar a un tipo de células.

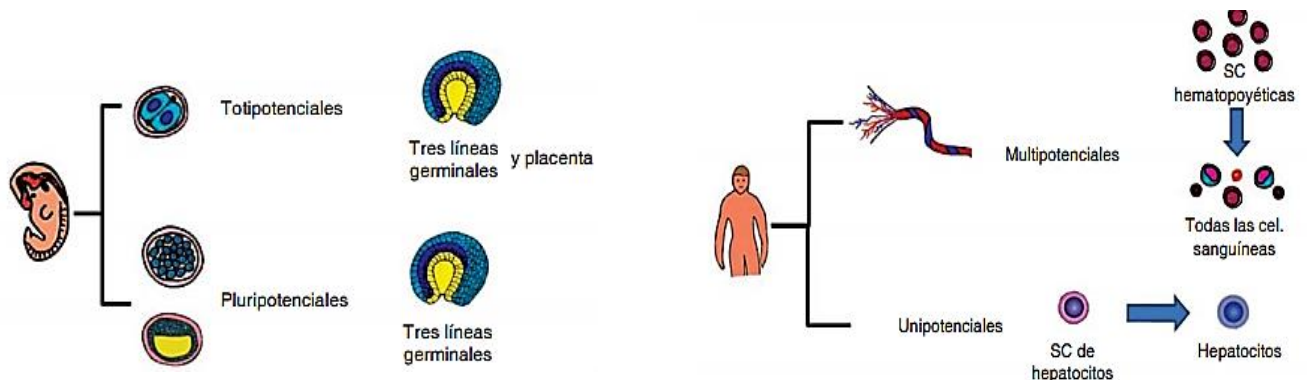


Figura 1: Clasificación de Stem cells de acuerdo a su diferenciación.

Otra posible clasificación atiende a su origen:

- **ASC:** engloban a las células madre multi, oligo y unipotentes y su función es la renovación de los distintos tejidos. Dentro de las ASC destacan **MSC**. Las MSC son células multipotentes que se pueden aislar a partir de diversos tejidos, incluida la grasa, la médula ósea, sangre del cordón umbilical, la pulpa dental, placenta y músculo.
- **ESC:** se caracterizan por su toti y pluripotencialidad. Su función es la generación de todos los tejidos.

Las ESC pueden cultivarse sin perder su plasticidad ni su capacidad de auto-renovación (si se cultivan con factores que eviten su diferenciación). Esto permite su manipulación *in vitro* para producir células precursoras especializadas para el tratamiento de diferentes enfermedades. Sin embargo, dada su capacidad de proliferación incontrolada pueden dar lugar al desarrollo de teratomas. Además, su obtención implica la destrucción del embrión con los consiguientes inconvenientes éticos.

Las ASC, a pesar de su menor plasticidad, destacan por su abundancia, su alto rendimiento y su obtención por métodos menos invasivos a partir de tejidos adultos. Además, su uso no conlleva problemas bioéticos y la probabilidad de inducir la formación de teratomas es menor.

En el año 2006, el Dr. Shinya Yamanaka mediante la inserción de cuatro genes activos en embriones logró la reprogramación de células somáticas obteniendo **iPSCs** cuya plasticidad es semejante a la de las ESC. De esta manera, se solventan las cuestiones bioéticas derivadas de la obtención de éstas, pero pueden surgir otros problemas como veremos más adelante.

Methods of induced pluripotent stem cell derivation

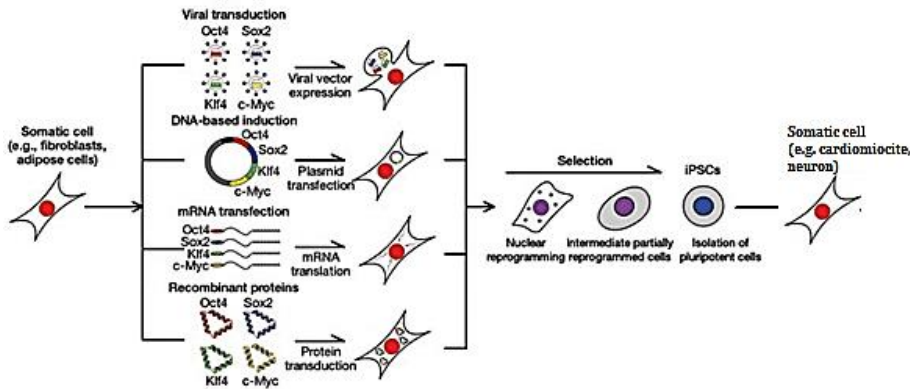


Figura 2: Reprogramación de iPSCs. Adaptado de www.nature.com.

3. OBJETIVOS

El objetivo de esta revisión bibliográfica es la recopilación de las terapias en las que actualmente se emplean células madre así como aquellas enfermedades en las que esta terapia está en investigación con resultados muy prometedores para su futura aplicación. No obstante, en el presente trabajo por razones de complejidad y alargamiento del mismo, no se ha incluido otro aspecto del empleo de células madre como es su uso en terapia génica lo cual constituye otro cuerpo de trabajo importante hoy en día como posible vía de solución a muchas enfermedades genéticas.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado una búsqueda bibliográfica en distintas bases de datos: pubmed, Scielo... en las que utilizando las siguientes palabras clave: *Células madre*, *Terapia celular*, *Medicina regenerativa*, *Células madre embrionarias*, *Células madre pluripotentes inducidas*, *Células madre adultas*, se han revisado unos 100 artículos de los cuales se han seleccionado 25 para la realización de este trabajo. Este trabajo ha sido realizado por dos autoras quienes han trabajado conjuntamente. Posteriormente se realizaron reuniones sucesivas para la puesta en común de ambas partes.

5. RESULTADOS

Se han realizado numerosos estudios en el campo de la medicina regenerativa que ofrecen buenas perspectivas, a largo plazo, para su futura aplicación en enfermedades crónicas que hoy en día tienen muy difícil tratamiento. Dentro de las enfermedades en las que se han detectado avances en la terapia con células madre destacan:

5.1. Diabetes ¹⁴

Esta enfermedad es una diana de la medicina regenerativa siendo la principal técnica empleada el reemplazamiento de las células β pancreáticas dañadas a partir de células madre:

1. EPSCs: a partir de estas células pueden obtenerse células β , sin embargo, éstas presentan fenotipo de células β inmaduras caracterizado por la incapacidad de secretar insulina en respuesta a altos niveles de glucosa, la no expresión de factores de transcripción de células β maduras y fenotipos

poli-hormonales anómalos. Se han desarrollado dos protocolos para mejorar la diferenciación de EPSCs obteniendo así células β maduras. El primero consiste en el enriquecimiento del medio con factores de transcripción específicos de células β maduras aumentando así la producción *in vitro* de éstas. El segundo implica la diferenciación *in vitro* de las EPSCs hacia el progenitor pancreático PDX1+ seguido de su implante permitiendo la maduración *in vivo* mediante el microambiente del receptor. En este caso, el periodo de maduración es mayor y la capacidad para disminuir la glucemia es limitada. El primer ensayo clínico en humanos que se va a llevar a cabo se basará en el segundo protocolo, implantando subcutáneamente progenitores pancreáticos PDX1+ microencapsulados, para evitar el rechazo inmune.

2. iPSCs: Mediante estas células se han obtenido, *in vitro*, células β maduras. Sin embargo, se desconoce si las células β obtenidas a partir de pacientes con diabetes conservan anormalidades moleculares que conducen a su eventual fallo (DM-II) o recurrencia de la autoinmunidad (DM-I).

3. Reprogramación celular directa: Algunos estudios han demostrado la efectividad de la reprogramación directa de células somáticas (hepatocitos, células de páncreas α , células exocrinas acinares) obteniendo células β maduras. Dado que con esta técnica se obtienen directamente células diferenciadas, se evitan los inconvenientes de las células IPSCs.

4. MSCs: actualmente, se emplean como coadyuvantes en terapias de regeneración de células β a por sus propiedades inmunomoduladoras y angiogénicas. Las *MSC obtenidas de médula ósea*, al cultivarse en presencia de altas concentraciones de glucosa, pueden diferenciarse en células productoras de insulina (IPC) las cuales, al ser implantadas en ratones hiperglucémicos, adquieren una estructura 3D que imita a los islotes pancreáticos, y son capaces de normalizar la glucemia pese a que la cantidad de insulina que producen es limitada. *Las MSC obtenidas de tejido adiposo* son unas buenas candidatas para la regeneración de las células β puesto que dicho tejido produce hormonas sensibilizadoras de insulina, y sus células madre poseen factores de transcripción importantes en el desarrollo pancreático endocrino. Por último, las *MSC obtenidas de cordón umbilical* no expresan MHC tipo II. Debido a ello, pueden contribuir a evitar el rechazo de otras células implantadas en combinación con ellas.

5.2. Enfermedades renales ^{9, 16}

➤ **Tratamiento con células madre:** Pueden obtenerse de diversas fuentes:

-ESC: pueden diferenciarse en células epiteliales de los túbulos renales. Además, a partir de las ESC del mesénquima metanéfrico se han conseguido desarrollar estructuras tridimensionales compuestas por glomérulos y túbulos renales. También se han realizado trasplantes de metanefronas embrionarias consiguiendo una estructura capaz de sintetizar EPO y renina, e incluso diferenciarse en nefronas funcionales.

-iPSCs: Se han realizado estudios con células iPSCs obtenidas a partir de células renales ya que podrían integrarse más fácilmente en el riñón debido a que conservan su memoria epigenética. A partir de estas células se ha conseguido obtener diferentes células renales (nefronas, vasculatura aparente). Además, las células iPS pueden proporcionar un modelo de la enfermedad y pueden emplearse en el desarrollo de fármacos. Por otro lado, se ha observado que a partir de la orina se pueden obtener células renales que posteriormente se reprograman a células iPSCs lo que supone un método barato y no invasivo de obtención de estas células.

-MSC:

Tabla 1: Aplicaciones de las MSCs en alteraciones renales

TIPO DE MSCS	VENTAJAS
MSCs de tejido adiposo	-Diferenciación a células epiteliales tubulares.
MSC de líquido amniótico	-Integración y regeneración del tejido renal.
MSCs de médula ósea (BM-SCs) + Células madre hematopoyéticas (HSCs)	-Su administración exógena en pacientes con insuficiencia renal aguda (IRA) mejora la recuperación funcional y estructural de los riñones.
BM-MSCs	-Diferenciación a células renales tubulares, podocitos, intersticiales, endoteliales, mesangiales. -Contribuyen a la regeneración renal mediante la secreción de factores tróficos.

Actualmente, se están desarrollando dos estudios para evaluar la seguridad del trasplante de BM-MSC alogénico en pacientes con insuficiencia renal aguda (IRA), y de la infusión de BM-MSCs, *ex vivo*, para reparar el riñón en pacientes con cánceres de órganos sólidos que desarrollan IRA después de la quimioterapia con cisplatino. Los resultados de estos ensayos serán fundamentales para la investigación futura y permitirán mejorar el proceso de trasplante de BM-MSCs en pacientes con IRA.

➤ **Creación de riñones bioartificiales.**

Se han empleado diversos materiales para el desarrollo de riñones bioartificiales, sin embargo, aún no se han dado resultados viables en terapia renal.

Tabla 2: Tipos de riñones bioartificiales desarrollados para el tratamiento de enfermedades renales

Tipo de andamio	Células empleadas	Aplicaciones
Membrana de gel de colágeno	Glomerulares, epiteliales y mesangiales	Construcción de tejido glomerular
Ácido hialurónico	Brote uretral y mesénquima metanefrónico	Derivación del brote uretral
Pericardio bobino (colágeno y elastina)	Células derivadas de médula ósea (MSC o células mononucleares)	Fallo renal crónico
Ácido poliglicólico	Clonado metanefrónico	Construcción de estructuras similares a riñón
Colágeno (Matrigel®)	Células renales (epiteliales, endoteliales y mesenquimales)	Reconstrucción renal
Matriz extracelular renal (riñón descelularizado)	Células no sembradas, células epiteliales y endoteliales y ESC	Regeneración renal completa

➤ **Tratamiento preventivo en neonatos con riesgo de padecer insuficiencia renal (IR)**

Existe evidencia de que los bebés prematuros y de bajo peso al nacer presentan elevado riesgo de oligonefronia la cual representa el factor predisponente más importante en el desarrollo de IR en la edad adulta. Por ello se están desarrollando diversos estudios para determinar si la terapia con células madre para conseguir el número adecuado de nefronas puede ser un método preventivo para evitar el desarrollo de IR en el adulto. Para ello se desarrolla una técnica que consiste en promover la auto-renovación y la diferenciación de células madre endógenas utilizando sustancias fisiológicas tales como T β 4.

5.3. Enfermedades del tracto urinario ^{11, 15}

➤ **Células madre para el reemplazo de la vejiga:**

Las técnicas actuales de reemplazo, ureterosigmoidostomía y neovejiga ileal ortotópica, presentan una elevada morbi-mortalidad debido a la incorporación de un segmento intestinal en el tracto urinario. Además, las construcciones quirúrgicas de vejiga carecen de capa muscular de modo que el paciente tiene que aprender técnicas de contracción de los músculos abdominales para eliminar la orina. Por ello, la búsqueda de nuevas terapias para la reconstrucción óptima de la vejiga es de suma importancia clínica. Recientemente, se han desarrollado diversos estudios basados en el empleo de andamios sembrados con *células autólogas musculares y epiteliales de vejiga*. Cuando estas células no están disponibles (cáncer), se emplean *ADSCs*, *BM-SCs* o *AFSCs*. En cualquier caso, no se ha obtenido un modelo de vejiga que imite la mecánica del músculo detrusor, proporcione una barrera similar a la mucosa urotelial e incorpore elementos neuronales.

También se han empleado células *iPSCs* reprogramadas a partir de fibroblastos, *células del estroma del tracto urinario* o *células de la orina* obteniendo células musculares y uroteliales.

➤ **Células madre para la incontinencia urinaria de esfuerzo**

La disfunción miccional engloba una amplia gama de trastornos urológicos, como la incontinencia urinaria de esfuerzo (IUE), cuyas terapias actuales proporcionan el alivio sintomático, sin embargo, no se centran en la etiología de la enfermedad. Recientemente, un método prometedor para restaurar la función de la micción actuando sobre la etiología de la patología, es el empleo de células madre. *BM-MSCs* son las más utilizadas en aplicaciones urológicas, sin embargo, su escasez, bajo rendimiento y la invasividad de las técnicas para su obtención ha llevado a la búsqueda de fuentes alternativas tales como *MDSCs*, *ADSCs* y *células derivadas de orina*. El empleo de células madre en la disfunción miccional se basaba en su capacidad de diferenciación la cual posibilitaba el reemplazo del tejido uretral lesionado. Sin embargo, investigaciones recientes demuestran que pocas células madre se injertan y permanecen a largo plazo en el tejido dañado, por lo tanto, ejercen su efecto

terapéutico a través de la secreción de factores bioactivos que activan a las células progenitoras del tejido diana promoviendo así su regeneración.

A continuación se recogen los estudios clínicos y preclínicos realizados en IUE:

Tabla 3: Resumen de los resultados obtenidos en ensayos preclínicos en IUE.

Ensayos preclínicos IUE				
Estudio	Stem cell	Diseño	Resultados	Conclusiones
<i>Chermansky et al. [2004b]</i>	MDSC	Cauterización de uretra para producir deficiencia intrínseca de esfínter en ratas hembras seguido de la inyección periuretral de MDSCs una semana después de la lesión.	Los ratas tratadas tenían un aumento significativo de la presión del punto de pérdida de orina en comparación con los controles. La tinción de tejidos mostró la integración MDSC en el músculo estriado uretral.	La inyección periuretral de MDSCs mejora la función del esfínter en ratas con deficiencia intrínseca de esfínter
<i>Lin et al. [2010]</i>	ADSC	Diseción uretral en ratas seguido de la inyección periuretral o intravenosa una semana después de la lesión	Las ratas tratadas tuvieron una incidencia menor de micción anormal en el análisis cistométrico. El análisis histológico mostró un mayor contenido de elastina uretral y de músculo liso.	La inyección de ADSCs es eficaz para el tratamiento de IUE
<i>Dissarana net al. [2013]</i>	MSC Secretoma	Disfunción uretral en ratas seguido de inyección intravenosa de MSCs o inyección periuretral de secretoma .	En las ratas tratadas con MSC como con secretoma, se produjo un aumento de presión del punto de pérdida de orina así como de las fibras de elastina y de músculo liso uretral.	El uso de secretoma puede representar una alternativa a la terapia con células madre en el tratamiento de IUE

Tabla 4: Resumen de los resultados obtenidos en ensayos clínicos de IUE

Ensayos clínicos IUE				
Estudio	Stem cell	Diseño	Resultados	Conclusiones
<i>Carr et al. [2008]</i>	MDSC	Inyección intraesfinterinana autóloga en 8 mujeres con IUE	La mejora se observó en 5 de las 8 mujeres en un tiempo medio de 16.5 meses. Una mujer logró la continencia total. No se detectaron eventos adversos graves.	La terapia local con MDSC puede representar un tratamiento eficaz para la IUE.
<i>Gotoh et al. [2013]</i>	ADSC	Inyección intraesfinteriana autóloga en 11 hombres con IUE persistente tras cirugía de próstata.	Los resultados mostraron una disminución del 59,8% del volumen de fuga en 24 horas. Un paciente logró la continencia total. La media de la presión de cierre uretral aumentó y la resonancia magnética demostró la presencia sostenida del tejido adiposo inyectado. No se produjeron eventos adversos.	La terapia local con ADSCs puede representar un tratamiento eficaz para la IUE después de la cirugía de próstata.

➤ Las células madre del cáncer de vejiga

Las *células madre adultas* están implicadas en el desarrollo del cáncer, su progresión y la recurrencia tras la terapia convencional. Varios grupos de investigación han sido capaces de aislar células madre en tumores de vejiga. Estas células han sido identificadas mediante diferentes marcadores, expresando principalmente CD44+ y CD47+. Estos hallazgos pueden posibilitar el desarrollo de una terapia dirigida contra las células madre del cáncer que permita erradicar el cáncer resistente a las

terapias convencionales y minimizar el riesgo de recurrencia. También permiten entender la carcinogénesis de vejiga y cómo los factores de riesgo dan lugar al inicio del proceso tumoral.

5.4. Enfermedades digestivas

➤ **Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII)** ^{1,4}

La terapia con células madre se está estudiando para inducir y mantener el estado de remisión, regenerar el epitelio de la mucosa y reconstituir la función normal del intestino.

Los primeros estudios se realizaron con **células madre hematopoyéticas (HSC)**. Esta terapia consiste en la ablación de la hematopoyesis endógena del paciente y el posterior trasplante de HSC autólogas/alógenicas eliminando de esta forma los linfocitos T reactivos, así como los linfocitos de memoria y consiguiendo el cese de la reacción inflamatoria. El trasplante alogénico es la opción más prometedora ya que podría corregir la predisposición genética a la enfermedad y restablecer la reacción inflamatoria mediante la generación de nuevos linfocitos auto-tolerante. Sin embargo, este tratamiento todavía implica cierto riesgo debido a la toxicidad de los regímenes de acondicionamiento y a la enfermedad de injerto contra el huésped (EICH).

Debido a estos inconvenientes, se han buscado otras alternativas siendo una de las más prometedoras la terapia con **MSCs**. Muchos estudios han demostrado la efectividad de las MSC de tejido adiposo, por ejemplo, en la curación de fistulas enterocutáneas, sin embargo, los resultados son contradictorios con las MSC obtenidas de médula ósea (BM-MS). Las ventajas que estas células presentan se resumen a continuación:

- ✓ Mayor seguridad y eficacia en pacientes con EICH.
- ✓ Se dirigen de forma selectiva a las áreas de lesión en la EII. A su vez, para aumentar el porcentaje de MSC que llegan al intestino se emplearon receptores y proteínas específicas. Una de estas proteínas es la efrina (Eph) así como los receptores de la misma que, además de aumentar el porcentaje de células en la zona de lesión, actúan como supresores de tumores controlando la replicación de las células intestinales.
- ✓ Amortiguan la inflamación ya que inhibe la proliferación y maduración de los linfocitos T citotóxicos y T cooperadores, células dendríticas, células NK y linfocitos B, y estimulan la producción de linfocitos T reguladores. De este modo pueden facilitar la regeneración de los tejidos dañados. Asimismo, se han descubierto ciertas moléculas (US6 y US11) que reducen la expresión de HLA I en las MSC reduciendo la expresión de linfocitos frente MSC así como la lisis por parte de las células NK. También se demostró que la expresión de otras proteínas (US2) reduce la lisis por parte del complemento. De este modo, se podría aumentar la resistencia del injerto en la zona de lesión y disminuir los rechazos en el trasplante alogénico.

Recientemente, se ha realizado un estudio con **unidades formadoras de colonias endoteliales derivadas de células de cordón umbilical humano** para favorecer la vasculogénesis que en esta enfermedad se encuentra alterada. Estas células son EphB2⁺ por lo que migran al intestino contribuyendo a la microvasculatura del mismo. Debido a ello, estas células pueden ser unos valiosos agentes terapéuticos solos o en combinación con las MSC.

➤ **Patologías hepáticas:** ²¹

Tabla 5: Tipos de células madre empleadas en diferentes patologías hepáticas.

Progenitor hepático adulto	Estudios para su maduración <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> Contribuyen a la regeneración del parénquima hepático y de las células de los conductos biliares.
SCs del hígado fetal	Se ha demostrado su capacidad de repoblación del hígado tras un trasplante. Dan lugar a hepatocitos maduros y células epiteliales de los conductos biliares.
ESCs	Reparación del tejido dañado por reemplazamiento de células hepáticas dañadas y por secreción de factores tróficos que estimulan la regeneración hepática fisiológica. Inconvenientes: no actúan como verdaderos hepatocitos, riesgo de rechazo inmunológico muy elevado. Posible uso en el estudio de mecanismos de diferenciación de los hepatocitos
iPSCs	Revierten el fallo hepático mortal Estimulan la regeneración hepática por a la elevada actividad antioxidante y las propiedades anti-apoptóticas que redujeron las áreas necrotizadas Futuros órganos autólogos a partir de injertos de iPS de donantes
EPSCs	Fomentan la secreción de factores de apoyo de los mecanismos de reparación endógena del hígado favoreciendo la supresión células radiadas hepáticas activadas, el aumento de la actividad de metaloproteinasa de la matriz, la regulación de la proliferación de hepatocitos y la angiogénesis.
MSCs	Capacidad de diferenciación en hepatocitos Señalización paracrina (liberación de factores tróficos e inmunorreguladores) que reducen la apoptosis de hepatocitos, inhiben citoquinas proinflamatorias, aumenta la proliferación de hepatocitos y disminuye la infiltración de células mononucleares en el hígado. Se emplean en: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Insuficiencia hepática: mejoran el daño hepático, reducen la mortalidad y tienen actividad inmunoreguladora debido a: ▪ Cirrosis hepática: inducen vías anti-inflamatorias y de regeneración y suprimen la activación linfocitos T-cooperadores patógenos de modo que: <ul style="list-style-type: none"> ○ Pueden integrarse en el hígado y mejoran la fibrosis disminuyendo la expresión de actina de músculo liso, reduciendo la deposición de colágeno y mejorando la recuperación de hepatocitos dañados ○ Inhiben la proliferación y activación de células radiadas hepáticas <i>in vitro</i> y mejoran la microcirculación del hígado fibrótico Se ha demostrado que la diferenciación previa a HLCs (células similares a hepatocitos), y el cultivo de MSC con factor de crecimiento fibroblástico (FGF) puede facilitar el injerto hepático, la proliferación de hepatocitos e induce la apoptosis de células hepáticas estrelladas Efecto secundario: potencial diferenciación a miofibroblastos. Se ha propuesto como solución la diferenciación previa a HLCs o la microencapsulación.
HSCs	Participan en la regeneración hepática diferenciándose en HLCs. Su infusión reduce la fibrosis hepática y mejora la supervivencia Contribuyen a la regeneración hepática gracias a la señalización paracrina que estimula los mecanismos de reparación y la diferenciación de las células progenitoras hepáticas.
Ingeniería hepática	Ingeniería de tejidos implantables: obtenidos por la inmovilización o encapsulación de las células en andamios de biomateriales formando estructuras 3D que se implantan junto a un medio de inducción adecuado para promover la diferenciación de las MSC a HLCs. Dispositivos BAL: contienen hepatocitos funcionales que secretan moléculas que apoyan la función hepática y eliminan las toxinas circulantes. Limitado por la escasez de donantes y la complejidad de la función hepática. Por ello se emplean hepatocitos derivados de ESC que mejoran la función hepática y prolonga la supervivencia

5.5 Trastornos neurológicos

➤ Esclerosis múltiple (EM): ⁸

Se está estudiando el empleo de células madre para frenar la progresión de la enfermedad:

1. NSC: se están realizando estudios con estas células debido a su capacidad de auto-renovación, multipotencialidad y su capacidad para migrar largas distancias pero debe demostrarse su eficacia clínica y su seguridad.

2. MSC: son capaces de diferenciarse en células que expresan marcadores neuronales y gliales:

Tabla 6: Resultados obtenidos en los estudios realizados con MSCs en Esclerosis Múltiple.

Estudios relacionados con el uso de MSCs en Esclerosis Múltiple				
AUTOR	PAÍS	MSCs	MODELOS	CONCLUSIONES
<i>Cobo et al.</i>	España / 2012	MSCs alogénicas	Ratón	MSCs alogénicas no muestran efecto terapéutico cuando se administran en el pico de EM.
<i>Zhang et al.</i>	China / 2012	MSCs modificadas genéticamente con neurotrofina-3	Rata con desmielinización inducida.	Pueden constituir una vía terapéutica potencial para el tratamiento de EM debido a que estimulan a las células que participan en la re-mielinización.
<i>Harris et al.</i>	EE.UU / 2012	Progenitores neurales derivados de BM-MSc	Humano	Progenitores neurales derivados de BM-MSCs pueden influir en la tasa de reparación neuronal a través de efectos sobre progenitores endógenos en la médula espinal en MS.
<i>Karussis et al.</i>	Israel / 2010	MSCs autólogas	Humano	El trasplante de MSCs en pacientes con EM es un procedimiento clínicamente factible y relativamente seguro. Induce efectos inmunomoduladores inmediatos.

También tienen un papel inmunomodulador:

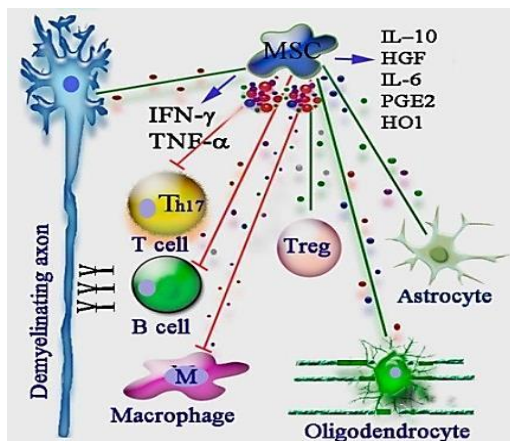


Figura 3: Función inmunomoduladora de MSCs en EM. La inyección de MSCs el cuadro de EM mediante la inhibición del rendimiento de las células T, células B y macrófagos, a través de la secreción de factores solubles, tales como IFN- γ , TNF- α , PGE2... MSC también puede promover un efecto anti-inflamatorio a través de la promoción de la proliferación de Treg. Además, las MSC también modulan positivamente las funciones de los astrocitos, los oligodendrocitos y los axones neuronales. Adaptado de www.pubmed.es

3. HSC: los estudios realizados en pacientes con EM que no respondían a la terapia inmunomoduladora de primera línea, muestran como éstos presentan una respuesta adecuada tras el trasplante de HSC autólogo y alogénico, produciéndose en algunos casos la remisión. El mecanismo se basa en su migración a zonas del SNC dañadas y posterior diferenciación a macrófagos que eliminan los restos celulares resultantes en la fase aguda de la enfermedad.

4.iPSC: el empleo de células iPS autólogas permite llevar a cabo el estudio de los mecanismos patogénicos y las vías moleculares específicas de la enfermedad, así como realizar estudios de nuevos fármacos.

➤ **Esclerosis lateral amiotrófica (ELA):** ^{10, 13}

Se emplean dos tipos de sistemas para el estudio de nuevos fármacos: las neuronas motoras humanas (*in vitro*) que pueden obtenerse a partir de células iPSC y el sistema neuromuscular de ratón (*in vivo*). También se han empleado las células madre para reemplazar las MN dañadas y ejercer un efecto neuroprotector mediante la expresión paracrina de factores neurotróficos que promueven la diferenciación de SC a astrocitos, microglia e interneuronas.

➤ **Alzheimer:** ^{2, 20}

Se buscan nuevas alternativas terapéuticas, como las células madre, que permitan compensar la disminución de la función cerebral y frenar la progresión:

1. MSCs: mejoran la memoria y el aprendizaje debido sus efectos paracrinos, incluyendo la producción de factores de crecimiento y citoquinas antiinflamatorias y la regulación antiapoptótica, inducen la regeneración neural, la remielinización y la inmunomodulación. Pueden reducir los niveles de placas β -amiloide al afectar a la amiloidogénesis a través de la microglia. Además, las MSCs secretan prostaglandina E-2 y estimulan la producción de IL-10 que previene la migración de neutrófilos y reduce el daño oxidativo. Asimismo, MSCs secretan factores neurotróficos que inducen la neurogénesis endógena, la angiogénesis y favorecen la protección neuronal. Se han realizado estudios en los que se observa la capacidad de MSCs para reducir los niveles de proteína Tau hiperfosforilada.

2. iPSC: permiten estudiar los mecanismos moleculares implicados en la patología y estudiar los efectos de nuevos fármacos.

3. NSCs: se diferencian a células maduras dentro del cerebro y mejoran el aprendizaje y la memoria y aumentan el número de neuronas colinérgicas. Los beneficios se deben a la acción paracrina de estas células. Por otro lado, dado que el microambiente cerebral influye en la migración y diferenciación de las NSCs, las NSC que expresan hNGF se integran mejor en la corteza cerebral y mejora el rendimiento cognitivo.

➤ **Parkinson:** ^{7, 20}

1. ADSC: El trasplante de ADSCs mejora los síntomas (reducción del temblor y motilidad). Además, se ha demostrado que el trasplante combinado con adenovirus que contiene neurtaurina y tirosina hidroxilasa mejora la captación de dopamina en el núcleo estriado y tiene efectos neuroprotectores mayores. Asimismo, se ha demostrado que las neuronas derivadas de ADSCs podrían reemplazar las neuronas perdidas y reconstruir la vía nigro-estriada. En otros estudios se ha demostrado que la

infusión de ADSCs podría tener efectos inmunomoduladores, antiinflamatorios y neurotróficos lo que contribuye a la recuperación de la enfermedad.

2. iPSC: Las células iPSC específicas de la enfermedad puede reflejar con precisión las condiciones antes de la aparición de la enfermedad clínica o, durante las etapas iniciales de la enfermedad. Esto permite el estudio de los mecanismos patogénicos de la enfermedad tanto hereditaria como la esporádica, así como, el desarrollo de nuevos fármacos, pruebas de sensibilidad, seguridad, y ensayos de toxicidad de los medicamentos existentes.

5.6. Alteraciones pulmonares^{12, 22, 23}

Se han llevado a cabo numerosas investigaciones para determinar la viabilidad de la administración exógena de células madres para la reparación estructural del pulmón.

Se han publicado informes que sugieren la posibilidad de que HSC, MSC y otras células progenitoras adultas multipotentes pueden injertarse en las vías respiratorias y posteriormente diferenciarse a células epiteliales alveolares, en modelos de ratón. Resultados más prometedores se han evidenciado en el caso de la administración exógena de EPCs pues en modelos animales de hipertensión pulmonar han logrado la restauración de los vasos dañados obteniéndose resultados similares en ensayos clínicos llevados a cabo a partir de EPCs autólogos.

Las MSC, por su acción inmunomoduladora, son unas atractivas candidatas para la terapia celular de enfermedades inmunológicas e inflamatorias tales como:

- ✓ Hipertensión pulmonar: no se conoce con exactitud si las MSCs mejoran la lesión al intervenir directamente en la angiogénesis, o bien, indirectamente mediante la secreción de sustancias antiinflamatorias. Las MSCs pueden ser modificadas genéticamente sobreexpresando moléculas con efectos beneficiosos en la hipertensión pulmonar, tales como sintasa endotelial de óxido nítrico o hemo-oxigenasa I.
- ✓ Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC): se han demostrado efectos protectores de MSCs derivados de la liberación de mediadores solubles anti-inflamatorios. En otros estudios se ha observado una notable disminución de los niveles de proteína C- reactiva, marcador inflamatorio circulante comúnmente elevado en pacientes con EPOC.

Un área de rápido crecimiento es la utilización de matrices 3D para el crecimiento *ex vivo* de tejido pulmonar funcional a partir de células madres. Existen trabajos con pulmones de rata los cuales son descelularizados para obtener una matriz que sirva de soporte para las células epiteliales y endoteliales que se inyectan a continuación. Tras su incubación en un biorreactor, los estudios morfológicos concluyen que las células obtenidas son similares en volumen, aspecto y número a las células alveolares de un pulmón animal, y los estudios fisiológicos (*in vitro*) muestran que la capacidad de ventilación e intercambio de gases se mantiene. Además su implantación *in vivo*

produce la ventilación espontánea durante seis horas produciéndose tras este tiempo el fracaso respiratorio.

Otro avance significativo es el empleo de chips de polidimetilsiloxano poroso (lung-on-a-chip), revestidos con células epiteliales y endoteliales humanas, que imitan la arquitectura alveolar posibilitando el estudio de procesos fisiopatológicos y la acción de nuevos fármacos.

5.7. Enfermedades cardiovasculares: ^{5, 25}

El objetivo principal de la medicina regenerativa en ECV es la sustitución de los cardiomiocitos afectados. Los primeros estudios se centraron en el empleo de ESC y ASC, sin embargo, las cuestiones bioéticas de ESC y la difícil obtención de ASC, ha llevado al desarrollo de otras alternativas.

1. iPSC: Durante la obtención de cardiomiocitos a partir de iPSC se emplean distintas moléculas para estimular la diferenciación celular, y técnicas de cultivo 3D para lograr un alto rendimiento, así como, técnicas de identificación de marcadores de superficie de cardiomiocitos y técnicas basadas en las propiedades metabólicas de los mismos para aumentar su pureza. Los cardiomiocitos obtenidos a partir de células iPSC presentan varios problemas:

- ✓ Posibilidad de desarrollo de teratomas debido a la pluripotencialidad de las células iPSC.
- ✓ Heterogenicidad en la eficacia, calidad y desarrollo de la reprogramación obteniéndose poblaciones mixtas de células.
- ✓ Pobre supervivencia y maduración baja. La supervivencia de los cardiomiocitos es limitada de modo que se emplea la ingeniería del tejido cardiovascular en la que a través de estructuras laminares se obtiene una estructura muscular organizada que evita la pérdida de los cardiomiocitos y permite el control de la forma y el tamaño del injerto. Además, también destaca la importancia de introducir otros tipos celulares, fibroblastos o células progenitoras vasculares, para mejorar la perfusión de la ingeniería tisular.
- ✓ Posibilidad de rechazo inmunológico.

2. Reprogramación directa: el empleo de genes característicos de cardiomiocitos permite obtener, dichas células a partir de los fibroblastos presentes en las cicatrices cardíacas sin pasar previamente por iPSCs. Sin embargo, los cardiomiocitos resultantes no laten espontáneamente debido a la incompleta reprogramación de los mismos, de modo que, se ha sugerido el empleo de condiciones de cultivo que mejoren la eficiencia de la reprogramación. Asimismo, se ha observado que esta técnica es más eficiente *in vivo*. Además, debido a que los retrovirus sólo se pueden integrar de manera estable en el genoma de células que se dividen activamente, se pueden dirigir los factores de reprogramación a fibroblastos cardíacos sin afectar a los cardiomiocitos funcionales puesto que la división de éstos últimos es más lenta. Por lo tanto, la ventaja más significativa de la reprogramación

directa reside en su potencial para el uso *in vivo* así como un menor tiempo para la obtención de cardiomiocitos y la reducción del riesgo de formación de teratomas.

A pesar de estos avances, el acoplamiento de los cardiomiocitos reprogramados en el corazón y la supervivencia de los mismos sigue siendo un problema debido probablemente a la respuesta inmune. Además, en algunos estudios se ha observado una mayor incidencia de arritmias en los ratones en los que se había realizado la reprogramación directa.

Debido a todo ello, antes de que la reprogramación directa de los cardiomiocitos pueda ser estudiada en ensayos clínicos humanos hay una serie de obstáculos que deben superarse.

5.8. Trasplante de precursores hematopoyéticos (TPH) ³

Es una técnica utilizada para regenerar el tejido hematopoyético cuya función es insuficiente, bien por una enfermedad primaria de la médula ósea o por la presencia de una enfermedad tumoral que sea curable con dosis muy altas de quimio/radioterapia, tratamiento que necesita rescate de la función hemopoyética. Los trasplantes se clasifican según la fuente de células progenitoras en:

1. Trasplante de médula ósea (MO): Es la fuente original de las células progenitoras hematopoyéticas pero su utilización está disminuyendo progresivamente al ser sustituida por la obtención de progenitores a partir de sangre periférica. La extracción se realiza bajo anestesia general o epidural practicando una incisión sobre las crestas ilíacas. A través de ellas se punciona el hueso y se aspira la médula con una jeringa. La cantidad total a extraer se calcula por el contaje celular que se realiza durante la extracción con el fin de obtener un número de células predeterminado (normalmente 3×10^8 células/Kg de peso del paciente).

2. TPH a partir de sangre periférica (SP): En SP, en condiciones normales, existe una mínima cantidad de células madre hematopoyéticas circulantes, que aumentan durante la fase de recuperación de una aplasia inducida por quimioterapia o tras la administración de diversos factores de crecimiento hemopoyético, el más utilizado es el G-CSF (Factor de crecimiento de colonias de granulocitos). Una vez conseguido el aumento de células progenitoras circulantes, se somete al paciente a sesiones de aféresis para obtener la fracción de células mononucleadas, en la que se encuentran las células CD34+ que son las utilizadas como referencia para el trasplante.

3. TPH a partir de sangre de cordón umbilical: La sangre de cordón umbilical es rica en progenitores hematopoyéticos, pero su volumen es limitado, lo que hace que el número total de células madre sea pequeño y la recuperación inmunohematológica lenta. Se obtiene por punción de la vena umbilical una vez producido el alumbramiento. Inicialmente se usó sólo en niños, por la menor dosis celular necesaria, pero actualmente se está utilizando con éxito en pacientes adultos.



Figura 4: Gráfico de la evolución de uso de TPH

5.9. Otros ^{6, 17, 24}

Tabla 7: Estudio de células madre en otras patologías

SISTEMA	CÉLULAS	APLICACIONES	ACCIONES
Enf. Dérmicas	MSC	Quemados Lesiones cutáneas secundarias a radioterapia Cicatrización de heridas (politraumatizados)	Regeneración epitelial Angiogénesis Hidratación hística Aceleración de la reparación de tejidos Amortiguación eventos inflamatorios Reducir formación de cicatrices
Enf. Óseas	MSC	Osteogénesis imperfecta	Aumento del contenido mineral del hueso Mejora de la velocidad de crecimiento Reducción de las fracturas
		Hipofosfatasa infantil	Mejora de la mineralización ósea No se observó ningún cambio en los niveles séricos de fosfatasa alcalina
		Osteoporosis	Aumento del remodelado óseo y la rotación dependiente de la disponibilidad continua de células osteoprogenitoras, factores de crecimiento y hormonas
		Osteoartritis	Mejora en el dolor Mejora en la flexión de la rodilla Mejora del grosor del cartílago Leve mejoría en síntomas subjetivos y objetivos
Enf. Aparato reproductor femenino	Células epiteliales vaginales y músculo liso vaginal	Vagina (malformaciones congénitas, traumas...)	Creación de vagina a partir del cultivo <i>in vitro</i> de tejido vaginal autólogo.
	Fibroblastos cervicales	Cuello uterino (evitar partos prematuros)	Estudios con resultados prometedores de reconstrucción del cérvix
	Células epiteliales y del músculo liso uterino	Útero (tratamiento infertilidad)	- Obtención de útero capaz de soportar la gestación en ratas y conejos mediante la siembra de estas células es soportes poliméricos - Promueven la regeneración del endometrio uterino y células musculares, y mejoran la vascularización favoreciendo el embarazo en ratas por la administración de factor de crecimiento de fibroblastos básico.
	Células madre oogonial (OSCs), ESC, iPS, BM-MSK	Ovario (tratamiento insuficiencia ovárica prematura, infertilidad por quimioterapia y síntomas vasomotores, atrofia genital y pérdida de masa ósea por la disminución de estrógenos)	- SC: obtención de ovocitos para el tratamiento de la infertilidad - Trasplante de tejido ovárico autólogo criopreservado: mejora del desarrollo del folículo, la reanudación del ciclo estral y la ovulación regular con el correspondiente patrón hormonal en conejos, ovejas y monos, obtención de ovocitos funcionales mediante el tratamiento con distintos factores (activación <i>in vitro</i> aplicado en una mujer japonesa con éxito) - Ingeniería de tejidos: sistemas de hidrogeles para el mantenimiento de la arquitectura folicular, interacciones célula-célula y la señalización paracrina para el desarrollo folicular directo. Ayudan a la maduración <i>in vitro</i> y protegen frente al sistema inmune.
Enfermedades oculares	Insuficiencia limbar	Células madre limbares o CLET (biopsia de la región limbar y cultivo <i>ex vivo</i>)	Promueven la regeneración de las células madre limbares y reemplazan aquellas que sufren un deterioro funcional.

6.CONCLUSIONES

El avance de la medicina regenerativa ha hecho que en las últimas décadas la terapia celular se convierta en una opción terapéutica a considerar. Actualmente, el trasplante de precursores hematopoyéticos y el empleo de MSCs en alteraciones cutáneas (quemados, lesiones secundarias a radioterapia) han demostrado una gran eficacia, realizándose de manera habitual en la práctica clínica. Sin embargo, el empleo de la terapia celular en otras patologías no se ha instaurado puesto que es necesaria la realización de ensayos clínicos que permitan conocer con exactitud la total seguridad y eficacia de ésta en humanos. En la siguiente tabla se recogen las patologías en las que se ha estudiado la aplicación de células madre y la verdadera implicación de éstas en la práctica clínica habitual.

Tabla 8: Implicación del empleo de células madre en la práctica clínica habitual

Enfermedad	Células empleadas	Aplicación
Enfermedades cardiovasculares	Células iPSC	A pesar de los prometedores resultados no es posible su aplicación en un futuro próximo ya que existen muchos obstáculos que salvar para ser empleado en ensayos clínicos en humanos.
Enfermedad inflamatoria intestinal	Células madre mesenquimales	Se han obtenido resultado positivos en ensayos con animales y se han realizado ensayos en fase II y III en humanos pero se requieren más estudios
Enfermedades hepáticas	iPSC MSC	Son las células con las que se han obtenido mejores resultados y especialmente, cuando son empleadas en ingeniería de tejidos. Su aplicación es futurible ya que se están realizando numerosos ensayos en humanos con resultados positivos.
Enfermedades renales	MSC	Se están realizando ensayos en fase I y II con resultados muy prometedores pero se requieren más ensayos para poder ser aplicados en la práctica clínica
Enfermedades del tracto urinario	Células madre e ingeniería de tejidos	Los ensayos clínicos muestran que la terapia con ADSC y MDSC es eficaz en IUE siendo cercana su aplicación en la práctica clínica habitual. El empleo de scaffolds sembrados con ADSCs y BM-SCs en el reemplazo de vejiga aún no es cercano al no lograr imitar la mecánica de la vejiga.
Enfermedades óseas	MSC	Se han realizado estudios en humanos para el tratamiento de diferentes enfermedades óseas obteniendo resultados muy prometedores lo que implica que podrán ser aplicadas en un futuro próximo
Enfermedades aparato reproductor femenino	Se emplean varios tipos celulares procedentes del aparato reproductor femenino	Se están aplicando en la clínica obteniendo resultados muy positivos tanto en el trasplante de las distintas partes del aparato reproductor femenino como en el tratamiento de la infertilidad.
Diabetes	iPSC, MSCs, EPSCs, reprogramación directa	A partir de células madre se han obtenido células β maduras capaces de regular la glucemia en respuesta a la insulina, en modelos de ratón. No se emplea como terapia en la práctica clínica habitual puesto que se esperan los resultados de ensayos clínicos ya iniciados.
Insuficiencia limbar	CLET	Se ha demostrado su eficacia y seguridad en humanos poniéndose en práctica en casos aislados. Su empleo en la práctica clínica habitual es probable en margen de tiempo muy breve.
Enfermedades pulmonares	HSCs, EPCs, MSCs e ingeniería de tejidos	Ensayos preclínicos en modelos de ratos muestran su capacidad de diferenciación en células alveolares, sin embargo, para su empleo en la práctica clínica es necesario realizar ensayos clínicos.
Enfermedades neurodegenerativas	NSC, MSC,HSC,iPSC,ADSC	Los resultados obtenidos en ensayos preclínicos son alentadores, sin embargo, es necesario demostrar su eficacia y seguridad en humanos.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Almeida-Porada G et al. Regenerative medicine: prospects for the treatment of inflammatory bowel disease. *Regenerative Medicine*. 2013; 8(5):631-644.
2. Amemori T et al. Alzheimer's Disease: Mechanism and Approach to Cell Therapy. Jellinger KA, ed. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015;16(11):26417-26451.
3. Ardeshtiry Iajimi A et al. Feasibility of Cell Therapy in Multiple Sclerosis: A Systematic Review of 83 Studies. *International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research*. 2013;7(1):15-33.
4. Basu J et al. Regenerative medicine of the gastrointestinal tract. *Toxicologic Pathology*. 2014; 42(1):82-90
5. Budniatzky I, Gepstein L. Concise review: reprogramming strategies for cardiovascular regenerative medicine: from induced pluripotent stem cells to direct reprogramming. *Stem Cells Translational Medicine*. 2014; 3(4):448-457
6. Casaroli-Marano RP et al. Potential Role of Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs) for Cell-Based Therapy of the Ocular Surface. Harris DT, ed. *Journal of Clinical Medicine*. 2015;4(2):318-342
7. Chang KA, Lee JH, Suh YH. Therapeutic potential of human adipose-derived stem cells in neurological disorders. *Journal of Pharmacological Sciences*. 2014; 126(4):293-301.
8. Di Ruscio A et al. Multiple sclerosis: getting personal with induced pluripotent stem cells. *Cell Death & Disease*. 2015;6(7):e1806-
9. Faa G. et al. Renal physiological regenerative medicine to prevent chronic renal failure: Should we start at birth? *Clinica Chimica Acta*. 2015; 444: 156-162
10. Goutman SA, Chen KS, Feldman EL. Recent Advances and the Future of Stem Cell Therapies in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurotherapeutics*. 2015;12(2):428-448. -015-0339-9.
11. Kloskowski T, Nowacki M, Pokrywczyńska M, Drewa T. Urine-a waste or the future of regenerative medicine? *Medical Hypotheses*. 2015; 84(4):344-349
12. Lau AN, Goodwin M, Kim CF, Weiss DJ. Stem Cells and Regenerative Medicine in Lung Biology and Diseases. *Molecular Therapy*. 2012;20(6):1116-1130.
13. Lunn JS, Sakowski SA, Feldman EL. Stem cell therapies for amyotrophic lateral sclerosis: Recent advances and prospects for the future. *Stem cells (Dayton, Ohio)*. 2014;32(5):1099-1109.
14. Matveyenko A, Vella A. Regenerative medicine in diabetes. *Mayo Clinic Proc*. 2015; 90(4):546-554.
15. Mousa N. A., Abou-taleb H.A., Orabi H. Stem cell applications for pathologies of the urinary bladder. *World Journal of Stem Cells*. 2015; 7(5): 815-822
16. Nowacki M., Kloskowski T., Pokrywczyńska M. et al. Is regenerative medicine a new hope for kidney replacement? *J Artif Organs*. 2014; 17(2):123-134
17. Saeed H et al. Mesenchymal stem cells (MSCs) as skeletal therapeutics - an update. *Journal of Biomedical Science*. 2016; 23:41
18. Socarrás-Ferrer et al. Células madre mesenquimales: aspectos relevantes y aplicación clínica en la medicina regenerativa. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [Internet]. 2013 Mar [citado 2016 Marzo 23] 29 (1): 16-23.
19. Stoltz J-F, de Isla N, Li YP, et al. Stem Cells and Regenerative Medicine: Myth or Reality of the 21st Century. *Stem Cells International*. 2015;2015:734731.
20. Tong LM, Fong H, Huang Y. Stem cell therapy for Alzheimer's disease and related disorders: current status and future perspectives. *Experimental & Molecular Medicine*. 2015;47(3):e151-
21. Tsolaki E, Yannaki E. Stem cell-based regenerative opportunities for the liver: State of the art and beyond. *World Journal Gastroenterol*. 2015; 21(43):12334-12350.
22. Tsuchiya T, Sivarapatna A, Rocco K, Nanashima A, Nagayasu T, Niklason LE. Future prospects for tissue engineered lung transplantation: Decellularization and recellularization-based whole lung regeneration. *Organogenesis*. 2014;10(2):196-207.
23. Weiss DJ. Current Status of Stem Cells and Regenerative Medicine in Lung Biology and Diseases. *Stem cells (Dayton, Ohio)*. 2014;32(1):16-25.
24. Yalcinkaya T. M., Sittadjody S., Opara E. C. Scientific principles of regenerative medicine and their application in the female reproductive system. *Maturitas*. 2014; 77(1):12-19
25. Yi BA, Mummery CL, Chien KR. Direct cardiomyocyte reprogramming: a new direction for cardiovascular regenerative medicine. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2013; 3(9): 1