

Células madre autólogas y Diabetes Mellitus

Alami Rivero¹, Freddy Contreras², Sinaí Fragoza⁴ y Manuel Velasco⁵

¹Médico Internista, Profesor Asociado de Fisiopatología, FM-UCV, Caracas, Venezuela. Centro Médico Docente Los Altos Carrizal-Miranda.

²Médico Especialista en medicina regenerativa.

³Biólogo Dra. y Profesor Escuela de Nutrición y Dietética. Facultad de Medicina y Coordinador del área de Investigación del Servicio de Endocrinología. Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo, Caracas, Venezuela.

⁴Médico Residente Medicina Interna Centro Médico Docente Los Altos Carrizal-Miranda.

⁵Farmacólogo clínico. Profesor Titular de Farmacología. Escuela de Medicina JM Vargas-UCV

E-mail: sicontreras@cantv.net

Recibido: 12/07/2011

Aceptado: 20/09/2011

Resumen Abstract

Se propone una revisión bibliográfica en materia de trasplante autólogo de células madre de médula ósea en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, dada la creciente incidencia de esta afección. Al respecto, se examinaron cinco estudios en las bases de datos. En 2003 el equipo de Hess reportó reducción de hiperglicemia y rápido incremento en la producción de insulina endógena pancreática en ratas sometidas a trasplante heterólogo de células madre seleccionadas c-kit+; y, Lanus y col. obtuvieron células pancreáticas endocrinas a través de cultivos de células madre de médula ósea. Fernández Viña y col; Mesples y col en 2007 y Voltarelli et al en 2009, al medir los niveles de péptido C, antes y después de la administración de células madre autólogas en pacientes diabéticos, demostraron en la mayoría de los casos, un incremento de los niveles del péptido C y disminución en los requerimientos de insulina, lo cual implica un positivo impacto para su tratamiento.

Palabras Clave: células somáticas autólogas, células madre embrionarias, regeneración tisular, disfunción endotelial, diabetes mellitus.

On account of the increasing rate of Diabetes Mellitus type 2, a bibliographic review research on autologous transplantation matter of bone marrow cells is required. So in this regard, five studios were examined. Hence, in 2003 Hess's team reported an hyperglycemic reduction and a rapid growth of endogenous pancreatic insulin level production in rats which were exposed to heterologic transplantation of selected marrow cells, c-kit+, and both Lanus and Col attained pancreatic endocrine cells by means of cultivated bone marrow cells of spinal cord. Hereafter Fernández Viña and Col, Mesples and Col in 2007 and Voltarelli in 2009 on measuring Peptide C levels before and after the administration of autologous marrow cells in diabetic patients, over most of the cases, demonstrated an increase of Peptide C levels and a minimum insulin requirement which means definitively a positive impact for its treatment.

Key words: autologous somatic cells, embrionic stem cells, tissue regeneration, endothelial malfunction, diabetes mellitus.

Introducción

La Diabetes Mellitus es definida como una patología endocrinometabólica caracterizada por defectos en la secreción y/o en la acción de la insulina o por la combinación de ambas situaciones, lo cual conduce a un síndrome caracterizado por hiperglucemia y alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono, las proteínas y los lípidos; fenómenos que traen como consecuencia daño orgánico que compromete el funcionamiento de órganos blancos. Aunque hay una afectación universal del organismo, las manifestaciones clínicas más evidentes de daño a tejidos, se pueden observar en corazón, retina, riñones, y sistema nervioso, como consecuencia de la alteración de las paredes de los vasos sanguíneos¹.

Cada año la diabetes afecta más personas y causa más muertes que el Cáncer de mama y el SIDA, juntos. Si se considera además que alrededor del 50% de los pacientes con enfermedad coronaria son diabéticos, es obvio el impacto de esta enfermedad sobre los sistemas de salud en todos los países del mundo².

Las terapias disponibles como tratamiento para esta patología incluyen una alimentación adecuada, el ejercicio, los hipoglicemiantes orales y/o insulinas tradicionales o análogos, aunadas a la educación diabetológica.

La diabetes tipo 1 (antiguamente denominada diabetes juvenil) afecta típicamente a niños y adultos jóvenes. Es producida por un ataque autoinmune contra las células β de los islotes pancreáticos que ocasiona una hiperglucemia manifiesta cuando un 80–90% de las células β han sido eliminadas³.

Hasta el momento no se ha desarrollado ningún tratamiento efectivo que bloquee la cascada autoinmunitaria e impida el desarrollo de la enfermedad durante el período pre-patogénico ni tampoco una manera efectiva de sustituir las células perdidas. Alternativas como al trasplante pancreático, implante de islotes de Langerhans y el páncreas bioartificial no han llenado las expectativas debido al alto costo, dificultad en la obtención de un donante, morbimortalidad del procedimiento y el uso de terapia inmunosupresora de por vida⁴.

Con expectativas positivas se ha empezado a ver la terapia celular con células madre adultas en pacientes con diabetes. Las investigaciones en animales de experimentación y la puesta en práctica de la aplicación de células madre en estados de hiperglucemia, generada por estreptozotocina y en pacientes diabéticos, han abierto una ventana terapéutica que incrementa las posibilidades reales de hacer más eficaz el control de esta patología.

Desde el descubrimiento de las células madre adultas o somáticas por Till y McCulloch a finales de la década de

1950, centrado en las células troncales hematopoyéticas de médula ósea (CMMO), se ha evidenciado su capacidad regenerativa de tejidos y la curación de enfermedades neoplásicas. Gracias al trasplante de CMMO en ciertas patologías malignas, millones de personas alrededor del planeta, han podido mejorar su enfermedad en la actualidad⁵.

Células Madre Adultas

Además de las células pluripotenciales de origen embrionario, que pueden originar cualquier tejido del feto, existen células madre indiferenciadas con cierta similitud a las embrionarias en muchos tejidos adultos especializados⁶. Estas células permiten mantener la homeostasis de los tejidos regenerando y reemplazando las células que se destruyen continuamente por diferentes causas. Las células madre adultas conservan dos características previamente mencionadas: pueden proliferar, aunque de manera más lenta que las embrionarias y, por otra parte, dan lugar a células maduras especializadas, generando durante el proceso, células progenitoras en estadios intermedios de diferenciación.

Es muy difícil distinguir en un tejido determinado unas células de otras por la ausencia de marcadores definidos. Estas células madre adultas tienen, por otra parte, un crecimiento más limitado en cultivo y su capacidad diferenciadora in vitro está aparentemente limitada a aquellas células relacionadas con el tejido de procedencia, denominándose células "multipotentes"⁶. Las propiedades de estas células dependen en gran medida de su localización.

Las células precursoras hematopoyéticas están siendo generadas constantemente en la médula ósea y es fácil su aislamiento. Sin embargo, las células madre procedentes de tejidos del endodermo embrionario, como las intestinales⁷ o las hepáticas⁸, son estacionarias y están físicamente separadas de las células diferenciadas, su aislamiento y caracterización son más complejos por dificultades inherentes a su identificación y cultivo.

Las células madre adultas tienen una enorme ventaja para posibles tratamientos terapéuticos; en primer lugar, por sus propiedades proliferativas, pero igualmente interesante, es el hecho de que las células diferenciadas que se obtienen in vitro, podrían ser reimplantadas en los propios pacientes sin problemas de rechazo inmunológico.

Se han utilizado células madre de origen mesodérmico procedentes de músculo esquelético o de células mesenquimales de médula ósea para originar por diferenciación in vitro o in vivo, distintos tejidos, como músculo, hueso, cartílago o tejido adiposo^{9,10}, que podrían ser reimplantados en el propio paciente del que se han aislado las células madre originales.

Existen antecedentes que demuestran una buena integración de estas células dentro del órgano implantado, cuando se trata por ejemplo del corazón¹¹. En aquellos

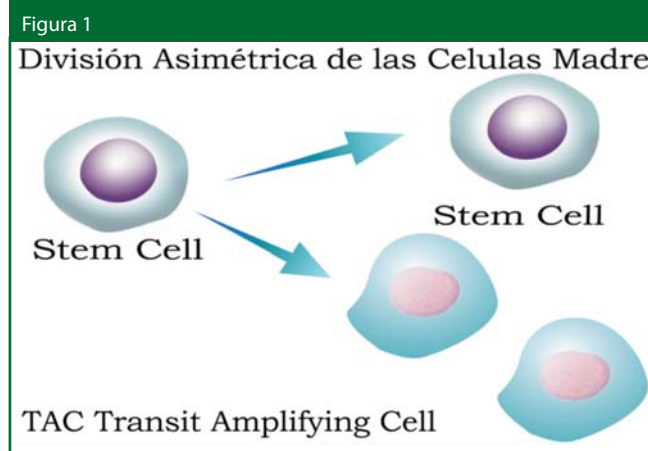
tejidos en los que es fácil su purificación y cultivo, como la médula ósea, se han hecho grandes esfuerzos para estudiar el grado de pluripotencialidad de estas células, tratando de demostrar por ejemplo, si células madre adultas son capaces de generar células especializadas de un tejido distinto del que han sido obtenidas o incluso originar tejidos de una capa embrionaria diferente. Este proceso de plasticidad o transdiferenciación sólo se ha demostrado en experimentos *in vivo*¹². Se denomina plasticidad o transdiferenciación al fenómeno fisiológico celular a través del cual, la célula madre adulta es capaz de atravesar la barrera de los linajes determinados por la capa embrionaria que la origina y convertirse en célula no relacionada con la capa de la trilámina embrionaria de donde proviene.

Asimismo, se ha reportado que células madre derivadas de médula ósea pueden diferenciar hacia un tejido hepático o neural, y viceversa^{13,14,15}. Estos trabajos iniciales permitirán coadyuvar en la posibilidad de aislar células madre de médula ósea y dirigir su posible diferenciación hacia células productoras de insulina. De igual manera, estudios recientes sugieren la existencia de procesos de fusión celular *in vitro*, entre células madre embrionarias y células madre adultas progenitoras de distinto origen¹⁶.

En este orden de ideas, cabe acotar que la medicina regenerativa tiene como objetivo principal de investigación científica, la búsqueda de posibles métodos para estimular la regeneración funcional y estructural de aquellos tejidos dañados, en los cuales la capacidad regenerativa está comprometida¹⁷. Hay tres condiciones esenciales para que ocurra la regeneración a nivel de los tejidos: 1) Los tejidos deben contener células mitóticamente competentes, es decir, células que tienen los receptores y vías de señalización de traducción para responder a los estímulos de un entorno permisivo; 2) El medio ambiente del tejido lesionado debe contener las señales necesarias para promover la proliferación y diferenciación de estas células de una manera organizada; y, 3) Los factores inhibidores de la regeneración deben estar ausentes, suprimidos o neutralizados, en el ambiente de la lesión. Por otra parte, sangre, epitelios, hueso, músculo esquelético, hígado, páncreas, pequeños vasos sanguíneos y epitelio renal son ejemplos de tejidos de mamíferos que contienen células mitóticamente competentes, que participan en el mantenimiento y la regeneración del daño inducido¹⁸; asimismo, como lo señala D. Stocum (2006), de este mecanismo de regeneración tisular por división mitótica de las células existentes en cada tejido, el organismo humano cuenta con la activación de células madre adultas o somáticas, residentes en los órganos o presentes en la circulación sanguínea.

Las células madre pueden dividirse indefinidamente y diferenciarse en distintos tipos de células maduras, con una morfología y funcionalidad específica. Estas células se dividen asimétricamente¹⁸ (figura 1), dando lugar a una célula de linaje restringido o Transit Amplifying Cell (TAC) y a la

vez, una célula madre típica, que es una clonación de ella misma¹⁹. De esta manera se mantiene en número la población de CM disponibles en la economía del organismo. Las células madre tienen como característica, que ciclan lentamente, pero son altamente clonogénicas. Esta restricción a la hora de la división repetida, asegura la menor tasa de error en la replicación para la síntesis del ADN¹⁹.



La regeneración tisular vía células madre adultas o somáticas, es la forma más común de reparación de los tejidos y de sustitución de las células que han pasado por el proceso de apoptosis en los organismos multicelulares¹⁸. Adicionalmente, las células madre autólogas no forman teratomas, ni teratocarcinomas, al contrario de las células madre embrionarias, las cuales han formado *in-vitro* estos tumores^{20,21}. Además, utilizando las células madre adultas o somáticas autólogas, se evita entrar en el escabroso y delicado tema de la ética, así como en discusiones en el terreno religioso, como es el caso del uso de células madre embrionarias.

Estratégicamente las células madre adultas, sustituyen aquellas que han desaparecido de los distintos órganos, ya sea por procesos de necrosis (lesión aguda destructivo-inflamatoria) o apoptosis (muerte celular programada). Se ha evidenciado que la diabetes compromete los procesos fisiológicos de recuperación de daños tisulares, que se producen, ya sea por microangiopatías (dadas por el engrosamiento difuso de las membranas basales de los capilares) o por las macroangiopatías (lesiones ateroscleróticas vasculares, que no difieren cualitativamente de las que se encuentran en los no diabéticos, pero que tienden a ser más abundantes y floridas en los pacientes con diabetes)²² y por disfunción endotelial²³.

Esta limitación por compromiso vascular, en la auto renovación de tejidos en pacientes con Diabetes Mellitus tanto Tipo 1 como 2, está estrechamente relacionada con un déficit en número y función de células progenitoras endoteliales (CPE) circulantes, en comparación con sujetos sanos^{24,25,26,27,28}. Las CPE están encargadas de procesos de angiogénesis en el organismo humano²⁹ y su principal función es la neovascularización. Además, las CPE se incorporan en las zonas de angiogénesis *in-vivo*. Por otra parte, las CPE, han demostrado su capacidad prolifera-

tiva para diferenciarse en células maduras endoteliales, tanto in-vitro como in-vivo. Una vez que estas células se adhieren al endotelio, actúan como reparadoras de la lesión endotelial existente, proliferando y organizándose en estructuras tubulares tridimensionales, formando de esta manera un sistema de nuevos vasos sanguíneos. Las CPE reparan el daño endotelial y forman nuevos vasos en tejidos isquémicos³⁰. Otra función de estas CPE, incluyen actividades paracrinas como la secreción de factores de crecimiento y citoquinas (IL-8)^{31,32}.

Células madre en médula ósea

La médula ósea contenida en las cavidades de los huesos, provee una fuente de reposición de eritrocitos, leucocitos y plaquetas. Estas células madre, denominadas hematopoyéticas, se encargan de mantener un pool de los distintos linajes de las células sanguíneas. Dentro de las células madre hematopoyéticas (CD34+) no solo se encuentran los progenitores hematopoyéticos, sino también, las células progenitoras endoteliales (CD34+ CD133+); a su progenitor común se le denomina heman-gioblasto, confiriéndole potencialidad endotelial a las células hematopoyéticas de médula ósea³³. Además, de las células madre hematopoyéticas y de las mesenquimales, se encuentran las llamadas Side Population Cell (SP), las cuales han sido aisladas, tanto a partir de médula ósea, como de músculo. Las SP son capaces de convertirse en células madre hematopoyéticas.

Respecto a este tema, el grupo de Jackson y colaboradores demostraron en 1999, que estas células se podían diferenciar en células de músculo y células endoteliales, en un modelo murino de infarto de miocardio^{33,34}. También están presentes en médula ósea, las Células Progenitoras Multipotenciales Adultas (MAPC); ésta población celular descrita por Verfaillie y colaboradores³⁵ en el año 2002, han llamado la atención en la esfera científica, ya que tienen una capacidad diferenciadora muy similar a las células madre embrionarias. Las MAPCs tienen la capacidad de proliferar in-vitro más de 120 divisiones celulares, sin un aparente envejecimiento, ya que mantienen niveles altos de telomerasa durante todo el tiempo de cultivo. Estas MAPCs además expresan factores de transcripción (Oct-4 y Rex-1) los cuales son necesarios para mantener un estado proliferativo e indiferenciado. In-vitro las MAPCs pueden ser inducidas para diferenciarse en tejidos tanto del mesodermo como del ectodermo, lo cual demuestra su gran potencialidad en el campo terapéutico³³.

Células Madre en Diabetes

La disfunción endotelial se considera en la actualidad una de las primeras manifestaciones de la enfermedad vascular y de la arteriosclerosis. El endotelio, una monocapa de células que recubre la pared luminal de los vasos sanguíneos, regula la interacción de las células y las proteínas circulantes con las células residentes en la pared vascular, ejerciendo un papel central como sensor y transmisor de señales. El endotelio protege la pared ar-

terial frente al desarrollo de lesiones y contribuye a la homeostasis vascular a través de ese control continuo de los estímulos que recibe y la adaptación de su estado funcional. Las células endoteliales (CE), mediante un programa de expresión génica y una síntesis y procesamiento de proteínas altamente regulables, son capaces de detectar los cambios tanto físicos (estrés mecánico hemodinámico) como químicos (liberación de moléculas en su entorno) y transformarlos en respuestas funcionales adaptativas. Esta capacidad de adaptación le confiere un papel clave en la regulación de la homeostasis vascular³⁶.

El endotelio tiene funciones antitrombóticas (inhibe la adhesión plaquetaria y la coagulación, y regula el sistema fibrinolítico), controla la actividad de las células musculares lisas (CML) de la capa media (tono vascular/proliferación) y modula el tránsito de macromoléculas, como las lipoproteínas, y la adhesión de leucocitos (monocitos/linfocitos T) a la pared arterial. Diversos factores pueden modificar las funciones del endotelio y provocar lo que se conoce como disfunción endotelial³⁶.

La disfunción endotelial puede definirse como un desequilibrio en la biodisponibilidad de sustancias activas de origen endotelial que predispone a la inflamación, la vasoconstricción y el incremento de la permeabilidad vascular, lo cual provoca arteriosclerosis, agregación plaquetaria y trombosis. En las últimas décadas se ha demostrado que factores de riesgo coronario bien conocidos (el colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad [cLDL], el tabaquismo, la diabetes, la hipertensión, etc.) y otros factores emergentes (radicales libres de oxígeno, homocisteína, infecciones, déficit estrogénico, etc.) producen disfunción endotelial³⁷.

Hasta el presente, se han propuesto varios mecanismos tendientes a demostrar regeneración pancreática³⁸. El equipo de David Hess³⁹ encontró reducción de hiperglicemia en ratas a las cuales se les suministró Streptozotocina (STZ); estos animales fueron sometidos a trasplante heterólogo de médula ósea no fraccionada y fraccionada (Células madre seleccionadas c-kit+). A partir de la segunda semana post-trasplante, los autores observaron un rápido incremento en la producción de insulina endógena pancreática y una reducción en los niveles de glucosa en sangre. Ellos adjudicaron estos cambios al reclutamiento de células endoteliales derivadas de la médula ósea del donante. En su evaluación con grupos control donde no había aplicación de STZ, observaron que en estos casos no había reclutamiento de células endoteliales. Por ello, este equipo sugiere que es necesario que exista un daño a nivel del tejido pancreático para que las células de médula ósea del donante sean reclutadas a fin de formar nuevos vasos³⁹. Es de hacer notar, que la reducción de la hiperglicemia y el incremento de la insulinemia fue idéntico en ratas tratadas con médula ósea no fraccionada, como las tratadas con médula ósea seleccionada (c-kit+).

Por otro lado, Andreea Ianus y colaboradores⁴⁰ lograron obtener células pancreáticas endocrinas a través de culti-

vos de células madre de médula ósea. Los investigadores reportaron que estas células madre derivadas de médula ósea, una vez implantadas en los islotes pancreáticos del huésped, exhibían marcadores y comportamiento fisiológico característico de las células Beta pancreáticas. Estas células expresaban insulina, GLUT2 y factores de transcripción típicos de la célula Beta. Además evidenciaron la secreción de insulina cuando estas células eran estimuladas con glucosa o exendin-4. Asimismo, exhibían fluctuaciones intracelulares de calcio, dependientes de glucosa, característico de la célula Beta. Los autores proponen como hipótesis que las células madre derivadas de médula ósea tienen la capacidad de diferenciarse directamente en células productoras de insulina. Lo mismo es propuesto por el grupo de Oh SH y col⁴¹.

El grupo de Hess³⁹ asevera que los niveles de glicemia mejoran cuando hay regeneración de tejido vascular intrapancreático (ductal y peri islotes de langerhans), por incremento de células endoteliales en el parénquima pancreático; y por un aumento de la oxigenación local, sería posible un mejor funcionamiento de las células Beta presentes o podría ocurrir que las células progenitoras de células Beta presentes en el páncreas, se diferenciaron a células Beta funcionantes. Contrastando esta hipótesis, Andreea Ianus y colaboradores plantean que la transdiferenciación es en esencia el mecanismo de mayor importancia. Bajo cualquier circunstancia existe un proceso regenerativo pancreático a partir de la utilización de células madre de médula ósea⁴².

La elevación de la población de células beta pancreáticas, posterior al trasplante autólogo de células madre de médula ósea, o el incremento en la tasa funcional de las preexistentes (las presentes antes de los trasplantes de CMMO) aumenta la producción de insulina endógena y esto lo ha evidenciado Fernández Viña⁴³, pionero en trasplante autólogo intraarterial (en arteria esplénica) de células madre de médula ósea, en pacientes diabéticos. Al respecto, Fernández Viña y col⁴³ no utilizan factor estimulante de colonias, contrariamente a lo realizado por Mespley y col⁴⁴, grupo que realiza el implante autólogo de células madre de MO por vía intraarterial pancreática, quienes previa extracción de médula ósea de cresta ilíaca postero superior, aplican factor estimulante de colonias vía subcutánea. Adicionalmente, Voltarelli y su equipo, también han comprobado un incremento en la producción endógena de insulina con la utilización de células madre adultas autólogas de sangre periférica (CMSP), obtenida a través de máquina de aféresis previa estimulación medular e inmunosupresión no mieloablativa^{45,46}.

Estos tres equipos, al medir los niveles de péptido C antes y después de la administración de células madre autólogas en pacientes diabéticos, han demostrado en la mayoría de los casos, un incremento de los niveles del péptido C (subproducto de la molécula de la preinsulina endógena), el cual es producido sólo por las células Beta del páncreas; simultáneamente se ha observado disminución en los re-

querimientos de insulina. Voltarelli y colaboradores^{46,47,48} reportan que un grupo significativo de pacientes han podido prescindir temporalmente (hasta dos años) del uso de insulina.

El trasplante autólogo de células madre de médula ósea ha sido utilizado con éxito en pacientes con enfermedad arterial periférica severa, la cual afecta a los pacientes con Diabetes. Varios grupos han demostrado la formación de nuevas redes de vasos arteriales y el cierre de úlceras en menor tiempo, así como, la recuperación de tejidos con compromiso circulatorio severo, mediante el uso de angiografía y de videocapilaroscopia, utilizando distintos protocolos que incluyen el trasplante autólogo de CMMO, ya sea vía intraarterial femoral⁴⁹ o por inyecciones intramusculares en los músculos gástricos^{50,51}.

Referencias

1. Contreras F, Jiménez S, García M. et al. Nuevos Aspectos en el Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2. AVFT. 2001; 20(1):6-26.
2. Bermúdez V, Cano C, Medina M. et al. Nuevas Opciones en el tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 1: Células Madre y Diabetes. AVFT. 2002;21(2):171-176.
3. Mathis D, Vence L, Benoist C. Beta-Cell death during progression to diabetes. Nature 2001; 414(6865):792-798.
4. Berna G, Leon-Quinto T, Ensenat-Waser R, Montanya E, Martin F, Soria B. Stem cells and diabetes. Biomed Pharmacother 2001; 55(4):206-212.
5. Prósper F. Trasplante Celular y terapia regenerativa con células madre. Nefrología. 2008;6:71-79.
6. Potten CS. Stem cells. San Diego CA-USA: Academic Press,1997;p.29-59.
7. Booth C, O'Shea JA, Potten CS. Maintenance of functional stem cells in isolated and culture adult intestinal epithelium. Exp Cell Res 1999;249:359-66.
8. Yin L, Sun M, Ilic Z, Leffert HL, Sue S. Derivation, characterization and phenotypic variation of hepatic progenitor cell lines isolated from adult rats. Hepatology 2002;35:315-24.
9. Becerra J, Andrades JA, Santamaría JA, Cifuentes M, Guerado E. Regeneración ósea, terapia celular e ingeniería tisular. Med Clin (Barc) 2001;116:23-34.
10. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca SD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science 1999;284:143-7.
11. Chiu RC, Zibaitis A, Kao RL. Cellular cardiomyoplasty: myocardial regeneration with satellite cell implantation. Ann Thorac Surg 1995;60:12-8.
12. Almeida-Porada G, Porada C, Zanjani ED. Adult stem cell plasticity and methods of detection. Rev Clin Exp Hematol 2001;5:26-41.
13. Lagasse E, Connors H, Al Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. Nat Med 2000;6:1229-34.
14. Mezey E, Chandross KL, Harta G, Maki RA, Mckercher SR. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow. Science 2000;290:1779-82.

15. Bjornson CR, Rietze RL, Reynolds BA, Magli MC, Vescovi AL. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science* 1999;283:534-7.
16. Ying Q-L, Nichols J, Evans EP, Smith AG. Changing potency by spontaneous fusion. *Nature* 2002; 416:545
17. Hernández Ramírez P. Medicina Regenerativa y Células Madre. Mecanismos de acción de las células madre adultas. *Rev. Cubana de hematología, inmunología y Med transf.* 2009; 25 (1):1-15.
18. David L. Stocum. *Regenerative Biology and Medicine*. Academic Press-USA. 2006.
19. MR. Allison, M. Brittan, MJ. Lovell, NA. Wright. Markers of adult tissue-based stem cells. *Handbook of experimental pharmacology*. 2006;174:185-227.
20. Takahisa Fujikawa, et al. Teratoma Formation Leads to Failure of Treatment for Type 1 Diabetes Using Embryonic Stem Cell-Derived Insulin-Producing Cells. *Am of Pathology*.2005; 166:1781-91.
21. Reubinoff Benjamin, et al. Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation in vitro. *Nature Biotechnology*. 2000; 18:399-404.
22. Contreras F, Rivera M, Vásquez J, De la Parte MA & Velasco M. Endothelial dysfunction in arterial hypertension. *J. of Human Hypertension*. 2000; (14)Suppl 1:S20-S25.
23. Sánchez M, Rodríguez R, Martín V. et al. Estrés y vitaminas antioxidantes en pacientes diabéticos Tipo 2. *AVFT*. 2008; 27(1): p.58-64.
24. Fadini GP et al. Significance of Endothelial Progenitor Cells in Subjects With Diabetes. *Diabetes Care*, 2007; 30:1305-1313.
25. Fadini GP et al. Number and Function of Endothelial Progenitor Cells as a Marker of Severity for Diabetic Vasculopathy. *Arterioscler Thromb, Vasc Biology* 2006; 26:2140-2146.
27. Loomans J.M et al. Endothelial Progenitor Cell Dysfunction. A novel concept in the Pathogenesis of Vascular Complications of Type 1 Diabetes. *Diabetes*. 2004; 53:195-199.
28. Fadini GP et al. Circulating Endothelial Progenitor Cells Are Reduced in Peripheral Vascular Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2005; 45:1449-1457.
29. Oren M. Tepper et al. Human Endothelial Progenitor Cells From Type II Diabetics Exhibit Impaired Proliferation, Adhesion, and Incorporation Into Vascular Structures. *Circulation* published online. 2002;106:2781-2786.
30. Turksen K. (Ed). *Adult Stem Cells*. Totowa, New Jersey: Humana Press; 2004.
31. Fadini GP et al. Potential manipulation of endothelial progenitor cells in diabetes and its complications. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2010;12:570-583.
32. Tongrong H, et al. Paracrine mitogenic effect of human endothelial progenitor cells: role of interleukin-8. *Am J Physiol*. 2005; 289:968-972.
33. Prósper F. Células madre adultas. *Cardiovascular Risk Factors*. 2004;13:11-18.
34. Herzong Erica L, et al. Plasticity of marrow-derived Stem Cells. *Blood* 2003;102:3483-93
35. Yuehua J, Balkrishna J, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*. 2002; 418:41-49.
36. Contreras F. Respuesta hemodinámica, endotelial y metabólica a la metoclopramida y dopamina en sujetos sanos, diabéticos tipo 2 e hipertensos. [Trabajo de Ascenso Académico]. Caracas, Venezuela: Universidad Central de Venezuela, Facultad de Medicina; 2010.
37. Simón A, Castro A y Juan CK. Avances en el conocimiento de la disfunción endotelial y su aplicación en la práctica clínica. *Rev Esp Cardiol* 2001; 54: 211-217.
38. Lechner A & Habener JF. Bone marrow Stem Cells find a path to the pancreas. *Nature Biotechnology*. 2003; 21(7):755-756.
39. Hess D, Li L, Martin M, Sakano S, Hill D, Strutt B et al. Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration. *Nat Biotechnol* 2003; 21: 763-770.
40. Ianus A, Holz GG, Theise ND, Mehboob A. Hussain In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion *J. Clin. Invest*. 2003;111(6):843-885.
41. Oh SH, Muzzonigro TM, Bae SH, LaPlante JM, Hatch HM, Petersen BE. Adult bone marrow-derived cells trans-differentiating into insulin-producing cells for the treatment of type I diabetes. *Lab Invest*. 2004;84: 607-617
42. Körbling M & Estrov Z. Adult Stem Cells for Tissue Repair. *A New Therapeutic Concept?* *N Engl J Med* 2003; 349:570-582.
43. Fernández-Viña R, Saslavsky J, Camozzi L, et al. Direct pancreas implant by selective catheterization of spleen artery of autologous adult mononuclear CD34+/CD38- cells to increase insulin and C-peptide in type I diabetic patients, Spring 2007 meeting of the Genetics Society, the British Society for Developmental Biology and the British Society of Cell Biology, 2007; Heriot-Watt University, Edinburgh.
44. Mesples A, Pretiñe B y Bellomo R. Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 1 con implante pancreático de células madre adultas autólogas. *Endocrinología y Nutrición*. 2007; 54(10):512-518.
45. Esmatjes E, Montaña X, Real Mi, et al. Regeneration of insulin production by autologous bone marrow blood autotransplantation in patients with type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2009; 53(4):786-789.
46. Barra C. & Voltarelli JC. Stem cell therapy for type 1 diabetes mellitus. *Diabetology & Metabolic Syndrome* 2009; 1:19
47. Voltarelli JC. et al. Autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type I Diabetes Mellitus. *JAMA*.2007; 297(14): 1568-1576.
48. Voltarelli JC. et al. C- Peptide levels and insulin independence following Autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type I Diabetes Mellitus. *JAMA*.2009;301(15):1573-1579.
49. Cobellis G, Silvestroni A, Lillo S, G Sica G, et al. Long-term effects of repeated autologous transplantation of bone marrow cells in patients affected by peripheral arterial disease. *Bone Marrow Transplantation*.2008; 42: 667-672.
50. Tateishi-Yuyama Eriko, Matsubara Hiroaki, et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by Autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *THE LANCET*. August 10, 2002.Vol 360: 427-435.
51. Kawamura Akio, Horie Takashi. et al. Prevention of Limb Amputation in Patients with Limbs Ulcers by Autologous Peripheral Blood Mononuclear Cell Implantation. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*. 2005, 9(1):59-63.