

## ORIGINAL

## Perspectivas de la terapia celular en el daño cerebral isquémico

### Perspectives of cell therapy in the ischemic brain injury

Martínez-Silva B<sup>1</sup>, Ferreira E<sup>2</sup>, Martínez V<sup>2</sup>, Otero L<sup>2</sup>, Bonilla C<sup>2</sup>, Aguayo C<sup>2</sup>, Rodríguez A<sup>2</sup>, Martínez-Silva J<sup>2</sup>, Zurita M<sup>2</sup>, Vaquero J<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, Ciudad de México, México. Beca Larramendi, FUNDACIÓN MAPFRE. <sup>2</sup> Hospital Universitario Puerta de Hierro, Madrid, España.

#### Resumen

**Objetivos:** Realizar una revisión sobre el estado actual de la terapia celular en lesiones cerebrales isquémicas.

**Material y métodos:** Realizamos una revisión bibliográfica en MEDLINE y PubMed de los estudios que han evaluado las posibilidades de la terapia celular en la lesión cerebral isquémica analizando la discapacidad secundaria a los infartos cerebrales y sus repercusiones económicas, familiares y sociales que justifican la necesidad de mejorar el tratamiento de los pacientes.

**Resultados:** numerosos datos experimentales sugieren la utilidad de la terapia celular como nueva estrategia terapéutica para lograr una mejoría en los déficits funcionales secundarios a la enfermedad cerebral isquémica.

**Conclusiones:** los ensayos clínicos realizados no presentan resultados concluyentes.

**Palabras clave:**

Células progenitoras, células madre, ictus isquémico.

#### Abstract

**Objectives:** To review the state of the art in cell therapy in ischemic brain lesions.

**Material and methods:** A MEDLINE and PubMed literature search was made of the studies that have examined the possibilities of cell therapy in ischemic brain damage, analyzing disability secondary to cerebral infarction and its economical, family and social repercussions, as justification of the need to improve the management of these patients.

**Results:** Many experimental data suggest that cell therapy is useful as a new management strategy, to secure improvement of the functional defects secondary to ischemic brain disease.

**Conclusions:** The existing clinical trials do not yield conclusive results.

**Key words:**

Progenitor cells, stem cells, ischemic stroke.

#### Introducción

El cerebro adulto es incapaz de auto-repararse o de regenerarse, en contraste con lo que sucede a otros órganos, como la piel o el hígado. Sin embargo, existe una evidencia creciente de que en el cerebro adulto se pueden originar nuevas neuro-

nas y células de glía (neurogénesis) en respuesta a diversas lesiones. A partir de estas observaciones se ha considerado como una posible estrategia terapéutica en el infarto cerebral, tanto el trasplante de nuevas neuronas para activar la neurogénesis endógena [1], además de la manipulación biológica de células, mediante transferencia o modificación de genes [2,3].

Hemos realizado una revisión bibliográfica acerca de los principales estudios que han evaluado las posibilidades de la terapia celular en la lesión cerebral isquémica pues la grave discapacidad secundaria a los infartos cerebrales y sus repercusiones económicas, familiares y sociales justifican la necesidad de mejorar el tratamiento de estos pacientes.

#### Correspondencia

B. Martínez Silva  
Departamento de Neurocirugía  
Centro Médico Nacional «20 de Noviembre». ISSSTE.  
Ave. Félix Cuevas 540, Col del Valle,  
CP 03100, México D.F.  
bertinsilva@hotmail.com

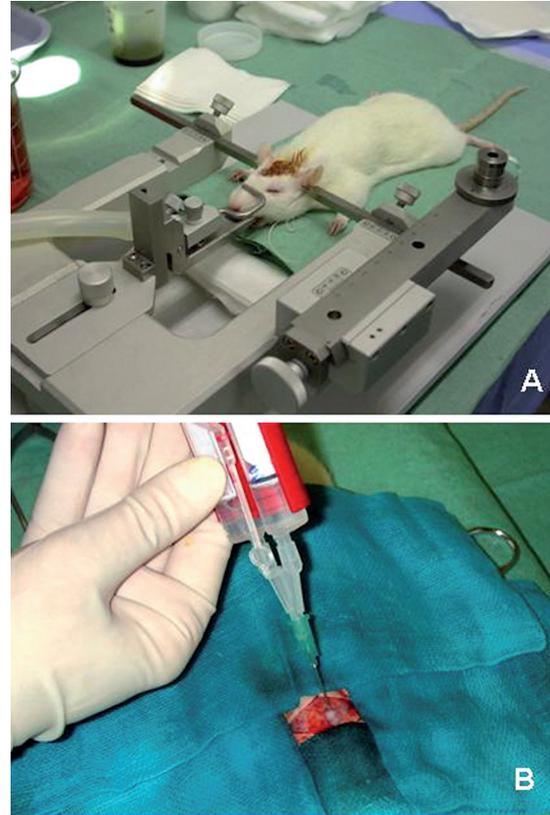
Teniendo en cuenta la neurogénesis en la zona subventricular (SVZ) del cerebro, existen estudios que han tratado de aumentar esta neurogénesis como posible tratamiento de las lesiones secundarias a una isquemia cerebral. Así, sabemos que la infusión de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y de factor de crecimiento fibroblástico-b (bFGF) provocan la proliferación de células en la SVZ [4] y también que la infusión de diversos factores de crecimiento promueve la repoblación de neuronas piramidales del hipocampo después de un infarto en esta zona [5]. Se ha visto, además, que la lesión isquémica en sí misma moviliza células de la SVZ [6] y en el giro dentado del hipocampo la neurogénesis puede verse reforzada también por una variedad de estímulos, incluyendo crisis epilépticas, ejercicio físico intenso e incluso antidepresivos [7].

Se han hecho numerosos estudios experimentales de trasplante celular con células progenitoras neurales utilizando una gran variedad de fuentes. Así, se pueden obtener células madre neurales a partir de cultivo de tejido cerebral fetal, lo que se ha hecho en numerosos modelos experimentales en roedores [8,9]. También se pueden obtener células fetales neurales humanas, que se han utilizado para modelos experimentales, también en roedores [10] o la utilización de células supuestamente transdiferenciadas *in vitro*, y obtenidas de diversos órganos adultos [11-14]. La administración de las células puede hacerse por vía sistémica o por inyección local intracerebral, según el diseño de los diferentes modelos experimentales. Generalmente, la administración intracerebral se hace por medio de sistemas de estereotaxia, que permiten su colocación en las zonas cerebrales con una gran exactitud (Figura 1).

## Estudios experimentales

### *Modelos experimentales que han utilizado células progenitoras neurales*

Snyder et al [15] desarrollaron una línea neuronal multipotente (línea c17.2) derivada de la pared germinal externa del cerebelo murino neonatal. Los resultados iniciales mostraron que el 5 % de las células trasplantadas se diferenciaban a neuronas en la corteza cerebral infartada. Marcel et al [16] utilizaron una línea neuronal humana, SD56, derivada de células embrionarias usando factores de crecimiento epidérmico (EGF), bFGF y factor de crecimiento inhibidor de leucemia (LIF). Su trasplante en modelos de infarto cerebral mostró una recuperación funcional con migración de las células trasplantadas a la zona de penumbra, considerándose que esta línea celular es otra fuente de células humanas neurales útil para investigación básica, así como



**Fig. 1.** Administración estereotáxica de células mesenquimales en el estriado de una rata adulta, a través de un pequeño agujero de trépano. La imagen superior muestra la rata en el aparato de estereotaxia. En la imagen inferior se está sellando con gel de fibrina el punto de inyección intracerebral, tras la administración de las células madre.

para una posible utilización en ensayos clínicos. Por su parte, Brevig et al [17] sugirieron que las células madre neurales de origen porcino también pueden ser útiles como xenotrasplante en el tratamiento de la isquemia cerebral.

También se ha señalado que se pueden aislar células madre neurales a partir de embriones humanos [18]. Estas células pueden ser expandidas *in vitro* en forma de neuroesferas y después trasplantadas dentro de los ventrículos cerebrales. Un mes tras su trasplante en la rata, las células migraron ipsilateral y contralateralmente en la corteza e hipocampo apreciando su diferenciación astrocítica y neuronal [19,20].

Se han utilizado células de hipocampo de fetos humanos que han sobrevivido en modelos murinos de isquemia cerebral [21]. Otros autores han valorado los efectos funcionales y cognitivos de estas células tras su trasplante en modelos experimentales de infarto cerebral [22, 23].

En un estudio realizado en ratas, se ocluyó durante 45 minutos la arteria cerebral media y, 24 horas después, se trasplantaron estereotáxicamente en la corteza y en la región subventricular células indiferenciadas de la corteza cerebral obtenidas de embriones de ratas (14-15 días). Las células se diferenciaron, proliferaron y migraron entre los tractos de sustancia blanca y, por medio de marcadores de inmunohistoquímicos, se confirmó la presencia de células trasplantadas y su diferenciación a células nerviosas maduras, observándose mayor recuperación funcional cuando las células se trasplantaban en la región subventricular.

Hoehn et al [24] desarrollaron un método para estudiar la proliferación y migración de células madre neurales por medio de resonancia nuclear magnética y, en estudios experimentales de isquemia cerebral, vieron que las células madre neurales migran a lo largo del cuerpo calloso y sobre las paredes ventriculares, depositándose en el límite de la zona isquémica; confirmando así que las células madre pueden tener migración dinámica hacia el área de infarto. Siguiendo con estos estudios, Kelly et al [25] realizaron, en ratas con isquemia cerebral, un trasplante de células obtenidas de tejido cerebral fetal humano, que sobrevivieron en el cerebro isquémico de las ratas adultas y migraron hacia el sitio de lesión.

#### *Células neurales obtenidas a partir de teratocarcinomas*

Otra línea de trabajo pionera utilizó una línea celular exógena para la regeneración de áreas isquémicas del sistema nervioso central, utilizaba células derivadas de un teratocarcinoma y diferenciadas a células humanas neuronales post-mitóticas (LBS-Neurons, Layton BioScience, Sunnyvale, CA) [26]. Estas células fueron utilizadas en modelos de isquemia cerebral en ratas y su administración local, dentro del área de isquemia, resultó en una restauración parcial del comportamiento y de la función motora. Los estudios de seguimiento en estos animales, durante más de 1 año, no mostraron toxicidad ni transformación tumoral. En una línea de investigación similar, Guillemain et al [27] aplicaron a un modelo de isquemia cerebral líneas celulares transformadas en neuronas *in vitro* y obtenidas a partir de un tumor germinal testicular, utilizando ácido retinoico para lograr la diferenciación neuronal.

#### *Células estromales de la médula ósea*

En el año 2002, Zhao et al [28] utilizaron células madre del estroma de médula ósea en lesiones isquémicas cerebrales de rata producidas por oclusión de la arteria cerebral media. Dos semanas después de la implantación intracerebral, alrededor de la zona del infarto cerebral, las células

trasplantadas expresaron marcadores gliales, neuronales y oligodendrogiales, mejorando el estado funcional de los animales. Li et al [29] publicaron un experimento similar, con buenos resultados funcionales y encontrando un aumento de factores de crecimiento en la zona del implante celular y de secreción de factores de crecimiento en el sitio del infarto, con mejoría en el resultado funcional. Resultados semejantes se han encontrado con diseños experimentales semejantes [30-32].

#### *Células progenitoras obtenidas del cordón umbilical*

Las células madres obtenidas del cordón umbilical humano han sido diferenciadas *in vitro* hacia células gliales y neuronales en diversos trabajos de investigación, utilizando diferentes factores de diferenciación, tales como el ácido retinoico [33]. Estas células pueden ser trasplantadas localmente, o administradas por vía intravenosa, a ratas con lesiones isquémicas cerebrales, lo que se asocia también a una clara recuperación de los déficits neurológicos post-isquemia [34].

En esta línea de investigación, cabe destacar el trabajo de Savitz et al [35] quienes demostraron que la administración intravenosa de células madre del cordón umbilical, a las 24 horas de una oclusión de la arteria cerebral media en la rata, se asocia a una clara mejoría funcional de los animales que se hace evidente a las dos semanas tras el tratamiento.

#### *Células progenitoras hematopoyéticas*

Ya en el año 1997, los estudios de Asahara et al [36] mostraron que las células progenitoras endoteliales CD34+, ricas en la sangre de cordón umbilical, tienen la capacidad de participar en la neovascularización de tejidos isquémicos. Como consecuencia de estas observaciones, se administraron en ratas adultas células CD34+ obtenidas de cordón umbilical humano, por vía intravenosa, a las 48 horas de una lesión cerebral isquémica. El efecto beneficioso se observó ya a las 24 horas de la administración, apreciándose una marcada neovascularización cerebral en los animales tratados. Se apreció igualmente una activación de la neurogénesis endógena y migración de células madre neurales de la región subventricular hacia la zona cerebral isquémica [36,37]. Basándose en estos hallazgos, Jaquet et al [38] estudiaron el efecto de diversas sustancias angiogénicas, sobre todo eritropoyetina, observando que su administración tras una lesión isquémica cerebral se asocia a un aumento local de angiogénesis y activa la neurogénesis endógena en los animales tratados. Por ello, Taguchi et al [39], entre otros, realizaron estudios experimentales y ensayos clínicos basados en el potencial

uso terapéutico de las células mononucleares derivadas de médula ósea. De forma paralela a los estudios sobre isquemia cerebral, se han realizado numerosos estudios para regeneración cardíaca, logrando revascularización tras infartos cardíacos. Se conoce actualmente que las células progenitoras de médula ósea, CD34+ y CD133+ pueden lograr aumento de vascularización, tanto a nivel cardíaco como sobre otros órganos isquémicos, lo que ha aumentado el interés de estas células para experiencias de revascularización cerebral.

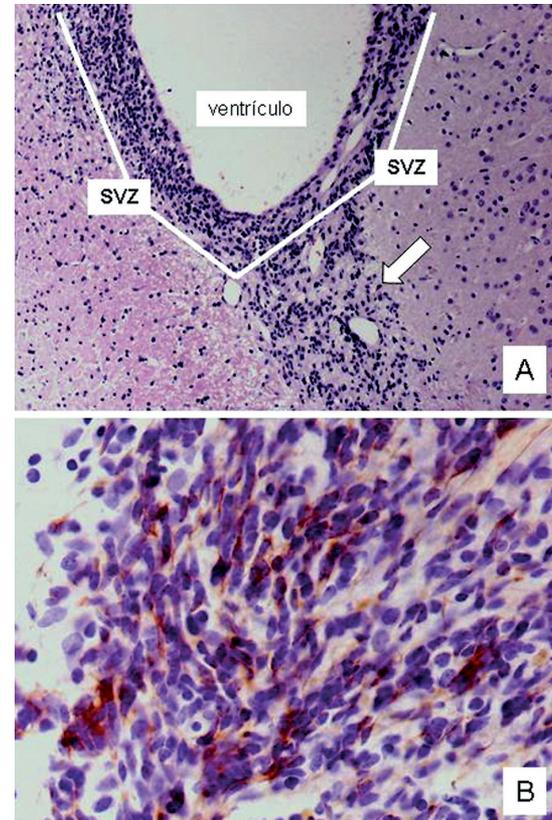
#### *Células progenitoras obtenidas del tejido adiposo*

El tejido adiposo también tiene células progenitoras estromales, con capacidad para lograr un aumento de angiogénesis y posiblemente una diferenciación hacia células nerviosas, si son sometidas a ciertas condiciones experimentales. En uno de los primeros ensayos experimentales, la inyección de células madre estromales de tejido adiposo humano en el ventrículo lateral de ratas sanas, fue seguida de su migración a múltiples áreas del cerebro, incluyendo la corteza cerebral contralateral. Estas células persistían en el cerebro isquémico, a los 30 días del trasplante. En otro modelo experimental, la inyección de células estromales, obtenidas del tejido adiposo, en el ventrículo lateral de la rata, un día después de la oclusión de arteria cerebral media, resultó en la colonización del tejido cerebral infartado por las células madre administradas. A los 7 días, las ratas trasplantadas mostraron una significativa mejoría funcional en comparación con controles.

#### **Problemas planteados en los estudios experimentales**

En la mayoría de los estudios experimentales realizados generalmente en roedores se han obtenido resultados alentadores con las técnicas de terapia celular. Sin embargo, en casi todos ellos se obtiene mejoría funcional en una fase muy precoz tras la administración de las células donantes, lo que hace sospechar que el principal efecto de estas técnicas puede ser lograr una neuroprotección por la liberación de factores no conocidos o activar los mecanismos endógenos de reparación del propio sistema nervioso. En este contexto, existen argumentos a favor de que las células trasplantadas son capaces de activar la neurogénesis en determinadas zonas cerebrales, sobre todo en la región subventricular (Figura 2).

Hasta hace pocos años se creía que la neurogénesis es un proceso que concluía en la época fetal, tanto en roedores como en humanos. Sin embargo, hoy se admite que la formación de nuevas neuronas ocurre también en el adulto, tanto espontáneamente como en respuesta a diversos estí-



**Fig. 2.** A: Zona subventricular (SVZ) en una rata adulta con un incremento de la población celular como consecuencia de la provocación de una lesión cerebral en una zona adyacente. La flecha muestra la migración de células indiferenciadas de esta región, que se dirigen hacia la zona de lesión. B: expresión inmunohistoquímica de nestina (marcador de células madre neurales) en las células que migran desde la SVZ.

mulos o a lesiones diversas. La mayoría de los estudios se han dirigido hacia las células madre neuronales localizadas en la zona subventricular de los ventrículos laterales, es decir, la SVZ, y en el giro dentado del hipocampo en roedores [10,40-41]. Aunque estas zonas son las que parecen estar más implicadas en la neurogénesis postnatal en roedores, en los primates y en el hombre también podrían existir zonas de neurogénesis en la corteza cerebral. Las investigaciones actuales muestran que la neurogénesis endógena, como consecuencia de una activación de estas zonas, tiene un efecto regenerador y aunque la lesión cerebral en sí misma activa los mecanismos de neurogénesis, incrementa como consecuencia de factores tróficos, algunos desconocidos, aportados por las células estromales adultas procedentes de la médula ósea.

## Experiencias clínicas

Kondziolka et al [42] han publicado los resultados preliminares de sus estudios clínicos de terapia celular en el hombre diseñados para tratar la isquemia cerebral. Utilizaron neuronas («LBS-neurons», de Layton Bioscience, Inc., Sunnyvale, Ca) producidas *in vitro* a partir de una línea celular (NT2/D1) de progenitores neurales humanos y diferenciadas por medio de ácido retinóico. Se trató de un estudio del tipo de ensayo clínico fase I, donde se reclutaron 12 pacientes con infarto en los ganglios basales en situación crónica (entre 6 meses y más de 4 años de evolución), que recibieron implantes estereotáxicos de estas células neurales humanas. Inicialmente 4 pacientes recibieron una sola inyección de 2 millones de células en el área del infarto, los siguientes 8 pacientes fueron divididos en dos grupos, al azar, para recibir un implante de 2 o de 6 millones de células en el área de infarto. Las evaluaciones de discapacidad y calidad de vida fueron realizadas al inicio y a la semana 24. Se realizó tomografía por emisión de positrones (PET) al inicio, y tras el tratamiento, evaluándose a los pacientes hasta más de 1 año después. Los estudios de RNM se realizaron hasta 24 semanas después del tratamiento. Los resultados del estudio sugerían que el número de células administradas influía en el resultado y que esta técnica lograba una mejoría clínica en las escalas de evaluación aproximadamente en el 50% de los pacientes, aunque los estudios de RM no sufrían modificaciones significativas. Un paciente falleció, a los 27 meses del procedimiento, por causa ajena a su enfermedad y en el estudio necrópsico se comprobó la persistencia de las células trasplantadas [42,43].

En la Fase II de este ensayo clínico, se reclutaron 18 pacientes con déficit neurológico por infarto en ganglios basales (entre 1 y 6 años de evolución). La administración de un número de células, que varió entre 5 o 10 millones, en 14 pacientes, logró una cierta mejoría también en el 50% aproximadamente de ellos, pero sin diferencia significativa respecto de la que se apreció en el grupo control, de 4 pacientes [44].

Un segundo ensayo clínico con características de ensayo de fase I-II fue realizado por Savitz et al [45]. En este caso efectuaron xenotrasplante en 5 pacientes con infarto de ganglios basales, en situación de déficit neurológico crónico (entre 1.5 años y 10 años). Se administraron por estereotaxia en la zona de la lesión cerebral entre 50 y 80 millones de células madre neurales de origen porcino previamente modificadas, señalándose tras 4 años de evolución una cierta mejoría en 2 de los 5 pacientes, de acuerdo con la escala de NIHSS (escala para valoración de las secuelas del infarto

cerebral) [45, 46]. No utilizaron inmunosupresores, ya que las células fetales de origen porcino se pre-trataron con anticuerpos dirigidos contra el complejo mayor de histocompatibilidad de clase I.

Por último, Woei-Cherrng et al [47] movilizaron células progenitoras hematopoyéticas de médula ósea, por medio del factor estimulante de colonias granulocíticas (G-CSF) en pacientes con isquemia cerebral. Se Incluyeron 10 pacientes con isquemia cerebral aguda del territorio de la arteria cerebral media (7 tratados y 3 controles) y concluyeron, tras 1 año de seguimiento, que existía una mejoría clínica significativa en los pacientes tratados, en comparación con los controles.

Como un análisis de conjunto de todas las experiencias que hemos recogido, es obvio que la terapia celular parece ser eficaz sobre modelos experimentales de isquemia cerebral y posiblemente también en pacientes, aunque el escaso número de ensayos clínicos realizados hasta el momento dificulta obtener conclusiones válidas. En cualquier caso, aun admitiendo la posible utilidad de estas nuevas técnicas, desconocemos muchos de los mecanismos por los cuales se produce la mejoría clínica que se aprecia tanto en los animales como en pacientes [48-51].

Se considera y se ha confirmado en diversos estudios experimentales que las células madre trasplantadas en zonas de isquemia cerebral liberan numerosos factores tróficos que tienen acción neuroprotectora, inhibiendo la apoptosis neuronal que se desencadena después de la lesión isquémica [52-55]. También se acepta que la posible recuperación funcional de los pacientes, tras un infarto cerebral, se debe, al menos en parte, al establecimiento de nuevas conexiones sinápticas entre el sitio dañado y el tejido adyacente sano [56-60]. El trasplante celular podría potenciar estos mecanismos reparadores, aumentando la sinaptogénesis, en virtud de un proceso en el que podrían jugar un importante papel los factores neurotróficos aportados por las células madre utilizadas. De hecho, se ha podido demostrar que existe un incremento de la expresión de sinaptofisina, como marcador de sinaptogénesis, en la zona de penumbra isquémica, tras la administración intravenosa de células estromales de médula ósea.

El incremento de la vascularización en la zona de penumbra isquémica, especialmente cuando ocurre pocos días después del infarto cerebral, está estrechamente asociado a la recuperación neurológica [61-64]. Por otra parte, existen numerosas evidencias de que la terapia celular con elementos progenitores hematopoyéticos induce una marcada angiogénesis, posiblemente a través de la liberación del VEGF por estas células. Hay numerosos estudios, sobre todo ex-

perimentales, que demuestran cómo el trasplante de células estromales de médula ósea induce la formación local de nuevos vasos sanguíneos [65-69] lo que representa uno de los principales objetivos terapéuticos cuando nos enfrentamos a los problemas fisiopatológicos derivados de la isquemia cerebral.

Otra propiedad conocida de las células madre adultas obtenidas de la médula ósea, es que son capaces de disminuir la respuesta inflamatoria y, por tanto, previenen el rechazo inmunológico, lo que hace que se estén utilizando para disminuir este problema en los trasplantes de médula ósea que realizan los hematólogos. Aunque este mecanismo no ha recibido suficiente atención en el caso de los estudios de terapia celular para la enfermedad isquémica cerebral, es posible que tenga su importancia al modular los fenómenos de infiltración leucocitaria y de muerte celular por necrosis o apoptosis tras un infarto cerebral [70,71].

Tal como hemos comentado al referirnos a los estudios experimentales, se acepta en la actualidad que en el cerebro adulto sigue existiendo posibilidad de neurogénesis en determinadas zonas, sobre todo a nivel de la SVZ, y se conoce que esta neurogénesis puede activarse o incrementarse como respuesta a lesiones traumáticas, isquémicas, o de cualquier otra naturaleza [72,73]. Existe también una evidencia creciente a favor de que el trasplante intracerebral de células madre adultas puede incrementar significativamente estos mecanismos de neurogénesis endógena, logrando que se formen nuevas células nerviosas y migren hacia la zona de daño cerebral, lo que explicaría posiblemente muchos de los efectos beneficiosos a corto plazo de estas nuevas técnicas [74,75].

Como consecuencia de todos estos estudios, se han observado evidencias alentadoras sobre el potencial uso de la terapia celular para mejorar la funcionalidad de los pacientes que sufren una lesión cerebral isquémica. Desconocemos, sin embargo, muchos de los mecanismos por los cuales las células madre adultas ejercen sus efectos beneficiosos y qué tipo de células madre son las más adecuadas para un tipo u otro de lesión, cuáles son las vías de administración y el número de células que debemos llevar al sitio de lesión para lograr efecto terapéutico. En cualquier caso, los esfuerzos se dirigen no sólo a resolver estas incógnitas, sino también a encontrar matrices de soporte adecuadas que permitan la diferenciación y supervivencia de las células trasplantadas en el cerebro [76]. Por otra parte, la terapia celular nos lleva a que, al menos en el campo de la Neurología, tengamos que replantearnos algunos dogmas que teníamos establecidos acerca del funcionamiento del cerebro y de sus posibilidades de reparación. ■

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abrahams JM, Gokhan S, Flamm ES, Mehler MF. De novo neurogenesis and acute stroke: are exogenous stem cells really necessary? *Neurosurgery* 2004; 54:150-5.
2. Szentirmai O, Carter BS. Genetic and cellular therapies for cerebral infarction. *Neurosurgery* 2004; 55: 283-97.
3. Astrup J, Siesjo BK, Symon L. Thresholds in cerebral ischemia: The ischemic penumbra. *Stroke* 1981; 12:723-5.
4. Craig CG, Tropepe V, Morshead CM, Reynolds BA, Weiss S, van der Kooy D. In Vivo growth factor expansion of endogenous subependymal neural precursor cell populations in the adult mouse brain. *J Neurosci* 1996; 16:2649-58.
5. Nakatomi H, Kuriu T, Okabe S, Yamamoto S, Hatano O, Kawahara N, et al. Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury by recruitment of endogenous neural progenitors. *Cell* 2002; 110:429-41.
6. Li Y, Chen J, Chopp M. Cell proliferation and differentiation from ependymal, subependymal and choroid plexus cells in response to stroke in rats. *J Neurol Sci* 2002; 193:137-46.
7. Duman RS, Nakagama S, Malberg J. regulation of adult neurogenesis by antidepressant treatment. *Neuropsychopharmacol* 2001; 25:836-44.
8. Rietze RL, Valcanis H, Brooker GF, Thomas T, Voss AK, Bartlett PF, Purification of pluripotent neural stem cells from adult mouse brain. *Nature* 2001; 412:736-9.
9. Keyoung HM, Roy NS, Benraiss A, Luoissaint A Jr, Suzuki A, Hashimoto M, et al. High yield selection and extraction of two promoter-defined phenotypes of neural stem cells from the fetal human brain. *Nat Biotechnol* 2001; 19:843-50.
10. Uchida N, Buck DW, He D, Reitsma MJ, Masek M, Phan TV, et al. Direct isolation of human central nervous system stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:14720-5.
11. Mezey E, Chandross KJ, Harta G, Maki RA, McKecher SR. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow. *Science* 2000; 290:1779-82.
12. Toma JG, Akhavan M, Fernandes KJ, Barnabe-Heider F, Sadiqot A, Kaplan DR, et al. Isolation of multipotent adult stem cells from dermis of mammalian skin. *Nat Cell Biol* 2001; 3:778-84.
13. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, et al. Stem cells from Human Exfoliated Deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:5807-12.
14. Sieber-Blum M. Cardiac neural crest stem cells. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2004; 276:34-42.
15. Snyder EY, Deitcher DL, Walsh C, Arnold-Aldea S, Hartwig EA, Cepko CL. Multipotent neural cell lines can en-



- graft and participate in development of mouse cerebellum. *Cell* 1992; 68:3-51.
16. Marcel M, Daadi MM, Maag A-L, Steinberg GK. Adherent self-renewable human embryonic stem cell-derived neural stem cell line: functional engraftment in experimental stroke model. 2008.
  17. Brevig T, Holgersson J, Widner H. Xenotransplantation for CNS repair: Immunological barriers and strategies to overcome them. *Trends Neurosci* 2000; 23:337-44.
  18. Reubinoff B, Itsykson P, Turetsky T, Pera MF, Reinhartz E, Itzik A, et al. Neural progenitors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2001; 19:1134-40.
  19. Benninger Y, Marino S, Hardegger R, Weissman C, Aguzzi A, Brandner S. Differentiation and histological analysis of embryonic stem cell-derived neural transplants in mice. *Brain Pathol* 2000; 10:330-41.
  20. Qu T, Brannen CL, Kim HM, Sugaya K. Human neural stem cells improve cognitive function of aged brain. *Neuroreport* 2001; 12:1127-32.
  21. Farber SD, Onifer SM, Kaseda Y, Murphy SH, Wells DG, Vietje BP, et al. Neural transplantation of horseradish peroxidase-labeled hippocampal cell suspensions in an experimental model of cerebral ischemia. *Prog Brain Res* 1988; 78:103-7.
  22. Aoki H, Onodera H, Yae T, Jian Z, Kogure K. Neural grafting to ischemic CA1 lesions in the rat hippocampus: An autoradiographic study. *Neuroscience* 1993; 56:345-54.
  23. Tonder N, Sorensen T, Johansen FF, Zimmer J. Neural grafting to ischemic and excitotoxic, hippocampal lesions in the adult rat. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 1990; 50:367-80.
  24. Hoehn M, Kustermann E, Bluk J, Wiedermann D, Trapp T, Wecker S, et al. 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 USA* 2002; 99:16267-72.
  25. Kelly S, Bliss TM, Shah AK, Sun GH, Masel J, Yenari MA, et al. Transplanted human fetal neural stem cells survive, migrate, and differentiate in ischemic rat cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:11839-44.
  26. Kleppner SR, Robinson KA, Trojanowski JQ, Lee VM. Transplanted human neurons derived from a teratocarcinoma cell line mature, integrate and survive for over 1 year in the nude mouse brain. *J Comp Neurol* 1995; 357:618-32.
  27. Guillemain I, Alonso G, Patey G, Privat A, Chaudieu I. Human NT2 neurons express a large variety of neurotransmission phenotypes in vitro. *J Comp Neurol* 2000; 422:380-95.
  28. Zhao LR, Duan WM, Reyes M, Keene CD, Verfaillie CM, Low WC. Human bone marrow stem cells exhibit neural phenotypes and ameliorate neurological deficits after grafting into the ischemic brain of rats. *Exp Neurol* 2002; 174:11-20.
  29. Li Y, Chen J, Chen XG, Wang L, Gautam SC, Xu YX, et al. Human Marrow stromal cell therapy for stroke in rat: Neurotrophins and functional recovery. *Neurology* 2002; 59:514-23.
  30. Chen J, Li Y, Wang L, Zhang Z, Lu D, Lu M, et al. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Stroke* 2001; 32:1005-11.
  31. Li Y, Chen J, Wang L, Lum, Chopp M. Treatment of stroke in rat with intracarotid administration of marrow stromal cells. *Neurology* 2001; 56:1666-72.
  32. Hanabusa K, Nagaya N, Iwase T, Itoh T, Murakami S, Shimizu Y et al. Adrenomedullin enhances therapeutic potency of mesenchymal stem cells after experimental stroke. *Stroke* 2005; 36:853-8.
  33. Sanchez-Ramos JR, Song S, Kamath SG, Zigova T, Willing A, Cardozo-Pelaez F, et al. Expression of neural markers in human umbilical cord blood. *Exp Neurol* 2001; 171:109-15.
  34. Chen J, Sanberg PR, Li Y, Wang L, Lu M, Willing AE, et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats. *Stroke* 2001; 32:2682-88.
  35. Savitz SI, Malhotra S, Gupta G, Rosenbaum DM. Cell Transplants Offer Promise for Stroke Recovery. *J Cardiovascular Nursing* 2003; 18:57-61.
  36. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275:964-67.
  37. Asahara T, Masuda H, Takahashi T, Kalka C, Pastore C, Silver M, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res* 1999; 85:221-8.
  38. Jaquet K, Krause K, Tawakol-khodai M, Geidel S, Kuck, K.H. Erythropoietin and VEGF exhibit equal angiogenic potential. *Microvasc Res* 2002; 64:326-33.
  39. Taguchi A, Matsuyama T, Moriwaki H, Hayashi T, Hayashida K, Nagatsuka K, et al. Circulating CD34-positive cells provide an index of cerebrovascular function. *Circulation* 2004; 109:2972-5
  40. Weissman IL, Anderson DJ, Gage F. Stem and progenitor cells:origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001; 17:387-403.
  41. Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 1998; 4:1313-7.
  42. Kondziolka D, Wechsler L, Goldstein S, Meltzer C, Thulborn KR, Gebel J, et al. Transplantation of cultured human

- neuronal cells for patients with stroke. *Neurology* 2000; 55:565-9.
43. Nelson PT, Kondziolka D, Wechsler L, Goldstein S, Gebel J, DeCesare S, et al. Clonal human (hNT) neuron grafts for stroke therapy: neuropathology in a patient 27 months after implantation. *Am J Pathol* 2002; 160:1201-6.
  44. Kondziolka D, Steinberg GK, Wechsler L, Meltzer C, Elder E, Gebel J, et al. Neurotransplantation for patients with subcortical motor stroke: a phase 2 randomized trial. *J Neurosurg* 2005; 103:38-45.
  45. Savitz SI, Dinsmore J, Wu J, Henderson GV, Stieg P, Caplan LR. Neurotransplantation of fetal porcine cells in patients with basal ganglia infarcts: a preliminary safety and feasibility study. *Cerebrovasc Dis* 2005; 20:101-7.
  46. Pakzaban P, Deacon TW, Burns LH, Dinsmore J, Isacson O. A novel mode of immunoprotection of neural xenotransplants: masking of donor major histocompatibility complex class I enhances transplant survival in the central nervous system. *Neurosci* 1995; 65:983-96.
  47. Woei-Cherrng S, Shinn-Zong L, Chau-Chin L, Demeral DL, Hung L. Granulocyte colony-stimulating factor for acute ischemic stroke: a randomized controlled trial. *CMAJ* 2006; 174:927-33.
  48. Bliss T, Guzman R, Daadi M, Steinberg GK. Cell Transplantation Therapy for Stroke. *Stroke*. 2007; 38:817-26.
  49. Ishibashi S, Sakaguchi M, Kuroiwa T, Yamasaki M, Kanemura Y, Shizuko I. Human neural stem/progenitor cells, expanded in long-term neurosphere culture, promote functional recovery after focal ischemia in mongolian gerbils. *J Neurosci Res* 2004; 78:215-23.
  50. Toda H, Takahashi J, Iwakami N, Kimura T, Hoki S, Mozumi-Kitamura K, et al. Grafting neural stem cells improved the impaired spatial recognition in ischemic rats. *Neurosci Lett* 2001; 316:9-12.
  51. Zhang C, Saatman KE, Royo NC, Soltesz KM, Millard M, Schouten JW, et al. Delayed transplantation of human neurons following brain injury in rats: a long-term graft survival and behavior study. *J Neurotrauma* 2005; 22:1456-74.
  52. Borlongan CV, Hadman M, Sanberg CD, Sanberg PR. Central nervous system entry of peripherally injected umbilical cord blood cells is not required for neuroprotection in stroke. *Stroke* 2004; 35:2385-9.
  53. Kurozumi K, Nakamura K, Tamiya T, Kawano Y, Ishii K, Kobune M, et al. Mesenchymal stem cells that produce neurotrophic factors reduce ischemic damage in the rat middle cerebral artery occlusion model. *Mol Ther* 2005; 11:96-104.
  54. Llado J, Haeggeli C, Maragakis NJ, Snyder EY, Rothstein JD. Neural stem cells protect against glutamate-induced excitotoxicity and promote survival of injured motor neurons through the secretion of neurotrophic factors. *Mol Cell Neurosci* 2004; 27:322-31.
  55. Johnston RE, Dillon-Carter O, Freed WJ, Borlongan CV. Trophic factor secreting kidney cell lines: in vitro characterization and functional effects following transplantation in ischemic rats. *Brain Res* 2001; 900:268-76.
  56. Carmichael ST. Plasticity of cortical projections after stroke. *Neuroscientist* 2003; 9:64-75.
  57. Carmichael ST. Cellular and molecular mechanisms of neural repair after stroke: making waves. *Ann Neurol* 2006; 59:735-42.
  58. Dancause N, Barbay S, Frost SB, Plautz EJ, Chen D, Zouбина EV, et al. Extensive cortical rewiring after brain injury. *J Neurosci* 2005; 25:10167-79.
  59. Stroemer RP, Kent TA, Hulsebosch CE. Neocortical neural sprouting, synaptogenesis, and behavioral recovery after neocortical infarction in rats. *Stroke*. 1995; 26:2135-44.
  60. Shen LH, Li Y, Chen J, Zhang J, Vanguri P, Borneman J, Chopp M. Intracarotid transplantation of bone marrow stromal cells increases axonmyelin remodeling after stroke. *Neuroscience* 2006; 137:393-9.
  61. Wei L, Erinjeri JP, Rovainen CM, Woolsey TA. Collateral growth and angiogenesis around cortical stroke. *Stroke* 2001; 32:2179-84.
  62. Zhang ZG, Zhang L, Jiang Q, Chopp M. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells participate in cerebral neovascularization after focal cerebral ischemia in the adult mouse. *Circ Res* 2002; 90:284-8.
  63. Senior K. Angiogenesis and functional recovery demonstrated after minor stroke. *Lancet* 2001; 358:817.
  64. Krupinski J, Kaluza J, Kumar P, Wang M, Kumar S. Prognostic value of blood vessel density in ischaemic stroke. *Lancet* 1993; 342:742.
  65. Chen J, Zhang ZG, Li Y, Wang L, Xu YX, Gautam SC, et al. Intravenous administration of human bone marrow stromal cells induces angiogenesis in the ischemic boundary zone after stroke in rats. *Circ Res* 2003; 92:692-9.
  66. Jiang Q, Zhang ZG, Ding GL, Zhang L, Ewing JR, Wang L, et al. Investigation of neural progenitor cell induced angiogenesis after embolic stroke in rat using MRI. *Neuroimage* 2005; 28:698-707.
  67. Taguchi A, Soma T, Tanaka H, Kanda T, Nishimura H, Yoshikawa H, et al. Administration of CD34+ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. *J Clin Invest* 2004; 114:330-8.
  68. Shyu WC, Lin SZ, Chiang MF, Su CY, Li H. Intracerebral peripheral blood stem cell (CD34+) implantation induces neuroplasticity by enhancing beta1 integrin-mediated angiogenesis in chronic stroke rats. *J Neurosci* 2006; 26:3444-53.



69. Vendrame M, Gemma C, de Mesquita D, Collier L, Bickford PC, Sanberg CD, et al. Anti-inflammatory effects of human cord blood cells in a rat model of stroke. *Stem Cells Dev* 2005; 14:595–604.
70. Tse WT, Pendleton JD, Beyer WM, Egalka MC, Guinan EC. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: Implications in transplantation. *Transplantation* 2003; 75:389-97.
71. Pluchino S, Zanotti L, Rossi B, Brambilla E, Ottoboni L, Salani G, et al. Neurosphere-derived multipotent precursors promote neuroprotection by an immunomodulatory mechanism. *Nature* 2005; 436:266–71.
72. Arvidsson A, Collin T, Kirik D, Kokaia Z, Lindvall O. Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. *Nat Med* 2002; 8:963-70.
73. Jin K, Minami M, Lan JQ, Mao XO, Bateur S, Simon RP, et al. Neurogenesis in dentate subgranular zone and rostral subventricular zone after focal cerebral ischemia in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:4710–5.
74. Zhang J, Li Y, Chen J, Yang M, Katakowski M, Lu M, et al. Expression of insulin-like growth factor 1 and receptor in ischemic rats treated with human marrow stromal cells. *Brain Res* 2004; 1030:19–27.
75. Chen J, Li Y, Katakowski M, Chen X, Wang L, Lu D, et al. Intravenous bone marrow stromal cell therapy reduces apoptosis and promotes endogenous cell proliferation after stroke in female rat. *J Neurosci Res* 2003; 73:778–86.
76. Vaquero J, Zurita M. Bone marrow stromal cells for spinal cord repair: a challenge for contemporary neurobiology. *Histol Histopath* 2009; 24:107-16.

#### Conflicto de intereses

Los autores no hemos recibido ayuda económica alguna para la realización de este trabajo. Tampoco hemos firmado ningún acuerdo por el que vayamos a recibir beneficios u honorarios por parte de alguna entidad comercial. Ninguna entidad comercial ha pagado, ni pagará, a fundaciones, instituciones educativas u otras organizaciones sin ánimo de lucro a las que estamos afiliados.