



ORIGINAL RESEARCH

# Movilización rápida y selectiva de tipos específicos de células madre después del consumo de un extracto rico en polifenoles de bayas de espino cerval de mar (*Hippophae*) en sujetos humanos sanos.

Este artículo fue publicado en la siguiente revista de Dove Press: Clinical Interventions in Aging.

Christian Drapeau<sup>1</sup>  
Kathleen F Benson<sup>2</sup>  
gitte s Jensen<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Biomx stemceuticals, Austin, TX  
78765, UsA; <sup>2</sup>nls labs, Klamath Falls, Or  
97601, UsA

→ Resumen en video



Point your Smartphone at the code above. If you have a QR code reader the video abstract will appear. Or use:  
<http://youtu.be/0yIN3yKZ1w>

**Propósito:** El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de un extracto rico en proantocianidinas de bayas de espino amarillo (SBB-PE) en el número de varios tipos de células madre adultas en la circulación sanguínea de sujetos humanos sanos.

**Diseño del estudio y métodos:** Se llevó a cabo un ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo y cruzado en 12 sujetos sanos. Se tomaron muestras de sangre inmediatamente antes y a las 1 y 2 horas después de consumir placebo o 500 mg de SBB-PE. La sangre entera se utilizó para inmunofenotipificación y citometría de flujo para cuantificar el número de células madre progenitoras CD45dim CD34+ CD309+, CD45dim CD34+ CD309-, células madre endoteliales CD45- CD31+ CD309+ y células madre mesenquimales CD45- CD90+.

**Resultados:** El consumo de SBB-PE se asoció con una movilización rápida y altamente selectiva de células madre progenitoras CD45dim CD34+ CD309-, células madre endoteliales CD45- CD31+ CD309+ y células madre mesenquimales linfocitoides CD45- CD90+. En contraste, solo se observaron efectos menores en las células madre pluripotenciales CD45dim CD34+ CD309+.

**Conclusión:** El consumo de SBB-PE resultó en la movilización selectiva de tipos de células madre implicadas en funciones regenerativas y reparativas. Estos datos pueden contribuir a la comprensión de los usos tradicionales de SBB para la salud preventiva, la salud regenerativa y el retraso del proceso de envejecimiento.

Palabras clave: CD31, CD34, CD90, CD309, células madre endoteliales, células madre mesenquimales

## Introducción

Durante la última década, ha crecido el interés entre la población adulta en envejecimiento por dedicar esfuerzos al mantenimiento de la salud en lugar de la gestión de enfermedades.<sup>1,2</sup> Esta tendencia coincide con el envejecimiento global de la población mundial debido a la disminución de las tasas de fertilidad y el aumento de la esperanza de vida,<sup>3</sup> lo que se asocia con una creciente carga de enfermedades.<sup>4</sup> En general, el mantenimiento de la salud o la prevención de enfermedades conlleva costos mucho menores y está relacionado con una mayor calidad de vida.<sup>5,6</sup> Esto incluye el consumo de nutrientes de alta calidad, probióticos, suplementos de vitaminas y minerales, potenciadores botánicos de células madre y frutas y bayas ricas en nutrientes como el amla, el açai, la baya de maqui y la baya de goji.

Otra planta con un uso tradicional de larga data en el mantenimiento de la salud, así como en la prevención y tratamiento de enfermedades, es el espino amarillo (EA). El EA es un arbusto espinoso de hoja caduca y fijador de nitrógeno, nativo de las regiones frías y áridas del noroeste de Europa y Asia Central.<sup>7</sup> Aunque su cultivo se ha extendido hasta Canadá<sup>8</sup> y América del Sur,<sup>9</sup>

Correspondence: Christian Drapeau  
Biomx stemceuticals, PO Box 49699,  
Austin, TX 78765, UsA  
email [christian@biomxstemceuticals.com](mailto:christian@biomxstemceuticals.com)

submit your manuscript | [www.dovepress.com](http://www.dovepress.com)

Dovepress <http://dx.doi.org/10.2147/CIA.s186893>



Clinical Interventions in Aging 2019;14:253–263

253



© 2019 Drapeau et al. This work is published and licensed by Dove Medical Press Limited. The full terms of this license are available at <https://www.dovepress.com/terms.php> and incorporate the Creative Commons Attribution – Non Commercial (unported v3.0) License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>). By accessing the work you hereby accept the terms. Noncommercial uses of the work are permitted without any further permission from Dove Medical Press Limited, provided the work is properly attributed. For permission for commercial use of this work, please see paragraphs 42 and 5 of our Terms (<https://www.dovepress.com/terms.php>).

el espino amarillo crece de forma natural en altitudes elevadas (2,500–4,000 m) en el Plateau Tibetano, Ladakh, Uttarakhand, Himachal Pradesh, Jammu y Cachemira, Sikkim y Arunachal Pradesh.<sup>10</sup> El espino amarillo es altamente resistente a temperaturas extremas, condiciones de sequía y lluvias abundantes, así como a niveles elevados de salinidad y acidez del suelo.<sup>11,12</sup> Esto se debe en parte al hecho de que las raíces llevan bulbos que contienen bacterias fijadoras de nitrógeno, lo que facilita el desarrollo de un extenso sistema radicular en una amplia gama de condiciones climáticas.<sup>13</sup> Por esta razón, el espino amarillo ha sido propagado y cultivado estratégicamente en regiones como el centro de China para prevenir la erosión del suelo, lo que proporciona una oportunidad para cosechar bayas silvestres.

Las pequeñas bayas (baya de espino amarillo [SBB]), de 5 a 8 mm de diámetro, se distribuyen a lo largo de ramas espinosas cubiertas de hojas. La baya consiste en una semilla de color marrón oscuro (23% en peso), de 2.8 a 4.2 mm de longitud, envuelta en una pulpa jugosa (63% en peso) y cubierta por una piel clara de color naranja (7.8% en peso).<sup>14,15</sup> El sabor del SBB es único y no se puede comparar con ninguna otra baya o fruta, debido a su aroma causado por compuestos volátiles como el etil dodecanoato, etil octanoato, decanol, etil decanoato y etil dodecanoato.<sup>16,17</sup>

Las frutas, semillas y hojas han demostrado contener una amplia variedad de compuestos conocidos por promover el mantenimiento de la salud.<sup>3,18</sup> Sin embargo, la composición química real de las bayas y las hojas depende en gran medida de las condiciones climáticas, el grado de maduración, y los métodos de cosecha y procesamiento.<sup>19</sup> Por ejemplo, se ha documentado que las bayas cultivadas a gran altitud en condiciones severas de sequía estacional y temperaturas extremas contienen hasta 10 veces más vitamina C que las bayas cultivadas a altitudes más bajas.<sup>9</sup> Interesantemente, el SBB no contiene ascorbinasa, que hidroliza el ácido ascórbico, preservando así la vitamina C en el jugo o la baya seca.<sup>13</sup> En general, el SBB es una buena fuente de minerales, especialmente calcio, fósforo, hierro y potasio, así como vitaminas C, B1, B2, E, A y K.<sup>13,14,20–22</sup> El SBB también es una buena fuente de carotenoides, principalmente  $\beta$ -caroteno, licopeno, luteína y zeaxantina;<sup>14</sup> fitoesteroles, principalmente ergosterol, estigmasterol, lanosterol y amirinas;<sup>23</sup> polifenoles, especialmente proantocianidinas;<sup>9</sup> y flavonoides, principalmente quercetina, kaempferol, miricetina e isorhamnetina.<sup>22</sup> Otros compuestos bioactivos identificados en el SBB incluyen cerebrósido de hippophae, ácido oleanólico, ácido ursólico, ácido 19-alfa-hidroxiursólico, ácido dulcioico, 5-hidroximetil-2-furan-carboxaldehído, cirsiumaldehído, ácido octacosanoico, ácido palmítico y 1-O-hexadecanoiloleína.<sup>24</sup>

Esta combinación de compuestos proporciona al SBB propiedades antioxidantes evidentes que han sido ampliamente

documentadas e incluso se ha informado que son superiores a las del 2,6-di-terc-butyl-p-hidroxitolueno (BHT) y el butilhidroxianisol (BHA), comúnmente utilizados en la conservación de alimentos.<sup>25,26</sup> Se ha informado que los extractos de SBB previenen la peroxidación de los lípidos en el plasma, la citotoxicidad e incluso el daño al ADN.<sup>25,27</sup>

Curiosamente, el nombre científico de SB, Hippophae, no se refiere a sus características físicas sino a su efecto en la salud. Se deriva de las palabras griegas "hippo" (caballo) y "phae" (luz) y esencialmente significa "caballo brillante". Se informa que después de abandonar caballos heridos en batalla en un campo de arbustos de SB, Alejandro Magno descubrió a su regreso de la batalla una manada de caballos sanos con pelajes brillantes, una señal de salud en un caballo. SB fue llevado a Grecia donde se ha utilizado durante siglos como alimento para caballos. Una historia similar se ha informado con Genghis Khan quien, dice la leyenda, ordenó a sus soldados que cosecharan bayas y las alimentaran a sus caballos antes de la batalla.<sup>18</sup> Se ha informado una historia similar con Genghis Khan quien, según la leyenda, ordenó a sus soldados que cosecharan bayas y hojas para sanar más rápido de las heridas de batalla.

Los beneficios para la salud de las bayas de espino cerval de mar (SBB) han sido reconocidos durante más de mil años en la medicina tibetana, mongola y china. En China, sus propiedades medicinales fueron registradas en el Sibuyidian de la dinastía Tang y en el Jing Zhu Ben Cao de la dinastía Qing. En el Tíbet, se encontraron referencias a las SBB en textos medicinales como el "rGyud-bzi" (Los Cuatro Libros de Farmacopea) en tiempos de la dinastía Tang (618-907 d.C.).<sup>28,29</sup> En la medicina tradicional tibetana y mongola, las SBB se han utilizado para mejorar la circulación sanguínea y tratar una larga lista de dolencias, incluidas afecciones pulmonares como el asma, la diabetes, las úlceras estomacales, el cáncer, las heridas, los trastornos metabólicos y la inflamación.<sup>9,18,30</sup>

Mientras que algunos de los beneficios para la salud cardiovascular y la diabetes han sido corroborados por la ciencia occidental, se han propuesto pocos mecanismos de acción, aparte de las propiedades antioxidantes de las SBB, para explicar su amplia gama de beneficios para la salud. La Tabla 1 enumera los beneficios documentados del SB.<sup>31–60</sup> Se ha informado previamente que otras plantas asociadas con una amplia gama de beneficios para la salud actúan desencadenando la liberación de células madre de la médula ósea.<sup>61–63</sup> Al movilizar más células madre para que entren en la circulación sanguínea, hay más células madre disponibles para participar en el proceso de reparación de tejidos en el cuerpo. Dada la amplia gama de beneficios asociados con el uso de las SBB, en este estudio investigamos el efecto del consumo de un extracto rico en proantocianidinas de SBB (SBB-PE) sobre la movilización de células madre.

**Tabla I** Actividades biológicas asociadas con sBBs

Las aplicaciones	Los beneficios para la salud	El mecanismo de acción	Referencia
Cardiovascular	Efecto inhibitorio de los flavonoides de las bayas de espino cerval de mar (SBB) sobre la activación de NF-kappa B en cardiomiocitos	Propiedades antioxidantes sugeridas	31,32
	El aceite de sB afecta el metabolismo de los lípidos en la aterosclerosis.	Mecanismo desconocido	33,34
	Los antioxidantes de sBB redujeron los factores de riesgo para la enfermedad coronaria en humanos.	Propiedades antioxidantes sugeridas	35
	sBB redujo el estrés oxidativo en el plasma humano	Propiedades antioxidantes sugeridas	25
	sBB redujo la presión arterial, los lípidos en plasma y aumentó la densidad capilar ventricular	Mecanismo desconocido	36
	Los flavonas de SBB previnieron la trombogénesis in vivo	Inhibición de la agregación plaquetaria	37
	Los flavonas de las semillas de espino cerval de mar (SB) suprimieron la hipertensión, la hiperinsulinemia y la dislipidemia	En parte mejorando la sensibilidad a la insulina y bloqueando la angiotensina II	38
Úlcera gástrica	El extracto de sBB redujo el número y tamaño de las úlceras	Puede ser mediante el aumento del nivel de glutatión	39,40
	El aceite de sB redujo la úlcera	Mecanismo desconocido	41
	El aceite de sB redujo las úlceras en perros	Mecanismo desconocido	42
Antitumoral, anticancerígeno	El aceite de sB mostró propiedades anticancerígenas. Isorhamnetina, un flavonoide de SBB, mostró actividad antiproliferativa contra el cáncer de pulmón	Propiedades antioxidantes sugeridas: Upregulación de genes apoptóticos	43–45
	Isorhamnetina suprimió el crecimiento de células de cáncer de colon	Inhibición de la vía PI3K-Akt-mTOR	46
	El extracto de sBB mostró actividad antitumoral en pruebas de carcinogénesis de dos etapas in vivo en ratones	Mecanismo desconocido	47
	El polisacárido de sBB inhibió el carcinoma pulmonar de Lewis	Mediante inmunestimulación	48
Obesidad	Las hojas de sB redujeron la grasa visceral en ratones obesos	Propiedades antioxidantes sugeridas	49,50
	Las hojas de sB redujeron la expresión génica adipogénica y lipogénica	Regulación al alza de PPAR; reducción en la acetil-CoA carboxilasa	51
Diabetes	El extracto de semilla de sB tuvo un efecto hipoglucémico en ratones tratados con sTZ	Mecanismo desconocido	52
	La pulpa de sB redujo la glucemia y restauró las células beta pancreáticas en ratones tratados con sTZ	Mecanismo desconocido	53
	El extracto de hoja de sB inhibió la alfa-glucosidasa	Inhibición de la alfa-glucosidasa	54
	sBB redujo la glucemia en ayunas y postprandial al aumentar la secreción de insulina	Mecanismo desconocido	55
	El extracto de sBB suprimió la respuesta máxima de insulina postprandial y estabilizó la hiperglucemia postprandial	Mecanismo desconocido	56
	El aceite de fruta de sB alivió la diabetes tipo 2	A través de la vía de señalización PI3K/Akt	57
Cicatrización de heridas	Los flavonoides de sB promovieron la cicatrización de heridas	Mecanismo desconocido	58
	El extracto de hoja de sB aceleró la cicatrización de heridas	Regulación al alza de VegF y angiogénesis	59
	El aceite de semilla de sB ayuda a sanar las quemaduras	Mejorar la microcirculación y la regeneración de tejidos	60

**Abreviaturas:** sB, espino amarillo; sBB, bayas de espino amarillo; sTZ, estreptozotocina.

## Materiales y métodos

### Diseño del estudio

El estudio clínico siguió un diseño cruzado, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo. Doce personas fueron seleccionadas e inscritas después de proporcionar consentimiento informado por escrito, y este estudio se llevó a cabo de acuerdo con la Declaración de Helsinki y fue aprobado por la Junta de Revisión Institucional del Sky

Lakes Medical Center (FWA 2603). El ensayo está registrado en [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov) (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03388073). La población del estudio incluyó a ocho mujeres y cuatro hombres con una edad promedio de 49,3±21 años y un índice de masa corporal (IMC) entre 20,0 y 34,6 kg/m<sup>2</sup> (Tabla 2), sin enfermedades crónicas conocidas, uso frecuente de drogas recreativas, función digestiva deteriorada (incluyendo cirugía gastrointestinal mayor previa) o alergias conocidas a productos de bayas.

Las visitas siempre se programaron a la misma hora del día para cada persona, el mismo día de la semana, y siempre durante las horas de la mañana de 7 a 11 am para minimizar el efecto de las fluctuaciones circadianas. Dado que hay una interferencia bien documentada del ejercicio y el estrés con la liberación y el retorno de los linfocitos, el ambiente del estudio se gestionó para minimizar el estrés físico y mental antes y durante las pruebas. Al llegar a cada visita clínica, los participantes completaron un cuestionario para ayudar a monitorear circunstancias excepcionales que pudieran afectar el nivel de estrés de esa persona en ese día. Los criterios preestablecidos para reprogramar una visita incluyeron privación de sueño y ansiedad aguda.

**Tabla 2.** Datos demográficos de la población de estudio

Participantes del estudio	Género	Edad (años)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
P01	F	56	32.5
P02	F	62	23.6
P03	F	62	30.8
P04	F	32	23.5
P05	M	28	22.1
P06	M	59	29.8
P07	M	49	31.7
P08	F	61	24.5
P09	M	70	21.0
P10	F	56	22.0
P11	F	55	34.6
P12	F	51	23.3
Promedio		53.4	26.6
sD		12.3	4.9
Rango		28–70	21.0–34.6

Después de completar el cuestionario, se instruyó a los voluntarios que permanecieran tranquilos e inactivos durante 3 horas, cómodamente sentados en una silla. Después de la primera hora, se tomó la muestra de sangre inicial. Inmediatamente después de tomar la muestra inicial, se proporcionó un producto de prueba encapsulado con agua y se consumió en presencia del personal clínico. Se tomaron muestras de sangre a la 1 y 2 horas después de la ingestión del producto de prueba o del placebo. En cada extracción de sangre, se extrajeron 6 mL de sangre en tubos vacutainer con heparina sódica para posterior inmunotinción. Los viales de heparina se colocaron en un agitador hasta la tinción, que se inició dentro de la hora de cada extracción de sangre.

### Consumibles

Un extracto acuoso rico en proantocianidinas de SBBs enteros (Puredia, Irvine, CA, EE.UU.) fue encapsulado en NIS Labs con 500 mg por dosis. Cápsulas de placebo fueron preparadas utilizando harina de arroz. Los participantes del estudio y el personal clínico fueron cegados respecto a los consumibles. La aleatorización se realizó siguiendo el diseño del Cuadrado Latino, de modo que la mitad de los participantes recibieron el producto activo en la primera visita y placebo en la segunda visita, y la otra mitad recibió los productos en el orden inverso.

### Evaluación de células madre por citometría de flujo

Para cada extracción de sangre, muestras triplicadas de 100 µL de sangre total heparinizada fueron teñidas utilizando el siguiente panel de inmunotinción de cuatro colores: CD31-FITC, CD34-PerCP, CD45-PO y CD133-PE. Para ocho de los participantes del estudio, se añadió un quinto color: CD90-v421. La tinción se realizó según las recomendaciones de Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, EE.UU.) para tinción de sangre total seguida de un procedimiento de "no lavado" que involucró la fijación con Cal-Lyse® de los glóbulos blancos y lisis de los glóbulos rojos. En resumen, las muestras se teñieron en la oscuridad a temperatura ambiente durante 15 minutos, seguido por la adición de 100 µL de solución de lisis Cal-Lyse® y fijación durante 10 minutos a temperatura ambiente. Los glóbulos rojos fueron luego lisados mediante la adición de 1 mL de agua deionizada y una incubación adicional de 10 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. Las muestras se almacenaron a 4°C en la oscuridad y fueron adquiridas por citometría de flujo en un citómetro de flujo Attune™ con enfoque acústico (Thermo Fisher Scientific) dentro de las 24 horas. Se recolectaron archivos de 300,000 a 600,000 eventos para cada muestra triplicada. Los datos sobre el número de células madre fueron analizados por el software Attune (Thermo Fisher Scientific), que proporciona resultados como células por microlitro de muestra y se compensaron por el factor de dilución

que formaba parte del protocolo de inmunotinción, convirtiendo los resultados a números de células madre por microlitro de sangre total.

## Análisis estadísticos

El promedio y la desviación estándar para cada conjunto de datos se calcularon utilizando Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, EE.UU.). La significancia estadística de los cambios postconsumo desde el valor inicial hasta las evaluaciones posteriores se evaluó mediante análisis entre tratamientos utilizando análisis dentro de sujetos y la prueba t de Student de dos colas. La significancia estadística se indicó por  $P < 0,05$ , y un alto nivel de significancia se indicó por  $P < 0,01$ .

## Resultados

### Población de estudio y cumplimiento

Las características demográficas de los participantes del estudio se muestran en la Tabla 2. Los 12 participantes del estudio completaron la participación en el estudio con pleno cumplimiento, incluyendo el seguimiento de rutinas similares y alimentación durante 12 horas antes de llegar a la clínica en ambos días, permaneciendo tranquilos y sin estrés durante las visitas de 3 horas a la clínica, consumiendo los productos de prueba con agua según las instrucciones y permitiendo las tres extracciones de sangre en cada visita.

### Cambios post-consumo en las células madre circulantes

Cada muestra de sangre se utilizó para realizar inmunotinción y citometría de flujo para evaluar los cambios post-consumo en el número de tres subtipos diferentes de células madre circulantes. Para ocho de los participantes del estudio, también se evaluaron los cambios post-consumo en un subconjunto de células madre mesenquimales (MSCs), identificadas en ausencia de CD45 y expresión de CD90 en células dentro de la puerta linfocitaria. Dadas las variaciones interindividuales en el curso temporal de la respuesta de movilización después del consumo de SBB-PE, algunos individuos mostraron una mayor respuesta a la 1 hora, mientras que otros mostraron una mayor respuesta a las 2 horas. Por lo tanto, simplemente promediar las respuestas en los puntos temporales respectivos podría subestimar la respuesta real y proporcionar mayores desviaciones estándar. Por esta razón, se realizó un análisis adicional utilizando los datos del punto temporal que mostró la mayor respuesta.

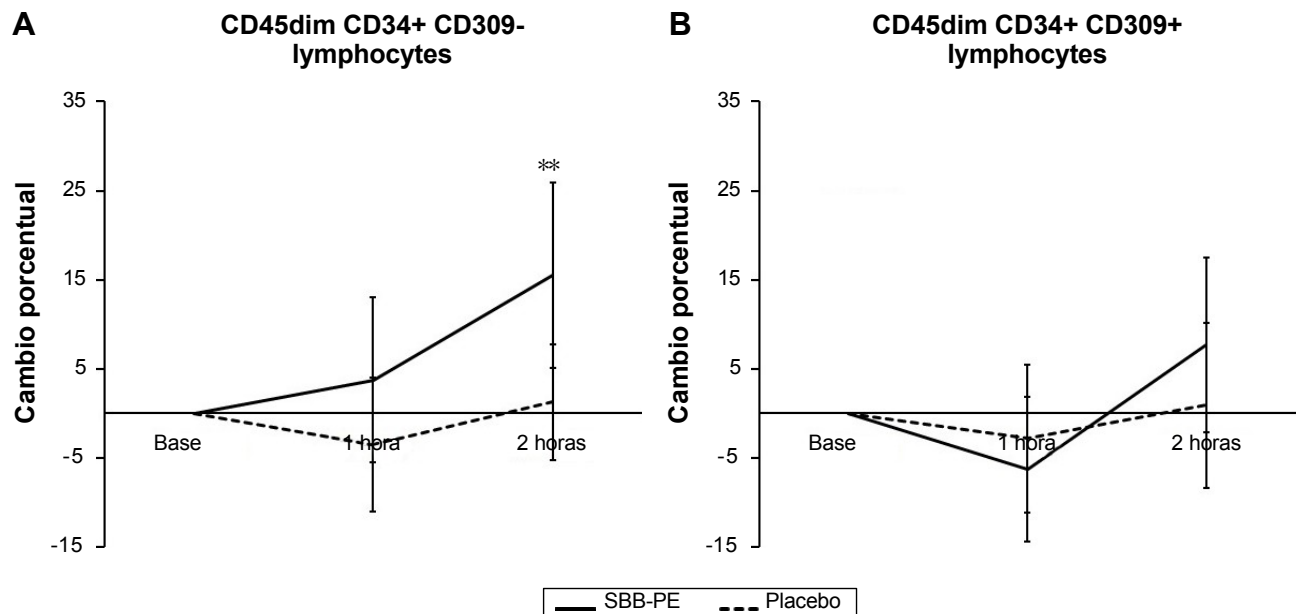
### Cambios en el número de células madre que expresan CD34

CD34 es una proteína transmembrana que se expresa casi exclusivamente en ciertos tipos de células madre. Las células madre linfocitoides CD34+ también muestran un bajo nivel de expresión de la enzima receptor tipo C de fosfatasa de tirosina proteica, CD45 (CD45dim). Esto contrasta con las células hematopoyéticas maduras que muestran un alto nivel de expresión de CD45 en la superficie celular y con otros tipos de células madre que son completamente negativas para CD45 (CD45-). Se analizaron los cambios en el número de células madre CD45dim CD34+ para determinar si los efectos del consumo de SBB-PE alteraron los niveles de células madre CD34+ en la circulación.

La población de células madre CD45dim CD34+ se divide además en dos subtipos, según si las células expresan el antígeno CD309, una tirosina quinasa transmembrana también conocida como receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR-2) y receptor que contiene el dominio de inserción de quinasa (KDR; CD309). La presencia de CD309 en las células madre se ha asociado con un fenotipo más pluripotente (es decir, no diferenciado). Además, la expresión de CD309 en células CD34+ en la circulación se ha implicado en el mantenimiento y reparación vascular. La ausencia de CD309 en células madre CD34+ se ha asociado con un fenotipo progenitor. El consumo de SBB-PE desencadenó una movilización selectiva de células CD45dim CD34+ CD309-, en contraste con la ausencia de cambios en las células madre pluripotentes CD45dim CD34+ CD309+ (Figura 1). Al considerar la mayor respuesta a las 1 o 2 horas, el número de células CD45dim CD34+ CD309- y CD45dim CD34+ CD309+ aumentó en un  $24.2\% \pm 5.3\%$  ( $P < 0.001$ ) y  $19.5\% \pm 7.0\%$  ( $P < 0.016$ ), respectivamente (Figura 4).

### Cambios en MsCs

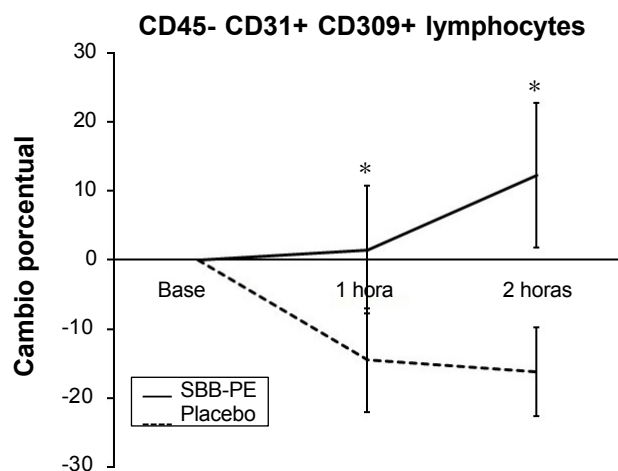
Para ocho de los doce participantes del estudio, se evaluaron los cambios en el número de células madre linfocitoides que expresaban el marcador de células madre mesenquimales CD90. Las células madre linfocitoides que expresaban el marcador de células madre mesenquimales CD90 eran negativas para CD45. Los cambios postconsumo mostraron un aumento en las células madre linfocitoides CD45- CD90+ a 1 hora y 2 horas después de consumir SBB, en contraste con cambios mínimos después de consumir placebo. El aumento a las 2 horas, en comparación con el valor inicial, alcanzó una tendencia estadística marginal ( $P < 0.11$ ) (Figura 3). Al considerar la mayor respuesta a 60 o 120 minutos, el número de células madre linfocitoides CD45- CD90+ circulantes aumentó en un  $20.8 \pm 5.7\%$  ( $P < 0.016$ ) (Figura 4).



**Figura 1** Cambios en las células madre CD45dim CD34+ en un plazo de 2 horas después de consumir sBB-Pe frente a placebo.

**Notas:** Los resultados se muestran como el promedio  $\pm$  seM de los cambios porcentuales individuales respecto al valor inicial después de consumir sBB-Pe (línea sólida) o placebo (línea discontinua). **(A)** Para las células madre CD45dim CD34+ CD309-, la diferencia entre los tratamientos no alcanzó significancia estadística ( $P < 0.17$ ); sin embargo, el aumento en las células madre CD45dim CD34+ CD309- a las 2 horas después de consumir SBB-PE fue altamente significativo en comparación con el valor inicial (\*\* $P < 0.007$ ). **(B)** En contraste, no hubo cambios significativos en las células madre CD45dim CD34+ CD309+ después de consumir tanto sBB-Pe como placebo. Abreviaturas: sBB-Pe, extracto rico en proantocianidinas de la baya de espino cervical de mar; seM, error estándar de la media."

**Abreviaturas:** sBB-Pe, extracto rico en proantocianidinas de la baya de espino cervical de mar; seM, error estándar de la media.



**Figura 2** Cambios en las células madre endoteliales CD45- CD31+ CD309+ en un plazo de 2 horas después de consumir sBB-Pe frente a placebo.

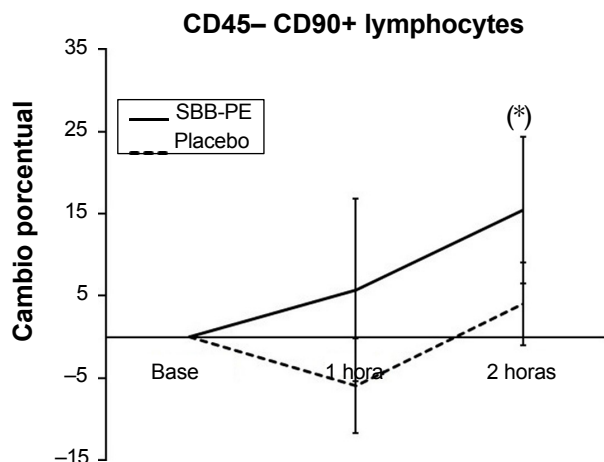
**Notas:** Los resultados se muestran como el promedio  $\pm$  seM de los cambios porcentuales individuales respecto al valor inicial después de consumir sBB-Pe (línea sólida) o placebo (línea discontinua). No hubo diferencia significativa entre los tratamientos; sin embargo, el aumento en las células madre endoteliales CD45- CD31+ CD309+ a 1 y 2 horas después de consumir SBB-PE fue estadísticamente significativo en comparación con el valor inicial (\* $P < 0.05$ ).

**Abreviaturas:** sBB-Pe, extracto rico en proantocianidinas de la baya de espino cervical de mar; seM, error estándar de la media.

## Discusión

La migración de células madre en busca de sitios que necesitan reparación es crucial para los procesos involucrados en el mantenimiento normal continuo y la rejuvenecimiento de tejidos sanos, así como para la reparación específica y curación de tejidos lesionados. Por lo tanto, la documentación de la movilización de células madre después de consumir un extracto botánico de SBB sugiere un mecanismo para los usos tradicionales del SBB en la medicina popular. La definición básica de una célula madre es una célula indiferenciada que puede auto-replicarse y también puede desarrollarse en cualquiera de varios tipos de células (como células sanguíneas, células de la piel, células nerviosas, etc.). Hay múltiples tipos de células madre, cada una con fenotipos distintos. Las células madre pluripotenciales tienen la capacidad de diferenciarse en linajes hematopoyéticos y no hematopoyéticos. Las MSCs (también conocidas como células estromales mesenquimales multipotentes) son no hematopoyéticas y poseen la capacidad de auto-renovación y diferenciación en múltiples linajes, incluyendo osteoblastos, condrocitos, neuronas, células musculares, adipocitos y células que expresan insulina en los islotes pancreáticos. También se ha

demostrado que las MSCs tienen propiedades inmunomoduladoras únicas, incluida su capacidad para reducir la infiltración de células inmunes y modular la inflamación.



**Figura 3** Cambios en las subpoblaciones circulantes de células madre mesenquimales CD90+.

**Notas:** Los resultados se muestran como el promedio  $\pm$  seM de los cambios porcentuales individuales respecto al valor inicial después de consumir sBB-Pe (línea sólida) o placebo (línea discontinua). Para los linfocitos CD45- CD90+, la diferencia entre los tratamientos no alcanzó significancia estadística; sin embargo, el aumento en las células madre mesenquimales CD45dim CD90+ a las 2 horas después de consumir sBB-Pe alcanzó una tendencia estadística (\* $P < 0.1$ ). Abreviaturas: sBB-Pe, extracto rico en proantocianidinas de la baya de espiño cervical de mar; seM, error estándar de la media.

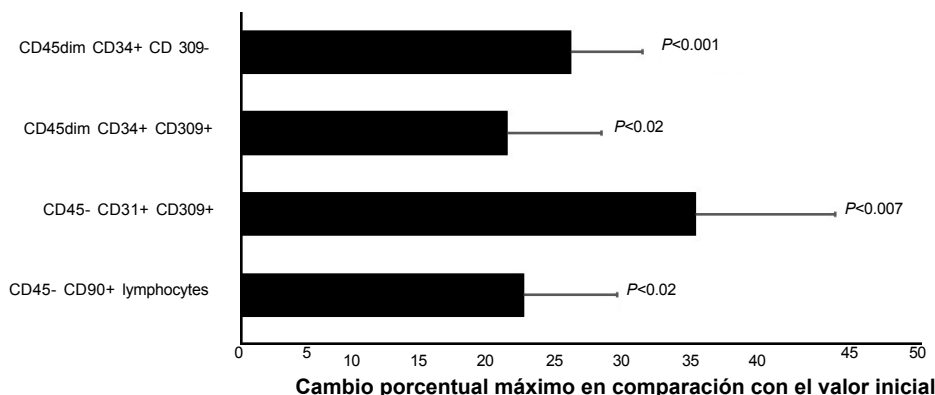
**Abreviaturas:** sBB-Pe, extracto rico en proantocianidinas de la baya de espiño cervical de mar; seM, error estándar de la media.

Asimismo, se ha documentado que aumentar el número de células madre circulantes mejora la reparación tisular o modifica el curso de la formación de enfermedades en casos de infarto agudo de miocardio<sup>93,94</sup> accidente cerebrovascular,<sup>95</sup> fractura ósea,<sup>96</sup> lesión muscular,<sup>97</sup> lesión de médula espinal,<sup>98</sup> cicatrización de heridas diabéticas,<sup>99</sup> y daño en el oído interno,<sup>100</sup> entre otros.

Se documentó que la movilización de células madre utilizando un extracto de la especie cianofita *Aphanizomenon flos-aquae* mejoró casos de miocardiopatía severa, accidente cerebrovascular, diabetes, artritis reumatoide, insuficiencia renal y enfermedad de Parkinson. Un extracto de *Rehmannia glutinosa* también demostró provocar la movilización de células madre a través de un mecanismo dependiente de CXCR4 y mejorar el resultado del infarto de miocardio. En conjunto, estos datos sugieren que SBB-PE podría ser un nuevo movilizador natural de células madre con el potencial de mejorar el curso de varias enfermedades degenerativas.

Hemos demostrado aquí que consumir SBB-PE conduce a un aumento selectivo en los linfocitos CD45- CD90+ circulantes. También se ha demostrado que las células madre desempeñan un papel importante paracrino, que incluye la comunicación con otros tipos celulares y efectos reguladores profundos como la reducción de la inflamación, lo cual puede desempeñar un papel crucial en la cicatrización de heridas. Las MSCs que expresan CD90 son capaces de suprimir condiciones inflamatorias mediante diversos mecanismos. Esto ha sido bien documentado en varios modelos de tejido, incluidas las células madre de pulpa dental que han mostrado efectos inmunomoduladores donde se suprime la actividad específica de los macrófagos inflamatorios y el perfil de citoquinas. Las MSCs también apoyan un cambio en la polarización de los macrófagos desde el tipo altamente inflamatorio "M1" hacia el tipo antiinflamatorio "M2", lo cual facilita la cicatrización de heridas y está asociado con cambios en la salud metabólica y el metabolismo de la glucosa. Por lo tanto, los efectos reparativos de las células madre en, por ejemplo, la diabetes pueden implicar la reparación a través de la regeneración de células beta pancreáticas, pero también pueden implicar un cambio inmunológico en la polarización de los macrófagos, apoyando positivamente una mejor salud metabólica.

**Movilización selectiva para diferentes tipos de células madre**



**Figura 4** Cambio máximo (1 o 2 horas) después del consumo de sBB-Pe.

**Notas:** Los cambios máximos en el número de células madre, ya sea observados a las 1 o 2 horas después del consumo de sBB-Pe, fueron ajustados para la respuesta placebo correspondiente para cada persona, y los resultados se presentan como promedio  $\pm$  SEM. El análisis de los efectos agudos en la movilización de células madre redujo las variaciones individuales y mostró cambios significativos por encima del placebo.

**Abreviaturas:** sBB-Pe, extracto rico en proantocianidinas de la baya de espiño cervical de mar; SEM, error estándar de la media.

La resolución de la inflamación es esencial para la cicatrización exitosa de heridas y tejidos dañados, y la inflamación crónica puede conducir a resultados deficientes en la cicatrización. La plasticidad dentro de la jerarquía de las células madre es importante y, aunque la jerarquía coloca a las células madre pluripotenciales en la cúspide, con las células madre endoteliales, mesenquimales y hematopoyéticas en un estado más diferenciado, existe la posibilidad de revertir al estado pluripotente. La capacidad de las MSCs para modular la respuesta inflamatoria en las heridas incluye tanto la reducción en la infiltración de células inflamatorias como la disminución de citocinas proinflamatorias como la interleucina (IL)-1 y el factor de necrosis tumoral (TNF)- $\alpha$ . Esta capacidad también respalda su efecto favorable en la respuesta de cicatrización, y hay un interés creciente en el uso no invasivo de extractos vegetales para la medicina regenerativa. La importancia clínica de la movilización de células madre en funciones reparadoras está bien documentada para mejorar condiciones diabéticas y la reparación cardiovascular después de un infarto, por lo que movilizados naturales de células madre como SBB-PE podrían ser herramientas efectivas para mejorar la salud general y acelerar el proceso de cicatrización mediante el apoyo al proceso real de reparación tisular y la reducción de la inflamación.

## Conclusión

Al documentar la capacidad de SBB-PE para apoyar la movilización de células madre y aumentar el número de células madre circulantes, hemos descubierto un nuevo mecanismo de acción detrás de muchos de los beneficios para la salud que históricamente se han asociado con SBB, como parte de su uso en la medicina tradicional tibetana, mongola y china. Una vez movilizadas, las células madre de la médula ósea pueden participar en el proceso de reparación tisular y modular la inflamación local, lo que respalda el uso de SBB-PE en el mantenimiento general de la salud.

## Declaración de compartición de datos

Los autores no tienen planeado compartir los datos individuales de los participantes desidentificados más allá de la presentación de datos en este manuscrito.

## Agradecimientos

Este estudio se llevó a cabo en NIS Labs, una organización independiente de investigación contratada especializada en investigación de productos naturales. El estudio fue copatrocinado por Biomx Stemceuticals LLC y NIS Labs R&D, Inc.

## Contribuciones de los autores

Contribuciones de los autores CD y GSJ planificaron las pruebas del espino cerval de mar para efectos sobre células madre. CD investigó el uso histórico y el conocimiento científico actual sobre el espino cerval de mar. GSJ diseñó y supervisó el estudio clínico. KFB realizó el tinción de células madre y la citometría de flujo. KFB y GSJ analizaron los datos e interpretaron los resultados. CD y GSJ coescribieron el manuscrito. Todos los autores contribuyeron al análisis de datos, redacción o revisión del artículo, dieron la aprobación final de la versión a ser publicada y acuerdan ser responsables de todos los aspectos del trabajo.

## Divulgación

CD es co-fundador y director ejecutivo de Biomx StemCeuticals LLC, y GSJ es director de investigación de NIS Labs. Los autores no reportan otros conflictos de interés en este trabajo.

## Referencias

- Kantor ED, Rehm CD, Du M, White E, Giovannucci EL. Trends in dietary supplement use among US adults from 1999–2012. *JAMA*. 2016; 316(14):1464–1474.
- Denham BE. Psychosocial correlates of dietary supplement use: results from the national survey of midlife development in the United States. *Ecol Food Nutr*. 2017;56(2):171–186.
- World Health Organization [homepage on the Internet]. World report on ageing and health; 2015. Available from: [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/186463/9789240694811\\_eng.pdf?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/186463/9789240694811_eng.pdf?sequence=1). Accessed December 21, 2018.
- Dall TM, Gallo PD, Chakrabarti R, West T, Semilla AP, Storm MV. An aging population and growing disease burden will require a large and specialized health care workforce by 2025. *Health Aff (Millwood)*. 2013;32(11):2013–2020.
- Centers for Disease Control and Prevention. The Power of Prevention Chronic disease ... the public health challenge of the 21st century. 16 pp. 2009. Available from: <https://www.cdc.gov/chronicdisease/pdf/2009-power-of-prevention.pdf>. Accessed December 21, 2018.
- Comlossy M. National Conference of State Legislatures. Chronic Disease Prevention and Management. 16 pp; 2013. Available from: <http://www.ncsl.org/documents/health/chronicdtk13.pdf>
- Řezníček V, Plšek J. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) – The effective source of vitamin C. In: *Proceedings of the Fifth Conference on Medicinal and Aromatic Plants of South-East European Countries, (5th CMAPSEEC)*, Brno, Czech Republic; 2008:69 pp.
- Yang B, Kallio HP. Fatty acid composition of lipids in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries of different origins. *J Agric Food Chem*. 2001;49(4):1939–1947.
- Bal LM, Meda V, Naik SN, Satya S. Sea buckthorn berries: a potential source of valuable nutrients for nutraceuticals and cosmeceuticals. *Food Res Int*. 2011;44(7):1718–1727.
- Tulsawani R, Gupta R, Misra K. Efficacy of aqueous extract of Hippophae rhamnoides and its bio-active flavonoids against hypoxia-induced cell death. *Indian J Pharmacol*. 2013;45(3):258–263.
- Dhyani D, Maikhuri RK, Rao KS. Basic nutritional attributes of Hippophae rhamnoides (sea buckthorn) populations from Uttarakhand Himalaya, India. *Curr Sci India*. 2007;92:1148–1152.
- Khan BA, Akhtar N, Mahmood T. A comprehensive review of a magic plant Hippophae rhamnoides. *Pharmacogn J*. 2010;16:58–61.
- Krejcarová J, Straková E, Suchý P, Herzig I, Karásková K. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) as a potential source of nutraceuticals and its therapeutic possibilities – a review. *Acta Veterinaria Brno*. 2015;84(3):257–268.
- Michel T, Destandau E, Le Floch G, Lucchesi ME, Elfakir C, Antimicrobial EC. Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaf, stem, root and seed. *Food Chem*. 2012;131(3):754–760.
- Li TSC, Beveridge, THJ, editors. *Sea Buckthorn (Hippophae rhamnoides): Production and Utilization*. Ottawa, ON: NRC Research Press; 2003:51–68.
- Kumar R, Kumar GP, Chaurasia OP, Bala Singh S, Singh SB. Phytochemical and pharmacological profile of seabuckthorn oil: a review. *J Med Plant Res*. 2011;5(5):491–499.



17. Guliyev VB, Gul M, Yildirim A. *Hippophae rhamnoides* L. chromatographic methods to determine chemical composition, use in traditional medicine and pharmacological effects. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2004;812(1–2):291–307.
18. Suryakumar G, Gupta A. Medicinal and therapeutic potential of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *J Ethnopharmacol*. 2011;138(2):268–278.
19. Leskinen HM, Suomela JP, Yang B, Kallio HP. Regioisomer compositions of vaccenic and oleic acid containing triacylglycerols in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) pulp oils: influence of origin and weather conditions. *J Agric Food Chem*. 2010;58(1):537–545.
20. Christaki E. *Hippophae rhamnoides* L. (Sea Buckthorn): a potential source of nutraceuticals. *Food Public Health*. 2012;2(3):69–72.
21. Bekker NP, Glushenkova AI. Components of certain species of the Elaeagnaceae family. *Chem Nat Compd*. 2001;2001(37):97–116.
22. Fatima T, Snyder CL, Schroeder WR, et al. Fatty acid composition of developing sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berry and the transcriptome of the mature seed. *PLoS One*. 2012;7(4):e34099.
23. Yang B, Karlsson RM, Oksman PH, Kallio HP. Phytosterols in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries: identification and effects of different origins and harvesting times. *J Agric Food Chem*. 2001;49(11):5620–5629.
24. Zheng RX, Xu XD, Tian X, Yang JS. Chemical constituents from the fruits of *Hippophae rhamnoides*. *Nat Prod Res*. 2009;23(15):1451–1456.
25. Olas B, Kontek B, Malinowska P, Żuchowski J, Stochmal A. *Hippophae rhamnoides* L. fruits reduce the oxidative stress in human blood platelets and plasma. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016(1):8 pp.
26. Papuc C, Diaconescu C, Nicorescu V. Antioxidant activity of sea buckthorn (*Hippophae Rhamnoides*) extracts compared with common food additives. *Rom Biotechnol Lett*. 2008;13(67):4049–4053.
27. Geetha S, Ram MS, Sharma SK, Ilavazhagan G, Banerjee PK, Sawhney RC. Cytoprotective and antioxidant activity of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) flavonoids against *tert*-butyl hydroperoxide-induced cytotoxicity in lymphocytes. *J Med Food*. 2009;12(1):151–158.
28. Rousi A. The genus *Hippophae* L. a taxonomic study. *Annals Botanica Fennici*. 1971;8:177–227.
29. Bernath J, Foldesi D. Sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.): a promising new medicinal and food crop. *J Herbs Spices Med Plants*. 1992;1:27–35.
30. Singh V. Seabuckthorn (*Hippophae* L.) in traditional medicines. In: Singh V, editor. *Seabuckthorn (Hippophae L.): A Multipurpose Wonder Plant*, vol. 2. New Delhi, India: Daya Publishing House; 2005:505–521.
31. Xiao Z, Peng W, Zhu B, Wang Z. The inhibitory effect of total flavonoids of hippophae on the activation of NF-kappa B by stretching cultured cardiac myocytes. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2003;34(2):283–285. Chinese.
32. Zhang M. Treatment of ischemic heart disease with flavonoids of hippophaerhamnoides. *Chin J Cardiol*. 1987;15:97–99.
33. Virgolici B, Lixandru D, Casariu ED, et al. Sea buckthorn pulp oil treatment prevents atherosclerosis in obese children. *ISRN Oxidative Med*. 2013;2013(4):1–9.
34. Basu M, Prasad R, Jayamurthy P, Pal K, Arumughan C, Sawhney RC. Anti-atherogenic effects of seabuckthorn (*Hippophaea rhamnoides*) seed oil. *Phytomedicine*. 2007;14(11):770–777.
35. Eccleston C, Baoru Y, Tahvonen R, Kallio H, Rimbach GH, Miniham AM. Effects of an antioxidant-rich juice (sea buckthorn) on risk factors for coronary heart disease in humans. *J Nutr Biochem*. 2002;13(6):346–354.
36. Koyama T, Taka A, Togashi H. Effects of a herbal medicine, *Hippophae rhamnoides*, on cardiovascular functions and coronary microvessels in the spontaneously hypertensive stroke-prone rat. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2009;41(1):17–26.
37. Cheng J, Kondo K, Suzuki Y, Ikeda Y, Meng X, Umemura K. Inhibitory effects of total flavonoids of *Hippophae Rhamnoides* L on thrombosis in mouse femoral artery and in vitro platelet aggregation. *Life Sci*. 2003;72(20):2263–2271.
38. Pang X, Zhao J, Zhang W, et al. Antihypertensive effect of total flavonoids extracted from seed residues of *Hippophae rhamnoides* L. in sucrose-fed rats. *J Ethnopharmacol*. 2008;117(2):325–331.
39. Suleyman H, Büyükkuroglu ME, Koryk M, Akcay F, Kiziltunc A, Gependiremen A. The effects of *Hippophae rhamnoides* L. extract on ethanol-induced gastric lesion and gastric tissue glutathione level in rats: a comparative study with melatonin and omeprazole. *Indian J Pharmacol*. 2001a;33:77–81.
40. Süleyman H, Demirezer LÖ, Büyükkuroglu ME, et al. Antiulcerogenic effect of *Hippophae rhamnoides* L. *Phytother Res*. 2001b;15(7):625–627.
41. Xing J, Yang B, Dong Y, Wang B, Wang J, Kallio HP. Effects of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed and pulp oils on experimental models of gastric ulcer in rats. *Fitoterapia*. 2002;73(7–8):644–650.
42. Dogra R, Tyagi SP, Kumar A. Efficacy of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) Oil *vis-a-vis* other standard drugs for management of gastric ulceration and erosions in dogs. *Vet Med Int*. 2013;2013:176848.
43. Zeb A. Anticarcinogenic potential of lipids from Hippophae – evidence from the recent literature. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2006;7(1):32–35.
44. Li Q, Ren FQ, Yang CL, et al. Anti-proliferation effects of isorhamnetin on lung cancer cells in vitro and in vivo. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(7):3035–3042.
45. Guo R, Guo X, Li T, Fu X, Liu RH. Comparative assessment of phytochemical profiles, antioxidant and antiproliferative activities of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries. *Food Chem*. 2017;221:997–1003.
46. Li C, Yang X, Chen C, Cai S, Hu J. Isorhamnetin suppresses colon cancer cell growth through the PI3K-Akt-mTOR pathway. *Mol Med Rep*. 2014;9(3):935–940.
47. Yasukawa K, Kitanaka S, Kawata K, Goto K. Anti-tumor promoters phenolics and triterpenoid from *Hippophae rhamnoides*. *Fitoterapia*. 2009;80(3):164–167.
48. Wang H, Gao T, du Y, et al. Anticancer and immunostimulating activities of a novel homogalacturonan from *Hippophae rhamnoides* L. berry. *Carbohydr Polym*. 2015;131:288–296.
49. Lee HI, Kim MS, Lee KM, et al. Anti-visceral obesity and antioxidant effects of powdered sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaf tea in diet-induced obese mice. *Food Chem Toxicol*. 2011;49(9):2370–2376.
50. Yang X, Wang Q, Pang ZR, Pan MR, Zhang W. Flavonoid-enriched extract from *Hippophae rhamnoides* seed reduces high fat diet induced obesity, hypertriglyceridemia, and hepatic triglyceride accumulation in C57BL/6 mice. *Pharm Biol*. 2017;55(1):1207–1214.
51. Pichiah PB, Moon HJ, Park JE, Moon YJ, Cha YS. Ethanol extract of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L) prevents high-fat diet-induced obesity in mice through down-regulation of adipogenic and lipogenic gene expression. *Nutr Res*. 2012;32(11):856–864.
52. Zhang W, Zhao J, Wang J, et al. Hypoglycemic effect of aqueous extract of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed residues in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytother Res*. 2010;24(2):228–232.
53. Sharma M, Siddique MW, Shamim AM, Gyanesh S, Pillai KK. Evaluation of antidiabetic and antioxidant effects of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Open Conf Proc J*. 2011;5(1):53–58.
54. Bhardwaj P, Varshneya C, Kaistha K, Tandon T. In vitro evaluation of antidiabetic and antioxidant activity of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves. *J Med Plants Res*. 2015;9(35):929–932.
55. Wang B, Lin L, Ni Q, Lian Su C. *Hippophae rhamnoides* Linn. for treatment of diabetes mellitus: a review. *J Med Plants Res*. 2011;5(13):2599–2607.
56. Lehtonen HM, Järvinen R, Linderborg K, et al. Postprandial hyperglycemia and insulin response are affected by sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* ssp. *turkestanica*) berry and its ethanol-soluble metabolites. *Eur J Clin Nutr*. 2010;64(12):1465–1471.
57. Gao S, Guo Q, Qin C, Shang R, Zhang Z. Sea Buckthorn fruit oil extract alleviates insulin resistance through the PI3K/Akt signaling pathway in Type 2 diabetes mellitus cells and rats. *J Agric Food Chem*. 2017;65(7):1328–1336.

58. Gupta A, Kumar R, Pal K, Singh V, Banerjee PK, Sawhney RC. Influence of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) flavone on dermal wound healing in rats. *Mol Cell Biochem*. 2006;290(1–2):193–198.
59. Upadhyay NK, Kumar R, Siddiqui MS, Gupta A. Mechanism of wound-healing activity of *Hippophae rhamnoides* L. leaf extract in experimental burns. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011;2011:659705.
60. Zhao Y. Clinical effects of *Hippophae* seed oil in the treatment of 32 burn cases. *Hippophae*. 1994;7:36–37. Available from: <http://www.shinyhorse.com/files/SEEOILBURN-TREATMENT.pdf>. Accessed December 21, 2018.
61. Jensen GS, Hart AN, Zasko LA, et al. Mobilization of human CD34+ CD133+ and CD34+ CD133(–) stem cells in vivo by consumption of an extract from *Aphanizomenon flos-aquae* – related to modulation of CXCR4 expression by an L-selectin ligand? *Cardiovasc Res*. 2007;8(3):189–202.
62. Drapeau C, Eufemio G, Mazzoni P, RToth GD, Stranberg S. The therapeutic potential of stimulating endogenous stem cell mobilization. In: *Tissue Regeneration*, Eds. Jamie Davies, From Basic Biology to Clinical Application, Prof. Jamie Davies (Ed.), 2012; Chapter 8: 167–202. ISBN: 978-953-51-0387-5, InTech. Available from: <https://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/34637.pdf>. Accessed December 21, 2018.
63. Drapeau C, Benson KF, James J, Jensen GS. Aloe macroclada from Madagascar triggers transient bone marrow stem cell mobilization. *J Stem Cell Res Ther*. 2015;05(06):287.
64. Shephard RJ. Adhesion molecules, catecholamines and leucocyte redistribution during and following exercise. *Sports Med*. 2003;33(4):261–284.
65. Dimitrov S, Benedict C, Heutling D, Westermann J, Born J, Lange T. Cortisol and epinephrine control opposing circadian rhythms in T cell subsets. *Blood*. 2009;113(21):5134–5143.
66. Atanackovic D, Schnee B, Schuch G, et al. Acute psychological stress alerts the adaptive immune response: stress-induced mobilization of effector T cells. *J Neuroimmunol*. 2006;176(1–2):141–152.
67. Atanackovic D, Brunner-Weinzierl MC, Kröger H, Serke S, Deter HC. Acute psychological stress simultaneously alters hormone levels, recruitment of lymphocyte subsets, and production of reactive oxygen species. *Immunol Invest*. 2002;31(2):73–91.
68. Dimitrov S, Lange T, Nohroudi K, Born J. Number and function of circulating human antigen presenting cells regulated by sleep. *Sleep*. 2007;30(4):401–411.
69. Shah VO, Civin CI, Loken MR. Flow cytometric analysis of human bone marrow. IV. Differential quantitative expression of T-200 common leukocyte antigen during normal hemopoiesis. *J Immunol*. 1988;140(6):1861–1867.
70. Chorváth B, Festin R, Sedláč J, Tötterman T, Nilsson K. Immunocytometric characteristics of a monoclonal antibody (Bra55) recognizing the leukocyte common antigen (LCA). *Neoplasma*. 1988;35(5):495–501.
71. Wu H, Yin Z, Wang L, Li F, Qiu Y. Honokiol improved chondrogenesis and suppressed inflammation in human umbilical cord derived mesenchymal stem cells via blocking nuclear factor- $\kappa$ B pathway. *BMC Cell Biol*. 2017;18(1):29.
72. Ziegler BL, Valtieri M, Porada GA, et al. KDR receptor: a key marker defining hematopoietic stem cells. *Science*. 1999;285(5433):1553–1558.
73. de Boer HC, Hovens MM, van Oeveren-Rietdijk AM, et al. Human CD34+/KDR+ cells are generated from circulating CD34+ cells after immobilization on activated platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(2):408–415.
74. Duda DG, Cohen KS, Scadden DT, Jain RK. A protocol for phenotypic detection and enumeration of circulating endothelial cells and circulating progenitor cells in human blood. *Nat Protoc*. 2007;2(4):805–810.
75. Bompais H, Chagraoui J, Canron X, et al. Human endothelial cells derived from circulating progenitors display specific functional properties compared with mature vessel wall endothelial cells. *Blood*. 2004;103(7):2577–2584.
76. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 2001;103(23):2776–2779.
77. Regueiro A, Cuadrado-Godia E, Bueno-Beti C, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in acute cardiovascular events in the PROCCELL study: time-course after acute myocardial infarction and stroke. *J Mol Cell Cardiol*. 2015;80:146–155.
78. Werner N, Kosiol S, Schiegl T, et al. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med*. 2005;353(10):999–1007.
79. Tomoda H, Aoki N. Bone marrow stimulation and left ventricular function in acute myocardial infarction. *Clin Cardiol*. 2003;26(10):455–457.
80. Fadini GP, Boscaro E, de Kreutzenberg S, et al. Time course and mechanisms of circulating progenitor cell reduction in the natural history of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2010;33(5):1097–1102.
81. Bozdogan-Turan I, Turan RG, Turan CH, et al. Relation between the frequency of CD34+ bone marrow derived circulating progenitor cells and the number of diseased coronary arteries in patients with myocardial ischemia and diabetes. *Cardiovasc Diabetol*. 2011;10(1):107.
82. Zenovich AG, Taylor DA. Atherosclerosis as a disease of failed endogenous repair. *Front Biosci*. 2008;13(13):3621–3636.
83. Fadini GP, Coracina A, Baesso I, et al. Peripheral blood CD34+KDR+ endothelial progenitor cells are determinants of subclinical atherosclerosis in a middle-aged general population. *Stroke*. 2006;37(9):2277–2282.
84. Lee ST, Chu K, Jung KH, et al. Reduced circulating angiogenic cells in Alzheimer disease. *Neurology*. 2009;72(21):1858–1863.
85. Kong XD, Zhang Y, Liu L, Sun N, Zhang MY, Zhang JN. Endothelial progenitor cells with Alzheimer's disease. *Chin Med J (Engl)*. 2011;124(6):901–906.
86. Grisar J, Aletaha D, Steiner CW, et al. Depletion of endothelial progenitor cells in the peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis. *Circulation*. 2005;111(2):204–211.
87. Herbrig K, Haensel S, Oelschlaegel U, Pistrosch F, Foerster S, Passauer J. Endothelial dysfunction in patients with rheumatoid arthritis is associated with a reduced number and impaired function of endothelial progenitor cells. *Ann Rheum Dis*. 2006;65(2):157–163.
88. Diller GP, van Eijl S, Okonko DO, et al. Circulating endothelial progenitor cells in patients with Eisenmenger syndrome and idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circulation*. 2008;117(23):3020–3030.
89. Palange P, Testa U, Huertas A, et al. Circulating haemopoietic and endothelial progenitor cells are decreased in COPD. *Eur Respir J*. 2006;27(3):529–541.
90. Esposito K, Ciotola M, Maiorino MI, et al. Circulating CD34+ KDR+ endothelial progenitor cells correlate with erectile function and endothelial function in overweight men. *J Sex Med*. 2009;6(1):107–114.
91. Foresta C, Caretta N, Lana A, Cabrelle A, Palù G, Ferlin A. Circulating endothelial progenitor cells in subjects with erectile dysfunction. *Int J Impot Res*. 2005;17(3):288–290.
92. Marchesi C, Belicchi M, Meregalli M, et al. Correlation of circulating CD133+ progenitor subclasses with a mild phenotype in Duchenne muscular dystrophy patients. *PLoS One*. 2008;3(5):e2218.
93. Kanellakis P, Slater NJ, Du XJ, Bobik A, Curtis DJ. Granulocyte colony-stimulating factor and stem cell factor improve endogenous repair after myocardial infarction. *Cardiovasc Res*. 2006;70(1):117–125.
94. Luo Y, Zhao X, Zhou X, et al. Short-term intermittent administration of CXCR4 antagonist AMD3100 facilitates myocardial repair in experimental myocardial infarction. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2013;45(7):561–569.
95. Wang LL, Chen D, Lee J, et al. Mobilization of endogenous bone marrow derived endothelial progenitor cells and therapeutic potential of parathyroid hormone after ischemic stroke in mice. *PLoS One*. 2014;9(2):e87284.
96. Toupadakis CA, Granick JL, Sagy M, et al. Mobilization of endogenous stem cell populations enhances fracture healing in a murine femoral fracture model. *Cytotherapy*. 2013;15(9):1136–1147.

97. Stratos I, Rotter R, Eipel C, Mittlmeier T, Vollmar B. Granulocyte-colony stimulating factor enhances muscle proliferation and strength following skeletal muscle injury in rats. *J Appl Physiol.* 2007;103(5):1857–1863.
98. Urdziková L, Likavčanová-Mašinová K, Vaněček V, et al. Flt3 ligand synergizes with granulocyte-colony-stimulating factor in bone marrow mobilization to improve functional outcome after spinal cord injury in the rat. *Cytotherapy.* 2011;13(9):1090–1104.
99. Nishimura Y, Ii M, Qin G, et al. CXCR4 antagonist AMD3100 accelerates impaired wound healing in diabetic mice. *J Invest Dermatol.* 2012;132(3 Pt 1):711–720.
100. Elbana AM, Abdel-Salam S, Morad GM, Omran AA. Role of endogenous bone marrow stem cells mobilization in repair of damaged inner ear in rats. *Int J Stem Cells.* 2015;8(2):146–154.
101. Wang YB, Liu YF, Lu XT, et al. Rehmannia glutinosa extract activates endothelial progenitor cells in a rat model of myocardial infarction through a SDF-1  $\alpha$ /CXCR4 cascade. *PLoS One.* 2013;8(1):e54303.
102. Lee DE, Ayoub N, Agrawal DK. Mesenchymal stem cells and cutaneous wound healing: novel methods to increase cell delivery and therapeutic efficacy. *Stem Cell Res Ther.* 2016;7(1):37.
103. Lee S, Zhang QZ, Karabucak B, Le AD. DPSCs from Inflamed pulp modulate macrophage function via the TNF- $\alpha$ /IDO Axis. *J Dent Res.* 2016;95(11):1274–1281.
104. Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest.* 2012;122(3):787–795.
105. Xu J, Wu W, Zhang L, et al. The role of microRNA-146a in the pathogenesis of the diabetic wound-healing impairment: correction with mesenchymal stem cell treatment. *Diabetes.* 2012;61(11):2906–2912.
106. Sykova E, Forostyak S. Stem cells in regenerative medicine. *Laser Ther.* 2013;22(2):87–92.
107. Kornicka K, Kocherova I, Marycz K. The effects of chosen plant extracts and compounds on mesenchymal stem cells—a bridge between molecular nutrition and regenerative medicine—concise review. *Phytother Res.* 2017;31(7):947–958.
108. Spinetti G, Mangialardi G, Specchia C, Madeddu P. Enhancing stem cell mobility: new hope for treatment of cardiovascular complications in patients with diabetes? *Diabetes.* 2015;64(8):2704–2707.
109. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(18):10344–10349.

### Clinical Interventions in Aging

## Publish your work in this journal

Clinical Interventions in Aging is an international, peer-reviewed journal focusing on evidence-based reports on the value or lack thereof of treatments intended to prevent or delay the onset of maladaptive correlates of aging in human beings. This journal is indexed on PubMed Central, MedLine,

CAS, Scopus and the Elsevier Bibliographic databases. The manuscript management system is completely online and includes a very quick and fair peer-review system, which is all easy to use. Visit <http://www.dovepress.com/testimonials.php> to read real quotes from published authors.

Submit your manuscript here: <http://www.dovepress.com/clinical-interventions-in-aging-journal>

Dovepress