



Artículo de revisión

Células madre mesenquimales para la regeneración de tejidos: ¿por qué siguen siendo una promesa sin cumplir?

Carlos Hugo Escobar MD.MSc. PhD.^a

^aProfesor investigador Asociado. Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. Bogotá DC, Colombia.

^aFacultad de Medicina. Grupo de Ciencias Básicas en Salud – CBS. Bogotá DC, Colombia.

RESUMEN

Desde su descripción inicial, hace ya más de 40 años, las células madre mesenquimales (MSC) fueron reconocidas como una importante alternativa para el manejo de enfermedades caracterizadas por la pérdida aguda o crónica de tejido, gracias a su capacidad de proliferación y diferenciación, lo cual les permitiría sustituir las células perdidas y de esta forma recuperar la estructura y función. Cada vez es más abundante la evidencia que sugiere el potencial de estas células para el manejo de un amplio grupo de enfermedades, al menos en modelos experimentales preclínicos. No obstante, esta capacidad no ha podido refrendarse contundente y consistentemente en ensayos clínicos. Con la presente revisión, se pretende presentar una visión del estado actual del desarrollo conceptual en torno a las capacidades terapéuticas de las MSC y un análisis crítico de algunos de los factores, que han impedido que estas sean una opción terapéutica usable en la práctica clínica diaria.

Palabras clave: Células madre; mesenquimal; diferenciación celular; Células madre adultas.

© 2018 Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud - FUCS.

Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:
Fecha recibido: abril 11 de 2018
Fecha aceptado: abril 23 de 2018

Autor para correspondencia.
Dr. Carlos Hugo Escobar
chescobar@fucsahud.edu.co

DOI
<https://doi.org/10.31260/RepertMedCir.v27.n3.2018.204>

ABSTRACT

Since they were initially identified more than 40 years ago, mesenchymal stem cells (MSCs) were recognized as an important therapeutic alternative for diseases characterized by acute or chronic loss of tissue, thanks to their proliferation and differentiation ability, which would allow the replacement of lost cells and their structural and functional recuperation. Evidence suggesting the therapeutic potential of these cells for a vast group of diseases increases day by day, at least in preclinical experimental models. However, clinical trials have been unable to obtain consistent and categorical results to demonstrate this capacity. This review aims to provide, an overview on the current status of the conceptual development on the therapeutic properties of MSCs, and a critical analysis of some factors which have hindered the application of this therapeutic option in daily clinical practice.

Key words: Stem cells; mesenchymal; cellular differentiation; adult stem cells.

© 2018 Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud - FUCS.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

INTRODUCCIÓN

El paradigma de las células madre (CM) o (*stem cells*) como estirpe celular con capacidad de proliferación y diferenciación ha atraído la atención de la comunidad científica y no científica en todo el mundo. Pueden ser categorizadas de acuerdo con su potencial de diferenciación como células totipotenciales, pluripotenciales y multipotenciales. Estas últimas también conocidas como CM adultas, pueden ser extraídas de tejidos como el cordón umbilical, la médula ósea y el tejido adiposo. Aunque no es bien claro el rol que asumen en su nicho tisular de origen, se ha sugerido que actúen como reserva de células, que conservando algunos rasgos de inmadurez, pueden asumir la responsabilidad del recambio celular, gracias a su capacidad de proliferación y diferenciación en respuesta a estímulos de variada índole, incluyendo señales inflamatorias.¹⁻³

Se han ensayado como alternativa de terapia celular para un amplio grupo de enfermedades caracterizadas por la degeneración tisular, basando la expectativa de sus resultados en que gracias a su capacidad de proliferación y diferenciación podrían reemplazar las células perdidas en esos contextos patológicos.⁴⁻⁷

Son numerosos y variados los mecanismos por los cuales las CM adultas favorecen la regeneración tisular. Algunos de estos sustentan su uso en diversos campos del ejercicio médico.^{1,5,8} Sin embargo, no parece sorprendente que su potencial terapéutico sea mucho más restringido de lo que se ha planteado, circunscribiéndose al manejo de algunas enfermedades o en algunos contextos particulares.

Con la presente revisión, se pretende presentar un panorama general de las células madre adultas como alternativa de terapia celular para la medicina regenerativa y un análisis respecto a las circunstancias que han limitado su masificación como posibilidad terapéutica para los seres humanos.

Las célula madre adultas

La pérdida paulatina e irreversible de la totipotencialidad de las blastómeras es uno de los fundamentos del desarrollo

embrionario.⁸ Aunque se ha demostrado que la diferenciación de las células humanas puede ser reversada^{9,10}, se considera que en condiciones fisiológicas es un proceso irreversible y tiene como consecuencia la adquisición paulatina de fenotipos cada vez más especializados, que además trae consigo la pérdida de la capacidad de proliferación, característica de las células indiferenciadas, y la reducción del espectro de diferenciación a un grupo cada vez más reducido de fenotipos celulares en escalas conocidas como pluri y multipotencialidad celular.

A partir de lo anterior se estructura una jerarquía celular encabezada por las células no diferenciadas totipotenciales de la mórula (primeras horas posfecundación), mientras que en la parte más baja de esa jerarquía se encontrarían las células especializadas propias de cada uno de los 200 tejidos que conforman la economía corporal, pasando por las células pluripotenciales (localizadas en la masa interna del blastocisto, conocidas como células madre embrionarias) y las células multipotenciales (CM propias de los tejidos posembrionarios, conocidas como CM adultas o ASC), las cuales podrían subclasificarse en células madre hematopoyéticas y células estromales multipotenciales, las cuales usualmente son reconocidas con el nombre de *mesenchymal stem cells* o MSC, por considerarlas derivadas del mesénquima, tejido de sostén embrionario.^{11,12}

Partiendo de la noción de esta jerarquía, puede comprenderse la idea de que la mayoría de los tejidos (si no la totalidad de ellos) cuentan con una reserva de células que se conservan indiferenciadas, en alguna medida, las cuales proliferan dando origen mediante división asimétrica a las células propias del tejido.¹³ En este contexto surge el concepto del recambio celular como responsabilidad fisiológica fundamental de las MSC¹⁴, lo cual ha sido relacionado, por ejemplo, con su localización subtisular.¹⁵

Desde su descripción inicial en la década de los 80's, las MSC fueron reconocidas por su capacidad de proliferación, estabilidad fenotípica y capacidad de diferenciación.^{1,8} Aunque tejidos derivados de las tres capas germinales (endo, meso y ectodermo) han demostrado contar con células que

cumplen con los criterios de reconocimiento para MSCs¹³, las más estudiadas han sido las aisladas de tejidos derivados del mesodermo: médula ósea, tejido adiposo y sangre de cordón umbilical.

Células madre mesenquimales

Las MSC podrían considerarse como células con capacidad de proliferación y diferenciación a linajes celulares mesodérmicos y no mesodérmicos, incluyendo el condrogénico, osteogénico, miogénico y adipogénico.⁸ Fueron descritas en la década de los 70 como células aisladas de médula ósea, pero pueden ser extraídas de diferentes tejidos, incluyendo sangre de cordón umbilical y tejido adiposo.^{13,16} Desde el momento de su descripción, estas células han obtenido atención por su potencial como alternativa terapéutica para el manejo de enfermedades caracterizadas por la pérdida aguda o crónica de tejidos. Con el ánimo de unificar las condiciones de trabajo con estas células, una comisión de la Sociedad Internacional de Citoterapia, propuso en 2006 unos criterios para su caracterización, dentro de los cuales se incluyen su capacidad de adherencia al plástico, potencial de diferenciación multilínea y expresión de un inmunofenotipo caracterizado por expresión de marcadores estromales, en ausencia de marcadores de linaje hematopoyético.¹⁷ Aunque durante los años recientes se han propuesto marcadores adicionales¹⁴, sigue aceptándose que estas células deben expresar marcadores como CD73, CD90 y CD105, sin expresar otros como CD34 y CD45.¹⁷

Aunque es posible obtener células que cumplan con estos criterios de prácticamente cualquier tejido vascularizado¹³, su estudio con fines terapéuticos se ha centrado en aquellas derivadas de la médula ósea y en mucho menor medida, en las derivadas de tejido adiposo. Las MSC provenientes de médula ósea (*bone marrow stem cells*, BMSC) y tejido adiposo (*adipose derived stem cells*, ADSC), tienen capacidad de proliferación y diferenciación comparable¹⁸⁻²⁰, sin embargo, las ADSC tienen varias ventajas para fines terapéuticos²¹, incluyendo su menor senescencia en cultivo^{18,19} y mayor conservación del potencial de diferenciación^{22,23}, además de que son más abundantes que las BMSC, debido a que son especies celulares escasas en la médula ósea (1/100000 aproximadamente)²¹, mientras que en el tejido adiposo equivalen al cerca del 2% de la población celular nucleada²⁴, diferencia que se potencia considerando la cantidad de tejido adiposo que con relativa facilidad puede obtenerse²⁵ (tabla 1).

Tabla 1. Comparación biológica y funcional de las BMSC y ASC

VARIABLES RELACIONADAS	COMENTARIO	REMS Me (RIQ)
Immunofenotipo	Immunofenotipo	[1, 23]
Potencial de proliferación y diferenciación	Similares, con tendencia a ser mayor el de las ASC	[18] [19] [20]
Senescencia	Mayor en las BMSC	[18, 19]
Conservación de la multipotencialidad in vitro	Mayor en las BMSC	[22, 23]
Proporción de las MSC en la muestra primaria	5 a 50 veces superior en tejido adiposo	[21]

Las MSC y la medicina regenerativa

La accesibilidad y menores requerimientos para su manejo, han potenciado el atractivo de las MSC como alternativa terapéutica para la medicina regenerativa.²⁶

Con frecuencia se ha reportado la regeneración de diferentes tipos de tejido, incluyendo miocardio²⁷, médula espinal²⁸ y estructuras osteoarticulares²⁹⁻³¹ tras la aplicación de MSCs. No ha sido posible demostrar que los tejidos regenerados estén constituidos por MSCs trasplantadas. Es muy escasa la cantidad de células trasplantadas que permanecen en el tejido tratado²⁷ y una gran cantidad de ellas se ubica en estructuras distales, como capilares pulmonares.^{1,5} Por lo cual, se ha sugerido que las MSC favorezcan la regeneración tisular reclutando y modulando células locales.^{1,2}

El tiempo de respuesta terapéutica también sugiere que actúan de modos diferentes a la "simple" restitución de células perdidas. Por ejemplo, los ensayos de regeneración miocárdica en modelo animal han demostrado mejoría funcional dentro de las 72 horas siguientes a la implantación de las células, tiempo claramente insuficiente a todas luces para que estas desarrollen un fenotipo de linaje cardiomiogénico, lo cual hace poco factible que la mejoría clínica sea resultado de la adquisición de responsabilidades estructurales y funcionales de las MSC, como consecuencia de su diferenciación hacia linaje cardiomiogénico.²⁷ Los resultados obtenidos en diferentes modelos de lesión tisular incluyendo cartílago³², miocardio³³ y médula espinal³⁴, sugieren que la regeneración tisular favorecida por las MSC en ellos no guarda relación con su presencia en el tejido a tratar. Se ha evidenciado que ese resultado depende al menos en parte, de la presencia y efecto biológico de moléculas liberadas por las MSC, las cuales modulan un amplio grupo de procesos tisulares, favoreciendo así la regeneración.³⁵ Incluso, se ha observado la supresión de la respuesta reparadora al bloquear el efecto de alguno de estos factores y su restitución, al usar los medios de cultivo condicionados por las células.^{27,36} Esta se ha reconocido como la hipótesis paracrina de la capacidad terapéutica de las MSC³⁵, lo cual ha llevado al reconocimiento del secretoma (grupo de moléculas secretadas por las células) de las MSC, como un elemento importante de su capacidad terapéutica.²

El "secretoma" de las MSC ha sido ampliamente caracterizado. Se ha reportado que estas células producen y liberan una amplia variedad de moléculas incluyendo citoquinas, quimioquinas y factores de crecimiento involucrados en la regulación de procesos como la neovascularización, bloqueo de apoptosis e inducción de proliferación, migración y diferenciación celular.^{27,36}

Capítulo aparte merece la escasa inmunogenicidad de las MSC y la capacidad inmunomoduladora de su secretoma. La escasa expresión de los péptidos del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II o DR (major histocompatibility complex II, MHC II) y la ausencia de expresión de moléculas coestimuladoras como CD40, CD80 y CD⁸⁶, hacen de las MSCs una especie celular con baja inmunogenicidad.³⁷ Lo anterior ha

sustentado el uso de MSC alogénicas³⁸ y se ha sugerido que estas células puedan ser de utilidad en modelos de trasplante alogénico e incluso se ha reportado la regeneración tisular en modelos de trasplante xenotrasplante.³⁹

También se ha informado la capacidad de las MSC de modular el funcionamiento del sistema inmune⁴⁰, lo cual se ha entendido como sustento conceptual para su uso en el manejo de enfermedades de etiopatogenia inmunológica como la enfermedad de injerto contra huésped (graft versus-host disease, GvHD)⁴¹, la esclerosis múltiple o el rechazo al trasplante de órgano.⁴² Sin embargo, la capacidad inmunomoduladora de las MSC también se ha relacionado con la regulación de procesos biológicos indispensables para la regeneración tisular, incluyendo la neovascularización.^{43,44}

La interacción de las MSC con el sistema inmune parece ser compleja y tiene impacto en diferentes linajes celulares del sistema inmune innato y adaptativo. Se ha sugerido que las MSC reprimen la proliferación de células asesinas naturales⁴⁵ y la maduración de células dendríticas mediante la liberación de IL-6 y del factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (granulocyte macrophage colony stimulating factor, GM-CSF).⁴⁶ También favorecen la generación de macrófagos M2 (resolutivos) en lugar de M1 (pro-inflamatorios) gracias a la liberación de IL-4 e IL-13, lo cual se ha relacionado con la correcta regeneración tisular.⁴⁷

Se ha sugerido también que las MSC regulan el funcionamiento del sistema inmune adaptativo. Reprimen la proliferación de linfocitos T CD4+ y CD8+ e inducen la proliferación de células T regulatorias⁴⁸, lo cual lleva a la represión de linfocitos T citotóxicos.^{49,50} Todo lo anterior ha llevado al planteamiento de que estas células establecen una especie de cortina de modulación del sistema inmune, lo cual favorece la regeneración tisular.⁵¹

¿Por qué las MSC no se han posicionado como una alternativa terapéutica?

La terapia celular es cada vez más usada como alternativa terapéutica para seres humanos, lo cual se evidencia con los más de 1000 millones de dólares que mueve anualmente en EEUU⁵² y el creciente número de ensayos clínicos que vienen siendo desarrollados para su implementación clínica⁵³, en especial aquellos en los que se evalúan las MSC.⁵⁴ La evidencia experimental surgida de modelos preclínicos, sustenta con suficiencia el potencial terapéutico que estas células tienen.⁵⁵ No obstante, este potencial no ha podido evidenciarse en forma contundente en ensayos clínicos ni han podido lograrse resultados terapéuticos consistentes bajo condiciones asistenciales.^{26,54} Se ha sugerido que el resultado terapéutico alcanzado con las MSC depende de la supervivencia de las células y su anclaje, al menos en escasa proporción, al tejido receptor. La supervivencia de las células guarda relación con variables involucradas tanto en el proceso de su producción como en el momento de la aplicación, incluyendo las condiciones del tejido e individuo receptor.^{56,57}

Por su parte, la escasa consistencia de los resultados terapéuticos en contextos asistenciales podría ser una consecuencia de la heterogeneidad de las condiciones bajo las cuales son producidas e implantadas las células. Estas células pueden ser extraídas, cultivadas y criopreservadas con relativa facilidad. Por ejemplo, la disponibilidad del tejido adiposo y la simplicidad técnica de su obtención, ha masificado su uso como fuente para la obtención de MSC. Esto ha llevado a que cada vez sea mayor la cantidad de profesionales de las ciencias de la salud, que las consideren como complemento para sus planes terapéuticos. Esto es importante toda vez que la mayor cantidad de profesionales trabajando en este campo tendrá una directa relación con la cantidad de información generada y eso indefectiblemente llevará al avance técnico y conceptual. No obstante, también aumenta el riesgo de que personas con insuficiente formación y experiencia en el manejo de células o tejidos se involucren en un trabajo que requiere conocimientos avanzados y experiencia en aspectos técnicos.⁵⁸ Todo ello aumenta la heterogeneidad de las técnicas y procedimientos usados, las características de los productos aplicados y los resultados obtenidos.

La producción

La producción de MSC para aplicaciones terapéuticas implica su manipulación sustancial en actividades requeridas para su extracción de la fuente primaria, su cultivo in vitro hasta alcanzar el número requerido de células para su trasplante y hacerlo, o bien criopreservarlas hasta el momento de su trasplante. Este es un proceso complejo, en el cual se ve involucrado un amplio grupo de variables, para las cuales además no hay unanimidad de criterio respecto a su manejo, incluyendo por ejemplo la caracterización de las células⁵⁹ y las condiciones de criopreservación.⁶⁰

Tradicionalmente, en el proceso de producción y criopreservación celular se usan moléculas de origen bacteriano o animal (xenogénico), lo cual implica un claro riesgo para los potenciales receptores las MSC. Desarrollar protocolos libres de moléculas xenogénicas (xeno-free) para la producción de MSC es un paso importante en la viabilización de la implementación de su aplicación o la de sus derivados.^{61,62}

El suero fetal bovino (SFB) es un suplemento nutricional habitualmente utilizado para el cultivo celular in vitro. Es una mezcla compleja de biomoléculas que incluye proteínas, ácidos grasos, lípidos, carbohidratos, aminoácidos y minerales. Estas moléculas tienen funciones muy variadas, incluyendo inducción de crecimiento y proliferación celular (factores de crecimiento y hormonas), transporte de biomoléculas como hormonas o lípidos (proteínas transportadoras) y unión a matriz extracelular e intercelular (proteínas de unión y factores de adherencia celular).⁶³

Todas estas moléculas son usadas por las células, lo cual implica que algunas sean absorbidas o que por lo menos entren en contacto con las ellas. De hecho, ya se ha calculado que una preparación de 10⁸ MSCs contiene entre 7 y 30 mg de proteínas

bovinas.⁶⁴ Teniendo esto en cuenta, no es sorprendente que las MSC cultivadas en FBS sean susceptibles de rechazo inmunológico al ser trasplantadas^{65,66} o que actúen como vector para la transmisión de zoonosis.⁶⁷

Las células madre cultivadas en medios suplementados con FBS expresan una forma inmunogénica no humana de ácido siálico (Neu5Gc)⁶⁵ y la exposición de las células a los anticuerpos humanos contra Neu5Gc ocasiona su muerte.⁶⁸ Esta evidencia también ha tenido confirmación clínica. Se ha reportado la respuesta inmune contra antígenos del FBS en individuos que recibieron células cultivadas con este suplemento nutricional⁶⁶, además de la aparición de urticaria difusa y la producción de anticuerpos contra proteínas del FBS después de la aplicación repetida de MSC producidas con este suplemento.^{69,70}

Ya han sido reportados y ensayados diferentes sustitutos del FBS para la producción de MSC xeno-free, algunos disponibles comercialmente^{71,72}, además del lisado plaquetario humano (human platelet lysate, hPL), el cual es usado en un protocolo de producción y criopreservación celular publicado por nosotros.⁷³ Las plaquetas son estructuras enucleadas de origen hematopoyético, involucradas en diferentes procesos, incluyendo el cierre de heridas y regeneración tisular general, y actúan mediante la liberación de un amplio grupo de factores de crecimiento y citoquinas. Son producidas en la médula ósea mediante la fragmentación de megacariocitos y liberadas al torrente sanguíneo donde circulan por alrededor de 8 días.⁷⁴ Cuentan con tres tipos diferentes de gránulos intracelulares, donde se almacenan los factores solubles que ellas liberan.⁷⁵ Los gránulos alfa (200-500 nm) son los más abundantes (80 por plaqueta) y más heterogéneos en contenido. Contienen una amplia variedad de moléculas en su interior (incluyendo factores de efecto trófico como PDGF), todas involucradas en el reclutamiento y activación plaquetario, la adhesión celular, coagulación, cicatrización y reparación de heridas.⁷⁵ Las plaquetas tienen además gránulos densos, más pequeños y escasos (contienen moléculas de bajo peso molecular como nucleótidos, neurotransmisores y iones) y lisosomas, que son los más escasos.

Las plaquetas y sus derivados se han usado por muchos años para la regeneración de tejidos como los osteoarticulares⁷⁶, y hace relativamente poco fueron propuestas como alternativas para la sustitución del FBS.

El hPL no presenta las debilidades del FBS y es más económico que este.^{77,78} Garantiza la viabilidad de las MSC, mejora su tasa de proliferación (frente a lo observado con el FBS)⁷⁹⁻⁸¹, retrasa la senescencia celular característica de los cultivos con FBS⁸² y favorece la estabilidad fenotípica y genómica de las MSCs.⁸³

Su uso para la producción de células con fines terapéuticos se ha visto afectado, al menos en parte, por la formación de coágulos de fibrina, lo cual dificulta algunos procesos como la criopreservación. Lo anterior se ha tratado de superar con anticoagulantes como heparina, sin embargo se han detectado efectos deletéreos sobre las MSC a concentraciones efectivas.^{84,85} Ya se ha demostrado la posibilidad de extraer, cultivar y

criopreservar hASC en hPL sin la adición de heparina, lo cual lo reivindica como una alternativa segura para la producción celular con fines terapéuticos.

La aplicación

El resultado terapéutico de las MSCs y cualquier alternativa terapéutica no solo depende de la potencia del producto. En el caso de las MSC, también ha sido relacionado con las condiciones de su aplicación, incluyendo la ruta, sitio, cantidad de células por dosis y sus repeticiones, además de las condiciones del tejido e individuo receptor.

Como con cualquier alternativa terapéutica, para el uso de las MSC se ha considerado la aplicación local o sistémica. Se acepta que para cada enfermedad e incluso cada individuo existan requerimientos particulares al respecto. Por ejemplo, se ha reportado que la aplicación intraperitoneal favorece la supervivencia y anclaje de las MSC en el colon, lo cual lleva a mejor resultado terapéutico para el manejo de colitis.⁸⁶ De otro lado, ya existen reportes que favorecen la ruta transendocárdica para el infarto de miocardio⁸⁷, mientras que se sugiere que la ruta endovenosa sea la mejor alternativa para el manejo de lesión renal aguda⁸⁸ o el accidente cerebrovascular.⁸⁹

Se ha sugerido que la aplicación sistémica simula la respuesta fisiológica de las MSC, las cuales son liberadas al torrente sanguíneo en respuesta a un estímulo nocivo.⁹⁰ Las siguientes son las rutas de aplicación sistémica que se han evaluado para las MSC: endovenosa, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal o mediante procedimientos más invasivos, de manera directa en los ventrículos cardíacos.

Aunque se ha sugerido que la aplicación intramuscular favorece la supervivencia de las MSC⁹¹, la ruta endovenosa es la que suele seleccionarse para su administración. Sus simplicidades técnicas y logísticas, aunadas al tropismo natural de las MSC por tejidos con inflamación activa, gracias a la expresión de CXCR4⁹², entre otros receptores⁹³, son algunos de los factores que han favorecido su masificación. Su gran debilidad es la escasa cantidad de células que alcanzan el tejido objeto del tratamiento, además del poco tiempo de supervivencia de ellas. Ya se ha reportado que rápidamente tras su aplicación endovenosa en un modelo animal inmunocompetente, un importante número de células experimentan muerte masiva por apoptosis y posterior fragmentación, lo cual se ha relacionado con diferentes factores, incluyendo el rechazo inmunológico que el individuo receptor desarrolla en su contra.⁹⁴ Además, la gran mayoría de las células que sobreviven tras la aplicación endovenosa, se acumulan en los pulmones. Este sería el primer lecho capilar que encontrarían después de pasar por las cavidades derechas del corazón; seguido por otros órganos muy irrigados como el hígado, corazón y bazo, y aquellos tejidos con procesos inflamatorios activos.⁴² No obstante, de manera consistente se han reportado resultados terapéuticos atractivos para el manejo de un heterogéneo grupo de enfermedades, incluyendo esclerosis múltiple⁹⁵, falla renal crónica⁹⁶, sepsis⁹⁷, falla cardíaca⁹⁸ e incluso el síndrome de fragilidad⁹⁹, lo cual se

ha considerado consecuencia de la capacidad paracrina de las MSC, uno de los principales mecanismos terapéuticos que se han propuesto para ellas.⁴²

Tampoco existe unanimidad respecto a la cantidad de células que deben aplicarse, ni la cantidad de ocasiones que debe hacerse. Los ensayos de seguridad, donde se han probado espectros muy amplios de dosis, han evidenciado que esta es una propuesta terapéutica segura y bien tolerada.¹⁰⁰⁻¹⁰³ Ha sido tradicional que la dosis evaluada haya estado cerca de 1×10^6 células por kg del paciente para el caso de su aplicación sistémica, sin embargo no existe evidencia que soporte este valor. Es aún más vago lo planteado respecto a la conveniencia y pertinencia del uso de dosis repetidas, que muchas veces depende de la enfermedad y de particularidades del paciente tratado.⁵⁴

La condición del tejido e individuo receptor también se han vinculado con el resultado terapéutico alcanzado con las MSC. Por ejemplo, se ha reportado que el momento de la enfermedad podría guardar relación con la eficacia terapéutica de las MSCs. Sin embargo, no sorprendería que este sea un elemento que impacte de manera diferente en cada enfermedad, sin descartar la variabilidad que existe de persona a persona. Por ejemplo, se ha informado mayor beneficio terapéutico para el manejo de infarto agudo de miocardio si las MSCs son aplicadas una semana después del evento coronario y no dentro de las primeras 24 horas posteriores a este.¹⁰⁴

CONCLUSIÓN

Los resultados de innumerables estudios preclínicos soportan con suficiencia la capacidad que las MSC poseen de inducir la regeneración de un amplio grupo de tejidos. Sin embargo la escasa contundencia y consistencia de los resultados terapéuticos en modelos clínicos, han impedido que esta alternativa terapéutica sea reconocida como una realidad en la práctica clínicoquirúrgica cotidiana. La supervivencia y anclaje de las células en el tejido a tratar, parece ser un requisito para obtener los resultados terapéuticos y esto solo podrá garantizarse en la medida en que sean optimizadas las condiciones de producción y aplicación de las células.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS

- Phinney DG, Prockop DJ. Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair—current views. *Stem Cells*. 2007;25(11):2896-902. Epub 2007/09/29.
- Prockop DJ. Repair of tissues by adult stem/progenitor cells (MSCs): controversies, myths, and changing paradigms. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*. 2009;17(6):939-46. Epub 2009/04/02.
- Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *Journal of cellular physiology*. 2007;213(2):341-7. Epub 2007/07/11.
- Chang AI, Appasani K. Stem cells & regenerative medicine: from molecular embryology to tissue engineering and therapeutics. *Regenerative medicine*. 2006;1(3):385-92. Epub 2007/05/01.
- Phinney DG, Sensebe L. Mesenchymal stromal cells: misconceptions and evolving concepts. *Cytotherapy*. 2013;15(2):140-5. Epub 2013/01/17.
- Satija NK, Singh VK, Verma YK, Gupta P, Sharma S, Afrin F, et al. Mesenchymal stem cell-based therapy: a new paradigm in regenerative medicine. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2009;13(11-12):4385-402. Epub 2009/07/16.
- Appasani K, Appasani RK. *Stem Cells & Regenerative Medicine. From Molecular Embryology to Tissue Engineering* Springer Science; 2011.
- Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays. *Cell stem cell*. 2008;2(4):313-9. Epub 2008/04/10.
- Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131(5):861-72. Epub 2007/11/24.
- Tachibana M, Amato P, Sparman M, Gutierrez NM, Tippner-Hedges R, Ma H, et al. Human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer. *Cell*. 2013;153(6):1228-38. Epub 2013/05/21.
- Visvader JE, Stingl J. Mammary stem cells and the differentiation hierarchy: current status and perspectives. *Genes & development*. 2014;28(11):1143-58. Epub 2014/06/04.
- Caplan AI. The mesengenic process. *Clinics in plastic surgery*. 1994;21(3):429-35. Epub 1994/07/01.
- da Silva Meirelles L, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *Journal of cell science*. 2006;119(Pt 11):2204-13. Epub 2006/05/11.
- Nery AA, Nascimento IC, Glaser T, Bassaneze V, Krieger JE, Ulrich H. Human mesenchymal stem cells: from immunophenotyping by flow cytometry to clinical applications. *Cytometry Part A : the journal of the International Society for Analytical Cytology*. 2013;83(1):48-61. Epub 2012/10/03.
- Crisan M, Yap S, Casteilla L, Chen CW, Corselli M, Park TS, et al. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. *Cell stem cell*. 2008;3(3):301-13. Epub 2008/09/13.
- Romanov YA, Svintsitskaya VA, Smirnov VN. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord. *Stem Cells*. 2003;21(1):105-10. Epub 2003/01/17.
- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. *The International Society for Cellular*

- Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315-7. Epub 2006/08/23.
18. Kern S, Eichler H, Stoeve J, Kluter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells*. 2006;24(5):1294-301. Epub 2006/01/18.
 19. Peng L, Jia Z, Yin X, Zhang X, Liu Y, Chen P, et al. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, cartilage, and adipose tissue. *Stem cells and development*. 2008;17(4):761-73. Epub 2008/04/09.
 20. Wagner W, Wein F, Seckinger A, Frankhauser M, Wirkner U, Krause U, et al. Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood. *Experimental hematology*. 2005;33(11):1402-16. Epub 2005/11/03.
 21. Mizuno H, Tobita M, Uysal AC. Concise review: Adipose-derived stem cells as a novel tool for future regenerative medicine. *Stem Cells*. 2012;30(5):804-10. Epub 2012/03/15.
 22. Izadpanah R, Trygg C, Patel B, Kriedt C, Dufour J, Gimble JM, et al. Biologic properties of mesenchymal stem cells derived from bone marrow and adipose tissue. *Journal of cellular biochemistry*. 2006;99(5):1285-97. Epub 2006/06/24.
 23. Strem BM, Hicok KC, Zhu M, Wulur I, Alfonso Z, Schreiber RE, et al. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *The Keio journal of medicine*. 2005;54(3):132-41. Epub 2005/10/21.
 24. Boquest AC, Shahdadfar A, Brinchmann JE, Collas P. Isolation of stromal stem cells from human adipose tissue. *Methods Mol Biol*. 2006;325:35-46. Epub 2006/06/10.
 25. Aust L, Devlin B, Foster SJ, Halvorsen YD, Hicok K, du Laney T, et al. Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates. *Cytotherapy*. 2004;6(1):7-14. Epub 2004/02/27.
 26. Trounson A, McDonald C. Stem Cell Therapies in Clinical Trials: Progress and Challenges. *Cell stem cell*. 2015;17(1):11-22. Epub 2015/07/04.
 27. Gnechchi M, Danieli P, Cervio E. Mesenchymal stem cell therapy for heart disease. *Vascular pharmacology*. 2012;57(1):48-55. Epub 2012/04/24.
 28. Zhou Z, Chen Y, Zhang H, Min S, Yu B, He B, et al. Comparison of mesenchymal stromal cells from human bone marrow and adipose tissue for the treatment of spinal cord injury. *Cytotherapy*. 2013;15(4):434-48. Epub 2013/02/05.
 29. Chung C, Burdick JA. Engineering cartilage tissue. *Advanced drug delivery reviews*. 2008;60(2):243-62. Epub 2007/11/03.
 30. Chen FH, Tuan RS. Mesenchymal stem cells in arthritic diseases. *Arthritis research & therapy*. 2008;10(5):223. Epub 2008/10/25.
 31. Krampera M, Pizzolo G, Aprili G, Franchini M. Mesenchymal stem cells for bone, cartilage, tendon and skeletal muscle repair. *Bone*. 2006;39(4):678-83. Epub 2006/06/13.
 32. Vonk LA, van Dooremalen SFJ, Liv N, Klumperman J, Coffey PJ, Saris DBE, et al. Mesenchymal Stromal/stem Cell-derived Extracellular Vesicles Promote Human Cartilage Regeneration In Vitro. *Theranostics*. 2018;8(4):906-20. Epub 2018/02/22.
 33. Epstein SE, Luger D, Lipinski MJ. Paracrine-Mediated Systemic Anti-Inflammatory Activity of Intravenously Administered Mesenchymal Stem Cells: A Transformative Strategy for Cardiac Stem Cell Therapeutics. *Circulation research*. 2017;121(9):1044-6. Epub 2017/10/14.
 34. Ruppert KA, Nguyen TT, Prabhakara KS, Toledano Furman NE, Srivastava AK, Harting MT, et al. Human Mesenchymal Stromal Cell-Derived Extracellular Vesicles Modify Microglial Response and Improve Clinical Outcomes in Experimental Spinal Cord Injury. *Scientific reports*. 2018;8(1):480. Epub 2018/01/13.
 35. Prockop DJ. "Stemness" does not explain the repair of many tissues by mesenchymal stem/multipotent stromal cells (MSCs). *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2007;82(3):241-3. Epub 2007/08/19.
 36. Hung SC, Pochampally RR, Chen SC, Hsu SC, Prockop DJ. Angiogenic effects of human multipotent stromal cell conditioned medium activate the PI3K-Akt pathway in hypoxic endothelial cells to inhibit apoptosis, increase survival, and stimulate angiogenesis. *Stem Cells*. 2007;25(9):2363-70. Epub 2007/06/02.
 37. Le Blanc K, Ringden O. Immunobiology of human mesenchymal stem cells and future use in hematopoietic stem cell transplantation. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2005;11(5):321-34. Epub 2005/04/23.
 38. Le Blanc K, Tammik C, Rosendahl K, Zetterberg E, Ringden O. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Experimental hematology*. 2003;31(10):890-6. Epub 2003/10/11.
 39. Horie M, Choi H, Lee RH, Reger RL, Ylostalo J, Muneta T, et al. Intra-articular injection of human mesenchymal stem cells (MSCs) promote rat meniscal regeneration by being activated to express Indian hedgehog that enhances expression of type II collagen. *Osteoarthritis and cartilage*. 2012;20(10):1197-207. Epub 2012/07/04.
 40. Gebler A, Zabel O, Seliger B. The immunomodulatory capacity of mesenchymal stem cells. *Trends in molecular medicine*. 2012;18(2):128-34. Epub 2011/11/29.
 41. Dunavin N, Dias A, Li M, McGuirk J. Mesenchymal Stromal Cells: What Is the Mechanism in Acute Graft-Versus-Host Disease? *Biomedicine*. 2017;5(3). Epub 2017/07/04.
 42. Parekkadan B, Milwid JM. Mesenchymal stem cells as therapeutics. *Annual review of biomedical engineering*. 2010;12:87-117. Epub 2010/04/27.
 43. Muscari C, Bonafe F, Martin-Suarez S, Valgimigli S, Valente S, Fiumana E, et al. Restored perfusion and reduced inflammation in the infarcted heart after grafting stem cells with a hyaluronan-based scaffold. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2013;17(4):518-30. Epub 2013/03/14.
 44. Caplan AI. MSCs: The Sentinel and Safe-Guards of Injury. *Journal of cellular physiology*. 2016;231(7):1413-6. Epub 2015/11/14.
 45. Spaggiari GM, Capobianco A, Abdelrazik H, Becchetti F, Mingari MC, Moretta L. Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2,3-dioxygenase and prostaglandin E2. *Blood*. 2008;111(3):1327-33. Epub 2007/10/24.

46. Nauta AJ, Kruisselbrink AB, Lurvink E, Willemze R, Fibbe WE. Mesenchymal stem cells inhibit generation and function of both CD34+ -derived and monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol.* 2006;177(4):2080-7. Epub 2006/08/05.
47. Nakajima H, Uchida K, Guerrero AR, Watanabe S, Sugita D, Takeura N, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells promotes an alternative pathway of macrophage activation and functional recovery after spinal cord injury. *Journal of neurotrauma.* 2012;29(8):1614-25. Epub 2012/01/12.
48. Krampera M, Cosmi L, Angeli R, Pasini A, Liotta F, Andreini A, et al. Role for interferon-gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells.* 2006;24(2):386-98. Epub 2005/08/27.
49. Rasmusson I, Uhlin M, Le Blanc K, Levitsky V. Mesenchymal stem cells fail to trigger effector functions of cytotoxic T lymphocytes. *Journal of leukocyte biology.* 2007;82(4):887-93. Epub 2007/07/05.
50. Prevosto C, Zancolli M, Canevali P, Zocchi MR, Poggi A. Generation of CD4+ or CD8+ regulatory T cells upon mesenchymal stem cell-lymphocyte interaction. *Haematologica.* 2007;92(7):881-8. Epub 2007/07/04.
51. Caplan AI, Sorrell JM. The MSC curtain that stops the immune system. *Immunology letters.* 2015;168(2):136-9. Epub 2015/06/17.
52. Mason C, McCall MJ, Culme-Seymour EJ, Suthasan S, Edwards-Parton S, Bonfiglio GA, et al. The global cell therapy industry continues to rise during the second and third quarters of 2012. *Cell stem cell.* 2012;11(6):735-9. Epub 2012/12/12.
53. Ratcliffe E, Glen KE, Naing MW, Williams DJ. Current status and perspectives on stem cell-based therapies undergoing clinical trials for regenerative medicine: case studies. *British medical bulletin.* 2013;108:73-94. Epub 2013/11/10.
54. Squillaro T, Peluso G, Galderisi U. Clinical Trials With Mesenchymal Stem Cells: An Update. *Cell transplantation.* 2016;25(5):829-48. Epub 2015/10/02.
55. Patel DM, Shah J, Srivastava AS. Therapeutic potential of mesenchymal stem cells in regenerative medicine. *Stem cells international.* 2013;2013:496218. Epub 2013/04/12.
56. Wei X, Yang X, Han ZP, Qu FF, Shao L, Shi YF. Mesenchymal stem cells: a new trend for cell therapy. *Acta pharmacologica Sinica.* 2013;34(6):747-54. Epub 2013/06/06.
57. Yong KW, Choi JR, Dolbashid AS, Wan Safwani WKZ. Biosafety and bioefficacy assessment of human mesenchymal stem cells: what do we know so far? *Regenerative medicine.* 2018;13(2):219-32. Epub 2018/03/07.
58. McArdle A, Senarath-Yapa K, Walmsley GG, Hu M, Atashroo DA, Tevlin R, et al. The role of stem cells in aesthetic surgery: fact or fiction? *Plastic and reconstructive surgery.* 2014;134(2):193-200. Epub 2014/04/16.
59. Bianco P. "Mesenchymal" stem cells. *Annual review of cell and developmental biology.* 2014;30:677-704. Epub 2014/08/26.
60. Yong KW, Wan Safwani WK, Xu F, Wan Abas WA, Choi JR, Pingguan-Murphy B. Cryopreservation of Human Mesenchymal Stem Cells for Clinical Applications: Current Methods and Challenges. *Biopreservation and biobanking.* 2015;13(4):231-9. Epub 2015/08/19.
61. Hanley PJ, Mei Z, da Graca Cabreira-Hansen M, Klis M, Li W, Zhao Y, et al. Manufacturing mesenchymal stromal cells for phase I clinical trials. *Cytotherapy.* 2013;15(4):416-22. Epub 2013/03/14.
62. Warnke PH, Humpe A, Strunk D, Stephens S, Warnke F, Wiltfang J, et al. A clinically-feasible protocol for using human platelet lysate and mesenchymal stem cells in regenerative therapies. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery : official publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery.* 2013;41(2):153-61. Epub 2012/08/11.
63. Brunner D, Frank J, Appl H, Schoffl H, Pfaller W, Gstraunthaler G. Serum-free cell culture: the serum-free media interactive online database. *Altex.* 2010;27(1):53-62. Epub 2010/04/15.
64. Spees JL, Gregory CA, Singh H, Tucker HA, Peister A, Lynch PJ, et al. Internalized antigens must be removed to prepare hypoimmunogenic mesenchymal stem cells for cell and gene therapy. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy.* 2004;9(5):747-56. Epub 2004/05/04.
65. Martin MJ, Muotri A, Gage F, Varki A. Human embryonic stem cells express an immunogenic nonhuman sialic acid. *Nature medicine.* 2005;11(2):228-32. Epub 2005/02/03.
66. Sundin M, Ringden O, Sundberg B, Nava S, Gotherstrom C, Le Blanc K. No alloantibodies against mesenchymal stromal cells, but presence of anti-fetal calf serum antibodies, after transplantation in allogeneic hematopoietic stem cell recipients. *Haematologica.* 2007;92(9):1208-15. Epub 2007/08/02.
67. Brown P, Will RG, Bradley R, Asher DM, Detwiler L. Bovine spongiform encephalopathy and variant Creutzfeldt-Jakob disease: background, evolution, and current concerns. *Emerging infectious diseases.* 2001;7(1):6-16. Epub 2001/03/27.
68. Fekete N, Gadelorge M, Furst D, Maurer C, Dausend J, Fleury-Cappellesso S, et al. Platelet lysate from whole blood-derived pooled platelet concentrates and apheresis-derived platelet concentrates for the isolation and expansion of human bone marrow mesenchymal stromal cells: production process, content and identification of active components. *Cytotherapy.* 2012;14(5):540-54. Epub 2012/02/03.
69. Horwitz EM, Gordon PL, Koo WK, Marx JC, Neel MD, McNall RY, et al. Isolated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal cells engraft and stimulate growth in children with osteogenesis imperfecta: Implications for cell therapy of bone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2002;99(13):8932-7. Epub 2002/06/27.
70. Selvaggi TA, Walker RE, Fleisher TA. Development of antibodies to fetal calf serum with arthus-like reactions in human immunodeficiency virus-infected patients given syngeneic lymphocyte infusions. *Blood.* 1997;89(3):776-9. Epub 1997/02/01.
71. Miwa H, Hashimoto Y, Tensho K, Wakitani S, Takagi M. Xeno-free proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Cytotechnology.* 2012;64(3):301-8. Epub 2011/10/18.
72. Riis S, Nielsen FM, Pennisi CP, Zachar V, Fink T. Comparative Analysis of Media and Supplements on Initiation and Expansion of Adipose-Derived Stem Cells. *Stem cells translational medicine.* 2016;5(3):314-24. Epub 2016/02/04.
73. Escobar CH, Chaparro O. Xeno-Free Extraction, Culture, and

- Cryopreservation of Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Stem cells translational medicine*. 2016;5(3):358-65. Epub 2016/02/04.
74. Harrison P. Platelet function analysis. *Blood reviews*. 2005;19(2):111-23. Epub 2004/12/18.
 75. Zufferey A, Fontana P, Reny JL, Nolli S, Sanchez JC. Platelet proteomics. *Mass spectrometry reviews*. 2012;31(2):331-51. Epub 2011/10/20.
 76. Dohan Ehrenfest DM, Andia I, Zumstein MA, Zhang CQ, Pinto NR, Bielecki T. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles, ligaments and tendons journal*. 2014;4(1):3-9. Epub 2014/06/17.
 77. Fekete N, Rojewski MT, Furst D, Kreja L, Ignatius A, Dausend J, et al. GMP-compliant isolation and large-scale expansion of bone marrow-derived MSC. *PLoS one*. 2012;7(8):e43255. Epub 2012/08/21.
 78. Kinzebach S, Bieback K. Expansion of Mesenchymal Stem/Stromal cells under xenogenic-free culture conditions. *Advances in biochemical engineering/biotechnology*. 2013;129:33-57. Epub 2012/07/11.
 79. Doucet C, Ernou I, Zhang Y, Llense JR, Begot L, Holy X, et al. Platelet lysates promote mesenchymal stem cell expansion: a safety substitute for animal serum in cell-based therapy applications. *Journal of cellular physiology*. 2005;205(2):228-36. Epub 2005/05/12.
 80. Schallmoser K, Bartmann C, Rohde E, Reinisch A, Kashofer K, Stadlmeyer E, et al. Human platelet lysate can replace fetal bovine serum for clinical-scale expansion of functional mesenchymal stromal cells. *Transfusion*. 2007;47(8):1436-46. Epub 2007/07/28.
 81. Jonsdottir-Buch SM, Lieder R, Sigurjonsson OE. Platelet lysates produced from expired platelet concentrates support growth and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *PLoS one*. 2013;8(7):e68984. Epub 2013/07/23.
 82. Griffiths S, Baraniak PR, Copland IB, Nerem RM, McDevitt TC. Human platelet lysate stimulates high-passage and senescent human multipotent mesenchymal stromal cell growth and rejuvenation in vitro. *Cytotherapy*. 2013;15(12):1469-83. Epub 2013/08/29.
 83. Trojahn Kolle SE, Oliveri RS, Glovinski PV, Kirchhoff M, Mathiasen AB, Elberg JJ, et al. Pooled human platelet lysate versus fetal bovine serum-investigating the proliferation rate, chromosome stability and angiogenic potential of human adipose tissue-derived stem cells intended for clinical use. *Cytotherapy*. 2013;15(9):1086-97. Epub 2013/04/23.
 84. Hemeda H, Kalz J, Walenda G, Lohmann M, Wagner W. Heparin concentration is critical for cell culture with human platelet lysate. *Cytotherapy*. 2013;15(9):1174-81. Epub 2013/07/13.
 85. Ling L, Camilleri ET, Helledie T, Samsonraj RM, Titmarsh DM, Chua RJ, et al. Effect of heparin on the biological properties and molecular signature of human mesenchymal stem cells. *Gene*. 2016;576(1 Pt 2):292-303. Epub 2015/10/21.
 86. Wang M, Liang C, Hu H, Zhou L, Xu B, Wang X, et al. Intraperitoneal injection (IP), Intravenous injection (IV) or anal injection (AI)? Best way for mesenchymal stem cells transplantation for colitis. *Scientific reports*. 2016;6:30696. Epub 2016/08/05.
 87. Kanelidis AJ, Premer C, Lopez J, Balkan W, Hare JM. Route of Delivery Modulates the Efficacy of Mesenchymal Stem Cell Therapy for Myocardial Infarction: A Meta-Analysis of Preclinical Studies and Clinical Trials. *Circulation research*. 2017;120(7):1139-50. Epub 2016/12/30.
 88. Moustafa FE, Sobh MA, Abouelkheir M, Khater Y, Mahmoud K, Saad MA. Study of the Effect of Route of Administration of Mesenchymal Stem Cells on Cisplatin-Induced Acute Kidney Injury in Sprague Dawley Rats. *International journal of stem cells*. 2016;9(1):79-89. Epub 2016/07/19.
 89. Rodriguez-Frutos B, Otero-Ortega L, Gutierrez-Fernandez M, Fuentes B, Ramos-Cejudo J, Diez-Tejedor E. Stem Cell Therapy and Administration Routes After Stroke. *Translational stroke research*. 2016;7(5):378-87. Epub 2016/07/08.
 90. Liu S, Zhou J, Zhang X, Liu Y, Chen J, Hu B, et al. Strategies to Optimize Adult Stem Cell Therapy for Tissue Regeneration. *International journal of molecular sciences*. 2016;17(6). Epub 2016/06/25.
 91. Braid LR, Wood CA, Wiese DM, Ford BN. Intramuscular administration potentiates extended dwell time of mesenchymal stromal cells compared to other routes. *Cytotherapy*. 2018;20(2):232-44. Epub 2017/11/24.
 92. Sohni A, Verfaillie CM. Mesenchymal stem cells migration homing and tracking. *Stem cells international*. 2013;2013:130763. Epub 2013/11/07.
 93. Mosna F, Sensebe L, Krampera M. Human bone marrow and adipose tissue mesenchymal stem cells: a user's guide. *Stem cells and development*. 2010;19(10):1449-70. Epub 2010/05/22.
 94. Leibacher J, Dauber K, Ehser S, Brixner V, Kollar K, Vogel A, et al. Human mesenchymal stromal cells undergo apoptosis and fragmentation after intravenous application in immune-competent mice. *Cytotherapy*. 2017;19(1):61-74. Epub 2016/11/12.
 95. Cohen JA, Imrey PB, Planchon SM, Bermel RA, Fisher E, Fox RJ, et al. Pilot trial of intravenous autologous culture-expanded mesenchymal stem cell transplantation in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2018;24(4):501-11. Epub 2017/04/07.
 96. Makhloogh A, Shekarchian S, Moghadasali R, Einollahi B, Dastgheib M, Janbabaee G, et al. Bone marrow-mesenchymal stromal cell infusion in patients with chronic kidney disease: A safety study with 18 months of follow-up. *Cytotherapy*. 2018;20(5):660-9. Epub 2018/03/28.
 97. McIntyre LA, Stewart DJ, Mei SHJ, Courtman D, Watpool I, Granton J, et al. Cellular Immunotherapy for Septic Shock. A Phase I Clinical Trial. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2018;197(3):337-47. Epub 2017/09/30.
 98. Bartolucci J, Verdugo FJ, Gonzalez PL, Larrea RE, Abarzua E, Goset C, et al. Safety and Efficacy of the Intravenous Infusion of Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells in Patients With Heart Failure: A Phase 1/2 Randomized Controlled Trial (RIMECARD Trial [Randomized Clinical Trial of Intravenous Infusion Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells on Cardiopathy]). *Circulation research*. 2017;121(10):1192-204. Epub 2017/10/05.

99. Tompkins BA, DiFede DL, Khan A, Landin AM, Schulman IH, Pujol MV, et al. Allogeneic Mesenchymal Stem Cells Ameliorate Aging Frailty: A Phase II Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2017;72(11):1513-22. Epub 2017/10/05.
100. Pers YM, Rackwitz L, Ferreira R, Pullig O, Delfour C, Barry F, et al. Adipose Mesenchymal Stromal Cell-Based Therapy for Severe Osteoarthritis of the Knee: A Phase I Dose-Escalation Trial. *Stem cells translational medicine*. 2016;5(7):847-56. Epub 2016/05/25.
101. Ra JC, Shin IS, Kim SH, Kang SK, Kang BC, Lee HY, et al. Safety of intravenous infusion of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in animals and humans. *Stem cells and development*. 2011;20(8):1297-308. Epub 2011/02/10.
102. Lalu MM, McIntyre L, Pugliese C, Fergusson D, Winston BW, Marshall JC, et al. Safety of cell therapy with mesenchymal stromal cells (SafeCell): a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *PloS one*. 2012;7(10):e47559. Epub 2012/11/08.
103. Toyserkani NM, Jorgensen MG, Tabatabaeifar S, Jensen CH, Sheikh SP, Sorensen JA. Concise Review: A Safety Assessment of Adipose-Derived Cell Therapy in Clinical Trials: A Systematic Review of Reported Adverse Events. *Stem cells translational medicine*. 2017;6(9):1786-94. Epub 2017/07/20.
104. Zhang S, Sun A, Xu D, Yao K, Huang Z, Jin H, et al. Impact of timing on efficacy and safety of intracoronary autologous bone marrow stem cells transplantation in acute myocardial infarction: a pooled subgroup analysis of randomized controlled trials. *Clinical cardiology*. 2009;32(8):458-66. Epub 2009/08/18.

