

January 2007

Las células madre mesenquimales desde la perspectiva de las ciencias veterinarias

Nancy B. Riaño G.

Universidad Nacional de Colombia, nbrianog@unal.edu.co

Victor J. Vera A.

Universidad Nacional de Colombia, vjveraa@unal.edu.co

Luis Carlos Villamil J.

Universidad Nacional de Colombia, lcwillamilj@unal.edu.co

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/mv>

Citación recomendada

Riaño G. NB, Vera A. VJ y Villamil J. LC. Las células madre mesenquimales desde la perspectiva de las ciencias veterinarias. Rev Med Vet. 2007;(13): 19-26.

This Artículo de Investigación is brought to you for free and open access by the Revistas científicas at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Revista de Medicina Veterinaria by an authorized editor of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

Las células madre mesenquimales desde la perspectiva de las ciencias veterinarias¹

Nancy B. Riaño G. * / Victor J. Vera A. ** / Luis Carlos Villamil J. ***

RESUMEN

Las características de una célula madre (*stem cell*) están determinadas por ser indiferenciadas, autorrenovables, y por tener la capacidad de generar células hijas para múltiples linajes celulares, con la capacidad de proliferar indefinidamente en cultivos. El origen de las células madre puede ser embrionario (blastómeros y células de la masa interna del blastocisto) o somático (células pluripotenciales de tejidos adultos). La fuente de las células madre somáticas es la médula ósea, en la cual se encuentran las células madre hematopoyéticas y las mesenquimales (MSCs). Diversos estudios en modelos animales han demostrado que MSCs constituyen una herramienta potencial para el establecimiento de terapias regenerativas en tejidos lesionados. Este artículo revisa las propiedades de las células madre, sus potenciales, sus ventajas y limitaciones en varios modelos animales.

Palabras clave: células madre, biomodelos, Ciencias Veterinarias.

THE MESENCHYMAL STEM CELLS FROM THE VETERINARY SCIENCES PERSPECTIVE

ABSTRACT

The characteristics of a stem cell are determined by being undifferentiated, auto renewable, and because of having the capacity of generating cells for multiple cellular lineages, with the capacity to proliferate indefinitely in cultures. The origin of the stem cells can be embryonic (blastomers and cells of the internal mass of the blastocyst) or somatic (pluripotential cells from adult tissues). The source of the somatic stem cells is the bone marrow, in which the hematopoietic stem cells and the mesenchymals (MSCs) are found. Diverse studies in animal models have demonstrated that MSCs constitute a potential tool for the establishment of regenerative therapies in injured tissues. This article reviews the properties of the stem cells, their potentials, their advantages and limitations in several animal models.

Key words: Stem cells, biomodels, Veterinary Sciences.

¹ Proyecto financiado por la División Nacional de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia.

* Bacterióloga, MSc (C). Posgrado de Salud y Producción animal. Grupo de Microbiología y Epidemiología. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Correo electrónico: nbrianog@unal.edu.co

** DMV, MSc, PhD. Profesor Asociado. Director del Instituto de Genética. Universidad Nacional de Colombia. Correo electrónico: vjveraa@unal.edu.co

***DMV, MSc, PhD. Profesor Asociado. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Correo electrónico: lcwillamilj@unal.edu.co

Fecha de Recepción: noviembre 28 de 2006.

Fecha de Aprobación: febrero 7 de 2007.

INTRODUCCIÓN

Los desarrollos alcanzados en los estudios sobre células madre han creado expectativas con aplicabilidad en salud humana y animal; en el futuro se espera la consolidación práctica de dichos desarrollos.

En los estudios clínicos que utilizaron células madre como herramienta de regeneración celular, se emplearon modelos animales para el establecimiento de terapias de reemplazo que permitieron la recuperación morfológica y funcional de tejidos y órganos. Los ratones constituyen el biomodelo más frecuente, pero los estudios y aplicaciones en otras especies como la equina señalan perspectivas para el tratamiento de enfermedades degenerativas.

Considerando el tiempo necesario para la recuperación de muchas lesiones susceptibles de ser tratadas con terapias celulares, es importante desarrollar procedimientos de recuperación con células madre, teniendo en cuenta su capacidad de diferenciación hacia progenitores celulares de los tejidos. La medicina regenerativa se ha basado fundamentalmente en los nuevos conocimientos sobre la biología de las células madre y en su capacidad de diferenciación.

En esta publicación, se pretende mostrar el estado actual de la utilización de células madre como un soporte en la implementación de posibles terapias en el ámbito de las Ciencias Veterinarias.

CÉLULAS MADRE (CM)

Las Células Madre (CM) o *stem cells*, son aquellas células indiferenciadas dotadas simultáneamente de la capacidad de auto renovación y de originar células hijas comprometidas en determinadas rutas de desarrollo, que finalmente se convierten a través de la diferenciación, en tipos celulares especializados (Weissman *et al.*, 2001). En síntesis, las CM tienen tres propiedades: no son células diferenciadas, pro-

ducen células que se pueden diferenciar en diversos linajes y tienen capacidad de auto renovación.

Según su capacidad de diferenciación las CM pueden ser totipotenciales, las cuales son capaces de producir tejido embrionario y tejido extraembrionario; pluripotenciales, las que pueden generar células diferenciadas a cualquier linaje celular de las tres capas embrionarias y las multipotenciales, que son células con capacidad limitada de diferenciación en un órgano o tejido específico (Weissman *et al.*, 2001).

Las células madre se pueden clasificar también de acuerdo a su origen, pueden proceder del embrión o de un organismo adulto, de ahí que se hable de células madre embrionarias y de células madre adultas o somáticas.

Se considera que las células de origen embrionario provenientes de la masa interna del blastocisto, se pueden propagar de manera indefinida. Las células embrionarias están en la capacidad de tomar rutas de diferenciación *in vivo* hacia linajes celulares de diferentes tejidos (células de las tres capas embrionarias) y algunos linajes bajo condiciones *in vitro* (Thomson *et al.*, 1998). Sin embargo, el uso de estas células provenientes de embriones humanos con fines investigativos, y su posible uso en terapia regenerativa es motivo de consideraciones éticas (Frankel, 2000; Gagnon, 2002).

Inicialmente se creyó que el potencial de diferenciación de una célula estaba restringido únicamente a su tejido de origen; sin embargo, desde hace algunos años, diversos estudios demostraron que las células madre de un tejido específico estaban en la capacidad de generar células de un tipo celular especializado diferente al de su origen embrionario (Jiang *et al.*, 2002; Verfaillie *et al.*, 2002; Korblyng y Estrov, 2003; Ramirez *et al.*, 2005).

Las células madre adultas están en la capacidad de adquirir ciertas características fenotípicas y funcio-

nales como respuesta a los cambios y estímulos del microambiente donde sean implantadas, esta habilidad de cambio actualmente se conoce como “fenómeno de plasticidad” (Verfaillie *et al.*, 2002). Bajo condiciones *in vitro* es probable que las células madre presenten una morfología diferente y la expresión génica de diversos linajes por la exposición a factores inductores (Jiang *et al.*, 2002).

Las células madre adultas más estudiadas tanto en humanos como en otros mamíferos, son las que se encuentran en la médula ósea; de este sitio se han identificado dos grupos celulares principales: células madre hematopoyéticas (*hematopoietic stem cells* o HSCs) las cuales bajo condiciones fisiológicas, mantienen una producción continua de progenitores celulares cuya maduración y proliferación origina los tipos celulares presentes en la sangre (glóbulos rojos, leucocitos y plaquetas).

Las células madre mesenquimales (*mesenchymal stem cells* o MSCs) también llamadas células madre estromales, están presentes en el estroma de la médula ósea, constituyendo una población totalmente diferente de las células madre hematopoyéticas, pudiéndose diferenciar en múltiples linajes celulares de origen mesodérmico (Prockop, 1997). Su origen está dado principalmente en las células mononucleares de médula ósea, (Pittenger *et al.*, 1999). Inicialmente se aislaron de los aspirados de médula ósea, mediante la propiedad física que poseen de adherirse a superficies plásticas, formando así las conocidas UFC-F (unidades formadoras de colonias fibroblásticas) (Fridestein *et al.*, 1970). La capacidad de adherencia al plástico por si sola no es suficiente para la purificación y caracterización de las MSCs.

En la búsqueda de una metodología de identificación adecuada para las MSCs, se ha establecido la presencia o ausencia de marcadores de superficie, algunos comunes para todas las especies. Se desarrollaron anticuerpos monoclonales (Ramírez *et al.*, 2005) con

el fin de hacer la caracterización de las MSCs: el Stro-1 (), antígeno CD166, el marcador SH2 o CD105 SH3 y SH4 (Bruder *et al.*, 1998a; Barry *et al.*, 1999; Barry *et al.*, 2001; Bensidhoum *et al.*, 2004), estos marcadores no se encuentran en las células madre hematopoyéticas o en sus progenitores; se detectaron otros marcadores: CD44, CD29 y CD 90, aunque estos son antígenos importantes, no son exclusivos de las MSCs (Pittenger *et al.*, 1999).

Las MSCs *in vivo* poseen la habilidad de diferenciarse a linajes celulares mesodérmicos, por lo cual, en la identificación presuntiva de dichas células, se determinan sus características funcionales hacia procesos de diferenciación osteogénica, adipogénica y condrogénica. Para lograr esto, se usan factores inductores en el medio de cultivo, que promueven cambios en la de expresión génica y en la morfología celular, lo cual se ha establecido en células de origen humano (Pittenger *et al.*, 1999; Colter *et al.*, 2001; Hung *et al.*, 2002).

En el estudio de Colter (2001), las muestras de médula ósea se sometieron a procesos de centrifugación aislando las células mononucleares por la formación de gradientes de densidad, mientras que Hung (2002), las obtuvo por el paso de las células a través de una membrana filtrante. En ambos casos las MSCs se cultivaron con agentes inductores, haciendo evidente la diferenciación de las células por la reacción positiva a ciertas tinciones histoquímicas y por la expresión de marcadores propios de cada linaje. Se realizaron otros ensayos en diferentes especies como MSCs extraídas de médula ósea bovina (Bosnakovski *et al.*, 2004), murina (Peister *et al.*, 2004) y equina (Koerner *et al.*, 2006).

La habilidad de cambio y adaptación de las células madre adultas, demuestra la capacidad de generar progenitores celulares apropiados cuando son inoculadas directamente en un tejido u órgano (Orlic y Hill, 2002). Las MSCs han sido reconocidas como

una alternativa potencial para terapia génica y terapia celular. La perspectiva de estos hallazgos implica el interés de los investigadores para su aplicación en diversas áreas de la salud humana, como trasplantes, estudio de nuevas sustancias terapéuticas, desarrollo humano temprano y renovación tisular (Shufaro y Reubinof, 2004).

MODELOS ANIMALES

Uno de los primeros modelos experimentales empleados para conocer la interacción entre las poblaciones celulares de la médula ósea, fue el canino (Huss *et al.*, 2000); para lo cual utilizaron células derivadas de médula ósea adherentes a superficies plásticas, formadoras de colonias y CD34⁺, cultivadas con factores inductores de hematopoyesis. A los 14 días de cultivo, las células cambiaron su fenotipo a CD34⁺ (marcador típico de linaje hematopoyético), conservando aun su característica de adherencia. Luego fueron inoculadas de forma autóloga por vía hematogena al perro, previamente sometido a irradiación total. Transcurridos 23 días el organismo del animal recuperó el conteo normal de células de la sangre demostrando así la posibilidad de reponer poblaciones celulares diferentes.

Las MSCs están en la capacidad de lograr la diferenciación a linajes celulares endoteliales tanto en condiciones *in vitro* como *in vivo*. Después de la obtención del cultivo de MSCs humanas y de su correspondiente diferenciación hacia los linajes mesodérmicos, se detectó la presencia de dos marcadores típicos de células mesenquimales (CD105 y CD73). Las células ya confluentes fueron cultivadas con una baja concentración de suero fetal bovino y VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular) durante siete días. La diferenciación de las MSCs se evidenció por la expresión del factor Von Willebrand y de KDR (receptor del VEGF) además de marcadores específicos de endotelio tales como VE-Cadherina y VCAM-1. Para demostrar la funcionalidad de

estas células, se colocaron en un medio semisólido, en donde generaron estructuras similares a una red de pequeños capilares, en un intento por generar un proceso de angiogénesis (Oswald *et al.*, 2003).

En terapia celular, empleando MSCs, se requiere inicialmente una adecuada concentración en el cultivo para su posterior utilización en la regeneración de tejidos conectivos, tal como se demostró en una fractura de fémur de rata, consolidada después de 8 semanas de efectuado el tratamiento (Bruder *et al.*, 1998b). De igual manera en un modelo caprino para osteoartritis, la administración autóloga de una suspensión de 10 millones de MSCs diferenciadas, se logró la recuperación del cartílago articular, con la formación de nuevo tejido (Murphy *et al.*, 2003).

En la recuperación de tejido muscular esquelético y cardíaco, también se han empleado las MSCs. La diferenciación hacia miocardiocitos para recuperar zonas de necrosis tisular en patologías cardíacas es el objetivo de diferentes grupos de investigación. Usando un modelo porcino, se aislaron MSCs de aspirados de médula ósea de 14 cerdos, los cuales fueron sometidos a una oclusión arterial que representaba un infarto en la pared anterior del miocardio. Dos semanas después, los animales recibieron MSCs directamente al sitio del daño tisular. Transcurridas dos semanas, se evaluó la expresión de proteínas específicas de músculo, y al cabo de 32 días, el grado de disfunción contráctil se redujo, así como el daño en la pared del ventrículo izquierdo en los animales tratados (Shake *et al.*, 2002).

En otro estudio, se emplearon caninos con isquemia crónica, luego de efectuar la constricción de la arteria coronaria anterior descendente. Para su regeneración, se inocularon MSCs extraídas con anterioridad del mismo paciente. Para el monitoreo de la evolución del tratamiento se hicieron ecocardiografías a los 30 y 60 días, leucograma, medición de las concentraciones de CK-MB, y troponina I. La ejecución

de la fracción ventricular fue significativamente más alta al cabo de los 60 días en los perros tratados con las MSCs. De igual manera, a las 48 horas se presentó un aumento de la concentración de CK-MB y tropoina I, retornando a niveles basales horas después. Se presentó un aumento en la vascularización de la zona afectada con disminución de la fibrosis. Los animales fueron sacrificados a los 60 días, al examen post-mortem se encontró que las MSC estaban incorporadas al músculo cardíaco (Silva *et al.*, 2005).

Con el empleo de un modelo murino, se determinó que las MSCs estaban en la capacidad de diferenciarse no sólo a miocardiocitos, sino que además podían producir células endoteliales (Orlic *et al.*, 2002). En este caso, se ligó la arteria coronaria izquierda. El infarto ocupó un área de necrosis del 70% en el ventrículo izquierdo, con una pérdida de miocitos y vasos sanguíneos coronarios. Los animales fueron inoculadas con MSCs de fenotipo característico (marcadores de superficie Lin⁻ c-kit⁺) y transfectadas con el gen de la proteína verde fluorescente (GFP). Trascorridos 9 días de la cirugía, se observó una zona de regeneración celular que contenía miocitos y pequeños vasos sanguíneos con células positivas a la expresión de GFP y con el cromosoma Y.

La manera de realizar el tratamiento está determinada por una inyección directa de las MSCs en el sitio de lesión o por su inoculación vía intravenosa, para lo cual las células responden a factores quimiotácticos, migrando hacia los tejidos lesionados, como en el caso de isquemia coronaria crónica en un modelo murino, empleando MSCs positivas al gen de la β -galactosidasa vía sanguínea, generándose nuevos cardiomiocitos y células endoteliales β -galactosidasa positivas en músculo cardíaco, aunque en una proporción baja (Jackson *et al.*, 2001).

Para estudiar la revascularización de las áreas infartadas, se evaluó el efecto de la aplicación de las MSCs mediante la perfusión cardíaca en cerdos.

Ocho semanas después de realizar el procedimiento por medio de un catéter endocárdico, se determinó la presencia de vasos sanguíneos en la región de necrosis miocárdica al realizar biopsias del tejido. Las MSCs marcadas con DAPI (4',6-diamidino-2-fenylindole) fueron localizadas alrededor de dichos vasos, asociadas con células del endotelio vascular. Las MSCs expresaron factor Von Willebrand, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (Pittenger y Martin, 2004).

Estudios recientes demostraron que el mecanismo mediante el cual las MSCs logran los anteriores efectos, está relacionado con la capacidad de las mismas para secretar factores angiogénicos tales como FGF (factor de crecimiento de fibroblastos), VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas), IL-1 (interleuquina 1) entre otros. Estos factores se expresan cuando las MSCs se someten al cultivo en condiciones de hipoxia (Kinnaird *et al.*, 2004) La hipoxia tisular juega un papel importante como factor de inducción de angiogénesis, incluso en tejidos superficiales empleando MSCs extraídas de médula ósea humana, e implantadas sobre heridas crónicas de los mismos pacientes, se observó mejoría clínica después de la aplicación, con disminución en tamaño de las heridas e incremento en la vascularización y en el grosor de la dermis (Baldiavas y Falanga, 2003). Similares estudios se realizaron en procesos de cicatrización, donde los animales que presentaban heridas en su dorso, mostraron mejoría en la cicatrización de dichas heridas al día 14 y 17 (Fathke *et al.*, 2004).

Los resultados anteriores se han aplicado con éxito en terapia equina para la recuperación de lesiones de tendones y ligamentos, aplicando dos alternativas en el suministro de MSCs: de médula ósea o de tejido adiposo (Julio, 2006).

El empleo de las MSCs provenientes de médula ósea, ya está patentado por el laboratorio VetCell Bioscien-

ce del Reino Unido, procedimiento desarrollado en conjunto con el Royal Veterinary College, University of London y por el Centro Médico Equino de Álamo Pintado, California, Estados Unidos. En lo relacionado con las MSCs provenientes de tejido adiposo, su desarrollo se logró en el laboratorio VetStem Inc. San Diego, California (Julio, 2006; Caudill, 2006).

CONCLUSIONES

En los últimos años se han desarrollado nuevos campos de investigación en células para la búsqueda de tratamientos útiles en el manejo de enfermedades empleando biomodelos. Actualmente se dispone de algunos resultados de estudios realizados en diferentes especies animales de importancia económica.

Se ha comprobado en los biomodelos la capacidad de regeneración tisular. El tratamiento de lesiones en tendones, ligamentos, articulaciones, piel y órganos mediante el uso de técnicas de trasplante autólogo de células madre mesenquimales adultas, provenientes de médula ósea, ha demostrado seguridad y efectividad, facilitando la recuperación de ejemplares de alto valor económico o afectivo.

Considerando el tiempo prolongado que tardan en recuperarse las lesiones crónicas y la complejidad de los tratamientos tradicionales a los que deben someterse los animales, es importante desarrollar procedimientos de recuperación con células madre, teniendo en cuenta su capacidad de diferenciación y revascularización de los tejidos lesionados.

Entre los factores que influyen en el éxito del tratamiento de lesiones con MSCs, se puede mencionar la disponibilidad de las mismas en condiciones de campo contando con la logística necesaria: personal capacitado e infraestructura física adecuada.

Inicialmente, estos procedimientos alcanzan costos elevados que se justifican si se tiene en cuenta el valor económico o afectivo de ejemplares de ciertas especies (equinos, caninos).

Las evidencias clínicas determinarán cuál es la mejor técnica a aplicar en cada tipo de lesión en particular y cual de ellas será la de mayor simplicidad y la de menor costo de aplicación. Se puede prever que la utilización de células madre constituirá en el futuro una de las herramientas para el tratamiento de enfermedades tanto en animales como en los seres humanos. En este sentido, se deben tener en cuenta los controles y las medidas de bioseguridad, dados los riesgos inherentes al manejo y a la comercialización de reactivos biológicos.

La utilización de las MSCs representa una oportunidad para los profesionales de las ciencias veterinarias. La ubicación de estos temas en los contenidos curriculares y el desarrollo de prácticas que conjuguen el laboratorio de células y el ejercicio profesional, representa una necesidad sentida para las nuevas generaciones profesionales.

BIBLIOGRAFÍA

- Baldiavas, E. y Falanga, V. "Treatment of chronic wounds with bone marrow-derived cells". *Archives of dermatology* 139. (2003): 510-516.
- Barry, F. *et al.* "The monoclonal antibody SH-2, raised against human mesenchymal stem cells, recognizes an epitope on endoglin (CD105)". *Biochem Biophys Res Commun.* 265. 1. (1999):134-139.
- - -. "The SH-3 and SH-4 antibodies recognize distinct epitopes on CD73 from human mesenchymal stem cells". *Biochem Biophys Res Commun.* 289. 2. (2001): 519.524.
- Bensidhoum, M. *et al.* "Homing of in vitro expanded Stro-1⁻ or Stro-1⁺ human mesenchymal stem cells into the NOD/SCID mouse and their role in supporting human CD34 cell engraftment". *Blood.* 103. (2004): 3313-3319.
- Bosnakovski D. *et al.* "Isolation and multilineage differentiation of bovine bone marrow mesenchymal stem cells". *Cell and Tissue Research* 319. 2. (2005): 243-253.
- Bruder, S.; Ricalton, N. y Boynton, R. "Mesenchymal stem cell surface antigen SB-10 corresponds to activated leukocyte cell adhesion molecule and is involved in osteogenic differentiation". *J Bone Miner Res.* 13. 4 (1998a): 653-665,
- Bruder, S. *et al.* "Mesenchymal stem cells in osteobiology and applied bone regeneration". *Clin Orthop.* 355. 4. (1998b): 247-256.
- Caudill, H. "Células madre la fuente regeneradora". *The American Quarter Horse Racing Journal.* (2006): 48-51.
- Colter, D.; Sekiya, I. y Prockop, J. "Identification of a subpopulation of rapidly selfrenewing and multipotential adult stem cells in colonies of human marrow stromal cells". *PNAS.* 98. 14. (2001): 7841-7845.
- Fathke, C. *et al.* "Contribution of bone marrow-derived cells to skin: collagen deposition and wound repair". *Stem cells* 22. (2004): 812-822.
- Frankel, M. "In search of stem cell policy". *Science.* 1397. (2000): 298-300.
- Fridestein, A.; Chailakhjan, R. y Lalykina, K. "The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of Guinea pig bone marrow and spleen cells". *Cell tissue Kinet.* 3. 4. (1970): 393-409.
- Gagnon, L. "Stem cell research: with no law, the situation is very permissive" *CMAJ.* 166. 8. (2002): 1077.
- Hung, S. *et al.* "Isolation and characterization of size-sieved stem cells from human bone marrow". *Stem Cells* 20. (2002): 249-258.
- Huss, R.; Lange, C.; Weissinger, E.; Kolb, H. y Thalmeiera, K. "Evidence of peripheral blood-derived, plastic-adherent CD34-/low hematopoietic stem cell clones with mesenchymal stem cell characteristics". *Stem cells* 18. (2000): 252-260.
- Jackson, K. *et al.* "Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells". *Journal of clinical investigation* 107. 11. (2001): 1395-1402.
- Jiang, Y. *et al.* "Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow". *Nature* 418. (2002): 41-49.
- Julio, G. "Aplicación de Células Madre en el tratamiento de Claudicaciones en el Caballo". Trabajo de grado en diplomado internacional de medicina interna de equinos. Chile: Universidad Mayor (2006): 22-27.

- Kinnaird, T. *et al.* "Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms". *Circulation research* 94. (2004): 678-685.
- Koerner, J. *et al.* "Equine peripheral blood-derived progenitors in comparison to bone marrow-derived mesenchymal stem cells (abstract)". *Stem cells* 24. 6. (2006): 1613-1619.
- Körbling, M. y Estrov, Z. "Adult stem cells for tissue repair. "A new therapeutic concept?" *New Englant Journal Medicine* 349. 6. (2003): 570-582.
- Murphy, J.; Fink, D.; Hunziker, E. y Barry, F. "Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis (abstract)". *Arthritis Rheumatology* 48. 12. (2003): 3464-3474.
- Orlic, D.; Hill, J. y Arai, A. "Stem cells for myocardial regeneration". *Circulation research* 91. (2002): 1092-1102.
- Oswald, J.; Boxberger, S. y Jorgensen, B. "Mesenchymal stem cells can be differentiated into endothelial cells in vitro". *Stem cells* 22. (2004): 377-384.
- Peister, A.; Mellad, J.; Larson, B.; Hall, B. y Gibson, L. "Prockop D. Adult stem cells from bone marrow (MSCs) isolated from different strains of inbred mice vary in surface epitopes, rates of proliferation, and differentiation potential". *Blood* 103. 5. (2004): 1662-1668.
- Pittenger, M.; Mackay, A. y Beck, S. "Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells". *Science* 284. (1999): 143-47.
- Pittenger, M. y Martin, B. "Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics". *Circulation Research* 95. (2004): 9-20.
- Prockop, D. "Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues". *Science* 276. (1997): 71-74.
- Ramírez, G.; Vera, V. y Villamil, L. *Cultivo de células animales*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, 2005: 113-120.
- Shake, J. *et al.* "Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects (abstract)". *Annals of Thoracic Surgery* 73. (2002): 1919-1926.
- Shufaro, Y. y Reubinoff, B. "Therapeutic applications of embryonic stem cells" *Best Practice y Research Clinical Obstetrics and Gynecology* 18. 6. (2004): 909-927.
- Silva, G. "Mesenchymal stem cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a canine chronic ischemia model". *Circulation* 111. (2005): 150-156.
- Simmons, P. y Torok, B. "Identification of stromal cell precursors in human bone marrow by a novel monoclonal antibody, STRO-1". *Blood* 78. (1991): 55-61.
- Thomson, J. *et al.* "Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts". *Science* 282. (1998): 145-47.
- Verfaillie, C. Pera, M. y Lansdorp, P. "Stem Cells: Hype and Reality". *Hematology* Jan (2002): 369-391.
- Weissman, I.; Anderson, D. y Gage, F. "Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations". *Annu Rev Cell Dev Biol.* 17. (2001): 387-403.