

# El Potencial Terapéutico de Estimular la Movilización Endógena de Células Madre

Christian Drapeau<sup>1</sup>, George Eufemio<sup>2</sup>, Paola Mazzoni<sup>1</sup>,  
Gerhard D. Roth<sup>3</sup> and Susan Strandberg<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Stemtech International, San Clemente, CA,*

<sup>2</sup>*Cardinal Santos Medical Center, Medical Arts Building, Manila,*

<sup>3</sup>*Neurology and Psychiatry Center, Ostfildern, <sup>4</sup>Stem  
Cell Center, Spokane, WA*

<sup>1,4</sup>*USA*  
<sup>2</sup>*Philippines*  
<sup>3</sup>*Germany*

## 1.- Introducción

La última década ha presenciado un rápido y extenso desarrollo de diversas terapias y protocolos de tratamiento basados en Células Madre Adultas (ASC) y su aplicación en diversas enfermedades. Mientras algunos de estos protocolos de tratamiento han sido bien documentados en la literatura científica y utilizados en entornos clínicos bien controlados, otros han sido desarrollados y están siendo utilizados por un número creciente de clínicas en todo el mundo, aunque sin una documentación exhaustiva, pero con buen cuidado clínico y reportes de resultados muy convincentes.

A pesar de la amplia variedad de métodos, el procedimiento general que guía estos diversos protocolos sigue una serie de pasos comunes. El primer paso es el aislamiento de las células madre de una fuente. Con el fin de almacenamiento o aplicación clínica, las células madre pueden ser aisladas de una variedad de fuentes que incluyen el cordón umbilical (Can y Balci, 2011; Zhang et al., 2011), células madre derivadas del tejido adiposo (Insausti et al., 2011; Zachar et al., 2011), células madre periféricas de la sangre (Kolbe et al., 2010; Hofmann et al., 2009), células madre amnióticas y placentarias (Klein y Fauza, 2011; Tsagias et al., 2011), células madre de pulpa dental (Gronthos et al., 2011; Tirino et al., 2011), células madre olfativas (Chen et al., 2006; Viktorov et al., 2008), e incluso células madre epiteliales limbares humanas (Vasania et al., 2011).

El segundo paso es la proliferación. Este paso no es necesario con respecto a la función de las células madre, sin embargo, el número pequeño de células madre presentes en un cordón umbilical, una placenta, una muestra de sangre, una liposucción o una pulpa dental hace difícil la aplicación clínica sin la capacidad de expandir las células madre cosechadas. Los métodos para expandir células madre embrionarias se desarrollaron hace más de una década, sin embargo, solo hace unos años se desarrollaron métodos para expandir significativamente las ASC, lo que llevó a la expansión del mercado de bancos de células madre y a una mayor aplicación clínica (Ivanovic et al., 2011; Dos Santos et al., 2011; Pineault et al., 2011).

El tercer paso es el precondicionamiento o tratamiento para inducir el compromiso de las células madre hacia una línea celular específica. Por ejemplo, las células madre pueden ser guiadas para diferenciarse en neuronas productoras de dopamina mediante la exposición a un cóctel que contiene sonic hedgehog (SHH), factor de crecimiento fibroblástico 8 (FGF8) y factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF) (Trzaska y Rameshwar, 2011; Wang et al., 2011), o en neuronas que responden a múltiples neurotransmisores mediante la exposición a ácido retinoico y otros factores de crecimiento (Greco et al., 2008). Del mismo modo, las células madre pueden ser guiadas para diferenciarse en cardiomiocitos mediante la exposición a un cóctel que contiene factor de crecimiento transformante-beta(1), proteína morfogenética ósea-4, activina A, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento insulínico-1, factor de crecimiento fibroblástico-2, factor de crecimiento epidérmico (EGF) e interleucina-6 (Behfar et al., 2010; Behfar et al., 2008). El precondicionamiento con estas citocinas también puede mejorar la formación de uniones de hendidura y mejorar la eficacia terapéutica (Hahn et al., 2008). La exposición de las células madre a un cóctel que contiene insulina, transferrina, selenio y el análogo de GLP-1 (péptido similar al glucagón-1) exendina-4 conduce a la formación de células pancreáticas productoras de insulina (Docherty, 2009; Chandra et al., 2009). Se ha demostrado que varios cócteles inducen la diferenciación de células madre mesenquimales en una amplia variedad de tipos celulares (Snykers et al., 2011; Arufe et al., 2009; Keilhoff et al., 2006). Sin embargo, este paso de precondicionamiento no es esencial, ya que las ASC naturalmente se diferenciarán en el tipo celular con el que entren en contacto, ya sea restos celulares o marcadores celulares específicos de ese tipo celular. Por ejemplo, al migrar al corazón, las células madre pueden ser inducidas a diferenciarse en cardiomiocitos (Orlic et al., 2001), o en queratinocitos y apéndices cutáneos, células pancreáticas productoras de insulina o hepatocitos, según migran en una herida cutánea (Zhang y Fu, 2008), el páncreas (Hasegawa et al., 2007) o el hígado (Theise et al., 2000).

El tercer y último paso es la inyección de células madre en el órgano diana, en la arteria principal que conduce al órgano diana o en el torrente sanguíneo, desde donde algunas migrarán por sí solas al órgano afectado. En el caso de un ataque al corazón, por ejemplo, las células madre pueden ser inyectadas en la arteria coronaria (Wollert et al., 2004) o directamente en la zona de borde del infarto (Stamm et al., 2003; Tse et al., 2003). La eficacia del tratamiento puede variar significativamente con los diferentes métodos de inyección. Para el tratamiento del infarto agudo de miocardio, la inyección en la zona de borde del infarto parece ofrecer los mejores resultados, seguida de la inyección intracoronaria e intravenosa, respectivamente (Karra y Wu, 2008). Para el tratamiento de lesiones de médula espinal, la inyección directamente en la lesión o en el líquido cefalorraquídeo parece ser muy superior a la inyección intravenosa (Lima et al., 2010), aunque se han documentado casos muy convincentes después de la inyección intravenosa de células madre o simplemente de la movilización de células madre de médula ósea (ver Sección 4). Sin embargo, para el tratamiento de la diabetes, la inyección intravenosa parece ofrecer mejores resultados que el trasplante de células madre directamente en el páncreas (Hasegawa et al., 2007).

En este procedimiento multietapa en el que cada paso puede realizarse según una amplia variedad de protocolos y métodos, queda claro que las células madre periféricas de la sangre (PBSC), sin expansión, precondicionamiento o inyección, pueden alcanzar diversos órganos diana y participar en el proceso de reparación tisular. Esta observación ha llevado a varios investigadores a estudiar el potencial terapéutico de simplemente estimular la Movilización de Células Madre Endógenas de la Médula Ósea (ESCM). Este capítulo explorará detalladamente el potencial clínico y terapéutico de ESCM describiendo sus bases fisiológicas, revisando la literatura existente sobre la aplicación clínica de ESCM y presentando algunos casos clínicos.

## 2. El sistema de reparación del cuerpo

Para que las células madre endógenas tengan relevancia clínica, se debe demostrar que uno de los roles naturales de las células madre en el cuerpo es participar en la reparación de tejidos en casos de lesiones o enfermedades degenerativas. Por lo tanto, la relevancia clínica de movilizar células madre derivadas de la médula ósea endógena (BMSC) sería aumentar el número de células madre circulantes disponibles para migrar hacia los tejidos afectados y contribuir a la reparación de tejidos. Para que este fenómeno sea natural: 1) el cuerpo debe tener un mecanismo que desencadene la movilización de BMSC después de una lesión; 2) BMSC deben circular en la sangre y ser reclutadas por el tejido lesionado; 3) en el tejido lesionado, BMSC deben proliferar y 4) debe existir un mecanismo para desencadenar la diferenciación de BMSC en células de ese tejido.

### 2.1. Señalización para la movilización

El compuesto más común conocido por estimular naturalmente la movilización de BMSC es el Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos (G-CSF). Descubierta en 1985 por Welte et al., G-CSF es una citocina secretada por diversos tejidos que estimula la proliferación, diferenciación y función de precursores de neutrófilos y neutrófilos maduros. Pero también se ha demostrado que el G-CSF estimula la movilización de BMSC (Petit et al., 2003; Cottler-Fox et al., 2003), convirtiéndolo en una herramienta común en protocolos de aféresis de células madre con fines de criopreservación y trasplante de células madre (Gordon et al., 2008; Croop et al., 2001).

Dada la importancia vital del corazón y el hecho de que las enfermedades cardiovasculares son una causa principal de muerte en el mundo, gran parte de la investigación clínica de células madre ha centrado sus esfuerzos en el papel de las células madre en la reparación cardíaca que tiene lugar después de un infarto agudo de miocardio (IAM). Varios estudios han revelado la secuencia de eventos que tienen lugar después de un IAM. Unas pocas horas después del IAM, el tejido cardíaco libera o induce a liberar G-CSF (Leone et al., 2006). A medida que su concentración aumenta lentamente en el torrente sanguíneo, el G-CSF desencadena la liberación de células madre de la médula ósea, aumentando el número de PBSC que alcanza su pico aproximadamente de 4 a 7 días después del IAM (Shintani et al., 2001; Leone et al., 2006). Vale la pena mencionar que el nivel sérico de G-CSF y el número de PBSC también aumentan en casos de angina crónica (Leone et al., 2006). Se ha documentado una movilización similar de células madre y un aumento en PBSC después de una lesión muscular esquelética (Stout et al., 2007).

Otros quimiocinas como la interleucina-8 (IL-8), el factor 1 derivado de células estromales (SDF-1), el factor de células madre (SCF), Groß y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) han demostrado desencadenar la movilización de BMSC (King et al., 2001; Lapidot & Petit, 2002; Fukuda et al., 2007; Lapidot et al., 2009). A diferencia de G-CSF y SCF, que conducen a un aumento lento en el número de PBSC durante un período de unos días, otras citocinas como IL-8 conducen a un aumento significativo en el número de PBSC en cuestión de horas (Fibbe et al., 1999).

Como se ha descrito con el corazón después de un IAM, un accidente cerebrovascular también desencadena la liberación de citocinas que inducen la movilización de BMSC y su migración hacia el cerebro. Por ejemplo, el número de PBSC en pacientes con accidente cerebrovascular casi se triplicó en los 7 días posteriores al accidente cerebrovascular (Hennemann et al., 2008; Paczkowska et al., 2005). En un estudio, la magnitud de la liberación de células madre en realidad se correlacionó con la recuperación funcional de los pacientes (Dunac et al., 2007). Curiosamente, el número de células madre circulantes no aumentó en los pacientes que recibieron terapia de trombólisis inmediatamente después de su accidente cerebrovascular. Por lo tanto, parece que es la lesión persistente la que lleva lentamente a la movilización de células madre desde la médula ósea.

Finalmente, también se demostró que las lesiones en la piel y los huesos desencadenan la movilización de BMSC y su migración hacia el tejido lesionado. Por ejemplo, dentro de las 24 horas posteriores a una quemadura grave, se ha observado un aumento rápido de hasta 9 veces en el número de PBSC en la sangre de los pacientes quemados (Fox et al., 2008). Además, el tamaño del área del cuerpo afectada por las quemaduras se correlacionó fuertemente con la magnitud de la movilización. La piel afectada también liberó citocinas como SDF-1 y VEGF, que están involucradas en la migración de PBSC hacia la piel y su diferenciación en vasos sanguíneos, respectivamente (Mansilla et al., 2006). En un estudio (Lee et al., 2008), el número de PBSC alcanzó su pico alrededor de 3 días después de una fractura ósea y regresó rápidamente a niveles basales en pocos días. Estos resultados fueron confirmados en otro estudio en el que se demostró que las células madre migraban al sitio de la fractura y promovían la neovascularización. La formación de nuevos vasos sanguíneos alcanzó su pico en el sitio de la fractura 7 días después de la fractura, lo que corresponde a la fase temprana de osificación de la línea de fractura (Matsumoto et al., 2008). Por lo tanto, se documentó que la movilización de BMSC sigue naturalmente a una lesión o incluso está asociada con condiciones crónicas.

El proceso natural por el cual las células madre se movilizan desde la médula ósea aún no se comprende completamente. Contrario a la mayoría de los tejidos en los que SDF-1 se secreta como consecuencia de una lesión o una condición degenerativa, en la médula ósea SDF-1 se produce y libera constitutivamente, y la unión de SDF-1 a su receptor exclusivo CXCR4 conduce a la externalización de moléculas de adhesión, especialmente integrinas, que permiten la adherencia de las células madre a la matriz de la médula ósea. La unión de SDF-1 a CXCR4 se conoce como el eje SDF-1/CXCR4. La comprensión general es que la interrupción del eje SDF-1/CXCR4 reduce la expresión de moléculas de adhesión, lo que lleva a una reducción en la adherencia de las células madre a la matriz de la médula ósea y la consiguiente movilización de células madre. Varios compuestos conocidos por desencadenar la movilización de células madre afectan de diferentes formas al eje SDF-1/CXCR4.

Por ejemplo, el G-CSF interrumpe el eje SDF-1/CXCR4 activando una serie de enzimas proteolíticas incluyendo elastasa, catepsina G y varias metaloproteinasas de matriz (MMP2 y MMP9) que inactivan SDF-1 (Mannello et al., 2006; Jin et al., 2006; Carion et al., 2003). AMD3100 es un nuevo movilizador de BMSC que actúa bloqueando CXCR4, interrumpiendo el eje SDF-1/CXCR4 (Broxmeyer et al., 2005). Recientemente se aisló un bloqueador de L-selectina de la cianofita *Aphanizomenon flos-aquae* y se demostró que desencadena la movilización de BMSC (Jensen et al., 2007). La inhibición de L-selectina conduce a una regulación a la baja de la expresión de CXCR4, interrumpiendo parcialmente el eje SDF-1/CXCR4. El mecanismo de movilización de IL-8, SCF, VEGF y *Groß* no se comprende bien.

Por lo tanto, el cuerpo humano tiene un mecanismo para movilizar naturalmente BMSC que luego pueden migrar a diversas áreas del cuerpo y contribuir a la regeneración y reparación de tejidos.

## 2.2 Extravasación y reclutamiento

El reclutamiento es el proceso mediante el cual las PBSC son reclutadas por un tejido específico que señala para la reparación. El proceso de reclutamiento de PBSC en un tejido tiene lugar predominantemente a nivel de la vénula postcapilar, de manera similar a los neutrófilos (Henschler et al., 2008).

En resumen, la repentina caída de la presión sanguínea que tiene lugar en la vénula postcapilar desencadena turbulencias cuya fuerza de corte activa mecánicamente la L-selectina, la cual a su vez activa la externalización de CXCR4, haciendo que las PBSC sean más receptivas a las señales provenientes de los tejidos. Si el tejido necesita reparación, está secretando SDF-1, así como otros compuestos como el factor de células madre (SCF) y el factor de crecimiento hepatocitario (HGH) (Kucia et al., 2004; Neuss et al., 2004), que difunden localmente hacia los capilares. La unión de SDF-1 y SCF a sus receptores específicos (por ejemplo, CXCR4 y c-Kit) conduce a la expresión de moléculas de adhesión en la superficie de las células madre (Voermans et al., 2000; Peled et al., 1999; Peled et al., 2000). A través de una interacción compleja de microvellosidades en la superficie tanto del capilar como de las PBSC, las células madre inician el proceso de fijación y luego se detienen en el endotelio capilar (Middleton et al., 1997; 2002).

Tras la fijación firme, SDF-1 y HGH continúan uniendo a sus respectivos receptores CXCR4 y c-met en la superficie de las células madre, lo que desencadena la liberación y activación de metaloproteinasas de matriz (MMPs) que digieren el revestimiento endotelial, permitiendo la extravasación de las PBSC (Mannello et al., 2006; Janowska-Wieczorek et al., 2000; Neuss et al., 2004; Ries et al., 2007).

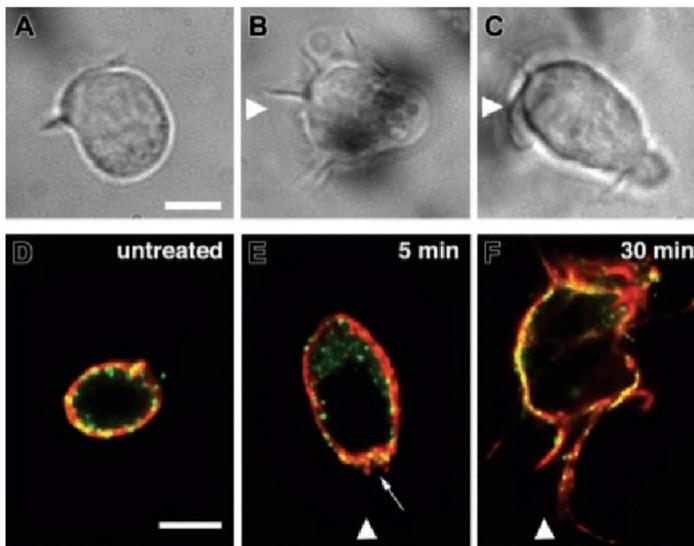
Al estudiar el comportamiento de migración de las SC hacia una amplia variedad de quimiocinas, se descubrió que las SC solo migran hacia SDF-1 (Wright et al., 2002; Jo et al., 2000). La migración hacia SDF-1 es un fenómeno polarizado hacia la fuente de quimiocina (quimiotáctico) y no un simple movimiento aleatorio (quimioquinético), ya que las SC solo migraron en un gradiente de SDF-1 y no cuando SDF-1 estaba distribuido uniformemente en el medio.

Normalmente, SDF-1 es secretado en cierta medida por cardiomiocitos (Askari et al., 2003), músculos esqueléticos (Ratajczak et al., 2003), hígado (Hatch et al., 2002; Kollet et al., 2003), cerebro (Bagri et al., 2002; Lazarini et al., 2003; Zou et al., 1998) y riñón (Schrader et al., 2002). Sin embargo, su secreción aumenta durante el daño tisular como en el IAM (Wojakowski et al., 2004; Abbott et al., 2004), la isquemia (Takahashi et al., 1999; Iwaguro et al., 2002), daño tóxico hepático (Kollet et al., 2003; Swenson et al., 2008; Hatch et al., 2002) y hemorragia excesiva (Ratajczak et al., 2004).

En el tejido, el proceso de migración hacia el sitio de la lesión depende de la interacción entre CD44 y su ligando ácido hialurónico (HYA). HYA es uno de los polisacáridos de la familia de los glicosaminoglicanos (GAGS), que se encuentran típicamente en los tejidos conectivos de los vertebrados. Junto con otras proteínas como colágeno, elastina, fibrilina, fibronectina y laminina, los GAGS y HYA constituyen la matriz extracelular (ECM) de la mayoría de los tejidos. Estudios en ratas han demostrado que la mitad del HYA encontrado en el cuerpo está en la piel, mientras que el 25% se encuentra en articulaciones y huesos juntos (Reed et al., 1988). El resto se distribuye de manera más o menos igual en músculos y vísceras (Clarris y Fraser, 1968; Comper y Laurent, 1978), donde las concentraciones más altas se encuentran en el tejido conectivo que forma la ECM de la mayoría de los tejidos.

Después de la extravasación, CXCR4 en la superficie de las SC y SDF-1 secretado por el tejido afectado continúan su interacción, lo que en el tejido conduce a la formación de pseudópodos (ver Figura 1) hacia la fuente de secreción de SDF-1. A medida que SDF-1 se une a CXCR4 en el tejido, las moléculas de adhesión CD44 se externalizan en la punta de los pseudópodos, lo que lleva a la adhesión a los caminos de HYA dentro del tejido. En el tejido, la unión de CD44 a HYA es transitoria, ya que las moléculas de CD44 se desprenden poco después de unirse a HYA (Friedl et al., 1995), lo que permite el desprendimiento de los pseudópodos de la ECM. CD44 también puede ser clivado por enzimas específicas cuya secreción es aumentada por SDF-1 (Heissig et al., 2002; Okamoto et al., 1999;

Janowska-Wieczorek et al., 1999). A través de este proceso, las células madre pueden migrar dentro del tejido hacia el sitio de la lesión. El hecho de que las PBSC migren principalmente hacia órganos afectados por una lesión o un proceso degenerativo ha sido documentado en varios estudios. Por ejemplo, en los casos de receptores masculinos de trasplantes de hígado de donantes femeninas, las biopsias realizadas entre 4 y 13 meses después del trasplante contenían un número significativo de hepatocitos positivos para el cromosoma Y (16% a 43%). En un paciente que sufrió hepatitis C después de un trasplante de hígado y falleció 4.5 meses después del trasplante, hasta un 43% del hígado trasplantado estaba compuesto por hepatocitos positivos para el cromosoma Y, en comparación con el 5% después de 4.5 meses en una mujer con un hígado sano que recibió un trasplante de médula ósea de un hombre (Theise et al., 2000). Las investigaciones realizadas en muestras de autopsia y biopsia de hígado obtenidas de dos mujeres que recibieron un trasplante de médula ósea de donantes masculinos para el tratamiento de la leucemia revelaron que entre un 5 y un 10% del hígado había sido reemplazado por BMSC derivadas del donante después de 4.5 y 13 meses, respectivamente (Theise et al., 2000).



**Fig. 1. CD44 está localizado en el borde frontal de células madre humanas polarizadas que migran hacia SDF-1.** Células CD34+ derivadas de sangre de cordón umbilical fueron sembradas en cubreobjetos de ácido hialurónico y se les permitió adherirse durante 30 minutos antes de grabar el movimiento celular. La posición de la fuente de SDF-1 está indicada por las flechas. (A-C) Microscopía de contraste de fase de células no tratadas (A), células estimuladas con fuente polarizada de SDF-1 (B), y células tratadas con el anticuerpo monoclonal anti-CD44 F10-44-2 y estimuladas con fuente polarizada de SDF-1 (C). (D-F) Las células tratadas como se mencionó anteriormente fueron fijadas 5 y 30 minutos después de la exposición a la fuente polarizada de SDF-1 e inmunomarcadas indirectamente con el anticuerpo monoclonal anti-CD44 (rojo) y anti-CXCR4 (verde). Una flecha señala las finas protrusiones CD44-positivas en dirección a SDF-1. Barras = 5  $\mu$ m. (Tomado de Avigdor et al., 2004)

Se observaron observaciones similares en hombres que recibieron trasplantes cardíacos de donantes mujeres. Los análisis de muestras de tejido obtenidas de biopsias revelaron que, en promedio, entre un 0.1% (Muller et al., 2002) y un 15% de los cardiomiocitos eran positivos para el cromosoma Y (Quaini et al., 2002; Laflamme et al., 2002).

En un paciente que falleció por rechazo cardíaco, el 29% de los cardiomiocitos contenían el cromosoma Y en "puntos calientes" de alta reparación cardíaca. En pacientes varones que recibieron trasplantes de pulmón de donantes femeninas, se detectaron células BMSCs derivadas del receptor como células epiteliales bronquiales, neumocitos tipo II y glándulas seromucosas en los pulmones trasplantados de todos los pacientes analizados. En pacientes que sufrían daño crónico, hasta un 24% de las células epiteliales bronquiales llevaban el cromosoma Y, lo que indica una reparación continua del tejido dañado por las propias células madre del receptor (Kleeberger et al., 2003).

En un estudio que investigó este proceso de reparación tisular por BMSC, ratones irradiados fueron trasplantados con células madre (SC) GFP-positivas antes de ser inyectados en el músculo tibial derecho con una gran dosis de carditoxina, lo que condujo a la pérdida de movilidad en pocos días. Sin embargo, después de ocho semanas, el músculo lesionado mostró una regeneración masiva, con el músculo tibial derecho significativamente reconstruido con miocitos GFP-positivos. En contraste, la pierna no lesionada contralateral mostró una incorporación muy pequeña de miocitos GFP-positivos (Drapeau et al., 2010). Observaciones similares fueron realizadas por Abedi et al. (2004), utilizando inyecciones más pequeñas de carditoxina. Cuatro semanas después de la inyección de carditoxina en la pierna derecha, el área de la inyección contenía entre un 1-2% de células musculares GFP-positivas, mientras que la pierna izquierda no mostró fluorescencia alguna.

Se hicieron observaciones similares en modelos de lesión cutánea (Abedi et al., 2004). En un protocolo similar, ratones irradiados fueron trasplantados con células madre GFP-positivas. Las BMSCs fueron movilizadas durante cinco días utilizando G-CSF. El cuarto día, los ratones fueron sometidos a biopsias en punta en su flanco. El área de la lesión fue biopsiada nuevamente y suturada 48 horas y 1 mes después de la lesión, para evaluar la incorporación de células GFP-positivas en la piel en proceso de curación. Mientras que el análisis a las 48 horas mostró una infiltración significativa de células madre indiferenciadas GFP-positivas en la capa profunda de la piel (hipodermis), después de 4 semanas hubo un gran número de células del tejido GFP-positivas en la dermis componiendo la estructura de la piel curada, como queratinocitos, glándulas sebáceas, vasos sanguíneos y algunos raras fibras musculares y folículos pilosos. En los animales de control que recibieron G-CSF pero no biopsia de punta, ninguna de estas estructuras cutáneas fue positiva para GFP, indicando que las pocas SC que habían migrado en la piel lo habían hecho de manera aleatoria.

En otros estudios que examinaron la incorporación de BMSCs en tejidos lesionados, se demostró migración dirigida en el intestino después de la sección de un segmento intestinal (Hayakawa et al., 2003), en el corazón después de un infarto de miocardio (Orlic et al., 2001a; Fukuhara et al., 2004) o cardiomiopatía inducida (Hisashi et al., 2004), en el cerebro después de un accidente cerebrovascular (Sanchez-Ramos et al., 2002; Hoehn et al., 2002) y en el hígado después de daño hepático inducido por medicamentos (Abedi et al., 2004). En conjunto, estos estudios establecen claramente que las BMSCs migran principalmente hacia áreas sometidas a lesión, daño o degeneración simple.

### 2.3 Proliferación

Cuando las células madre llegan al sitio de una lesión, deben proliferar y expandirse, ya que no hay suficientes PBSC para lograr una reparación completa de cualquier lesión significativa o proceso degenerativo.

Se ha informado que varias quimiocinas, como SDF-1, mejoran la proliferación de células madre (Bonavia et al., 2003). El efecto directo de SDF-1 sobre la proliferación y supervivencia celular no

se entiende completamente, pero se ha encontrado que SDF-1 estimula la proliferación y supervivencia de células madre bajo ciertas condiciones experimentales (Broxmeyer et al., 2003). En los tejidos, SDF-1 parece actuar como un "factor de supervivencia celular" (Hwang et al., 2006). Se ha demostrado que el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1), cuando se combina con el factor de crecimiento epidérmico (EGF) o el factor de crecimiento de fibroblastos-2 (FGF-2), apoya la proliferación y supervivencia de células madre neuronales (Arsenijevic et al., 2001) y musculares (Deasy et al., 2002). También se ha demostrado que los nucleótidos extracelulares apoyan la proliferación de células madre cerebrales (Mishra et al., 2006).

## 2.4 Diferenciación

La capacidad de las células madre adultas para diferenciarse en varios tipos celulares ha sido bien documentada, aunque el mecanismo detrás de dicha transformación aún no se entiende completamente.

Como informó Krause et al. (2001), once meses después de la inyección de células madre masculinas en ratones hembras, se encontraron células portadoras del cromosoma Y en varios tejidos, incluyendo el hígado, músculo, piel, pulmón e intestino. Se ha demostrado bien que las BMSC pueden diferenciarse en una amplia variedad de tipos celulares, incluyendo miocitos (Ferrari et al., 1998), hepatocitos (Lee et al., 2004), células epiteliales (Krause et al., 2001), neuronas (Mezey et al., 2003; Sanchez-Ramos et al., 2000; Woodbury et al., 2000), células retinianas (Tomita et al., 2002), células endoteliales y cardiomiocitos (Jackson et al., 2001; Orlic et al., 2001), epitelio gastrointestinal (Krause et al., 2001; Okamoto et al., 2002), células endocrinas pancreáticas (Ianus et al., 2003), hueso y cartílago (Pereira et al., 1995; 1998).

Aunque se ha realizado poco trabajo en este campo y quedan muchas preguntas por responder, se han propuesto dos posibles mecanismos para la diferenciación de las células madre.

Un mecanismo propuesto es la fusión celular, que ocurre cuando dos células se fusionan para convertirse en una sola célula. Algunos estudios han sugerido que las células madre tienen la capacidad de fusionarse con células somáticas, rescatando la célula objetivo (Tarada et al., 2002; Vassilopoulos et al., 2003; Spees et al., 2003). Aunque hay evidencia clara de que este fenómeno se dio en algunos experimentos y que podría ocurrir naturalmente en ciertos tejidos como el corazón (Nygren et al., 2004), es poco probable que sea un fenómeno fisiológico significativo (Wurmser y Gage, 2002). Por ejemplo, mientras que el proceso de fusión implica la interacción de una sola célula madre con una célula somática, por lo tanto una proporción de 1:1, el alcance de la reparación de tejidos mediada por células madre que se ha documentado en numerosos estudios, que involucran varios tejidos, excede con creces el número real de células madre que migran al tejido. Además, el proceso de fusión celular resulta en una célula que es tetraploide. Aunque esto se ha observado en algunos estudios *in vitro*, ha sido una observación muy rara *in vivo*. De hecho, incluso *in vitro*, se tuvieron que usar condiciones relativamente duras para obtener fusión celular. Finalmente, la fusión celular implicaría la fusión de dos membranas celulares diferentes, un proceso que en sí mismo está lleno de desafíos, ya que las células están diseñadas para no fusionarse.

Entonces, aunque la fusión celular podría posiblemente ocurrir de forma natural en el cuerpo, es poco probable que contribuya significativamente al proceso de reparación que se ha documentado con las células madre adultas. El otro mecanismo más probable es la diferenciación a través del contacto con componentes celulares cuando el tejido afectado está localmente sujeto a la acción de varias metaloproteinasas de matriz (MMP) o la diferenciación inducida por citoquinas liberadas por células vecinas.

Este proceso fue bellamente evidenciado por el estudio de Jang et al. (2004) en el que células madre hematopoyéticas (HSC) fueron co-cultivadas con tejido hepático normal o dañado, separado por una membrana semipermeable con poros de 0.4  $\mu\text{m}$ . Utilizando inmunofluorescencia para detectar marcadores específicos de HSC (CD45) o hepatocitos (albúmina), los autores pudieron seguir la transformación de la población de HSC. Cuando las HSC se cultivaron solas durante 8 horas, solo expresaron CD45 y no albúmina. Sin embargo, cuando las HSC fueron expuestas a tejido hepático lesionado, rápidamente se volvieron positivas para albúmina. Con el tiempo, la población de células positivas para CD45 comenzó a disminuir a medida que la población positiva para albúmina comenzó a aumentar. Las células positivas para albúmina se observaron tan pronto como a las 8 horas y constituyeron el 3.0% de la población celular a las 48 horas. La conversión fue mínima y retardada cuando las HSC fueron expuestas a hígado no dañado (control para la lesión). Por lo tanto, la presencia de una lesión parece ser un factor importante en el proceso de diferenciación de las células madre en un tipo específico de células somáticas.

Los autores investigaron más a fondo el fenómeno de la diferenciación rastreando la presencia de varios marcadores encontrados en células hepáticas fetales en desarrollo, como  $\alpha\text{FP}$ , y en hepatocitos maduros, como CK18, albúmina, fibrinógeno y transferrina. Encontraron que  $\alpha\text{FP}$  se expresó solo a las 8 horas y se perdió después. Por otro lado, la expresión de CK18, albúmina, fibrinógeno y transferrina aumentó con el tiempo. Mientras que al tiempo 0 las HSC expresaban solo CD45, después de solo 8 horas, todos los marcadores específicos del hígado eran positivos. Así, durante el proceso de diferenciación, las células madre parecían seguir una ruta similar al desarrollo de hepatocitos en el feto en desarrollo, llevando a hepatocitos maduros en menos de 48 horas. Este repaso del desarrollo fetal también se ha documentado en la cardiopoyesis (Behfar et al., 2008).

En este estudio, la diferenciación no involucró fusión celular, ya que las nuevas células hepáticas solo contenían un conjunto de cromosomas. La diferenciación fue necesariamente desencadenada por moléculas de señalización producidas por el tejido dañado. Se ha sugerido que las MMPs producidas por tejido dañado podrían estar jugando un papel importante en la diferenciación de las células madre al digerir componentes específicos de la matriz extracelular (ECM) que luego se difundirían y entrarían en contacto con las células madre. La unión de dichos compuestos a receptores específicos activaría mensajeros internos que desencadenarían el proceso de diferenciación al activar genes específicos, como lo sugiere el alto nivel de ARNm encontrado en células en diferenciación. (Mannello et al., 2006; Chavey et al., 2003).

La comunicación intercelular por uniones de hendidura (GJIC) y nanotúbulos de túnel (TNTs) podría constituir otros mecanismos que juegan un papel significativo en la diferenciación de las células madre, mediante el contacto directo célula a célula (Behfar et al., 2010). El diámetro de una unión de hendidura es de alrededor de 2 nm y el nivel de corte del tamaño molecular es de alrededor de 1-2 kDa, lo cual es suficiente para el intercambio intercelular de iones, nucleótidos e incluso pequeñas proteínas (Neijssen et al., 2005). Se sabe que la GJIC juega un papel crucial en la modulación de varias funciones celulares, hasta el punto de que la alteración o la falta de GJIC se ha asociado con enfermedades graves (Dasgupta et al., 1999). Se ha sugerido que la GJIC podría jugar un papel importante en la diferenciación de las células madre (Loewenstein y Rose, 1992). Asimismo, estudios recientes indicaron que dos células también pueden intercambiar información a través de TNTs (Rustom et al., 2004). Los TNTs formarían un puente de citoplasma entre dos células que podría ser lo suficientemente grande como para permitir el transporte de moléculas grandes o incluso orgánulos celulares completos. Dicha información podría jugar un papel en el proceso final de diferenciación, aunque se necesita mucho trabajo en este campo antes de obtener una mejor comprensión del papel de la GJIC y los TNTs en la diferenciación de las células madre.

## 2.5 Efecto paracrino

Finalmente, varios estudios que investigan el efecto de las BMSC en diversas entidades diagnósticas han revelado que, a menudo, el grado de los beneficios observados no puede explicarse por la mera cantidad de BMSC que se han diferenciado en células somáticas, incluso cuando hay evidencia clara de regeneración tisular mediada por células recién formadas. Por ejemplo, ratones hembra irradiados trasplantados con BMSC transgénicas GFP+ mostraron una recuperación mucho mejor de un accidente cerebrovascular experimental después de la movilización de BMSC inducida por G-CSF en comparación con los ratones de control no movilizados (Kawada et al., 2006). Tanto las funciones motoras como las cognitivas mejoraron con la movilización de BMSC, y el tratamiento también redujo el tamaño del infarto. Sin embargo, usando bromodesoxiuridina (BrdU), se observó que un número significativo de las células cerebrales recién formadas no derivaban de BMSC sino más bien de células madre neurales locales. Resultados similares se observaron en lesiones de la médula espinal y lesiones musculares (Kinnaird et al., 2004; Osada et al., 2010). Se cree que el efecto regenerativo es desencadenado por la secreción de factores de crecimiento y señalización paracrina por las BMSC (Uccelli et al., 2011).

El efecto paracrino ha sido mejor evidenciado en el corazón después de un infarto de miocardio (AMI). La entrega de BMSC al tejido cardíaco isquémico ha llevado a un aumento significativo en la concentración de IL-10, interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) y otras citoquinas en el tejido cardíaco, lo que contribuyó a la neovascularización y reducción del tamaño del infarto (Kamihata et al., 2001; Burchfield et al., 2008; Gnechchi et al., 2005; Mirotsoy et al., 2011). El medio condicionado en el que las BMSC fueron expuestas a hipoxia demostró ser citoprotector para los cardiomiocitos y fue capaz de reducir el tamaño del infarto (Gnechchi et al., 2006).

En general, un creciente cuerpo de evidencia apoya la hipótesis de que a medida que las BMSC migran a los tejidos, además de diferenciarse en células del tejido objetivo, también ejercen su efecto regenerativo al menos en parte -y tal vez incluso en gran medida- a través de la secreción de compuestos de señalización paracrina.

## 3. ESCM como un enfoque de tratamiento

Dado que el SDF-1 es secretado por varios órganos y tejidos ante una lesión o degeneración, se deduce que el número de PBSC debería ser un parámetro importante en la efectividad general de la reparación y regeneración tisular mediada por SC. Un mayor número de PBSC significaría más SC disponibles para responder a la señalización de SDF-1 y migrar a los tejidos. En este sentido, Tomoda et al. (2003) informaron que después de un ataque cardíaco, las personas con un mayor número de PBSC mostraron una mayor recuperación de las funciones cardíacas después de 6 meses en comparación con las personas que tenían menos PBSC en el momento del evento cardíaco.

En un estudio prospectivo con más de 500 individuos, Werner et al. (2005, 2007) evidenciaron que el número de PBSC es un parámetro crítico en el papel de las SC en la reparación tisular. Los autores cuantificaron el número basal de PBSC en 519 individuos (promedio de 66.6 $\pm$ 10.8 años) en riesgo de problemas cardiovasculares y monitorearon su condición durante un año. Un primer evento cardiovascular mayor ocurrió en 214 pacientes. Después de ajustar por edad, sexo, factores de riesgo vascular y otras variables relevantes, niveles aumentados de PBSC se asociaron con un menor riesgo de muerte por causas cardiovasculares, menor riesgo de un primer evento cardiovascular mayor, mayor revascularización y menor frecuencia de hospitalización.

Datos similares han sido obtenidos por Vasa et al. (2001), quienes documentaron que un mayor número de células progenitoras endoteliales (EPC) estaba asociado con una mejor salud cardiovascular. De hecho, se ha asociado la hipoxia con la secreción de SDF-1 y VEGF por el tejido isquémico (Schioppa et al., 2003; Bachelder et al., 2002). Las EPC circulantes, por lo tanto, son atraídas al corazón isquémico por la acción de SDF-1 y las EPC migrantes contribuyen a la formación de nuevos vasos sanguíneos mediante la acción de VEGF (Lee et al., 2007). Por lo tanto, un mayor número de EPC o PBSC ayuda a mantener un flujo sanguíneo óptimo y un tejido cardíaco fuerte.

El vínculo entre la formación de enfermedades y el número de células madre circulantes no se limita al corazón. Observaciones similares se han hecho con la distrofia muscular, donde la tasa de progresión de la enfermedad se ha relacionado con el número de células madre circulantes y para la cual el número de PBSC ahora se considera uno de los predictores más importantes de la progresión de la enfermedad (Marchesi et al., 2008). De igual manera, la progresión de la hipertensión arterial pulmonar (Diller et al., 2008; Junhui et al., 2008), la artritis (Herbrig et al., 2006; Grisar et al., 2005), la aterosclerosis (Zhu et al., 2006), el lupus eritematoso (Westerweel et al., 2007; Moonen et al., 2007), la insuficiencia renal (Choi et al., 2004; Herbrig et al., 2004; Eizawa et al., 2003), la migraña (Lee et al., 2008), la disfunción eréctil (Baumhake et al., 2007) y otras enfermedades han sido vinculadas a una reducción en el número de PBSC. Recientemente, se ha establecido una relación directa entre el número de PBSC y el desarrollo de la diabetes, vinculando la glucosa en ayunas alterada, la tolerancia alterada a la glucosa y la diabetes mellitus dependiente de insulina con niveles progresivamente más bajos de PBSC (Fadini et al., 2010).

Si el número de PBSC constituye un parámetro clave en el proceso de reparación tisular mediada por SC, entonces aumentar el número de PBSC podría constituir un enfoque terapéutico. A continuación se describe una serie de ensayos clínicos que investigan el potencial clínico de ESCM en diversas enfermedades o lesiones.

### **3.1 Infarto agudo de miocardio**

Tradicionalmente se ha visto al corazón como un órgano con pocas capacidades regenerativas después del nacimiento, aunque muchos estudios recientes han desafiado esta visión. La evidencia sugiere claramente que hay un bajo nivel de regeneración constante de células cardíacas (Soonpaa y Field, 1998; Bergmann et al., 2009; Quaini et al., 2002), y el número de células en división puede aumentar hasta 10 veces en enfermedades cardíacas crónicas o después de un infarto agudo de miocardio (AMI) (Kajstura et al., 1998; Beltrami et al., 2001). Sin embargo, este nivel de proliferación parece insuficiente para rescatar el músculo cardíaco después de un AMI (Schwartz y Kornowski, 2003) y los sobrevivientes de ataques cardíacos quedan con una calidad de vida reducida y pocas perspectivas de mejora.

Varios estudios en animales utilizando G-CSF y SCF han demostrado que ESCM puede conducir a una reparación cardíaca significativa después de un infarto agudo de miocardio (AMI). La inyección de SCF y G-CSF durante 8 días después de inducir un AMI aumentó significativamente el número de PBSC, lo que llevó a la migración de PBSC al miocardio (Orlic et al., 2001b). Veintisiete días después del AMI, una banda de tejido cardíaco recién formado ocupaba más del 75% de la región infartada del ventrículo y los vasos sanguíneos recién formados estaban suministrando al tejido infartado. Los vasos sanguíneos estaban rodeados de músculos lisos y las observaciones microscópicas revelaron la presencia de glóbulos rojos, lo que indica que las arteriolas recién formadas se integraron estructuralmente con la vasculatura funcional restante. En comparación, en los animales de

control, la pared ventricular estaba llena de tejido cicatricial que cubría toda el área del infarto y no se podían ver nuevos vasos sanguíneos.

En resumen, mientras que solo el 17% (9 de 52) de los animales no tratados sobrevivieron al AMI, mostrando signos severos de miocardiopatía y circulación sanguínea comprometida, hasta el 73% (11 de 15) de los animales tratados con G-CSF sobrevivieron con una función cardíaca significativamente mejorada y una circulación sanguínea restaurada. Después de 27 días, la fracción de eyección fue un 114% mayor en el grupo tratado y otros parámetros como la presión telediastólica, la presión sistólica y otros parámetros de función cardiovascular, todos mejoraron en los ratones tratados en comparación con los no tratados.

Sin embargo, la inyección de G-CSF puede tener efectos negativos significativos en humanos si se administra en dosis altas durante más de 5-6 días (Bensinger et al., 1996; Shimoda et al., 1993). En dosis más bajas y con una duración de tratamiento más corta, los ensayos en humanos hasta ahora han arrojado resultados mitigados, aunque el enfoque sigue siendo prometedor. Mientras que algunos grupos informaron resultados muy prometedores (Ince et al., 2005; Sesti et al., 2005), otros no informaron ningún efecto (Ellis et al., 2006; Zohnhofer et al., 2007; Ripa y Kastrup, 2008). Una revisión exhaustiva de los diversos estudios revela que cada estudio utilizó protocolos ligeramente diferentes en cuanto al momento del tratamiento después del AMI (desde horas hasta 3 meses), así como la intensidad y duración del tratamiento, lo que sugiere que el ESCM podría tener un gran potencial una vez que se haya desarrollado el protocolo de tratamiento más efectivo (Abdel-Latif et al., 2008).

Por ejemplo, Wojakowski et al. (2006) informaron en 43 pacientes cardíacos que si los pacientes eran tratados temprano después del AMI (<12 horas) con G-CSF, el número de PBSCs tras la movilización de BMSC se correlacionaba con la extensión de la reparación cardíaca. En otro estudio, el G-CSF se inyectó dentro de los 5 días posteriores al AMI en 41 pacientes con alto riesgo de remodelación desfavorable del ventrículo izquierdo. Cinco meses después del tratamiento con G-CSF, la fracción de eyección había mejorado un 12.5% en comparación con ninguna mejora en el grupo de control (Leone et al., 2007). Las mejoras en la función cardíaca parecían estar vinculadas a la prevención de la remodelación del ventrículo izquierdo.

Un meta-análisis que revisó la efectividad de la movilización de BMSC para el tratamiento del AMI incluyó 7 estudios y un total de 364 pacientes. El análisis concluyó que el tratamiento con G-CSF puede mejorar la fracción de eyección del VI si el tratamiento se administra temprano después del ataque cardíaco (Kang et al., 2007). Sin embargo, a pesar de las mejoras en la fracción de eyección, otros parámetros generales de salud cardiovascular, como la arritmia ventricular, la rehospitalización por insuficiencia cardíaca y el conjunto de otros eventos cardiovasculares (es decir, muerte por ataque cardíaco, ataque cardíaco recurrente y accidente cerebrovascular), no fueron significativamente diferentes en los grupos de tratamiento con G-CSF en comparación con los grupos de control. Resultados similares fueron informados por otro meta-análisis que incluyó ocho estudios y 385 pacientes (Abdel-Latif et al., 2008).

Por lo tanto, no está claro si la simple movilización de BMSCs puede constituir un tratamiento efectivo para el AMI. Mientras que algunos estudios han arrojado resultados prometedores, otros no sugieren beneficios en absoluto. Sin embargo, los resultados positivos obtenidos en algunos estudios no deben negarse sobre la base de los resultados negativos obtenidos en otros. La reconciliación de todos estos datos y el desarrollo de un protocolo de tratamiento efectivo probablemente vendrá a través de la determinación de los parámetros óptimos de tratamiento: 1) intensidad de ESCM, 2) duración del tratamiento, 3) tiempo después del AMI, 4) número de tratamientos recibidos a lo largo del tiempo y 5) otros parámetros aún no identificados. También podrían descubrirse compuestos distintos al G-CSF que podrían proporcionar resultados más consistentes (Broxmeyer et al., 2005; DeClercq, 2005).

### 3.2 Ictus

Muchos estudios han demostrado que la muerte neuronal extensa en el cerebro después de un ictus desencadena la migración de células madre neurales al sitio de la lesión, seguida de su proliferación y diferenciación en neuronas y células gliales (Peterson, 2002; Fallon et al., 2000; Arvidsson et al., 2002; Nakatomi et al., 2002; Schmidt y Reymann, 2002). Sin embargo, este proceso natural no parece ser suficiente para producir una recuperación funcional significativa (Yamamoto et al., 2001; Magavi y Macklis, 2002).

Al igual que con el corazón después del AMI, el ictus se ha asociado con la movilización de BMSC. Los estudios han demostrado que el número de PBSC en pacientes con ictus puede aumentar hasta 3 veces dentro de los 7 días posteriores al ictus (Hennemann et al., 2008; Paczkowska et al., 2005). En un estudio, la magnitud de la movilización de BMSC se correlacionó con la recuperación funcional de los pacientes (Dunac et al., 2007).

Cuando se inyectaron células madre de rata (Chen et al., 2001; Pavlichenko et al., 2008; Willing et al., 2003) o humanas (Li et al., 2002) en ratas después de un ictus inducido, se observaron mejoras significativas en las funciones motoras y cognitivas. Aunque se pudo identificar un número significativo de células derivadas de la médula ósea como neuronas y células gliales recién formadas en los focos del ictus, representaban solo un pequeño porcentaje del total de células cerebrales recién formadas. Se cree que la mayoría de las células cerebrales recién formadas se derivan de las células madre neurales bajo la acción de las señales paracrinas secretadas por las células madre migratorias. Se obtuvieron resultados similares utilizando células madre del cordón umbilical humano (HUCSC), donde la inyección intravenosa de HUCSC 24 horas después de un ictus mejoró significativamente la recuperación funcional (Chen et al., 2001). La inyección de HUCSC 7 días después del ictus aún condujo a una recuperación funcional significativa, aunque la extensión de la recuperación fue menor que con el tratamiento a las 24 horas.

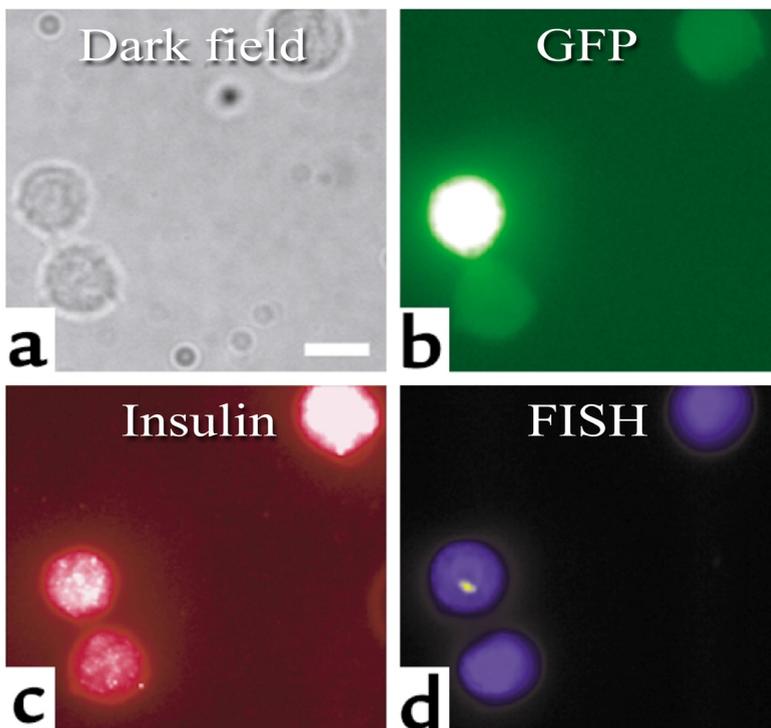
Se demostró en varios estudios que la movilización de BMSC inducida por G-CSF mejora el resultado de un ictus. Por ejemplo, cuando se evaluó a los animales 14 y 28 días después de un ictus, los tratados con G-CSF mostraron una coordinación corporal mucho mayor que los animales de control (Shyu et al., 2004). Cuando se analizaron los cerebros utilizando imágenes, el área infartada era mucho más pequeña en el grupo tratado ( $61 \text{ mm}^3$ ) en comparación con el grupo de control ( $176 \text{ mm}^3$ ). Todos estos beneficios se redujeron considerablemente cuando los animales fueron pretratados con un bloqueador de CXCR4, lo que indica que los efectos observados dependían de la migración de BMSC al cerebro.

Resultados similares han sido reportados por otros equipos científicos (Six et al., 2003; Kawada et al., 2006). Por ejemplo, después de repoblar la médula ósea con células madre positivas para GFP, la movilización de BMSC inducida por G-CSF, inmediatamente y aproximadamente 2 semanas después de inducir un ictus, mejoró drásticamente el rendimiento motor y cognitivo cuatro semanas después del ictus, medido mediante el laberinto de agua de Morris (Kawada et al., 2006). En este estudio, mientras que todos los ratones en el grupo tratado alcanzaron la plataforma en 40 segundos, ninguno de los ratones de control alcanzó la plataforma sumergida en los 120 segundos asignados. Al igual que en el estudio de Shyu et al. (2004), el tamaño del infarto fue mucho más pequeño en los animales tratados en comparación con los de control. Utilizando BrdU se observó que el número de nuevas células cerebrales encontradas en el área infartada era mucho mayor en el grupo tratado que en el grupo de control. Sin embargo, muy pocas de las nuevas células cerebrales eran positivas para GFP, lo que respalda la idea de que, a medida que migran en el cerebro, las BMSC secretan factores de crecimiento que apoyan la proliferación y diferenciación de células madre neurales (Yoo et al., 2008). Las BMSC también apoyan la neovascularización, lo que contribuye aún más a la regeneración del tejido cerebral (Lee et al., 2005; Hess et al., 2002; Kan et al., 2005).

Aunque gran parte de este trabajo necesita ser reproducido en humanos, la movilización de células madre hematopoyéticas (ESCM) para el tratamiento del ictus parece prometedora y constituiría un enfoque seguro para el tratamiento del ictus.

### 3.3 Diabetes

La capacidad de las células madre de la médula ósea (BMSCs) para salir de la médula ósea, migrar al páncreas y convertirse en células productoras de insulina fue demostrada de manera hermosa por Ianus et al. (2003). En resumen, se irradiaron letalmente ratones hembra y luego se les trasplantaron BMSCs masculinas que expresan, utilizando un sistema CRE-LoxP, GFP si el gen de la insulina está activamente transcrito. Cuando se analizaron 4-6 semanas después del trasplante, se encontraron células positivas para GFP en el páncreas (Figura 2).



**Fig. 2. Marcaje por FISH e inmunofluorescencia de células productoras de insulina derivadas de BM.** Inmunofluorescencia y FISH de células aisladas y dispersas de islotes pancreáticos después del trasplante de BMSCs de machos en ratones hembra irradiados letalmente, que expresan GFP si el gen de la insulina está activamente transcrita utilizando un sistema CRE-LoxP. a) Imagen de fase en campo brillante, b) Imágenes GFP con ligera autofluorescencia de células de islotes aislados de control; c) Inmunotinción con anticuerpo secundario marcado con rodamina X para insulina; d) FISH para cromosoma Y (en amarillo) y tinción del núcleo con DAPI (azul). El cromosoma Y está presente solo en las células GFP positivas. Escala, 5  $\mu\text{m}$ ; X630. (Tomado de Ianus et al., 2003)

Las células positivas para GFP también fueron positivas para insulina, para ARN de insulina y para el cromosoma Y, demostrando que se originaron a partir de los BMSCs trasplantados. Estas células mostraron características funcionales típicas de las células  $\beta$  pancreáticas normales, como fluctuaciones de calcio intracelular al exponerse a diversas concentraciones de glucosa. Dentro del marco temporal de ese estudio (4-6 semanas), se detectó un 1.7-3% de células GFP positivas derivadas de BM en los islotes pancreáticos. En un estudio similar, también se demostró que los BMSCs participan en el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos, lo que apoya aún más la regeneración del tejido pancreático (Mathews et al., 2004; Gao et al., 2008).

Luego, utilizando un protocolo similar al utilizado por Ianus et al., Hasegawa et al. (2007) demostraron además que la movilización de las BMSCs no solo era efectiva sino esencial para la regeneración pancreática. Hasegawa et al. indujeron diabetes mediante la inyección de estreptozotocina (STZ) en ratones hembra irradiados letalmente, seguida de la infusión de BMSCs de ratones transgénicos GFP. La infusión de BMSCs llevó a la incorporación de BMSCs GFP-positivas en los islotes de Langerhans en el tejido pancreático, restaurando parcialmente el número y tamaño de los islotes pancreáticos y mejorando la hiperglucemia inducida por STZ. Sin embargo, cuando se realizó el mismo experimento simplemente infundiendo el páncreas con BMSCs, sin preirradiación, no se obtuvo mejoría. Además, al repetir el experimento con un trasplante completo de BMSCs en un modelo de ratones con capacidad deteriorada para movilizar células madre, no se obtuvieron beneficios. Por lo tanto, la movilización natural de las BMSCs desde la médula ósea parece ser esencial para la regeneración de la función pancreática después de inducir la diabetes con STZ.

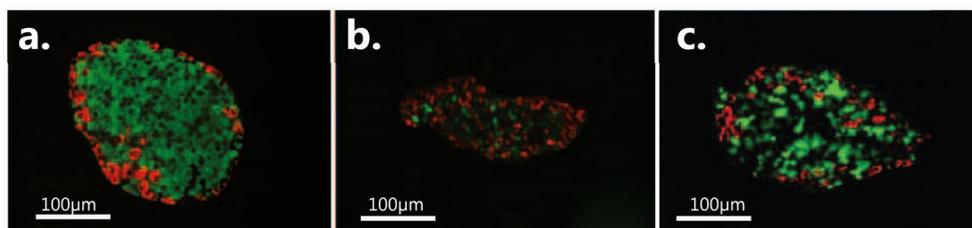


Fig. 3. Islotes pancreáticos de ratones tratados con STZ que recibieron posteriormente trasplante de médula ósea (BMT). Doble tinción inmunohistoquímica de páncreas con anticuerpos anti-insulina y anti-glucagón. El verde indica células positivas para insulina y el rojo células positivas para glucagón. Páncreas de ratón control normoglucémico (a), ratón control hiperglucémico (b) y ratón tratado con STZ que recibió BMT (c). El BMT mejoró la hiperglucemia inducida por STZ. (Tomado de Hasegawa et al., 2007)

En un estudio reciente en humanos, la ESCM mostró gran promesa en el tratamiento de la diabetes. El estudio seleccionó individuos recientemente diagnosticados con diabetes y el tratamiento consistió en la movilización de células madre y el trasplante autólogo de células madre. Los pacientes primero recibieron inyecciones de G-CSF para recolectar PBSC, seguidas más tarde por el trasplante autólogo de células madre y, 5 días después del trasplante, una segunda ronda de tratamiento con G-CSF. Los puntos finales monitorizados en el estudio fueron la morbilidad general junto con los cambios temporales en los requerimientos de insulina exógena. Antes del tratamiento, todos los pacientes necesitaban inyecciones diarias de insulina. Al final del estudio, 14 de los 15 pacientes habían experimentado episodios sin necesidad de insulina que variaron entre 1 y 35 meses (media de 16,2 meses) (Voltarelli et al., 2007).

En este estudio, los pacientes se beneficiaron de dos instancias de ESCM y una instancia de trasplante autólogo de SC. No es posible determinar cuáles fueron las contribuciones respectivas de la ESCM y la inyección de SC, sin embargo, es probable que las movilizaciones por sí solas hayan contribuido significativamente a los beneficios experimentados. Mientras que la primera movilización duró varios días y la segunda movilización duró aproximadamente una semana, hubo solo una instancia de inyección de células madre.

La diabetes es una enfermedad interesante para estudiar el vínculo entre la progresión de la enfermedad y el número de PBSC circulantes, ya que sigue una serie de etapas relativamente bien definidas con respecto al estado del metabolismo de los carbohidratos, a saber, tolerancia normal a la glucosa (NGT), glucosa en ayunas alterada (IFG), tolerancia a la glucosa alterada (IGT) y diabetes mellitus recién diagnosticada (DM). Fadini et al. (2010) cuantificaron el número de células CD34+ circulantes por citometría de flujo en 425 individuos divididos entre estas cuatro etapas de progresión de la enfermedad. Los datos mostraron una clara tendencia de disminución en el número de PBSC con la progresión de la enfermedad a través de IFG, IGT y DM (Figura 4). El número de PBSC circulantes fue significativamente menor en los grupos de IGT y DM en comparación con el grupo NGT. La reducción en el número de PBSC puede ser tanto una consecuencia de niveles elevados de glucosa en sangre que podrían afectar la capacidad de las células madre para moverse desde la médula ósea, como un factor causal en el desarrollo de DM, donde un número reducido de PBSC circulantes disminuye la capacidad del páncreas para renovarse a lo largo de los años, o ambas cosas. Esto apoya la visión previamente sugerida de que la diabetes podría ser una enfermedad de las células madre (Fadini et al., 2009).

### Number of CD34+ and Diabetes

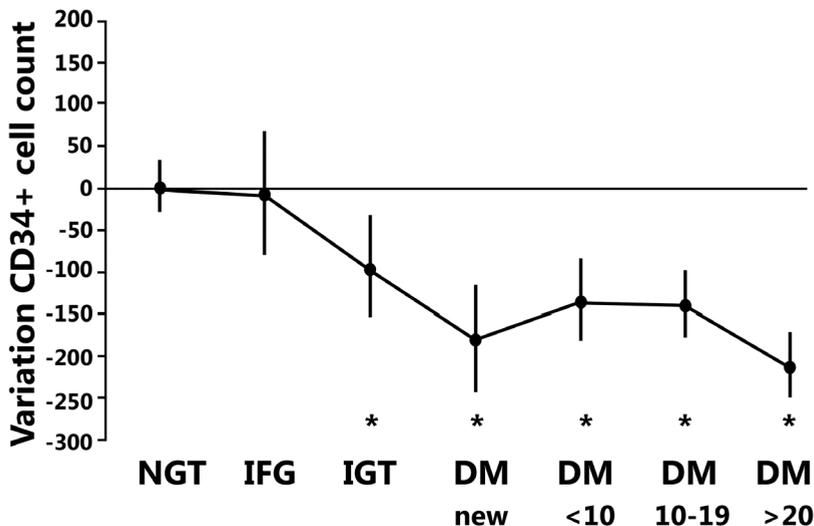


Fig. 4. Variación de las células CD34+ circulantes y diabetes. Variación de las células CD34+ circulantes en pacientes agrupados según el metabolismo de los carbohidratos, a saber, tolerancia normal a la glucosa (NGT), glucosa en ayunas alterada (IFG), tolerancia a la glucosa alterada (IGT) o duración de la diabetes (DM), según corresponda. Se tomó el valor medio de los pacientes con NGT como punto cero. Las barras indican los intervalos de confianza del 95% de las medias. \* Valores significativamente diferentes en comparación con NGT. (Tomado de Fadini et al., 2009)

#### 4. Aplicación clínica (SE)

La investigación del potencial clínico de la ESCM ha sido limitada, en gran parte debido al riesgo significativo asociado con el uso de G-CSF, el principal movilizador de células madre utilizado en ensayos clínicos, durante períodos prolongados (Bensinger et al., 1996; Shimoda et al., 1993). Recientemente, se ha desarrollado un nuevo movilizador de células madre (StemEnhance®; SE) que induce un aumento mucho más leve en el número de PBSC, pero cuya seguridad permite un consumo oral diario sostenido a lo largo del tiempo, permitiendo una ESCM diaria segura (Jensen et al., 2007).

En resumen, SE es un extracto de la cianofita *Aphanizomenon flos-aquae* que concentra una proteína con un peso molecular estimado de 160-180 kDa, que se ha demostrado que bloquea selectivamente la L-selectina. El consumo oral de 1 gramo de SE ha demostrado inducir un aumento promedio del 25% en el número de PBSC dentro de los 60 minutos posteriores al consumo. La magnitud de la movilización inducida por SE es mucho menor que la desencadenada por G-CSF, sin embargo, su seguridad permite su uso continuo y, por lo tanto, ofrece un enfoque novedoso en el estudio de la ESCM. Para probar su potencial terapéutico, SE se utilizó en una serie de ensayos clínicos preliminares que involucraron varias entidades diagnósticas.

##### 1. Parkinson

MC es un hombre de 62 años con una historia de 17 años de enfermedad de Parkinson. MC fue diagnosticado inicialmente con un temblor tipo reposo que afectaba su mano izquierda y luego progresó a las extremidades del lado izquierdo de su cuerpo. Con el tiempo, los temblores aumentaron gradualmente y comenzaron a afectar también el lado derecho. A los diez años de la enfermedad, MC ya no pudo ejercer como abogado, su movilidad se vio afectada y sus limitaciones aumentaron, comprometiendo sus habilidades personales y profesionales.

En 2009, antes del tratamiento con SE, los temblores del lado izquierdo habían empeorado significativamente, presentando síntomas de rigidez y bradicinesia que introdujeron una marcha arrastrada y un mal equilibrio, lo que hizo inseguro para MC caminar sin usar un bastón. En ese momento, MC comenzó a consumir SE y en 45 días con el producto, consumiendo 1 gramo de SE tres veces al día, MC mostró una mejoría significativa con disminución de los temblores, menos rigidez y bradicinesia; en ese momento, MC pudo moverse sin necesidad de usar su bastón. Después de 60 días con el producto, al considerar que los beneficios habían alcanzado su máximo, MC suspendió el uso de SE. Cuarenta y cinco días después, los signos de temblor y bradicinesia regresaron y MC buscó atención médica nuevamente. MC reanudó SE con una dosis de 2 gramos, tres veces al día, y en seis semanas mostró una gran mejoría con menos temblores, rigidez y bradicinesia. MC pudo participar en actividades de la vida diaria, como vestirse y alimentarse, también pudo atarse la corbata, ponerse el reloj y una vez más pudo caminar sin usar un bastón. Hasta la fecha, MC ha estado usando SE durante dos años, ha vuelto a conducir su automóvil sin limitaciones, es independiente en todas las actividades de la vida diaria y también participa en algún nivel de actividad profesional.

Otra paciente, MT, es una mujer de 52 años con inicio temprano de Parkinson a los 36 años, con temblor como síntoma principal. El tratamiento inicial consistió en Pergolido, luego Budipina hasta 30 mg tres veces al día. Sin embargo, debido al aumento del QTc, la Budipina

luego se redujo a 10 mg tres veces al día. La paciente también fue tratada con Metildopamina 62.5 mg cuatro veces al día. Con este tratamiento, el principal problema de MT fue experimentar fluctuaciones y el inicio del síndrome ON-OFF.

Hace un año, MT comenzó a consumir StemEnhance 1 gramo tres veces al día. Hoy en día, MT solo experimenta un leve temblor acompañado de algún síndrome discinético y a veces propulsión. Su calidad de vida ha mejorado y es mucho más activa socialmente.

## **2. Lesión traumática de la médula espinal**

Se realizó un ensayo preliminar con 8 individuos con lesiones de médula espinal en un centro comunitario en Hawái. Todos los casos involucraron paraplejía y diversos grados de cuadriplejía. De los 8 casos, 4 abandonaron debido a diversas circunstancias no relacionadas con el consumo de SE. De los 4 participantes restantes, 2 tuvieron períodos repetitivos de hospitalización que hicieron irregular su consumo de SE. De los dos participantes restantes, uno experimentó una mejora leve pero significativa en la movilidad, mientras que el otro participante experimentó mejoras significativas en la movilidad.

Este último participante, VS, tuvo un grave accidente automovilístico 17 años antes de consumir SE y quedó con una lesión cerebral traumática que afectó su habla y una lesión significativa en la médula espinal. Al inicio del ensayo, VS podía levantar su pierna derecha aproximadamente 15 centímetros desde su silla sin movimiento lateral, y mostraba una ausencia total de movimiento en su pierna izquierda. Podía mover sus brazos, manos y dedos aunque los movimientos eran muy lentos y con poca destreza y precisión. Tenía cierta capacidad para moverse en la cama pero no podía girarse sin ayuda. No se disponía de datos para documentar la percepción sensorial periférica de los miembros inferiores o la conductividad nerviosa.

Después de 6 meses de consumo diario de 3 gramos de SE tres veces al día, VS pudo levantar su pierna derecha más de 30 centímetros desde su silla, con movimiento lateral fuera de la silla. También pudo levantar su pierna izquierda fuera de la silla y lateralmente fuera de la silla. VS tenía menos control sobre el movimiento de su pierna izquierda, aunque la magnitud de los movimientos era comparable a los movimientos observados con la pierna derecha. Después de 10 meses, VS pudo girarse en la cama sin ayuda y desde una posición supina pudo levantar ambas piernas hasta un ángulo de 90 grados y sentarse en la cama sin ayuda. Durante el período del ensayo, también mejoró la destreza de sus miembros superiores y su habla mostró una mejora leve pero significativa. VS proviene de un entorno socioeconómico desfavorecido y no tuvo acceso a terapia física más allá de los primeros años de su lesión, por lo tanto, desarrolló deformidades en las piernas y los pies que le impidieron soportar peso y posiblemente reanudar la terapia física.

## **3. Enfermedad de las arterias coronarias**

JP es un hombre sudafricano de 60 años que sufrió un infarto a los 51 años. Después de diagnosticarse la enfermedad de las arterias coronarias, se le colocó un stent. JP implementó cambios dietéticos y en su estilo de vida inmediatamente después de la hospitalización. Desafortunadamente, 3 años después, JP sufrió cuatro infartos adicionales. Durante la hospitalización, el angiograma reveló que las arterias coronarias derecha e izquierda estaban obstruidas en un 100% y un 40%, respectivamente, determinando que JP no era un buen candidato para una cirugía de bypass. En el momento de la última hospitalización, JP tenía menos energía y experimentaba angina "estable" con cualquier esfuerzo, y su calidad de vida en general estaba muy comprometida. JP fue puesto en un régimen de medicación que incluía Atenolol 50 mg diarios, Perindopril 4 mg diarios, Elantan 20 mg dos veces al día, Simvastatina 20 mg diarios, Adelat xl 30 mg diarios y Aspirina 1 por día. Luego, JP fue puesto en lista para un posible trasplante de corazón.

Perindopril 4 mg diarios, Elantan 20 mg dos veces al día, Simvastatina 20 mg diarios, Adelat xl 30 mg diarios y Aspirina 1 por día. JP fue entonces puesto en lista para un posible trasplante de corazón.

Tres semanas después del alta, JP comenzó a consumir SE, 1 gramo tres veces al día. Después de 3 meses tomando el producto, recibió una llamada para un posible trasplante de corazón y regresó a ver a su cardiólogo para evaluación y pruebas exhaustivas. El cardiólogo informó que JP estaba teniendo una recuperación notable y se pospuso la cirugía de trasplante de corazón. Cuatro meses después, JP fue reevaluado y se encontró que había tenido una recuperación completa. Desde entonces, JP ha estado regresando cada 6 meses para evaluaciones de seguimiento y hasta la fecha ha estado estable sin incidentes coronarios adicionales. Las evaluaciones y el electrocardiograma más reciente concluyen que JP tiene una función cardíaca normal. Actualmente, JP menciona que no está tomando ninguna medicación, su presión arterial es de 126/65 mm Hg, sigue tomando SE y tiene una buena calidad de vida.

#### 4.4 Diabetes y artritis reumatoide

NA es una mujer colombiana de 47 años que fue diagnosticada a los 18 años con artritis reumatoide deformante. A lo largo de los años, manejó su condición con el uso de Prednisona, Metotrexato, Sulfasalazina y Diclofenaco. Hace cuatro años, NA fue diagnosticada con diabetes mellitus con glucemia que alcanzaba los 308 mg/dL y comenzó tratamiento con Euglucon 5 mg dos veces al día junto con insulina NPH. Hace aproximadamente un año, debido a su condición artrítica, quedó en silla de ruedas y necesitaba asistencia para bañarse y vestirse. En ese momento, sus registros médicos mostraban niveles de Proteína C Reactiva (PCR) de 96.2 mg/L, Velocidad de Sedimentación Globular (VSG) de 81 mm/H, recuento de plaquetas de 535 K/ $\mu$ L, glucosa en ayunas de 147 mg/dL y HbA1c (Hemoglobina Glicosilada) de 8.07. Algunos meses después de quedar en silla de ruedas, NA comenzó a consumir 1 gramo de SE una vez al día. Después de un mes, reportó subjetivamente una reducción en el dolor y la inflamación, mientras que después de 3 meses, su movilidad mejoró al punto de que podía bañarse y vestirse sola. Después de 6 meses, comenzó a usar un andador, luego pasó a un bastón y un año después estaba caminando sin ayuda. Sus últimos registros médicos indican un nivel de PCR de 2.1 mg/L, VSG de 34 mm/H y recuento de plaquetas de 485 K/ $\mu$ L. NA también ha dejado de usar cualquier medicamento para la diabetes; sus registros indican una glucosa en ayunas de 106 mg/dL con una glucemia que no supera los 120 mg/dL y HbA1c de 5.62.

Al momento de redactar este informe, NA no toma ningún medicamento antiinflamatorio, experimenta una notable mejora en su calidad de vida y continúa consumiendo diariamente 1 gramo de SE, suplementos de soporte óseo de 500 mg de Calcitriol (1,25-dihidroxicolecalciferol) cada mes, leche de magnesio y una dosis anual de Ácido Zoledrónico.

#### 4.5 Accidente cerebrovascular (ACV)

En septiembre de 2008, GE, un oncólogo quirúrgico de 78 años que por lo demás gozaba de buena salud, sufrió un ACV. La resonancia magnética (RM)/angiografía por resonancia magnética (MRA) reveló un infarto agudo que afectaba el núcleo lentiforme derecho, cambios isquémicos crónicos moderadamente extensos de pequeños vasos, un infarto lacunar crónico que afectaba el tálamo ventromedial derecho, y enfermedad vascular aterosclerótica intracraneal. El ACV dejó a GE con afasia y una reducida capacidad para realizar cualquier actividad física. En octubre de 2009, 13 meses después del ACV, GE comenzó a tomar SE; consumía 1 gramo dos veces al día y después de 8 semanas utilizando el producto, GE notó mejoría en su habla y experimentó más energía con mejor equilibrio. En abril de 2010, una RM/MRA repetida no mostró evidencia de un

infarto agudo. La afasia de GE se resolvió por completo en este punto y su movilidad general mejoró, permitiéndole realizar todas las actividades de la vida diaria. En enero de 2011, una nueva RM/MRA de las arterias cerebrales anterior y posterior no mostró evidencia de estenosis hemodinámicamente significativa, y reveló arterias vertebrobasilares normales sin evidencia de aneurisma intracraneal o malformación vascular.

Hasta la fecha, GE ha vuelto a jugar tenis a los 81 años, camina por el centro comercial del vecindario con otros adultos mayores y ha regresado a su actividad profesional como cirujano.

#### **4.6 Insuficiencia renal**

GW tiene 36 meses; nació con una válvula defectuosa en la uretra, lo que comprometió el flujo de orina desde su nacimiento. A los diez días de vida, fue sometido a una cirugía para reparar la uretra; sin embargo, los daños en los riñones y la vejiga ya eran evidentes debido a la retención de orina al nacer. Después del procedimiento quirúrgico, se observó tejido cicatricial en la pared de la vejiga y uno de los riñones dejó de funcionar y comenzó a atrofiarse. También quedó una cicatriz en su mano debido a que se le arrancó un IV después de la cirugía. Antes de que se introdujera SE, GW dejó de crecer a los 15 meses de edad y múltiples problemas de salud lo estaban llevando hacia un trasplante de riñón. Además, GW había estado tomando antibióticos durante un año debido a múltiples infecciones. Su cuerpo no eliminaba fluidos como debería, como lo evidenciaba el empeoramiento del edema que requería el uso de diuréticos. Los pies morados de GW eran causados por una circulación comprometida, se observaron manchas oscuras en su espalda, sus ojos estaban inyectados en sangre y su apariencia general era pálida. La actividad de GW no era normal para un niño de 1 año y medio; su nivel de energía estaba muy bajo y no podía jugar como un niño pequeño normal.

GW tenía 21 meses cuando se introdujo SE a 250 mg por día. Después de 3 días con SE, su madre informó que sus ojos estaban cristalinos y se le observó corriendo por la casa lleno de energía. Las manchas oscuras en su espalda comenzaron a desaparecer después de una semana de consumir SE. Se vio color rojo en las mejillas de GW por primera vez desde que nació. Después de 75 días con SE, GW creció 6 cm más y el riñón que se había reducido al nacer aumentó 0.8 cm. Hasta la fecha, GW ha dejado todos los medicamentos farmacéuticos y su vejiga y riñón han vuelto a funcionar normalmente a su máxima capacidad, la cicatriz en su mano ha desaparecido por completo.

#### **5. Conclusiones**

Los beneficios de la movilización de células madre de la médula ósea (ESCM) en diversas condiciones degenerativas han sido documentados en varios modelos animales y en humanos. En algunos casos, las BMSC claramente migran hacia los tejidos y contribuyen directamente a la formación de nuevas células somáticas funcionales del tejido objetivo. Sin embargo, en otros casos, especialmente en enfermedades que afectan al corazón y al sistema nervioso central, un mecanismo primario de acción parece ser la secreción de paracrinas que estimulan la proliferación y diferenciación de las células madre del tejido. Queda mucho trabajo por hacer para elucidar claramente los mecanismos de acción detrás de los beneficios de ESCM en diversas entidades diagnósticas. Sin embargo, desde un punto de vista clínico,

sigue siendo claro que, independientemente del mecanismo de acción, ESCM parece ser un enfoque valioso para mejorar la calidad de vida de los pacientes afectados por diversas enfermedades degenerativas.

Varios movilizadores de células madre han sido documentados en la literatura científica y muchos de ellos han sido asociados con efectos secundarios que impiden la aplicación en humanos de lo que ha sido documentado como efectivo en varios modelos animales. Tales movilizadores incluyen G-CSF, Factor Estimulante de Células Madre, interleucina-8 y plerixafor (Lemery et al., 2011), los cuales han sido asociados con efectos secundarios que van desde diarrea, náuseas, dolor y entumecimiento hasta pericarditis y trombosis. A pesar de los beneficios potenciales, tales efectos secundarios han impedido en gran medida el uso de estos compuestos para ESCM en humanos, y la falta de movilizadores de células madre seguros explica en gran medida el limitado interés hasta ahora en este enfoque terapéutico. El principal desafío para investigar más a fondo el potencial terapéutico de ESCM sigue siendo, por lo tanto, el desarrollo de movilizadores de células madre seguros. Mientras tanto, SE parece ser una herramienta valiosa para estudiar los beneficios clínicos de ESCM.

## 6. Referencias

- Abbott JD, Huang Y, Liu D, Hickey R, Krause DS, Giordano FJ. (2004) Stromal cell-derived factor-1alpha plays a critical role in stem cell recruitment to the heart after myocardial infarction but is not sufficient to induce homing in the absence of injury. *Circulation*. 110(21):3300-5.
- Abdel-Latif A, Bolli R, Zuba-Surma EK, Tleyjeh IM, Hornung CA, Dawn B. (2008) Granulocyte colony-stimulating factor therapy for cardiac repair after acute myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am Heart J*. 2008 Aug;156(2):216-226.e9.
- Abedi M, Greer DA, Colvin GA, Demers DA, Dooner MS, Harpel JA, Pimentel J, Menon MK and Quesenberry PJ (2004) Tissue injury in marrow transdifferentiation *Blood Cells Mol Dis* 32(1):42 - 46
- Arufe MC, De la Fuente A, Fuentes-Boquete I, De Toro FJ, Blanco FJ. (2009) Differentiation of synovial CD-105(+) human mesenchymal stem cells into chondrocyte-like cells through spheroid formation. *J Cell Biochem*. 108(1):145-55.
- Arsenijevic Y, Weiss S, Schneider B, Aebischer P. (2001) Insulin-like growth factor-I is necessary for neural stem cell proliferation and demonstrates distinct actions of epidermal growth factor and fibroblast growth factor-2. *J Neurosci*. 21(18):7194-202.
- Arvidsson A, T Collin, D Kirik, Z Kokaia and O Lindvall. (2002). Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. *Nature Med* 8:963-970.
- Askari AT, Unzek S, Popovic ZB, Goldman CK, Forudi F, Kiedrowski M, Rovner A, Ellis SG, Thomas JD, DiCorleto PE, Topol EJ, Penn MS. (2003) Effect of stromal-cell-derived factor 1 on stem-cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy. *Lancet*. 362(9385):697-703.
- Avigdor A, Goichberg P, Shvitiel S, Dar A, Peled A, Samira S, Kollet O, Hershkovich R, Alon R, Hardan I, Ben-Hur H, Naor D, Nagler A, Lapidot T. (2004) CD44 and hyaluronic

- acid cooperate with SDF-1 in the trafficking of human CD34+ stem/progenitor cells to bone marrow. *Blood* 103(8):2981-9.
- Bachelder RE, Wendt MA, Mercurio AM. (2002) Vascular endothelial growth factor promotes breast carcinoma invasion in an autocrine manner by regulating the chemokine receptor CXCR4. *Cancer Res* 62:7203-7206.
- Bagri A, Gurney T, He X, Zou YR, Littman DR, Tessier-Lavigne M, Pleasure SJ. (2002) The chemokine SDF-1 regulates migration of dentate granule cells. *Development* 129:4249-4260.
- Baumhäkel M, Werner N, Böhm M, Nickenig G. (2006) Circulating endothelial progenitor cells correlate with erectile function in patients with coronary heart disease. *Eur Heart J*. 27(18):2184-8.
- Behfar A, Faustino RS, Arrell DK, Dzeja PP, Perez-Terzic C, Terzic A. (2008) Guided stem cell cardiopoiesis: discovery and translation. *J Mol Cell Cardiol*. 45(4):523-9. Epub 2008 Sep 26.
- Behfar A, Yamada S, Crespo-Diaz R, Nesbitt JJ, Rowe LA, Perez-Terzic C, Gaussin V, Homsy C, Bartunek J, Terzic A. (2010) Guided cardiopoiesis enhances therapeutic benefit of bone marrow human mesenchymal stem cells in chronic myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 56(9):721-34.
- Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, Yan SM, Finato N, Bussani R, Nadal-Ginard B, Silvestri F, Leri A, Beltrami CA, Anversa P. (2001) Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med* 344:1750-1757.
- Bensinger W, Buckner W, Rowley S, Storb R, Appelbaum F. (1996) Treatment of normal donors with recombinant growth factors for transplantation of allogeneic blood stem cells. *Bone Marrow Transplant*. 17:S19-21.
- Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, Zdunek S, Barnabé-Heider F, Walsh S, Zupicich J, Alkass K, Buchholz BA, Druid H, Jovinge S, and Frisén J. (2009) Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science* 324: 98-102.
- Bonavia R, Bajetto A, Barbero S, Porcile C, Pirani P, Ravetti JL, Zona GL, Spaziante R, Florio T, Schettini G. (2003) Chemokines and their receptors in the CNS: expression of CXCL12/SDF-1 and CXCR4 and their role in astrocyte proliferation. *Toxicol Lett* 139:181-189.
- Broxmeyer HE, Kohli L, Kim CH, Lee Y, Mantel C, Cooper S, Hangoc G, Shaheen M, Li X, Clapp DW. (2003) Stromal cell-derived factor-1/CXCL12 directly enhances survival/antiapoptosis of myeloid progenitor cell through CXCR4 and G proteins and enhances engraftment of competitive, repopulating stem cells. *J Leukoc Biol* 73:630-638.
- Broxmeyer HE, Orschell CM, Clapp DW, Hangoc G, Cooper S, Plett PA, Liles WC, Li X, Graham-Evans B, Campbell TB, Calandra G, Bridger G, Dale DC, Srouf EF. (2005) Rapid mobilization of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells with AMD3100, a CXCR4 antagonist. *J Exp Med*. 201(8):1307-18.
- Burchfield JS, Iwasaki M, Koyanagi M, Urbich C, Rosenthal N, Zeiher AM, Dimmeler S. (2008) Interleukin-10 from transplanted bone marrow mononuclear cells contributes to cardiac protection after myocardial infarction. *Circ Res* 103(2):203-11.

- Can A, Balci D. (2011) Isolation, Culture, and Characterization of Human Umbilical Cord Stroma-derived Mesenchymal Stem Cells. *Methods Mol Biol.* 698:51-62.
- Carion A, Benboubker L, Héroult O, Roingard F, Degenne M, Senecal D, Desbois I, Colombat P, Charbord P, Binet C, Domenech J. (2003) Stromal-derived factor 1 and matrix metalloproteinase 9 levels in bone marrow and peripheral blood of patients mobilized by granulocyte colony-stimulating factor and chemotherapy. Relationship with mobilizing capacity of haematopoietic progenitor cells. *Br J Haematol.* 122(6):918-26.
- Chandra V, G S, Phadnis S, Nair PD, Bhonde RR. (2009) Generation of pancreatic hormone-expressing islet-like cell aggregates from murine adipose tissue-derived stem cells. *Stem Cells.* 27(8):1941-53.
- Chavey C, Mari B, Monthouel MN, Bonnafous S, Anglard P, Van Obberghen E, Tartare-Deckert S. (2003) Matrix metalloproteinases are differently expressed in adipose tissue during obesity and modulate adipocyte differentiation. *J Biol Chem* 278:11888 -11896.
- Chen J, Zhang ZG, Li Y, Wang L, Xu YX, Gautam SC, Lu M, Zhu Z, Chopp M. (2003) Intravenous administration of human bone marrow stromal cells induces angiogenesis in the ischemic boundary zone after stroke in rats. *Circ Res.* 92(6):692-9.
- Chen X, Fang H, Schwob JE. (2004) Multipotency of purified, transplanted globose basal cells in olfactory epithelium. *J Comp Neurol.* 469(4):457-74.
- Choi JH, Kim KL, Huh W, Kim B, Byun J, Suh W, Sung J, Jeon ES, Oh HY, Kim DK. (2004) Decreased number and impaired angiogenic function of endothelial progenitor cells in patients with chronic renal failure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 24(7):1246-52.
- Clarris BJ, Fraser JR. (1968) On the pericellular zone of some mammalian cells in vitro. *Exp Cell Res.* 49(1):181-93.
- Comper WD, Laurent TC. (1978) Physiological function of connective tissue polysaccharides. *Physiol Rev.* 58(1):255-315.
- Contreras JL, Smyth CA, Eckstein C, Bilbao G, Thompson JA, Young CJ, Eckhoff DE. (2003) Peripheral mobilization of recipient bone marrow-derived endothelial progenitor cells enhances pancreatic islet revascularization and engraftment after intraportal transplantation. *Surgery* 134(2):390-8.
- Cottler-Fox MH, Lapidot T, Petit I, Kollet O, DiPersio JF, Link D, Devine S. (2003) Stem cell mobilization. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 419-37.
- Croop JM, Cooper R, Fernandez C, Graves V, Kreissman S, Hanenberg H, Smith FO, Williams DA. (2001) Mobilization and collection of peripheral blood CD34+ cells from patients with Fanconi anemia. *Blood.* 98(10):2917-21.
- Dasgupta C, Escobar-Poni B, Shah M, Duncan J, Fletcher WH. (1999) Misregulation of connexin43 gap junction channels and congenital heart defects. *Novartis Found Symp.* 219:212-21.
- Deasy BM, Qu-Peterson Z, Greenberger JS, Huard J. (2002) Mechanisms of muscle stem cell expansion with cytokines. *Stem Cells.* 20(1):50-60.

- De Clercq E. (2005) Potential clinical applications of the CXCR4 antagonist bicyclam AMD3100. *Mini Rev Med Chem.* 5(9):805-24.
- Diller GP, van Eijl S, Okonko DO, Howard LS, Ali O, Thum T, Wort SJ, Bédard E, Gibbs JS, Bauersachs J, Hobbs AJ, Wilkins MR, Gatzoulis MA, Wharton J. (2008) Circulating endothelial progenitor cells in patients with Eisenmenger syndrome and idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 117(23):3020-30.
- Docherty K. (2009) Pancreatic stellate cells can form new beta-like cells. *Biochem J.* 421(2): e1-4.
- Dos Santos F, Andrade PZ, Eibes G, da Silva CL, Cabral JM. (2011) Ex Vivo Expansion of Human Mesenchymal Stem Cells on Microcarriers. *Methods Mol Biol.* 698:189-198.
- Drapeau C, Antarr D, Ma H, Yang Z, Tang L, Hoffman RM, Schaeffer DJ. (2010) Mobilization of bone marrow stem cells with StemEnhance improves muscle regeneration in cardiotoxin-induced muscle injury. *Cell Cycle* 9(9):1819-23.
- Dunac A, Frelin C, Popolo-Blondeau M, Chatel M, Mahagne MH, Philip PJ. (2007) Neurological and functional recovery in human stroke are associated with peripheral blood CD34+ cell mobilization. *J Neurol.* 2007 Mar;254(3):327-32.
- Eizawa T, Murakami Y, Matsui K, Takahashi M, Muroi K, Amemiya M, Takano R, Kusano E, Shimada K, Ikeda U. (2003) Circulating endothelial progenitor cells are reduced in hemodialysis patients. *Curr Med Res Opin.* 19(7):627-33.
- Ellis SG, Penn MS, Bolwell B, Garcia M, Chacko M, Wang T, Brezina KJ, McConnell G, Topol EJ. (2006) Granulocyte colony stimulating factor in patients with large acute myocardial infarction: results of a pilot dose-escalation randomized trial. *Am Heart J.* 152(6):1051.e9-14.
- Fadini GP, de Kreutzenberg S, Agostini C, Boscaro E, Tiengo A, Dimmeler S, Avogaro A (2009) *Low CD34+ cell count and metabolic syndrome synergistically increase the risk of adverse outcomes. Atherosclerosis* 2009; 207: 213– 219
- Fadini GP, Boscaro E, de Kreutzenberg S, Agostini C, Seeger F, Dimmeler S, Zeiher A, Tiengo A, Avogaro A. (2010) Time course and mechanisms of circulating progenitor cell reduction in the natural history of type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2010 May;33(5):1097-102.
- Fallon J, S Reid, R Kinyamu, I Opole, R Opole, J Baratta, M Korc, TL Endo, A Duong, G Nguyen, M Karkehabadhi, D Twardzik, S Patel and S Loughlin. (2000). In vivo induction of massive proliferation, directed migration, and differentiation of neural cells in the adult mammalian brain. *PNAS* 96:14686–14691.
- Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M, Paolucci E, Stornaiuolo A, Cossu G, Mavilio F. (1998) Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science.* 279(5356):1528-30.
- Fibbe WE, Pruijt JF, Velders GA, et al. (1999) Biology of IL-8-induced stem cell mobilization. *Ann N Y Acad Sci.* 872:71-82.
- Fox A, Smythe J, Fisher N, Tyler MP, McGrouther DA, Watt SM, Harris AL. (2008) Mobilization of endothelial progenitor cells into the circulation in burned patients. *Br J Surg.* 95(2):244-51
- Fraser JR, Laurent TC, Laurent UB. (1997) Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *J Intern Med.* 242(1):27-33.

- Friedl P, Maaser K, Klein CE, Niggemann B, Krohne G, Zanker KS. Migration of highly aggressive MV3 melanoma cells in 3-dimensional collagen lattices results in local matrix reorganization and shedding of alpha2 and beta1 integrins and CD44. *Cancer Res.*57:2061-2070.
- Fukuda S, Bian H, King AG, Pelus LM. (2007) The chemokine GRObeta mobilizes early hematopoietic stem cells characterized by enhanced homing and engraftment. *Blood* 110(3):860-9.
- Fukuhara S, Tomita S, Nakatani T, Ohtsu Y, Ishida M, Yutani C, Kitamura S. (2004) G-CSF promotes bone marrow cells to migrate into infarcted mice heart, and differentiate into cardiomyocytes. *Cell Transplant.* 13(7-8):741-8
- Gao X, Song L, Shen K, Wang H, Niu W, Qin X. (2008) Transplantation of bone marrow derived cells promotes pancreatic islet repair in diabetic mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 371(1):132-7.
- Gnecchi M, He H, Liang OD, Melo LG, Morello F, Mu H, Noiseux N, Zhang L, Pratt RE, Ingwall JS, Dzau VJ. (2005) Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-modified mesenchymal stem cells. *Nat Med.* 11(4):367-8.
- Gnecchi M, He H, Noiseux N, Liang OD, Zhang L, Morello F, Mu H, Melo LG, Pratt RE, Ingwall JS, Dzau VJ. (2006) Evidence supporting paracrine hypothesis for Akt-modified mesenchymal stem cell-mediated cardiac protection and functional improvement. *FASEB J.* 20(6):661-9.
- Gordon MK, Sher D, Karrison T, Kebriaei P, Chuang K, Zhang Y, McDonnell D, Artz A, Godley L, Odenike O, Rich E, Michaelis L, Thirman MJ, Wickrema A, van Besien K, Larson RA, Stock W. (2008) Successful autologous stem cell collection in patients with chronic myeloid leukemia in complete cytogenetic response, with quantitative measurement of BCR-ABL expression in blood, marrow, and apheresis products. *Leuk Lymphoma.* 49(3):531-7.
- Greco SJ, Zhou C, Ye JH, Rameshwar P. (2008) A method to generate human mesenchymal stem cell-derived neurons which express and are excited by multiple neurotransmitters. *Biol Proced Online.* 10:90-101.
- Grisar J, Aletaha D, Steiner CW, Kapral T, Steiner S, Seidinger D, Weigel G, Schwarzingler I, Wolozczuk W, Steiner G, Smolen JS. (2005) Depletion of endothelial progenitor cells in the peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis. *Circulation.* 111(2):204-11.
- Gronthos S, Arthur A, Bartold PM, Shi S. (2011) A method to isolate and culture expand human dental pulp stem cells. *Methods Mol Biol.* 698:107-21.
- Hahn JY, Cho HJ, Kang HJ, Kim TS, Kim MH, Chung JH, Bae JW, Oh BH, Park YB, Kim HS. (2008) Pre-treatment of mesenchymal stem cells with a combination of growth factors enhances gap junction formation, *J Am Coll Cardiol.* 51(9):933-43.
- Hasegawa Y, Ogihara T, Yamada T, Ishigaki Y, Imai J, Uno K, Gao J, Kaneko K, Ishihara H, Sasano H, Nakauchi H, Oka Y, Katagiri H. (2007) Bone marrow (BM) transplantation promotes beta-cell regeneration after acute injury through BM cell mobilization. *Endocrinology.* 148(5):2006-15.

- Hatch HM, Zheng D, Jorgensen ML, Petersen BE. (2002) SDF-1alpha/CXCR4: a mechanism for hepatic oval cell activation and bone marrow stem cell recruitment to the injured liver of rats. *Cloning Stem Cells*. 4(4):339-51.
- Hayakawa J, Migita M, Ueda T, Shimada T, Fukunaga Y. (2003) Generation of a chimeric mouse reconstituted with green fluorescent protein-positive bone marrow cells: a useful model for studying the behavior of bone marrow cells in regeneration in vivo. *Int J Hematol*. 77(5):456-62.
- Heissig B, Hattori K, Dias S, Friedrich M, Ferris B, Hackett NR, Crystal RG, Besmer P, Lyden D, Moore MA, Werb Z, Rafii S. (2002) Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand. *Cell*. 109:625-637.
- Hennemann B, Ickenstein G, Sauerbruch S, Luecke K, Haas S, Horn M, Andreesen R, Bogdahn U, Winkler J. (2008) Mobilization of CD34+ hematopoietic cells, colony-forming cells and long-term culture-initiating cells into the peripheral blood of patients with an acute cerebral ischemic insult. *Cytotherapy*. 10(3):303-11.
- Henschler R, Deak E, Seifried E. (2008) Homing of Mesenchymal Stem Cells. *Transfus Med Hemother*. 35(4):306-312.
- Herbrig K, Haensel S, Oelschlaegel U, Pistrosch F, Foerster S, Passauer J. (2006) Endothelial dysfunction in patients with rheumatoid arthritis is associated with a reduced number and impaired function of endothelial progenitor cells. *Ann Rheum Dis*. 65(2):157-63.
- Herbrig K, Pistrosch F, Oelschlaegel U, Wichmann G, Wagner A, Foerster S, Richter S, Gross P, Passauer J. (2004) Increased total number but impaired migratory activity and adhesion of endothelial progenitor cells in patients on long-term hemodialysis. *Am J Kidney Dis*. 44(5):840-9.
- Hess DC, Hill WD, Martin-Studdard A, Carroll J, Brailer J, Carothers J. (2002) Bone marrow as a source of endothelial cells and NeuN-expressing cells after stroke. *Stroke* 33(5):1362-8.
- Hisashi Y, Tomita S, Nakatani T, Fukuhara S, Yutani C, Kitamura S. (2004) Granulocyte-colony stimulating factor enhanced the recruitment of bone marrow cells into the heart: time course evaluation of phenotypic differentiation in the doxorubicin-induced cardiomyopathic model. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg*. 52(10):451-5.
- Hoehn M, Küstermann E, Blunk J, Wiedermann D, Trapp T, Wecker S, Föcking M, Arnold H, Hescheler J, Fleischmann BK, Schwindt W, Bührle C. (2002) Monitoring of implanted stem cell migration in vivo: a highly resolved in vivo magnetic resonance imaging investigation of experimental stroke in rat. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 99(25):16267-72.
- Hofmann NA, Reinisch A, Strunk D. (2009) Isolation and large scale expansion of adult human endothelial colony forming progenitor cells. *J Vis Exp*. 28;(32).
- Hwang JH, Kim SW, Park SE, Yun HJ, Lee Y, Kim S, Jo DY. (2006) Overexpression of stromal cell-derived factor-1 enhances endothelium-supported transmigration, maintenance, and proliferation of hematopoietic progenitor cells. *Stem Cells Dev*. 15(2):260-8.

- Ince H, Petzsch M, Kleine HD, Eckard H, Rehders T, Burska D, Kische S, Freund M, Nienaber CA. (2005) Prevention of left ventricular remodeling with granulocyte colony-stimulating factor after acute myocardial infarction: final 1-year results of the Front-Integrated Revascularization and Stem Cell Liberation in Evolving Acute Myocardial Infarction by Granulocyte Colony-Stimulating Factor (FIRSTLINE-AMI) Trial. *Circulation* 112(9 Suppl):I73-80.
- Insausti CL, Blanquer M, Meseguer L, López-Martínez MC, Ferez X, Rodríguez FJ, Cabañas V, Funes C, Nicolás FJ, Majado MJ, Moraleda JM. Isolation and characterization of mesenchymal stem cells from the fat layer on the density gradient separated bone marrow. *Stem Cells Dev.* 2011 Apr 19. [Epub ahead of print]
- Ivanovic Z, Duchez P, Chevalerey J, Vlaski M, Lafarge X, Dazey B, Robert-Richard E, Mazurier F, Boiron JM. (2011) Clinical-scale cultures of cord blood CD34+ cells to amplify committed progenitors and maintain stem cell activity. *Cell Transplant.* 2011 Feb 3. [Epub ahead of print]
- Iwaguro H, Yamaguchi J, Kalka C, Murasawa S, Masuda H, Hayashi S, Silver M, Li T, Isner JM, Asahara T. (2002) Endothelial progenitor cell vascular endothelial growth factor gene transfer for vascular regeneration. *Circulation* 105:732-738.
- Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, Entman ML, Michael LH, Hirschi KK, Goodell MA. (2001) Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest.* 107(11):1395-402.
- Jang YY, Collector MI, Baylin SB, Diehl AM, Sharkis SJ. (2004) Hematopoietic stem cells convert into liver cells within days without fusion. *Nat Cell Biol.* 6(6):532-9.
- Janowska-Wieczorek A, Marquez LA, Nabholtz JM, Cabuhat ML, Montaña J, Chang H, Rozmus J, Russell JA, Edwards DR, Turner AR. (1999) Growth factors and cytokines upregulate gelatinase expression in bone marrow CD34(+) cells and their transmigration through reconstituted basement membrane. *Blood.* 93:3379-3390.
- Janowska-Wieczorek A, Marquez LA, Dobrowsky A, Ratajczak MZ, Cabuhat ML. (2000) Differential MMP and TIMP production by human marrow and peripheral blood CD34- cells in response to chemokines. *Exp Hematol* 28:1274-1285.
- Jensen GS, Hart AN, Zaske LA, Drapeau C, Gupta N, Schaeffer DJ, Cruickshank JA. (2007) 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 Revasc Med.* 8(3):189-202.
- Jin FY, Qiu LG, Li QC, Meng HX, Wang YF, Yu Z, Li Q, Han JL. (2006) The effect of matrix metalloproteinase-9 in granulocyte colony stimulation factor-induced stem cell mobilization. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 86(42):2966-70.
- Jo DY, Rafii S, Hamada T, Moore MA. (2000) Chemotaxis of primitive hematopoietic cells in response to stromal cell-derived factor-1. *J Clin Invest.* 105(1):101-11.
- Junhui Z, Xingxiang W, Guosheng F, Yunpeng S, Furong Z, Junzhu C. (2008) Reduced number and activity of circulating endothelial progenitor cells in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Respir Med.* 102(7):1073-9.
- Kajstura J, Leri A, Finato N, Di Loreto C, Beltrami CA, Anversa P. (1998) Myocyte proliferation in end-stage cardiac failure in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:8801-8805.

- Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, Fujiyama S, Tsutsumi Y, Ozono R, Masaki H, Mori Y, Iba O, Tateishi E, Kosaki A, Shintani S, Murohara T, Imaizumi T, Iwasaka T. (2001) Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation*. 104(9):1046-52.
- Kan I, Melamed E, Offen D. (2005) Integral therapeutic potential of bone marrow mesenchymal stem cells. *Curr Drug Targets*. 6(1):31-41.
- Kang S, Yang Y, Li CJ, Gao R. (2007) Effectiveness and tolerability of administration of granulocyte colony-stimulating factor on left ventricular function in patients with myocardial infarction: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Ther*. 2007 Nov;29(11):2406-18.
- Karra R, Wu SM. (2008) Multipotent stem cells in cardiac regenerative therapy. *Regen Med*. 3(2):189-98.
- Kawada H, Takizawa S, Takanashi T, Morita Y, Fujita J, Fukuda K, Takagi S, Okano H, Ando K, Hotta T. (2006) Administration of hematopoietic cytokines in the subacute phase after cerebral infarction is effective for functional recovery facilitating proliferation of intrinsic neural stem/progenitor cells and transition of bone marrow-derived neuronal cells. *Circulation*. 113(5):701-10.
- Keilhoff G, Stang F, Goihl A, Wolf G, Fansa H. (2006) Transdifferentiated mesenchymal stem cells as alternative therapy in supporting nerve regeneration and myelination. *Cell Mol Neurobiol*. 26(7-8):1235-52.
- King AG, Horowitz D, Dillon SB, Levin R, Farese AM, MacVittie TJ, Pelus LM. (2001) Rapid mobilization of murine hematopoietic stem cells with enhanced engraftment properties and evaluation of hematopoietic progenitor cell mobilization in rhesus monkeys by a single injection of SB-251353, a specific truncated form of the human CXCL12 chemokine GRO-beta. *Blood*. 97(6):1534-42.
- Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, Shou M, Lee CW, Barr S, Fuchs S, Epstein SE. (2004) Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms. *Circulation*. 109(12):1543-9.
- Kleeberger W, Versmold A, Rothämel T, Glöckner S, Brecht M, Haverich A, Lehmann U, Kreipe H. (2003) Increased chimerism of bronchial and alveolar epithelium in human lung allografts undergoing chronic injury. *Am J Pathol*. 162(5):1487-94.
- Klein JD, Fauza DO. (2011) Amniotic and placental mesenchymal stem cell isolation and culture. *Methods Mol Biol*. 698:75-88.
- Kolbe M, Dohle E, Katerla D, Kirkpatrick CJ, Fuchs S. (2010) Enrichment of outgrowth endothelial cells in high and low colony-forming cultures from peripheral blood progenitors. *Tissue Eng Part C Methods*. 16(5):877-86.
- Kollet O, Shvitiel S, Chen YQ, Suriawinata J, Thung SN, Dabeva MD, Kahn J, Spiegel A, Dar A, Samira S, Goichberg P, Kalinkovich A, Arenzana-Seisdedos F, Nagler A, Hardan I, Revel M, Shafritz DA, Lapidot T. (2003) HGF, SDF-1, and MMP-9 are involved in stress-induced human CD34+ stem cell recruitment to the liver. *J Clin Invest*. 112(2):160-9.

- Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu O, Hwang S, Gardner R, Neutzel S, and Sharkis SJ (2001) Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 105:369-377
- Kucia M, Ratajczak J, Reza R, Janowska-Wieczorek A, Ratajczak MZ.. (2004) Tissue-specific muscle, neural and liver stem/progenitor cells reside in the bone marrow, respond to an SDF-1 gradient and are mobilized into peripheral blood during stress and tissue injury. *Blood Cells Mol Dis.* 32(1):52-57.
- Laflamme MA, Myerson D, Saffitz JE, Murry CE. (2002) Evidence for cardiomyocyte repopulation by extracardiac progenitors in transplanted human hearts. *Circ Res.* 90(6):634-40.
- Lapid K, Vagima Y, Kollet O, Lapidot T. (2009) Egress and mobilization of hematopoietic stem and progenitor cells. *StemBook*. Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute; 2008-2009 Mar 15.
- Lapidot T and Petit I. (2002) Current understanding of stem cell mobilization: the roles of chemokines, proteolytic enzymes, adhesion molecules, cytokines, and stromal cells. *Exp Hematol.* 30(9):973-81.
- Lazarini F, Tham TN, Casanova P, Arenzana-Seisdedos F, Dubois-Dalcq M. (2003) Role of the alpha-chemokine stromal cell-derived factor (SDF-1) in the developing and mature central nervous system. *Glia* 2003;42:139-148.
- Lee DY, Cho TJ, Kim JA, Lee HR, Yoo WJ, Chung CY, Choi IH. (2008) Mobilization of endothelial progenitor cells in fracture healing and distraction osteogenesis *Bone.* 42(5):932-41.
- Lee HJ, Kim KS, Park IH, Kim SU (2007) Human neural stem cells over-expressing VEGF provide neuroprotection, angiogenesis and functional recovery in mouse stroke model. *PLoS ONE* 2(1): e156.
- Lee KD, Kuo TK, Whang-Peng J, Chung YF, Lin CT, Chou SH, Chen JR, Chen YP and Lee OK. (2004) In vitro hepatic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Hepatology* 40:1275-1284.
- Lee ST, Chu K, Jung KH, Ko SY, Kim EH, Sinn DI, Lee YS, Lo EH, Kim M, Roh JK. (2005) Granulocyte colony-stimulating factor enhances angiogenesis after focal cerebral ischemia. *Brain Res.* 1058(1-2):120-128.
- Lee ST, Chu K, Jung KH, Kim DH, Kim EH, Choe VN, Kim JH, Im WS, Kang L, Park JE, Park HJ, Park HK, Song EC, Lee SK, Kim M, Roh JK. (2008) Decreased number and function of endothelial progenitor cells in patients with migraine. *Neurology.* 70(17):1510-7.
- Lemery SJ, Hsieh MM, Smith A, Rao S, Khuu HM, Theresa D, Viano JM, Cook L, Goodwin R, Boss C, Calandra G, Geller N, Tisdale J, Childs R. (2011) A pilot study evaluating the safety and CD34+ cell mobilizing activity of escalating doses of plerixafor in healthy volunteers. *Br J Haematol.* 153(1):66-75.
- Leone AM, Rutella S, Bonanno G, Contemi AM, de Ritis DG, Giannico MB, Rebuzzi AG, Leone G, Crea F. (2006) Endogenous G-CSF and CD34+ cell mobilization after acute myocardial infarction. *Int J Cardiol.* 111(2):202-8.
- Leone AM, Galiuto L, Garramone B, Rutella S, Giannico MB, Brugaletta S, Perfetti M, Liuzzo G, Porto I, Burzotta F, Niccoli G, Biasucci LM, Leone G, Rebuzzi AG, Crea F. (2007)

- Usefulness of granulocyte colony-stimulating factor in patients with a large anterior wall acute myocardial infarction to prevent left ventricular remodeling (the rigenera study). *Am J Cardiol.* 100(3):397-403.
- Li Y, Chen J, Chen XG, Wang L, Gautam SC, Xu YX, Katakowski M, Zhang LJ, Lu M, Janakiraman N, Chopp M. (2002) Human marrow stromal cell therapy for stroke in rat: neurotrophins and functional recovery. *Neurology.* 59(4):514-23.
- Lima C, Escada P, Pratas-Vital J, Branco C, Arcangeli CA, Lazzeri G, Maia CA, Capucho C, Hasse-Ferreira A, Peduzzi JD. (2010) Olfactory mucosal autografts and rehabilitation for chronic traumatic spinal cord injury. *Neurorehabil Neural Repair.* 24(1):10-22.
- Loewenstein WR, Rose B. (1992) The cell-cell channel in the control of growth. *Semin Cell Biol.* 3(1):59-79.
- Mannello F, Tonti GA, Bagnara GP, Papa S. (2006) Role and function of matrix metalloproteinases in the differentiation and biological characterization of mesenchymal stem cells. *Stem Cells.* 24(3):475-81.
- Mansilla E, Marín GH, Drago H, Sturla F, Salas E, Gardiner C, Bossi S, Lamonega R, Guzmán A, Nuñez A, Gil MA, Piccinelli G, Ibar R, Soratti C. (2006) Bloodstream cells phenotypically identical to human mesenchymal bone marrow stem cells circulate in large amounts under the influence of acute large skin damage: new evidence for their use in regenerative medicine. *Transplant Proc.* 38(3):967-9.
- Marchesi C, Belicchi M, Meregalli M, Farini A, Cattaneo A, Parolini D, Gavina M, Porretti L, D'Angelo MG, Bresolin N, Cossu G, Torrente Y. (2008) Correlation of circulating CD133+ progenitor subclasses with a mild phenotype in Duchenne muscular dystrophy patients. *PLoS ONE.* 3(5):e2218.
- Magavi SS and JD Macklis. (2002). Immunocytochemical analysis of neuronal differentiation. *Meth Mol Biol* 198:291-297.
- Mathews V, Hanson PT, Ford E, Fujita J, Polonsky KS, Graubert TA. (2004) Recruitment of bone marrow-derived endothelial cells to sites of pancreatic beta-cell injury. *Diabetes* 53(1):91-8.
- Matsumoto T, Mifune Y, Kawamoto A, Kuroda R, Shoji T, Iwasaki H, Suzuki T, Oyamada A, Horii M, Yokoyama A, Nishimura H, Lee SY, Miwa M, Doita M, Kurosaka M, Asahara T. (2008) Fracture induced mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for bone healing. *J Cell Physiol.* 215(1):234-42
- Mezey E, Key S, Vogelsang G, Szalayova I, Lange GD and Crain G. (2003). Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 1364-1369.
- Middleton J, Neil S, Wintle J, Clark-Lewis I, Moore H, Lam C, Auer M, Hub E, Rot A. (1997) Transcytosis and surface presentation of IL-8 by venular endothelial cells. *Cell.* 91(3):385-95.
- Mirotsov M, Jayawardena TM, Schmeckpeper J, Gneccchi M, Dzau VJ. (2011) Paracrine mechanisms of stem cell reparative and regenerative actions in the heart. *J Mol Cell Cardiol.* 50(2):280-9.

- Mishra SK, Braun N, Shukla V, Füllgrabe M, Schomerus C, Korf HW, Gachet C, Ikehara Y, Sévigny J, Robson SC, Zimmermann H. (2006) Extracellular nucleotide signaling in adult neural stem cells: synergism with growth factor-mediated cellular proliferation. *Development*. 133(4):675-84.
- Moonen JR, de Leeuw K, van Seijen XJ, Kallenberg CG, van Luyn MJ, Bijl M, Harmsen MC. (2007) Reduced number and impaired function of circulating progenitor cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2007;9(4):R84.
- Müller P, Pfeiffer P, Koglin J, Schäfers HJ, Seeland U, Janzen I, Urbchat S, Böhm M. (2002) Cardiomyocytes of noncardiac origin in myocardial biopsies of human transplanted hearts. *Circulation*. 106(1):31-5.
- Nakatomi H, T Kuriu, S Okabe, S Yamamoto, O Hatano, N Kawahara, A Tamura, T Kirino and M Nakafuku. (2002) Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury by recruitment of endogenous neural progenitors. *Cell* 110:429-441.
- Neijssen J, Herbets C, Drijfhout JW, Reits E, Janssen L, Neefjes J. (2005) Cross-presentation by intercellular peptide transfer through gap junctions. *Nature*. 434(7029):83-8.
- Neuss S, Becher E, Wöltje M, Tietze L, Jahnen-Dechent W. (2004) Functional expression of HGF and HGF receptor/c-met in adult human mesenchymal stem cells suggests a role in cell mobilization, tissue repair, and wound healing. *Stem Cells* 22:405- 414.
- Nygren JM, Jovinge S, Breitbach M, Säwén P, Röhl W, Hescheler J, Taneera J, Fleischmann BK, Jacobsen SE. (2004) Bone marrow-derived hematopoietic cells generate cardiomyocytes at a low frequency through cell fusion, but not transdifferentiation. *Nat Med*.10(5):494-501.
- Okamoto I, Kawano Y, Tsuiki H, Sasaki J, Nakao M, Matsumoto M, Suga M, Ando M, Nakajima M, Saya H. (1999) CD44 cleavage induced by a membrane-associated metalloprotease plays a critical role in tumor cell migration. *Oncogene*. 18:1435-1446.
- Orlic D., Kajstura J., Chimenti S., Jakoniuk I., Pickel J., McKay, R., Nadal-Ginard, B., Bodine, D. M., Leri, A. & Anversa, P. (2001a) Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature (London)* 410, 701-705.
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Limana F, Jakoniuk I, Quaini F, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. (2001b) Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 98(18):10344-9.
- Osada T, Watanabe M, Hasuo A, Imai M, Suyama K, Sakai D, Kawada H, Matsumae M, Mochida J. (2010) Efficacy of the coadministration of granulocyte colony-stimulating factor and stem cell factor in the activation of intrinsic cells after spinal cord injury in mice. *J Neurosurg Spine*. 13(4):516-23.
- Paczkowska E, Larysz B, Rzeuski R, Karbicka A, Jałowiński R, Kornacewicz-Jach Z, Ratajczak MZ, Machaliński B. (2005) Human hematopoietic stem/progenitor-enriched CD34(+) cells are mobilized into peripheral blood during stress related to ischemic stroke or acute myocardial infarction. *Eur J Haematol*. 75(6):461-7.
- Pavlichenko N, Sokolova I, Vijde S, Shvedova E, Alexandrov G, Krouglyakov P, Fedotova O, Gilerovich EG, Polyntsev DG, Otellin VA Mesenchymal stem cells transplantation

- could be beneficial for treatment of experimental ischemic stroke in rats. *Brain Res.* 2008 Jul 14.
- Peled A, Grabovsky V, Habler L, Sandbank J, Arenzana-Seisdedos F, Petit I, Ben-Hur H, Lapidot T, Alon R. (1999) The chemokine SDF-1 stimulates integrin-mediated arrest of CD34(+) cells on vascular endothelium under shear flow. *J Clin Invest.* 104(9):1199-211.
- Peled A, Kollet O, Ponomaryov T, Petit I, Frantza S, Grabovsky V, Slav MM, Nagler A, Lider O, Alon R, Zipori D, Lapidot T. (2000) The chemokine SDF-1 activates the integrins LFA-1, VLA-4, and VLA-5 on immature human CD34(+) cells: role in transendothelial/stromal migration and engraftment of NOD/SCID mice. *Blood.* 95(11):3289-96.
- Pereira RF, O'Hara MD, Laptev AV, Halford KW, Pollard MD, Class R, Simon D, Livezey K and Prockop DJ. (1998) Marrow stromal cells as a source of progenitor cells for nonhematopoietic tissues in transgenic mice with a phenotype of osteogenesis imperfecta. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 1142-1147.
- Peterson DA. (2002). Stem cells in brain plasticity and repair. *Curr Opin Pharmacol* 2:34-42.
- Petit I, Szyper-Kravitz M, Nagler A, Lahav M, Peled A, Habler L, Ponomaryov T, Taichman RS, Arenzana-Seisdedos F, Fujii N, Sandbank J, Zipori D, Lapidot T. (2003) G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4. *Nat Immunol.* 3(7):687-94.
- Pineault N, Cortin V, Boyer L, Garnier A, Robert A, Thérien C, Roy DC. (2011) Individual and synergistic cytokine effects controlling the expansion of cord blood CD34(+) cells and megakaryocyte progenitors in culture. *Cytotherapy.* 13(4):467-80.
- Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, Finato N, Beltrami CA, Nadal-Ginard B, Kajstura J, Leri A, Anversa P. (2002) Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med.* 346(1):5-15.
- Ratajczak MZ, Majka M, Kucia M, Drukala J, Pietrkowski Z, Peiper S, Janowska-Wieczorek A. (2003) Expression of functional CXCR4 by muscle satellite cells and secretion of SDF-1 by muscle-derived fibroblasts is associated with the presence of both muscle progenitors in bone marrow and hematopoietic stem/progenitor cells in muscles. *Stem Cells.* 21(3):363-71.
- Reed RK, Lilja K, Laurent TC. (1988) Hyaluronan in the rat with special reference to the skin. *Acta Physiol Scand.* 134(3):405-11.
- Ries C, Egea V, Karow M, Kolb H, Jochum M, Neth P. (2007) MMP-2, MT1-MMP, and TIMP-2 are essential for the invasive capacity of human mesenchymal stem cells: differential regulation by inflammatory cytokines. *Blood.* 109(9):4055-63.
- Ripa RS, Kastrup J. (2008) G-CSF therapy with mobilization of bone marrow stem cells for myocardial recovery after acute myocardial infarction--a relevant treatment? *Exp Hematol.* 36(6):681-6.
- Rustom A, Saffrich R, Markovic I, Walther P, Gerdes HH. (2004) Nanotubular highways for intercellular organelle transport. *Science.* 303(5660):1007-10.
- Sanchez-Ramos JR. (2002) Neural cells derived from adult bone marrow and umbilical cord blood. *J Neurosci Res.* 69(6):880-93

- Schioppa T, Uranchimeg B, Saccani A, Biswas SK, Doni A, Rapisarda A, Bernasconi S, Saccani S, Nebuloni M, Vago L, Mantovani A, Melillo G, Sica A. (2003) Regulation of the chemokine receptor CXCR4 by hypoxia. *J Exp Med* 2003;198:1391-1402.
- Schmidt W and KG Reymann. (2002). Proliferating cells differentiate into neurons in the hippocampal CA1 region of gerbils after global cerebral ischemia. *Neurosci Lett* 334:153-156.
- Schrader AJ, Lechner O, Templin M, Dittmar KE, Machtens S, Mengel M, Probst-Kepper M, Franzke A, Wollensak T, Gatzlaff P, Atzpodien J, Buer J, Lauber J. (2002) CXCR4/CXCL12 expression and signalling in kidney cancer. *Br J Cancer*. 86(8):1250-6.
- Schwartz Y and Kornowski R. (2003) Autologous stem cells for functional myocardial repair. *Heart Fail Rev*. 8(3):237-45.
- Sesti C, Hale SL, Lutzko C, Kloner RA. (2005) Granulocyte colony-stimulating factor and stem cell factor improve contractile reserve of the infarcted left ventricle independent of restoring muscle mass. *J Am Coll Cardiol*. 46(9):1662-9.
- Shimoda K, Okamura S, Haarada N, Kondo S, Niho Y. (1993) Identification of a functional receptor for granulocyte colony-stimulating factor on platelets. *J Clin Invest*. 91:1310-1313.
- Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Honma T, Katoh A, Sasaki K, Shimada T, Oike Y, Imaizumi T. (2001) Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 103(23):2776-9.
- Shyu WC, Lin SZ, Yang HI, Tzeng YS, Pang CY, Yen PS, Li H. (2004) Functional recovery of stroke rats induced by granulocyte colony-stimulating factor-stimulated stem cells. *Circulation* 110(13):1847-54.
- Six I, Gasan G, Mura E, Bordet R. (2003) Beneficial effect of pharmacological mobilization of bone marrow in experimental cerebral ischemia. *Eur J Pharmacol*. 458(3):327-8.
- Snykers S, De Kock J, Tamara V, Rogiers V. (2011) Hepatic differentiation of mesenchymal stem cells: in vitro strategies. *Methods Mol Biol*. 698:305-14.
- Soonpaa MH and Field LJ. (1998) Survey of studies examining mammalian cardiomyocyte DNA synthesis. *Am Heart Assoc* 1998;83:15-26.
- Spees JL, Olson SD, Ylostalo J, Lynch PJ, Smith J, Perry A, Peister A, Wang MY, Prockop DJ. (2003) Differentiation, cell fusion, and nuclear fusion during ex vivo repair of epithelium by human adult stem cells from bone marrow stroma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 100(5):2397-402.
- Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M, Kittner C, Klinge H, Schümichen C, Nienaber CA, Freund M, Steinhoff G. (2003) Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet*. 361(9351):45-6.
- Stout CL, Ashley DW, Morgan JH 3rd, Long GF, Collins JA, Limnios JL, Lochner F, McCommon G, Hixson D, Black AC Jr, Young HE. (2007) Primitive stem cells residing in the skeletal muscle of adult pigs are mobilized into the peripheral blood after trauma. *Am Surg*. 73(11):1106-10.
- Suratt BT, Cool CD, Serls AE, Chen L, Varella-Garcia M, Shpall EJ, Brown KK, Worthen GS. (2003) Human pulmonary chimerism after hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*. 168(3):318-22.

- Swenson ES, Kuwahara R, Krause DS, Theise ND. (2008) Physiological variations of stem cell factor and stromal-derived factor-1 in murine models of liver injury and regeneration. *Liver Int.* 28(3):308-18
- Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, Magner M, Isner JM, Asahara T. (1999) Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med.* 5(4):434-8.
- Terada N, Hamazaki T, Oka M, Hoki M, Mastalerz DM, Nakano Y, Meyer EM, Morel L, Petersen BE, Scott EW. (2002) Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature.* 416(6880):542-5.
- Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R, Illei PB, Morgan G, Teperman L, Henegariu O, Krause DS. (2000) Liver from bone marrow in humans. *Hepatology.* 32(1):11-6.
- Tirino V, Paino F, d'Aquino R, Desiderio V, De Rosa A, Papaccio G. (2011) Methods for the Identification, Characterization and Banking of Human DPSCs: Current Strategies and Perspectives. *Stem Cell Rev.* Feb 12. [Epub ahead of print]
- Tomita M, Adachi Y, Yamada H, Takahashi K, Kiuchi K, Oyaizu H, Ikebukuro K, Kaneda H, Matsumura M, Ikehara S. (2002) Bone marrow-derived stem cells can differentiate into retinal cells in injured rat retina. *Stem Cells.* 20(4):279-83.
- Tomoda H and Aoki N. (2003) Bone marrow stimulation and left ventricular function in acute myocardial infarction. *Clin. Cardiol.* 26:455-457
- Trzaska KA, Rameshwar P. (2011) Dopaminergic Neuronal Differentiation Protocol for Human Mesenchymal Stem Cells. *Methods Mol Biol.* 698:295-303.
- Tsagias N, Koliakos I, Lappa M, Karagiannis V, Koliakos GG. (2011) Placenta perfusion has hematopoietic and mesenchymal progenitor stem cell potential. *Transfusion.* 51(5):976-85.
- Tse HF, Kwong YL, Chan JK, Lo G, Ho CL, Lau CP. (2003) Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet.* 361(9351):47-9.
- Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, Adler K, Urbich C, Martin H, Zeiher AM, and Dimmeler S. (2001) Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res.* 89:e1-e7.
- Vasania VS, Prasad P, Gill RK, Mehta A, Viswanathan C, Sarang S, Majumdar AS. (2010) Molecular and cellular characterization of expanded and cryopreserved human limbal epithelial stem cells reveal unique immunological properties. *Exp Eye Res.* 92(1):47-56.
- Vassilopoulos G, Wang PR, Russell DW. (2003) Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature.* 422(6934):901-4.
- Viktorov IV, Savchenko EA, Ukhova OV, Alekseyeva NY, Chekhonin VP. (2006) Multipotent stem and progenitor cells of the olfactory epithelium. *Bull Exp Biol Med.* 142(4):495-502.
- Voermans C, Rood PM, Hordijk PL, Gerritsen WR, van der Schoot CE. (2000) Adhesion molecules involved in transendothelial migration of human hematopoietic progenitor cells. *Stem Cells.* 18(6):435-43.
- Voltarelli JC, Couri CEB, Stracieri ABPL, Oliveira MC, Moraes DA, Pieroni F, Coutinho M, Malmegrim KCR, Foss-Freitas MC, Simoes BP, Foss MC, Squiers E, and Burt RK.

- (2007) Autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed Type 1 diabetes mellitus. *JAMA*. 297(14):1568-1576.
- Wang J, Wang X, Sun Z, Wang X, Yang H, Shi S, Wang S. (2011) Stem cells from human-exfoliated deciduous teeth can differentiate into dopaminergic neuron-like cells. *Stem Cells Dev*. 19(9):1375-83.
- Welte K, Platzer E, Lu L, Gabilove JL, Levi E, Mertelsmann R, and Moore MA. (1985) Purification and biochemical characterization of human pluripotent hematopoietic colony-stimulating factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 82(5):1526-30.
- Werner N, Kosiol S, Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, Link A, Böhm M, Nickenig G. (2005) Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med*. 353(10):999-1007.
- Westerweel PE, Luijten RK, Hoefler IE, Koomans HA, Derksen RH, Verhaar MC. (2007) Haematopoietic and endothelial progenitor cells are deficient in quiescent systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 66(7):865-70.
- Willing AE, Vendrame M, Mallery J, Cassidy CJ, Davis CD, Sanchez-Ramos J, Sanberg PR. (2003) Mobilized peripheral blood cells administered intravenously produce functional recovery in stroke. *Cell Transplant*. 12(4):449-54.
- Wojakowski W, Tendera M, Michałowska A, Majka M, Kucia M, Maślankiewicz K, Wyderka R, Ochala A, Ratajczak MZ. (2004) Mobilization of CD34/CXCR4+, CD34/CD117+, c-met+ stem cells, and mononuclear cells expressing early cardiac, muscle, and endothelial markers into peripheral blood in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 110(20):3213-20.
- Wojakowski W, Tendera M, Zebzda A, Michalowska A, Majka M, Kucia M, Maslankiewicz K, Wyderka R, Król M, Ochala A, Kozakiewicz K, Ratajczak MZ. (2006) Mobilization of CD34(+), CD117(+), CXCR4(+), c-met(+) stem cells is correlated with left ventricular ejection fraction and plasma NT-proBNP levels in patients with acute myocardial infarction. *Eur Heart J*. 27(3):283-9.
- Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, Fichtner S, Korte T, Hornig B, Messinger D, Arseniev L, Hertenstein B, Ganser A, Drexler H. (2004) Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet*. 364(9429):141-8.
- Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ and Black IB. (2000) Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J. Neurosci. Res*. 61, 364-370.
- Wright DE, Bowman EP, Wagers AJ, Butcher EC, Weissman IL. (2002) Hematopoietic stem cells are uniquely selective in their migratory response to chemokines. *J Exp Med*. 195(9):1145-54.
- Wurmser AE, Gage FH. (2002) Stem cells: cell fusion causes confusion. *Nature*. 416(6880):485-7.
- Yamamoto S, N Yamamoto, T Kitamura and M Nakafuku. (2001). Proliferation of parenchymal neural progenitors in response to injury in the adult rat spinal cord. *Exp Neurol* 172:1115-1127.
- Yoo SW, Kim SS, Lee SY, Lee HS, Kim HS, Suh-Kim H. (2008) Mesenchymal stem cells promote proliferation of endogenous neural stem cells and survival of newborn cells in a rat stroke model. *Exp Mol Med*. 40(4):387-97.

- Zachar V, Rasmussen JG, Fink T. (2011) Isolation and growth of adipose tissue-derived stem cells. *Methods Mol Biol.* 698:37-49.
- Zhang CP, Fu XB. (2008) Therapeutic potential of stem cells in skin repair and regeneration. *Chin J Traumatol.* 11(4):209-21.
- Zhang X, Hirai M, Cantero S, Ciubotariu R, Dobrila L, Hirsh A, Igura K, Satoh H, Yokomi I, Nishimura T, Yamaguchi S, Yoshimura K, Rubinstein P, Takahashi TA. (2011) Isolation and characterization of mesenchymal stem cells from human umbilical cord blood: reevaluation of critical factors for successful isolation and high ability to proliferate and differentiate to chondrocytes as compared to mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue. *J Cell Biochem.* 112(4):1206-18.
- Zhu J, Wang X, Chen J, Sun J, Zhang F. (2006) Reduced number and activity of circulating endothelial progenitor cells from patients with hyperhomocysteinemia. *Arch Med Res.* 37(4):484-9.
- Zohlnhöfer D, Dibra A, Koppa T, de Waha A, Ripa RS, Kastrup J, Valgimigli M, Schömig A, Kastrati A. (2008) Stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor for myocardial recovery after acute myocardial infarction: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol.* 51(15):1429-37.
- Zou Y, Kottmann AH, Kuroda M, Taniuchi I, Littman DR. (1998) Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. *Nature* 393:595-599