

Editorial

Editorial

La revista Diabetes Internacional publica su primer número del año 2010.

En este número aparecen un artículo titulado Diabetes mellitus, hiperinsulinomía y síndrome metabólico escrito por el profesor Roberto Manfredi titular de la división de enfermedades infecciosas de la Universidad de Bologna, Italia.

El Dr. David Rodríguez del Hospital Vargas escribe un artículo sobre la Retinopatía diabética, complicación muy frecuente de esta enfermedad.

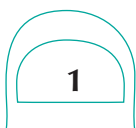
El tercer artículo del grupo del Dr. Valmore Bermúdez versa sobre el uso de las células madres en el tratamiento de la diabetes mellitus, terapéutica novedosa introducida en los últimos 7 años.

Editores en Jefe

Dr. Manuel Velasco

Dr. Valmore Bermúdez

Dr. Luis Fernando Chacín



Diabetes
Internacional

www.diabetesinternacional.com

Editores

Editores en Jefe

Velasco Manuel (Venezuela)
Bermúdez Valmore (Venezuela)
Chacín Álvarez Luis F. (Venezuela)

Editores Asociados

Soledad Briceño(Venezuela)
Carlos Feldstein(Argentina)
Roberto Manfredi(Italy)
Giuseppe Crippa(Italy)
Zafar Israili(USA)
Peter Bolli(Canada)
Luigi Cubeddu(USA)

Editores Ejecutivos

Freddy Contreras(Venezuela)
Luis Gaslonde(Venezuela)

Comité Editorial

Arciniegas Enrique (Venezuela)
Bolli Peter (Canadá)
Bustos Elizabeth (Venezuela)
Camejo Manuel (Venezuela)
Cordero Marilyn (Venezuela)
Cubeddu Luigi (USA)
Crippa Giuseppe (Italia)
De Sanctis Juan (Venezuela)
Escobar Edgardo (Chile)
Feldstein Carlos (Argentina)
Hernández Rafael (Venezuela)
Israili Zafar (Estados Unidos)
Lares Mary (Venezuela)
Levenson Jaime (Francia)
López Jaramillo Patricio (Colombia)
López Mora José (Venezuela)

Lucani Miguel (Venezuela)
Manfredi Roberto (Italia)
Mathison Yaira (Venezuela)
Marante Daniel (Venezuela)
Morales Eduardo (Venezuela)
Muci Rafael (Venezuela)
Obregón Oswaldo (Venezuela)
Palacios Anselmo (Venezuela)
Parra José (México)
Ruiz Miguel (Venezuela)
Salaverria Nancy (Venezuela)
Sanabria Tomas (Venezuela)
Silva Honorio (USA)
Stulin Irene (Venezuela)
Urbina Douglas (Venezuela)
Zanchetti Alberto (Italia)

Sumario

Volumen 2, N° 1, 2010

Editorial

Diabetes Mellitus, Hyperinsulinaemia and Metabolic Syndrome during HIV infection: a single-centre experience

Roberto Manfredi, Leonardo Calza.

Retinopatía diabética: más que una complicación microvascular

David J. Rodríguez Rodríguez

Células madre: fundamentos y experiencias de terapia celular

Valero Paola, Arraiz Naillet, Ealys López, Cecilia Acosta, Bermúdez Valmore, Manuel Velasco

COPYRIGHT

Derechos reservados. Queda prohibida la reproducción total o parcial de todo el material contenido en la revista sin el consentimiento por escrito de los editores.

Volumen 2, N° 1, 2010

Depósito Legal: pp200902DC3118

ISSN: 1856-965X

www.diabetesinternacional.com

Órgano Oficial de la Sociedad Interamericana de Diabetes. SID / Interamerican Society of Diabetes

Dirección: Escuela de Medicina José María Vargas

Cátedra de Farmacología, piso 3. Esq. Pirineos.

San José. Caracas-Venezuela. Telfs. 0212-5619871/0212-565.1079/ Cel. 0414-1361811

E-mail: manuel.veloscom@gmail.com / veloscom@cantv.net

E-mail: diabetesinternacional@gmail.com

Comercialización y Producción:

Felipe Alberto Espino

Teléfono: 0212-8811907/ 0416-8116195 / 0412-3634540

E-mail: felipeespino7@gmail.com

Diseño de portada y diagramación:

Mayra Gabriela Espino

Teléfono: 0412-922.25.68

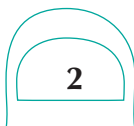
E-mail: mayraespino@gmail.com

1

4

8

15



Diabetes
Internacional

Instrucciones a los Autores

Alcance y Política Editorial

La Revista Diabetes Internacional es una publicación biomédica periódica, arbitrada, de aparición trimestral, destinada a promover la productividad científica de la comunidad nacional e internacional en el área de Diabetes y enfermedades relacionadas; la divulgación de artículos científicos y tecnológicos originales y artículos de revisión por invitación del Comité Editorial.

Está basada en la existencia de un Comité de Redacción, consistente en Editores en Jefe, Editores ejecutivos y Comité Editorial. Los manuscritos que publica pueden ser de autores nacionales o extranjeros, residentes o no en Venezuela, en castellano o en inglés (los resúmenes deben ser en inglés y castellano). Los manuscritos deben ser trabajos inéditos.

La Junta Directiva de la Revista no se hace responsable por los conceptos emitidos en los manuscritos. Los autores deben aceptar que sus manuscritos no se hayan sometidos o hayan publicados en otra revista. El manuscrito debe ir acompañado de una carta solicitud firmada por el autor principal y el resto de los autores responsables del mismo.

Forma de preparación de los manuscritos

Para la publicación de trabajos científicos en la Revista Diabetes Internacional, los mismos estarán de acuerdo con los requisitos originales para su publicación en Revistas Biomédicas, según el Comité Internacional de Editores de Revistas Biomédicas (Arch. Intern. Med. 2006;126(36):1-47), www.icmje.com. Además, los editores asumen que los autores de los artículos conocen y han aplicado en sus estudios la ética de experimentación (Declaración de Helsinki). A tales efectos, los manuscritos deben seguir las instrucciones siguientes:

1. Mecanografiar original a doble espacio en idioma español, papel bond blanco, 216 x 279 mm (tamaño carta) con márgenes por lo menos de 25 mm, en una sola cara del papel. Usar doble espacio en todo el original. Su longitud no debe exceder las 10 páginas, excluyendo el espacio destinado a figuras y leyendas (4-5) y tablas (4-5).

2. Cada uno de los componentes del original deberán comenzar en página aparte, en la secuencia siguiente:

a. Página del título.

b. Resumen y palabras claves.

c. Texto.

d. Agradecimientos.

e. Referencias.

f. Tablas: cada una de las tablas en páginas apartes, completas, con título y llamadas al pie de la tabla.

g. Para la leyenda de las ilustraciones: use una hoja de papel distinta para comenzar cada sección. Enumere las páginas correlativamente empezando por el título. El número de la página deberá colocarse en el ángulo superior izquierdo de la misma.

3. La página del título deberá contener:

3.1. Título del artículo, conciso pero informativo.

a. Corto encabezamiento de página, no mayor de cuarenta caracteres (contando letras y espacios) como pie de página, en la página del título con su respectiva identificación.

b. Primer nombre de pila, segundo nombre de pila y apellido (con una llamada para identificar al pie de página el más alto grado académico que ostenta y lugar actual donde desempeña sus tareas el(los) autores).

c. El nombre del departamento (s) o instituciones a quienes se les atribuye el trabajo.

d. Nombre y dirección electrónica del autor a quien se le puede solicitar separatas o aclaratorias en relación con el manuscrito.

e. La fuente que ha permitido auspiciar con ayuda económica: equipos, medicamentos o todo el conjunto.

f. Debe colocarse la fecha en la cual fue consignado el manuscrito para la publicación.

4. La segunda página contiene un resumen en español y su versión en inglés, cada uno de los cuales tendrá un máximo de 150 palabras. En ambos textos se condensan: propósitos de la investigación, estudio, método empleado, resultados (datos específicos, significados estadísticos si fuese posible) y conclusiones. Favor hacer énfasis en los aspectos nuevos e importantes del estudio o de las observaciones. Inmediatamente después del resumen, proporcionar o identificar como tales: 3-10 palabras claves o frases cortas que ayuden a los indexadores en la construcción de índices cruzados de su artículo y que puedan publicarse con el resumen, utilice los términos del encabezamiento temático (Medical Subject Heading) del Index Medicus, cuando sea posible.

5. En cuanto al texto, generalmente debe dividirse en: introducción, materiales y métodos, resultados y discusión.

6. Agradecimientos, sólo a las personas que han hecho contribuciones reales al estudio.

7. Las referencias bibliográficas serán individualizadas por números arábigos, ordenados según su aparición en el texto. La lista de referencias bibliográficas llevarán por título "Referencias Bibliográficas" y su ordenamiento será según su orden de aparición en el texto.

Las citas de los trabajos consultados seguirán los requisitos de uniformidad para manuscritos presentados a revistas Biomédicas, versión publicada en: Ann Intern Med. 2006; 126(36): 1-47, www.icmje.com. No se aceptarán trabajos que no se ajusten a las normas.

8. Tablas: En hoja aparte cada tabla, mecanografiada a doble espacio; no presentar tablas fotográficas; enumere las tablas correlativamente y proporcione un título breve para cada una; dé a cada columna un encabezamiento corto o abreviado; coloque material explicativo en notas al pie de la tabla y no en el encabezamiento; explique en notas al pie de la tabla las abreviaturas no estandarizadas usadas en cada tabla; identifique claramente las medidas estadísticas de las variables tales como desviación estándar y error estándar de la medida; no use líneas horizontales ni verticales: citar cada tabla en orden correlativo dentro del texto; citar la fuente de información al pie de la tabla si ésta no es original.

9. Ilustraciones: Deben ser de buena calidad; entregarlas separadas; las fotos, en papel brillante con fondo blanco, generalmente 9 x 12 cm. Las fotografías de especímenes anatómicos, o las de lesiones o de personas, deberán tener suficiente nitidez como para identificar claramente todos los detalles importantes. En caso de tratarse de fotos en colores, los gastos de su impresión correrán a cargo del autor(s) del trabajo. Lo mismo sucederá con las figuras que superen el número de cuatro.

Todas las figuras deberán llevar un rótulo engomado en el reverso y en la parte superior de la ilustración indicando número de la figura, apellidos y nombres de los autores. No escribir en la parte posterior de la figura. Si usa fotografía de personas, trate de que ésta no sea identificable o acompañarla de autorización escrita de la misma. Las leyendas de las ilustraciones deben ser mecanografiadas a doble espacio en página aparte y usar el número que corresponde a cada ilustración. Cuando se usen símbolos y fechas, números o letras para identificar partes en las ilustraciones, identifíquelas y explíquelas claramente cada una en la leyenda. Si se trata de microfotografía, explique la escala e identifique el método de coloración.

10. Envíe un original y dos copias impresas en un sobre de papel grueso, incluyendo copias fotográficas y figuras entre cartones para evitar que se doblen, simultáneamente envíe una versión electrónica en CD o a través del E-mail: diabetesinternacional@gmail.com, indicando el programa de archivo. Las fotografías deben venir en sobre aparte. Los originales deben acompañarse de una carta de presentación del autor en la que se responsabiliza de la correspondencia en relación a los originales. En ella debe declarar que conoce los originales y han sido aprobados por todos los autores; el tipo de artículo presentado, información sobre la no publicación anterior en otra revista, congresos donde ha sido presentado y si se ha usado como trabajo de ascenso.

Acuerdo de asumir los costos de su impresión en caso de fotos a color, autorización para reproducir el material ya publicado o ilustraciones que identifiquen a personas.

11. Los artículos a publicarse, pueden ser: originales, revisiones, casos clínicos, y cartas al editor.

12. Cuando se refiere a originales, queda entendido que no se enviará artículo sobre un trabajo que haya sido publicado o que haya sido aceptado para su publicación en otra revista.

13. Todos los trabajos serán consultados por lo menos por dos árbitros en la especialidad respectiva.

14. La Revista Diabetes Internacional, no se hace solidaria con las opiniones personales expresadas por los autores en sus trabajos, ni se responsabiliza por el estado en el que está redactado cada texto.

15. Todos los aspectos no previstos por el presente reglamento serán resueltos por la Junta Directiva de la Revista.

16. La revista apoya las políticas para registro de ensayos clínicos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y del International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), reconociendo la importancia de esas iniciativas para el registro y divulgación internacional de Información sobre estudios clínicos, en acceso abierto. En consecuencia, solamente se aceptarán para publicación, a partir de 2007, los artículos de investigaciones clínicas que hayan recibido un número de identificación en uno de los Registros de Ensayo Clínicos validados por los criterios establecidos por OMS e ICMJE, cuyas direcciones están disponibles en el sitio del ICMJE. El número de Identificación se deberá registrar al final del resumen.

Diabetes Mellitus,

Hyperinsulinaemia and Metabolic Syndrome during HIV infection: a single-centre experience

Running headline: diabetes mellitus and metabolic syndrome during HIV infection

Authors: Roberto Manfredi, MD, Leonardo Calza, MD

Department of Internal Medicine, Geriatrics and Nephrologic Diseases, Section of Infectious Diseases, S.Orsola-Malpighi Hospital, "Alma Mater Studiorum" University of Bologna, Italy

Conflicts of interests, fundings, sponsorship, acknowledgement: none

Correspondence:

Prof. Roberto Manfredi, MD

Division of Infectious Diseases, S. Orsola-Malpighi Hospital "Alma Mater Studiorum" University of Bologna
Via Massarenti 11. I-40138 Bologna, Italy

Telephone: +39 051 6363355 Telefax: +39 051 343500 E-mail: Roberto.manfredi@unibo.it

Recibido: 03/02/2010

Aceptado: 03/05/2010

Summary

Metabolic complications in HIV-infected patients treated with antiretroviral combinations may include insulin resistance, diabetes mellitus, dyslipidaemia and lipodystrophy syndrome. Metabolic syndrome is an aggregation of central obesity and glucose and lipid metabolism alterations that confers an increased risk of cardiovascular disease, and it strictly reproduces the antiretroviral therapy (HAART)-associated metabolic and morphologic abnormalities. In this study we report the prevalence of diabetes mellitus, hyperinsulinaemia, and metabolic syndrome among 755 adult patients with HIV infection referring to our outpatients' unit.

Key words: Diabetes mellitus, HIV, infection, hyperinsulinaemia, metabolic syndrome.

Introduction

Mortality and morbidity associated with human immunodeficiency virus (HIV) infection have dramatically declined since the advent of highly active antiretroviral therapy (HAART). However, a wide spectrum of metabolic complications (including insulin resistance, diabetes mellitus, dyslipidaemia, and fat redistribution syndrome) has emerged in recent years, leading to an increased risk of cardiovascular disease¹⁻³.

The clustering of these metabolic and morphologic abnormalities has a considerable overlap with metabolic syndrome, which is a significant and multifaceted risk factor for cardiovascular disease in the general population. Metabolic syndrome is an association of disturbances in glucose and lipid metabolism with central obesity and arterial hypertension, and approximately affects 20-30% of the general population^{4,5}. A better understanding of epidemiological and pathogenetic correlations between HIV infection, HAART and metabolic syndrome might allow for more effective clinical management of these patients.

Patients and methods

All the consecutive HIV-positive patients offering at our tertiary care hospital for routine clinical and laboratory follow-up between July and December 2009, were enrolled into the study and evaluated for the prevalence of hyperinsulinaemia, diabetes mellitus, and metabolic syndrome. Biochemical laboratory analyses included serum levels of glucose, insulin, triglycerides, total cholesterol, high-density lipoprotein (HDL)-cholesterol, and low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol. Serum glucose, insulin, and lipid levels were measured after a 12-hour overnight fast. Insulin level was not assessed in patients taking insulin therapy.

Diagnosis of type 2 diabetes mellitus and disorders of glucose metabolism was defined using the American Diabetes Association criteria⁶. Diabetes mellitus was diagnosed by a fasting glucose ≥ 126 mg/dL or a non-fasting glucose > 200 mg/dL (in at least two blood tests) in the absence of symptoms of diabetes. DM was also diagnosed in patients taking insulin or oral anti-diabetic drugs. Impaired fasting glucose (IFG) was diagnosed by a fasting glucose ranging from 100 to 125 mg/dL (in at least two blood tests). Hyperinsulinaemia was diagnosed by a fasting insulin level ≥ 25 ng/mL (in at least two blood tests), but insulin assessment was not performed in patients with diagnosis of diabetes mellitus. Patients with a glucose or insulin level above the diagnostic value for hyperinsulinaemia, diabetes mellitus or IFG underwent a second blood test to confirm the diagnosis. Lipodystrophy was determined by physical examination which recorded fat loss and/or fat accumulation (in the face, neck, dorso-cervical region, arms, breasts, abdomen, buttocks, and legs), or mixed form. Metabolic syndrome was defined using ATP-III criteria⁷ and diagnosis required three or more of the following: (a) waist circumference > 88 cm in women and > 102 cm in men; (b) systolic blood pressure > 130 mmHg and/or diastolic blood pressure > 85 mmHg; (c) triglycerides ≥ 150 mg/dL; (d) HDL cholesterol < 40 mg/dL; (e) glucose ≥ 110 mg/dL.

Data are expressed by mean values \pm standard deviation (SD). Statistical evaluation was carried out by Student t test, Mantel-Haenszel chi-square test, or Fisher exact test (where appropriate), with significance levels placed at $p < 0.05$.

Results

A total of 755 patients were enrolled into the study, and their epidemiological, clinical, and laboratory characteristics are summarized in Table 1. Diabetes mellitus was diagnosed in 34 subjects out of 755 (4.5%), while IFG was found in 71 (9.4%): then 105 subjects (13.9%) showed a fasting glucose concentration persistently above the nor-

mal value. Hyperinsulinaemia was diagnosed in 86 out of 721 non-diabetic patients (11.9%).

A diagnosis of frank diabetes mellitus was made by confirmed fasting glucose level higher ≥ 126 mg/dL in 22 out of 34 diabetic patients (64.7%) and by current anti-diabetic therapy in 12 (35.3%). Concomitant anti-diabetic drugs included insulin in 5 cases and oral agents (metformin, repaglinide or rosiglitazone) in the remaining 7 cases. Diabetic patients were characterized by a significantly higher mean age, and a significantly greater prevalence of black race in comparison with non-diabetic subjects. Moreover, duration of antiretroviral therapy, prevalence of lipodystrophy syndrome, and mean body mass index were significantly higher among diabetic subjects, in comparison with patients without diabetes. On the other hand, no significant differences regarding other demographic features, smoking status, stage of HIV infection, immuno-virological parameters, current antiretroviral therapy, chronic HCV or HBV infection, serum lipid values, blood pressure, and waist circumference were observed between diabetic and non-diabetic individuals (Table 1).

Among patients with hyperinsulinaemia in comparison with those without hyperinsulinaemia the following variables reached a statistical significance: higher mean age (46 vs. 35 years; $p = 0.021$), higher prevalence of lipodystrophy syndrome (59% vs. 36%; $p < 0.001$), higher prevalence of chronic HCV infection (42% vs. 28%; $p = 0.042$), higher mean concentration of triglycerides (268 mg/dL vs. 211 mg/dL; $p = 0.032$), and higher body mass index (26.3 Kg/m² vs. 22.5 Kg/m²; $p = 0.038$).

Metabolic syndrome was diagnosed in 69 out of 755 enrolled patients (9.1%). With regard to diagnostic criteria of metabolic syndrome, among these 69 subjects hypertriglyceridaemia was diagnosed in 63 patients (91%), low HDL cholesterol level in 58 (84%), hyperglycaemia in 45 (65%), high waist circumference in 43 (62%), and high systolic and/or diastolic blood pressure in 40 (58%). Subjects with metabolic syndrome showed the following statistically significant differences in comparison with subjects without metabolic syndrome: higher mean age, greater prevalence of black race, higher prevalence of lipodystrophy syndrome, longer mean duration of antiretroviral therapy, higher mean concentrations of glucose, total cholesterol and triglycerides, lower mean concentration of HDL cholesterol, higher mean systolic blood pressure, greater mean waist circumference and body mass index, and higher insulinaemia. On the other hand, no significant differences between subjects with and those without metabolic syndrome were registered with regard to other demographic features, smoking status, stage of HIV infection, immuno-virological parameters, current antiretroviral therapy, and chronic HCV or HBV infection (Table 1).

Table 1. Epidemiological, clinical, laboratory, and therapeutic features of the 755 patients enrolled in our study.

Baseline characteristics	Diabetes		p value	Metabolic syndrome		p value
	Not present (n=721)	Present (n=34)		Not present (n=686)	Present (n=69)	
Males [No. (%)]	475 (66)	25 (73)	0.88	445 (65)	55 (80)	0.59
Mean age [years (SD)]	37 (11)	48 (13)	<0.001	36 (11)	47 (11)	<0.001
Race [No. (%)]:						
- white	701 (97)	30 (88)	0.67	671 (98)	60 (87)	0.62
- black	17 (2.6)	4 (12)	0.031	12 (1.7)	9 (13)	0.024
- other	3 (0.4)	0	0.87	3 (0.4)	0	0.65
Current smokers [No. (%)]	255 (35)	8 (23)	0.59	239 (35)	24 (35)	0.88
Mean CD4 lymphocyte count [cells/mm ³ (SD)]	437 (231)	486 (255)	0.72	449 (251)	502 (288)	0.71
Patients with plasma HIV RNA <50 copies/mL [No. (%)]	605 (84)	29 (85)	0.91	583 (85)	51 (74)	0.66
Mean plasma HIV RNA in patients with detectable viremia [log ₁₀ copies/mL (SD)]	4.32 (1.15)	4.17 (1.22)	0.45	4.09 (1.08)	4.21 (1.17)	0.72
HIV stage [No. (%)]						
- asymptomatic	491 (68)	20 (59)	0.86	477 (70)	34 (49)	0.63
- symptomatic non-AIDS	205 (28)	9 (26)	0.82	185 (27)	29 (42)	0.58
- AIDS	25 (3.5)	5 (15)	0.54	24 (3.5)	6 (8.7)	0.75
Patients naïve to antiretroviral therapy [No. (%)]	96 (13)	3 (8.8)	0.52	79 (12)	20 (30)	0.58
Patients treated with [No. (%)]:						
- NRTIs + NNRTI	312 (43)	16 (47)	0.69	309 (45)	19 (28)	0.41
- NRTIs + PI	298 (41)	13 (38)	0.63	284 (41)	27 (39)	0.85
- Others	15 (2.4)	2 (6.4)	0.56	14 (2.3)	3 (4.3)	0.71
Mean duration of antiretroviral therapy [years (SD)]	5.1 (1.2)	7.2 (1.9)	0.031	5.3 (1.4)	7.5 (2.2)	0.028
Patients with lipodystrophy syndrome [No. (%)]:						
- fat loss	288 (40)	18 (53)	0.041	255 (37)	51 (74)	0.022
- fat accumulation	61 (8.4)	6 (18)	0.025	55 (8)	12 (17)	0.041
- mixed form	44 (6.1)	4 (12)	0.037	30 (4.4)	18 (26)	0.028
- mixed form	183 (25)	8 (24)	0.82	170 (25)	21 (30)	0.59
Patients with chronic HCV infection [No. (%)]:	218 (30)	12 (35)	0.61	207 (30)	23 (33)	0.71
Patients with chronic HBV infection [No. (%)]:	35 (4.8)	1 (2.9)	0.69	31 (4.5)	5 (7.2)	0.62
Mean total cholesterol [mg/dL (SD)]	205 (82)	196 (75)	0.71	194 (75)	241 (97)	0.039
Mean HDL cholesterol [mg/dL (SD)]	41 (11)	38 (10)	0.74	48 (13)	32 (11)	0.012
Mean triglycerides [mg/dL (SD)]	225 (103)	241 (119)	0.59	218 (97)	286 (112)	<0.001
Mean glucose [mg/dL (SD)]	84 (34)	131 (55)	<0.001	92 (45)	119 (47)	0.018
Mean systolic blood pressure [mmHg (SD)]	116 (19)	121 (21)	0.72	118 (21)	137 (26)	0.004
Mean diastolic blood pressure [mmHg (SD)]	73 (10)	76 (10)	0.89	77 (12)	85 (14)	0.45
Mean waist circumference [cm (SD)]	83 (16)	87 (19)	0.62	84 (9.2)	98 (12)	0.003
Mean BMI [Kg/m ² (SD)]	23.1 (4.5)	26.5 (5.2)	<0.001	23.4 (5.5)	28.7 (7.4)	0.004
Mean insulin [ng/mL (SD)]	13.6 (6.2)	n.a.	n.a.	15.2 (5.9)	38.5 (12.3)	<0.001

SD, standard deviation; NRTIs, nucleoside reverse transcriptase inhibitors; NNRTIs, non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors; PIs, protease inhibitors; n.a., not applicable; HCV, hepatitis C virus; HBV, hepatitis B virus

Discussi Discussion

The prevalence of diabetes mellitus in HIV-infected patients is very variable in different retrospective and prospective studies, and usually ranges from 2% to 14%, while prevalence of all glucose metabolism disorders (including diabetes mellitus, impaired fasting glucose, and impaired glucose tolerance) ranges from 25% to 35%⁷. Incidence

of diabetes mellitus in cohort studies was found to be significantly associated with previous or current antiretroviral therapy (and particularly with exposure to zidovudine, stavudine or protease inhibitors), presence of lipodystrophy, central obesity, immunological status, chronic hepatitis C, increasing age, and black or Asian ethnicity⁸⁻¹³.

At the same time, prevalence of metabolic syndrome in HIV-infected subjects receiving HAART is unclear, ranging from 8% to 25%. Risk factors for metabolic syndrome include body mass index, lipodystrophy syndrome, past or present use of nucleoside analogues (such as stavudine or didanosine) or protease inhibitors, HIV viral load, and serum inflammatory markers^{7,14-16}, and the relative risk of developing diabetes mellitus was significantly increased (4-fold to 9-fold) in subjects suffering from metabolic syndrome^{7,14}. Results of our study were in agreement with the literature data. Prevalence of diabetes mellitus, hyperinsulinaemia and metabolic syndrome among our HIV-infected patients was 4.5%, 11.9% and 9.1%, and a longer duration of antiretroviral therapy and presence of lipodystrophy were significantly associated with both diabetes mellitus and metabolic syndrome.

Further prospective studies are requested in order to determine whether the presence of metabolic syndrome in HIV-positive population produces a multiplicative increase in cardiovascular risk above and beyond the additive risks of its components.

Referenzen

1. DAD Study Group. Class of antiretroviral drugs and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2007; 356:1723-1735.
2. Triant VA, Lee H, Hadigan C, Grinspoon SK. Increased acute myocardial infarction rates and cardiovascular risk factors among patients with human immunodeficiency virus disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:2506-2512.
3. DAD Study Group. Use of nucleoside reverse transcriptase inhibitors and risk of myocardial infarction in HIV-infected patients enrolled in the D:A:D study: a multi-cohort collaboration. *Lancet* 2008; 371:1417-1426.
4. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA* 2002; 287:356-359.
5. Zidek W, Naditch-Brulé L, Perlini S, Farsang C, Kjeldsen SE. Blood pressure control and components of the metabolic syndrome: the GOOD survey. *Cardiovasc Diabetol* 2009; 8: 51.
6. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2006; 29(Suppl 1):S43-S48.
7. Grundy SM, Cleeman JJ, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Statement. *Circulation* 2005; 112:2735-2752.
8. Carr A, Samaras K, Thorisdottir A, Kaufmann GR, Chisholm DJ, Cooper DA. Diagnosis, prediction and natural course of HIV protease inhibitor-induced lipodystrophy, hyperlipidaemia and diabetes mellitus. *Lancet* 1999; 353:2094-2099.
9. De Wit S, Sabin CA, Weber R, Worm SW, Reiss P, Cazanave C, et al. Incidence and risk factors for new-onset diabetes in HIV-infected patients: the data collection on adverse events of anti-HIV drugs (DAD) study. *Diabetes Care* 2008; 31:1224-1229.
10. Hadigan C, Meigs JB, Corcoran C, Rietschel P, Piecuch S, Basgoz N, et al. Metabolic abnormalities and cardiovascular disease risk factors in adults with human immunodeficiency virus infection and lipodystrophy. *Clin Infect Dis* 2001; 32:130-139.
11. Calza L, Manfredi R, Chiodo F. Insulin resistance and diabetes mellitus in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy. *Metab Syndr Relat Disord* 2004; 2:241-250.
12. Ledergerber B, Furrer H, Rickenbach M, Lehmann R, Elzi L, Hirschel B, et al. Factors associated with the incidence of type 2 diabetes mellitus in HIV-infected participants in the Swiss HIV Cohort Study. *Clin Infect Dis* 2007; 45:111-119.
13. Butt AA, McGinnis K, Rodriguez-Barradas MC, Crystal S, Simberkoff M, Goetz MB, et al. HIV infection and the risk of diabetes mellitus. *AIDS* 2009; 23:1227-1234.
14. Samaras K, Wand H, Law M, Emery S, Cooper D, Carr A. Prevalence of metabolic syndrome in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy using International Diabetes Foundation and Adult Treatment Panel III criteria. *Diabetes Care* 2007; 30:113-119.
15. Wand H, Calmy A, Carey DL, Samaras K, Carr A, Law MG, et al. Metabolic syndrome, cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus after initiation of antiretroviral therapy in HIV infection. *AIDS* 2007; 21:2445-2453.
16. Palacios R, Santos J, Gonzalez M, Ruiz J, Marquez M. Incidence and prevalence of the metabolic syndrome in a cohort of naive HIV-infected patients: prospective analysis at 48 weeks of highly active antiretroviral therapy. *Int J STD AIDS* 2007; 18:184-187.

Retinopatía diabética:

más que una complicación microvascular

David J. Rodríguez Rodríguez*

*Médico Internista. Profesor Asistente de la Cátedra de Clínica Médica "B" de la Escuela de Medicina "J. M. Vargas" de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela. Caracas. Venezuela.

E-mail: davidrodriguez63@gmail.com

Recibido: 11/11 2009

Aceptado: 04/04/2010

Resumen

La retinopatía diabética (RD) es la causa más frecuente de nuevos casos de ceguera en la población adulta. En la actualidad, se tiende a considerar a la RD como el resultado de la neurodegeneración retiniana y de las complicaciones microvasculares. Adicionalmente, los trastornos metabólicos sistémicos y cardiovasculares juegan un importante papel en el desarrollo y la progresión de la RD y en especial, del edema macular (EM). Cuando se consideran en conjunto los cambios retinianos y los sistémicos, nos encontramos frente a un cuadro de inflamación crónica. Gracias a estos nuevos hallazgos en la fisiopatología de la RD se han venido desarrollando nuevas intervenciones terapéuticas para prevenir o retrasar su aparición, así como para tratar de reducir el gran número de pacientes con pérdida de la visión.

Palabras claves: retinopatía diabética, edema macular, neurodegeneración retiniana, inflamación crónica, pérdida de la visión.

Abstract

The diabetic retinopathy (DR) is the most frequent cause of new cases of blindness in the adult population. Currently, it tends to consider to the DR as the result of the retinal neurodegeneration and of the microvascular complications. Additionally, systemic metabolic and cardiovascular disorders play an important role in the development and progression of the DR and especially, of the macular edema (ME). When retinal and systemic changes are considered as a whole, we find us set against a picture of chronic inflammation. Thanks to these new finds in the pathophysiology of the DR new therapeutic interventions have been developed to prevent or to delay the onset of DR, as well as for try to reduce the great number of patients with loss of vision.

Keywords: diabetic retinopathy, macular edema, retinal neurodegeneration, chronic inflammation, loss of vision.

Introducción

La diabetes mellitus (DM) constituye una enfermedad metabólica producida por la deficiencia total o parcial de secreción de insulina, la resistencia de los tejidos periféricos a la acción de esta hormona o ambos, que cursa con cifras elevadas de glicemia¹.

Para la Federación Internacional de Diabetes (IDF), en el año 2006 se calculaban 246 millones de personas con DM alrededor del mundo, constituyendo un 6% de la población mundial entre 20 a 79 años. Las proyecciones para el año 2025 consideran que estas cifras aumentarán

a unos 380 millones de personas con DM, representando una prevalencia del 7,3%. En el área de Sur y Centroamérica, para el 2006, se estimaban unos 16,2 millones de personas con DM con edades entre 20 a 79 años (prevalencia=6,0%) y se proyecta que este número se duplique para el año 2025 (32,7 millones, prevalencia=9,0%)².

Las estimaciones de otras organizaciones como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) no difieren mucho de las de la IDF. La OMS considera que para el 2030

existirán 366 millones de personas con DM a nivel mundial y 32,96 millones en la región de Latinoamérica y el Caribe³. Para la OPS, el número de personas con DM en América Latina y el Caribe para el año 2025 será de aproximadamente 40 millones⁴.

Ya desde el año 1829, cuando el Dr. José María Vargas hizo la primera descripción de un caso de DM en Venezuela⁵, se ha mostrado un gran interés por esta patología en nuestro medio. Pero a pesar de ello, la información de la morbilidad de DM y sus complicaciones en el país no representa la verdadera dimensión de la situación de la DM en Venezuela⁶. La OPS estimaba la prevalencia de DM en nuestro país en el año 2000 entre 5,1% y 6,0% y la considera la segunda causa de morbilidad en la población venezolana mayor o igual a 60 años. La vigilancia epidemiológica de la DM se dificulta por la existencia de muchos casos en etapas asintomáticas o subclínicas^{4,7}. Para el año 2006, la DM representó la sexta causa de mortalidad general y en el grupo etario de 45 a 64 años constituyó la tercera⁸.

La retinopatía diabética (RD) es la causa más frecuente de nuevos casos de ceguera en la población adulta de 20 a 74 años. Durante las dos primeras décadas de la enfermedad, casi todos los pacientes con DM tipo 1 y más del 60% de los diabéticos tipo 2 presentan retinopatía. En el Estudio Epidemiológico de Retinopatía Diabética de Wisconsin (WESDR), 3,6% de los pacientes menores de 30 años (DM tipo 1) y 1,6% de los mayores de 30 años (DM tipo 2) presentaban ceguera legal. En el grupo de pacientes más jóvenes la causa de la ceguera fue la RD en un 86% de los casos y en el grupo de los mayores la RD se involucró en la tercera parte de los casos de ceguera⁹.

Clasificación de la retinopatía diabética:

Al realizar la oftalmoscopia directa con dilatación pupilar podemos encontrar tres formas de presentación de la RD, que son: no proliferativa (RDNP), proliferativa (RDP) y edema macular (EM)¹⁰.

En la RDNP, las alteraciones que se presentan no pasan de la membrana limitante interna, están confinadas a la retina. Se caracteriza por presentar microaneurismas (Figura 1), hemorragias intraretinianas profundas, edema retiniano, exudados duros (Figura 2), "rosarios venosos" (dilataciones y cambios de las paredes venosas) (Figura 3), anomalías intraretinianas microvasculares (IRMA) (Figura 4), ocasionalmente, microinfartos retinianos que se expresan como exudados blandos, cambios arteriolas y zonas de bloqueo capilar.

Figura 1. Retinopatía diabética: Microaneurismas



Figura 2. Retinopatía diabética: Hemorragias profundas y superficiales, exudados duros y blandos



Figura 3. Retinopatía diabética: "Rosarios venosos"



Figura 4. Retinopatía diabética: Anomalías intraretinianas microvasculares (IRMA)



El elemento más importante y que define la RDP es la neovascularización (Figura 5). La isquemia retiniana producida por la oclusión vascular lleva a la formación de nuevos vasos con características muy particulares. Estos neovasos son delgados canales con endotelio, carentes de contractilidad, muy frágiles y sin barrera hemato-retiniana, por lo que se pueden romper y filtrar componentes de la sangre al espacio intersticial de la retina. También, la isquemia retiniana libera factores bioquímicos que estimulan la formación de tejido colágeno fibroso que supera la membrana limitante interna, pudiendo producir tracción y desprendimiento retiniano. Toda esta "proliferación extraretiniana" se acompaña de edema tisular, hemorragias vítreas (Figura 6) o preretinianas (Figura 7), además del desprendimiento de retina (Figura 8). En las formas avanzadas de RDP los neovasos pueden dificultar el drenaje del humor acuoso, produciendo glaucoma de muy mal pronóstico.

El EM es la causa más común de ceguera en los pacientes diabéticos y está presente tanto en la RDNP como en la RDP (Figura 9). La microangiopatía que se observa en la DM aumenta la permeabilidad capilar, produciendo salida de líquido y engrosamiento de la retina cercana a los vasos filtrantes. Dependiendo del compromiso de la fovea centralis, el EM se clasifica en Clínicamente Significativo, si la agudeza visual está disminuída o Clínicamente No significativo, cuando la visión es normal.

Figura 5. Retinopatía diabética proliferativa: Neovascularización

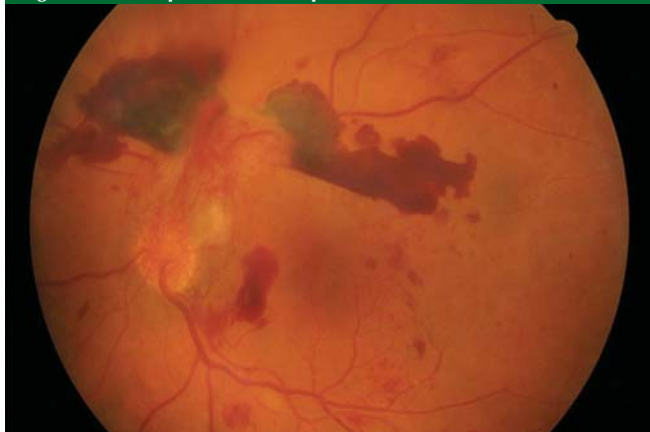


Figura 6. Retinopatía diabética: Hemorragia vítrea

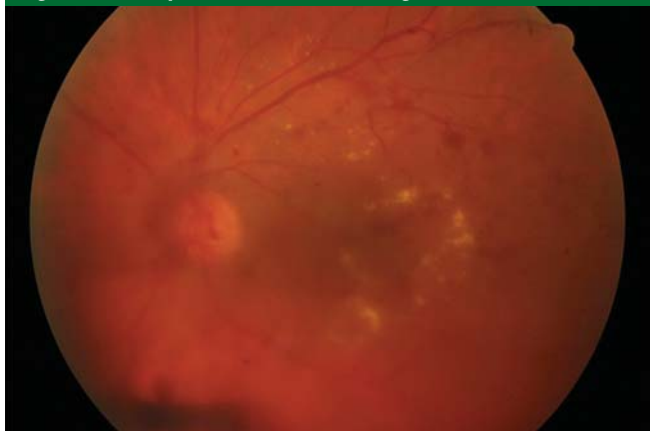


Figura 7. Retinopatía diabética: Hemorragia preretiniana

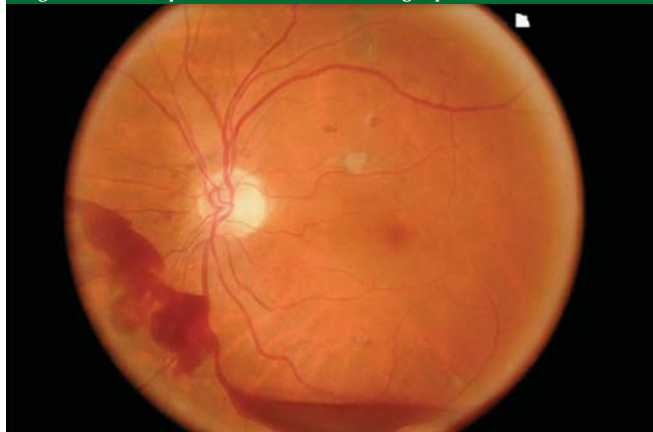


Figura 8. Retinopatía diabética: Desprendimiento de retina



Figura 9. Retinopatía diabética: Edema macular



De acuerdo a los criterios de la escala de severidad internacional de retinopatía y edema macular diabético modificada del "Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group" (ETDRSRG)¹¹, podemos clasificar la RD y el EM de la siguiente forma (Tablas 1 y 2):

Tabla 1. Escala internacional de severidad de la retinopatía diabética (RD)	
Nivel de severidad propuesto	Hallazgos a la oftalmoscopia directa con dilatación pupilar
Ausencia de RD aparente	Sin alteraciones
RD no proliferativa leve (Figura 10)	Sólo microaneurismas
RD no proliferativa moderada (Figura 11)	Más que en la leve pero menos que en la severa
RD no proliferativa severa (Figura 12)	Cualquiera de los siguientes: 20 ó más hemorragias intraretinianas en cada uno de los cuatro cuadrantes. Deformidades venosas evidentes en al menos dos cuadrantes. IRMAs en al menos un cuadrante, sin neovascularización.
RD proliferativa (Figura 5)	Uno o más de los siguientes: Neovascularización Hemorragia pre-retiniana o vítrea

IRMA = anomalías intraretinianas microvasculares

Tabla 2. Escala internacional de severidad del edema macular diabético (EMD):	
Nivel de severidad propuesto	Hallazgos a la oftalmoscopia directa con dilatación pupilar
Ausencia de EMD	No hay aumento de grosor de la retina o exudados duros en el polo posterior
Presencia de EMD	Hay aumento de grosor de la retina o exudados duros en el polo posterior
Si hay EMD, se puede clasificar de la siguiente forma:	
Nivel de severidad propuesto	Hallazgos a la oftalmoscopia directa con dilatación pupilar*
EMD leve	Cierto grado de aumento de grosor de la retina o la presencia de exudados duros en el polo posterior, pero distantes del área macular
EMD moderado	Aumento de grosor de la retina o la presencia de exudados duros cerca del área macular, pero sin involucrar el centro de la mácula
EMD severo	Aumento de grosor de la retina o exudados duros en el centro de la mácula

*Los exudados duros son signos de edema macular previo o actual. EMD se define como el aumento de grosor de la retina y se requiere de una evaluación tridimensional de la misma, que se puede hacer a través de la pupila dilatada mediante una biomicroscopia con lámpara de hendidura y/o fotografía estereoscópica del fondo del ojo.

Retinopatía diabética y neurodegeneración retiniana:

La disfunción microvascular de la retina en la DM, como mencionamos anteriormente, se expresa clínicamente por hemorragias, microaneurismas, exudados, edema macular, oclusión capilar y neovascularización. Estos hallazgos son detectables oftalmoscópicamente debido al contraste de la sangre y los exudados lipídicos sobre la retina transparente. Por todos estos elementos se ha asumido que la RD es solamente una alteración microvascular. En la actualidad, se tiende a considerar que la RD es el resultado de la neurodegeneración retiniana y de las complicaciones microvasculares. Adicionalmente, los trastornos metabólicos sistémicos y cardiovasculares

juegan un importante papel en el desarrollo y la progresión de la RD y en especial, del EM. Cuando se consideran en conjunto los cambios retinianos y los sistémicos, nos encontramos frente a un cuadro de inflamación crónica^{12,13,14}.

Para poder entender mejor el término neurodegeneración es importante revisar cómo está formada la retina (Figura 13) y describir los cambios que se observan en las diferentes estructuras retinianas en la DM. En la retina encontramos cuatro grandes grupos celulares: vasculares, macrogliales, neuronas y microgliales.

Figura 10. Retinopatía diabética no proliferativa leve



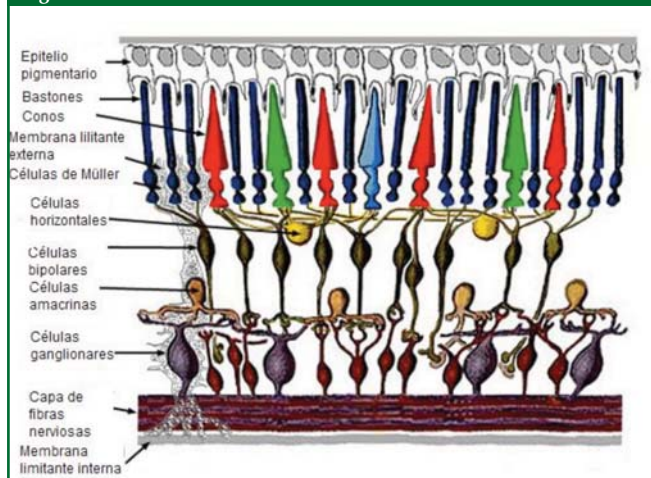
Figura 11. Retinopatía diabética no proliferativa moderada



Figura 12. Retinopatía diabética no proliferativa severa



Figura 13. Estructura de la retina



Las células vasculares están representadas por las células endoteliales y los pericitos. Los pericitos son células musculares lisas de capilares, que regulan el flujo vascular retiniano mediante su contracción y relajación. Las células endoteliales están encargadas de funciones hemostáticas y constituyen la barrera hemato-retiniana. Esta última mantiene separados los elementos neuronales de la retina de la circulación general, para protegerlos de las células inflamatorias y sus productos citotóxicos, permitiendo de esta forma que la retina regule su composición química extracelular, en especial la de los iones involucrados en la actividad de las neuronas¹⁵. Esta barrera funcional ha sido ubicada a nivel de las estrechas uniones entre las células endoteliales adyacentes, ya que se había observado previamente que el endotelio vascular retiniano presentaba pocas vesículas transportadoras de fluidos¹⁶. Estudios recientes han demostrado que estas estrechas uniones del endotelio vascular están constituidas por un ensamblaje de proteínas únicas^{15,17}. Dos de estas proteínas, la ocludina y las claudinas, se disponen hacia la membrana plasmática y se encargan de regular el flujo de solutos y líquidos entre las células endoteliales. Otras proteínas, zonula occludens-1, zonula occludens-2, zonula occludens-3, simplekina, 7H6 y cingulina, se encuentran en la periferia del citoplasma y son las responsables de organizar las uniones del endotelio vascular retiniano.

Estudios realizados por el "Penn State Retina Research Group" han demostrado que la diabetes inducida experimentalmente reduce los niveles de ocludina en las uniones de las células endoteliales retinianas y causa desorganización de las mismas en arteriolas y capilares^{18,19}. El factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) induce cambios similares en la expresión de estas proteínas y aumenta la permeabilidad vascular a través de la activación de la protein quinasa PKC β ^{20,21,22}. Pacientes con RD los niveles de VEGF se encuentran elevados en los humores vítreo y acuoso²³. Probablemente, el EM se produzca en gran medida debido al aumento de la permeabilidad vascular causada por el efecto del VEGF sobre

las proteínas de las uniones del endotelio vascular. Se ha visto que el uso de anti-VEGF como pegaptanib mejora la agudeza visual de los pacientes con EM, disminuyendo el espesor de la retina central y la neovascularización²⁴. También, otras citocinas como IGF-1 y bFGF podrían estar involucradas, aunque su papel en la RD todavía no se conoce con certeza. Nuevos estudios sugieren que la interleukina-6 y el factor de necrosis tumoral están involucrados en la RD^{25,26}.

El segundo grupo de células retinianas está representado por las células macrogliales, células de sostén que regulan el metabolismo retiniano y modulan la función de las neuronas y los vasos sanguíneos²⁷. En este grupo celular encontramos las células de Müller y los astrocitos. Las primeras abarcan todo el espesor de la retina desde el epitelio pigmentario hasta la membrana limitante interna y son las responsables de la regulación del metabolismo del glutamato, el balance iónico extracelular y la función neuronal. Los astrocitos se limitan a la capa de fibras nerviosas, envolviendo con sus prolongaciones vasos sanguíneos y células ganglionares. En conjunto, las células de Müller y los astrocitos integran las actividades vasculares y neuronales en la retina, jugando un importante rol en la formación y mantenimiento de la barrera hemato-retiniana.

Los astrocitos están involucrados en la expresión de proteínas de las uniones del endotelio vascular. En la DM de reciente aparición, se ve que los astrocitos sufren cambios importantes^{19,28}, disminuyendo la expresión de proteína glial fibrilar ácida (GFAP) de los filamentos intermedios de estas células. Después de la administración de insulina por 48 horas se aprecia una recuperación parcial de esta disminución. Estos hallazgos sugieren que al comprometerse la función de los astrocitos también se producen cambios vasculares retinianos como un aumento de la permeabilidad y disminución del flujo sanguíneo.

Las células de Müller también se alteran en la DM, involucrándose en la formación de membranas epiretinianas en la RDP²⁹. Estas células se afectan mucho antes de que la RDNP sea clínicamente evidente. Las células de Müller expresan más GFAP que los astrocitos³⁰, haciendo que se comprometa la conversión de glutamato (tóxico para las células) en glutamina (no tóxico) debido a la disminución de glutamina sintetasa, lo que se traduce en acumulación de glutamato^{31,32}.

Las neuronas constituyen el tercer grupo de células de la retina, en las que se incluyen fotorreceptores, células bipolares, células amacrinas y células ganglionares. Las neuronas son las células al servicio de la visión, por lo que cualquier deterioro de la función visual implica alguna alteración de las neuronas. Más de cuarenta años atrás, se describió la pérdida de neuronas retinianas en la DM^{33,34}. También se ha demostrado el compromiso de la visión de colores y la sensibilidad al contraste en los pacientes diabéticos³⁵. De forma temprana, durante

el desarrollo de la DM, las células ganglionares y las células de la capa nuclear interna mueren por apoptosis, produciendo un adelgazamiento de la porción interna de la retina³⁶. Los factores metabólicos involucrados en la muerte celular todavía no se conocen por completo, pero podrían incluir la pérdida del soporte trófico por la deficiencia de insulina y el daño producido por el exceso de hexosaminas, glutamato y TNF^{31,37,38}. Los pacientes diabéticos con EM presentan una importante pérdida de neuronas de la porción interna de la retina que no es detectable por oftalmoscopia, angiografía fluoresceínica ni por tomografía¹².

La microglia es el cuarto grupo de células de la retina, se relacionan con los macrófagos tisulares y normalmente se encuentran inactivas, pero son sensibles a los cambios de la homeostasis retiniana, lo que estimula su actividad fagocitaria³⁹. En la DM vemos como la actividad de las células microgliales aumenta, así como también lo hace su número^{28,40}. Al activarse la microglia se liberan sustancias pro-inflamatorias como VEGF y factor de necrosis tumoral (TNF), que aumentan la permeabilidad vascular retiniana.

Por lo antes descrito, la DM afecta los cuatro grandes grupos de células de la retina, razón por la cual al evaluar la patogénesis de la RD debemos incluir tanto el compromiso vascular -obstrucción microvascular por leucostasis⁴¹, microtrombosis⁴² e invasión de células de Müller dentro de la luz de los vasos⁴³- como los cambios que se producen en las células vasculares, neuronas y células de la macro y microglia.

Al estudiar la RD es importante considerar, además de las alteraciones retinianas locales, las influencias de múltiples factores sistémicos⁴⁴. Del estudio de dichas influencias se han establecido factores de riesgo sistémicos para desarrollar EM (Tabla 3)¹².

Tabla 3. Factores de riesgo sistémicos para edema macular de origen diabético

Inadecuado control metabólico (45, 46)
Hipertensión arterial (>130/80 mm Hg) (46)
Sobrecarga de volumen intravascular: (47, 48, 49)
<ul style="list-style-type: none"> • Insuficiencia cardíaca congestiva • Insuficiencia renal • Hipoalbuminemia
Anemia (50, 51, 52)
Hiperlipidemia (53, 54, 55)

Prevención y tratamiento de la retinopatía diabética:

Gracias a estos nuevos hallazgos en la fisiopatología de la RD se han venido desarrollando nuevas intervenciones terapéuticas para prevenir o retrasar su aparición, así como para tratar de reducir el gran número de pacientes con pérdida de la visión.

El Estudio de Control y Complicaciones de la Diabetes (DCCT) y el Estudio Prospectivo de Diabetes del Reino Unido (UKPDS) establecieron que un adecuado control metabólico y de la presión arterial previene y retrasa la

aparición de RD en los pacientes con DM^{56,57}.

De igual forma, la fotocoagulación laser puede prevenir la pérdida de la visión en pacientes con RDNPS, RDP y EM.

Cuando la respuesta a la fotocoagulación laser es inadecuada se emplean corticoesteroides y agentes anti-VEGF intravítreos²⁴.

En la Tabla 4 observamos las recomendaciones sugeridas por la Asociación Americana de Diabetes (ADA) para la evaluación oftalmológica de los pacientes diabéticos⁵⁸:

Tabla 4. Programa de evaluación oftalmológica de los pacientes diabéticos

Tipo de paciente	Primera evaluación recomendada	Seguimiento de rutina
DM tipo 1	Dentro de los 3 - 5 años después del diagnóstico de DM en pacientes mayores de 10 años	Anualmente
DM tipo 2	Al momento del diagnóstico de DM	Anualmente
Embarazo en DM preexistente	Antes de la concepción y durante el primer trimestre	Depende de los resultados obtenidos en la evaluación durante el primer trimestre

Referencias

- Expert Committee on the diagnosis and classification of Diabetes. ADA. Diabetes Care 2005; 28 (Suppl): S37-S42.
- Diabetes Atlas 3 edición, Federación Internacional de Diabetes, 2006, Edición digital.
- Wild S, Gojka R, Green A, Sicree R, King H. Global Prevalence of Diabetes. Diabetes Care 2004; 27: 1047-1053.
- Boletín Epidemiológico, Organización Panamericana de la Salud. 2001; Vol. 22, N 2.
- Vargas JM: Obras Completas, Vol. IV. 1965. Pags. 268-269.
- Consenso Nacional de Diabetes Tipo 2. Venezuela 2003. Edición digital.
- Chacín LF: Unidos Contra la Diabetes. Publicación de la Unidad de Diabetes del Hospital Vargas. Ed Litopar C.A. 1999. Pags. 14.
- Anuario de Mortalidad 2006. Dirección de Información Social y Estadísticas de la Dirección de Epidemiología y Análisis Estratégico. Ministerio del Poder Popular para la Salud. 2007. Pags. 11, 231.
- Klein R, Klein BE, Moss SE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. II. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age of diagnosis is less than 30 years. Arch Ophthalmol 1984; 102: 520-526.
- Muci-Mendoza R. El ojo y la diabetes. En: Diez años de avances en diabetes mellitus. Chacín LF editor. 2004. Pag. 193-203.
- Wilkinson CP, Ferris FL 3rd, Klein RE, Lee PP, Agardh CD, Davis M, et al. Proposed international clinical diabetic retinopathy

- and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmol* 2003; 110: 1677-1682.
12. Gardner TW, Antonetti DA, Barber AJ, LaNoue KF, Levison SW, The Penn State Retina Research Group. Diabetic Retinopathy: More Than Meets the Eye. *Surv Ophthalmol* 2002; 47(S2): S253-S262.
 13. Antonetti DA, Barber AJ, Bronson SK, Freeman WM, Gardner TW, Jefferson LS, Kester M, Kimball SR, Krady JK, LaNoue KF, Norbury CC, Quinn PG, Sandirasegarane L, Simpson IA, JDRF Diabetic Retinopathy Center Group. Diabetic Retinopathy: seeing beyond glucose-induced microvascular disease. *Diabetes* 2006; 55: 2401-2411.
 14. Lieth E, Gardner TW, Barber AJ, Antonetti DA, Penn State Retina Research Group. Retinal neurodegeneration: early pathology in diabetes. *Clin Experiment Ophthalmol* 2000; 28: 3-8.
 15. Antonetti DA, Lieth E, Barber AJ, Gardner TW. Molecular mechanisms of vascular permeability in diabetic retinopathy. *Semin Ophthalmol* 1999; 14: 240-248.
 16. Raviola G. The structural basis of the blood-ocular barriers. *Exp Eye Res* 1977; 25 (S): 27-63.
 17. Gardner TW, Antonetti DA, Barber AJ, et al. The molecular structure and function of the inner blood-retinal barrier. *Penn State Retina Research Group. Doc Ophthalmol* 1999; 97: 229-237.
 18. Antonetti DA, Barber AJ, Khin S, et al. Vascular permeability in experimental diabetes is associated with reduced endothelial occluding content: vascular endothelial growth factor decreases occluding in retinal endothelial cells. *Penn State Retina Research Group. Diabetes* 1998; 47: 1953-1959.
 19. Barber AJ, Antonetti DA, Gardner TW. Altered expression of retinal occluding and glial fibrillary acidic protein in experimental diabetes. The Penn State Retina Research Group. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 3561- 3568.
 20. Antonetti DA, Barber AJ, Hollinger LA, et al. Vascular syndrome al growth factor induces rapid phosphorylation of tight junction proteins occluding and zonula occluden 1. A potential mechanism for vascular permeability in diabetic retinopathy and tumors. *J Biol Chem* 1999; 274: 23463- 23467.
 21. Aiello LP, Bursell SE, Clermont A, et al. Vascular endothelial growth factor-induced retinal permeability is mediated by protein kinase C in vivo and suppressed by an orally effective beta-isoform-selective inhibitor. *Diabetes* 1997; 46: 1473-1480.
 22. Aiello LP, Wong JS. Role of vascular endothelial growth factor in diabetic vascular complications. *Kidney Int* 2000; 77(S): S113-S119.
 23. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, Pasquale LR, Thieme H, Iwamoto MA, Park JE. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med* 1994; 331: 1480-1487.
 24. Cunningham ET Jr, Adamis AP, Altaweel M, Aiello LP, Bressler NM, D'Amico DJ, Goldbaum M, Guyer DR, Katz B, Patel M, Schwartz SD, Macuggen Diabetic Retinopathy Study Group. A phase II Randomized double-masked trial of pegaptanib, an anti-vascular endothelial growth factor aptamer, for diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2005; 112: 1747-1757.
 25. Ideata R, Yamashita H, Tanaka Y, et al. Roles of cytokines in diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 1999; 117: 700-701.
 26. Yuuki T, Kanada T, Kimura Y, et al. Inflammatory cytokines in vitreous fluid and serum of patients with diabetic vitreoretinopathy. *J Diabetes Complications* 2001; 15: 257-259.
 27. Abbott NJ, Revest PA, Romero IA. Astrocyte-endothelial interaction: physiology and pathology. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1992; 18: 424-433.
 28. Rungger-Brandle E, Dosso AA, Leuenberger PM. Glial reactivity, an early feature of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41:1971-1980.
 29. Hiscott PS, Grierson I, Trombetta CJ, et al. Retinal and epiretinal glia-an immunohistochemical study. *Br J Ophthalmol* 1984; 68:698-707.
 30. Lieth E, Barber AJ, Xu B, et al. Glial reactivity and impaired glutamate metabolism in short-term experimental diabetic retinopathy. *Penn State Retina Research Group. Diabetes* 1998; 47: 815-820.
 31. Lieth E, LaNoue KF, Antonetti DA, Ratz M. Diabetes reduces glutamate oxidation and glutamine synthesis in the retina. *The Penn State Retina Research Group. Exp Eye Res* 2000; 723-730.
 32. Mizutani M, Gerhardinger C, Lorenzi M. Müller cell changes in human diabetic retinopathy. *Diabetes* 1998; 47: 445-449.
 33. Wolter JR. Diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1961; 51: 1123-1139.
 34. Bloodworth JMB. Diabetic retinopathy. *Diabetes* 1962; 2: 1-22.
 35. Daley ML, Watzke RC, Riddle MC. Early loss of blue-sensitive color vision in patients with type I diabetes. *Diabetes Care* 1987; 10: 777-781.
 36. Barber AJ, Lieth E, Khin SA, et al. Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin. *J Clin Invest* 1998; 102: 783-791.
 37. Barber AJ, Nakamura M, Wolpert EB, et al. Insuline rescues retinal neurons from apoptosis by a phosphatidylinositol 3-kinasa/Akt-mediated mechanism that reduces the activation of caspase-3. *J Biol Chem* 2001; 276: 32814-32821.
 38. Nakamura M, Barber AJ, Antonetti DA, et al. Excessive hexosamines block the neuroprotective effect of insulin and induce apoptosis in retinal neurons. *J Biol Chem* 2001; 276: 43748-43755.
 39. Broderick C, Duncan L, Taylor N, Dick AD. IFN-gamma and LPS-mediated IL-10-dependent suppression of retinal microglial activation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 2613-2622.
 40. Zeng XX, Ng YK, Ling EA. Neuronal and microglial response in the retina of streptozotocin-induced diabetic rats. *Vis Neurosci* 2000; 17: 463-471.
 41. Barouch FC, Miyamoto K, Allport JR, et al. Integrin-mediated neutrophil adhesion and retinal leukostasis in diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 1153-1158.
 42. Boeri D, Maiello M, Lorenzini M. Increased prevalence of microthromboses in retinal capillaries of diabetic individuals. *Diabetes* 2001; 50: 1432-1439.
 43. Beck T. Glial cell involvement in vascular occlusion of diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol Scand* 1997; 75: 239-243.
 44. Aiello LP, Cahill MT, Wong JS. Systemic considerations in the management of diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 2001; 132: 760-776.
 45. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329: 977-986.
 46. UK Prospective Diabetes Study Group: Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *BMJ* 1998; 317: 708-713.

47. Gottfredsdottir MS, Stefansson E, Jonasson F, Gislason I. Retinal vasoconstriction after laser treatment for diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 1993; 115: 64-67.
48. Kristinsson JK, Gottfredsdottir MS, Stefansson E. Retinal vessel dilatation and elongation precedes diabetic macular oedema. *Br J Ophthalmol* 1997; 81: 274-278
49. Kylstra JA, Wierzbicki T, Wolbarsht ML, et al. The relationship between retinal vessel tortuosity, diameter, and transmural pressure. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1986; 224: 477-480.
50. Davis MD, Fisher MR, Gangnon RE, et al. Risk factors for high-risk proliferative diabetic retinopathy and severe visual loss: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report # 18. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 233-252.
51. Qiao Q, Keinanen-Kiukaanniemi S, Laara E. The relationship between hemoglobin levels and diabetic retinopathy. *J Clin Epidemiol* 1997; 50: 153-158.
52. Bocker-Meffert S, Rosenstiel P, Rohl C, et al. Erythropoietin and VEGF promote neural outgrowth from retinal explants in postnatal rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43: 2021-2026.
53. Chew EY. Diabetic retinopathy and lipid abnormalities. *Curr Opin Ophthalmol* 1997; 18: 59-62.
54. Gordon B, Chang S, Kavanagh M, et al. The effects of lipid lowering on diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1991; 112: 385-391.
55. Van Eck WF. The effect of a low fat diet on the serum lipids in diabetes and its significance in diabetic retinopathy. *Am J Med* 1959; 27: 196-211.
56. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329: 977-986.
57. UK Prospective Study Group: Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes. UKPDS 38. *BMJ* 1998; 317: 708-713.
58. Fong DS, Aiello L, Gardner TW, King GL, Blankenship G, Cavallerano JD, Ferris FL, Klein R, for the American Diabetes Association. Retinopathy in Diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27(S1): S84-S87.

Células madre: fundamentos y experiencias de terapia celular

Valero Paola, MSc¹, Arraiz Nailet, PhD¹, Ealys López, MSc², Cecilia Acosta, MSc², Bermúdez Valmore, MD, PhD, MPH¹, Manuel Velasco³

¹Centro de Investigaciones Endocrino-Metabólicas "Dr. Félix Gómez". Facultad de Medicina, Universidad del Zulia

²Facultad de Medicina, Escuela de Nutrición, Universidad del Zulia

³Unidad de Farmacología Clínica, Escuela de Medicina José María Vargas. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

Correo Electrónico: paolavalero@gmail.com

Recibido: 20/04/2010

Aceptado: 03/05/2010

Resumen

Una célula indiferenciada que posee la capacidad de replicarse de forma casi ilimitada y diferenciarse dando lugar a diversos tipos de células especializadas es llamada célula madre o célula troncal. Las células madre se pueden clasificar de acuerdo a tres criterios: potencial de diferenciación, tejido de origen y capacidad de repoblación tisular. Las células madre son un componente importante en un embrión puesto que gracias a ellas se puede desarrollar un individuo completo. La presencia de estas células en tejidos adultos permite su renovación, teniendo como ejemplos más conocidos la piel, la córnea, los huesos y las células sanguíneas; sin embargo, su potencial de diferenciación es limitado en comparación con las células madre embrionarias, de manera que su progenie usualmente son células del tejido de origen. En la actualidad, se han realizados grandes avances en la terapia celular con células madre en enfermedades neurológicas, cardíacas, oftalmológicas, musculares, traumológicas y endocrinológicas en modelos de experimentación animal y en algunos casos en humanos, pero debido al potencial desarrollo de tumores con las células madre embrionarias y a las dificultades para el cultivo proliferativo de las células madre adultas, los avances en la medicina regenerativa son muy lentos. La obtención de progenitores celulares adultos, representa una alternativa de investigación prometedora en el estudio de la biología de las células madre y el diseño de nuevos enfoques terapéuticos.

Palabras clave: Células madre, diferenciación celular, células madre embrionarias, células madre adultas, terapia celular.

Abstract

Undifferentiated cell that possesses capacity to replicate in an almost unlimited way and differentiating giving birth to several kinds of specialized cells is called mother cells or stem cells. Mother cells may be classified attending to three criteria: Differentiation potential, according to origin tissue and to its capacity of tissue re-growing. Mother cells are an important component of an embryo because they are responsible to promote developing of a complete individual. Presence of these cells in many adult tissues allows their renovation having examples in skin, cornea, bones and blood cells; although their potential for differentiation is limited comparing them with embryo mother cells so their progeny cells are usually cells derivate from original tissue. Actually great advances have been made about therapy with mother cells in neurological, cardiac, ophthalmologic, muscular and endocrine diseases in animal experimenting models and in some human cases but due to the possibility of tumours developing with embryo mother cells and to difficult proliferative culture of adult mother cells advances in regenerative medicine are slow. Obtaining adult parent cells represent a promising alternative in the study of mother cells biology and the design of new therapeutic approaches.

Key Words: Stem cell, cellular differentiation, embryonic mother cells, adult mother cell, cell therapy

Introducción

Célula madre o stem cell se define como una célula progenitora, autorenovable, capaz de regenerar uno o más tipos celulares diferenciados^{1,2}. Es decir; Una célula madre es una célula que posee las mismas características fenotípicas de una célula normal indiferenciada que tiene capacidad de autorrenovarse mediante divisiones mitóticas o bien de continuar la vía de diferenciación para la que está programada y, por lo tanto, producir uno o más tejidos maduros, funcionales y plenamente diferenciados en función de su grado de multipotencialidad¹⁻⁴.

La mayoría de tejidos de un individuo adulto poseen una población específica propia de células madre que permiten su renovación periódica o su regeneración cuando se produce algún daño tisular. Algunas células madre adultas son capaces de diferenciarse en más de un tipo celular como las células madre mesenquimales y las células madre hematopoyéticas; mientras que otras se cree que son precursoras directas de las células del tejido en el que se encuentran, como las células madre de la piel o las células madre gonadales (células madre germinales). Es común que en documentos especializados se las denomine stem cells, en inglés, donde stem significa tronco, traducándose muy a menudo como «células troncales»^{2,5-7}.

Las células madre tienen dos características importantes que las distinguen de otros tipos de células. La primera de ellas es que son células no especializadas que se renuevan ilimitadamente. La segunda es que bajo ciertas condiciones fisiológicas o experimentales, se las puede inducir a que se conviertan en células con funciones especiales tales como células musculares cardíacas o células β pancreáticas^{2,5}.

Características y clasificación de las células madre

Características

Las células madre son capaces de dividirse y de renovarse por períodos largos. Contrariamente a las células musculares, a las células sanguíneas o las neuronas, las cuales normalmente no renuevan; las células madre pueden replicarse casi en forma indefinida. Una población pequeña de células madre incubada por muchos meses en el laboratorio puede producir millones de células. Si las células hijas continúan siendo no especializadas como la célula madre inicial, estas serán capaces de auto renovarse a largo plazo al igual que las células madre de la cual se originaron⁷.

Las células madre son no especializadas. Una de las características fundamentales de una célula madre es que no tiene ninguna estructura de tejido específica que le permita realizar funciones especializadas, su principal función es la de replicación. Una célula madre no puede trabajar con sus células vecinas para bombear sangre a través del cuerpo (como una célula del músculo del

corazón); no puede llevar las moléculas de oxígeno a través de la circulación sanguínea (como una célula de la sangre); y no puede encender señales electroquímicas a otras células que permitan que el cuerpo se mueva o hable (como una neurona)⁶.

Las células madre pueden dar lugar a células especializadas. Las células madre no especializadas dan lugar a las células especializadas, mediante un proceso conocido como “diferenciación”. Actualmente se está empezando a entender las señales interiores y exteriores de las células que accionan la diferenciación de la célula madre. Las señales internas son controladas por los genes de una célula, que se entremezclan a través de filamentos largos de ADN y llevan instrucciones codificadas y funciones para todas las estructuras de la célula. Las señales externas para la diferenciación de la célula incluyen productos químicos secretados por otras células, el contacto físico con las células vecinas, y ciertas moléculas del micro ambiente en el que se encuentran^{6,7}.

Las células madre adultas por lo general generan los mismos tejidos del órgano en el cual residen. Una célula madre adulta de sangre situada en la médula da lugar normalmente a muchos tipos de células de la sangre, tales como los glóbulos rojos (o endoteliales de los vasos sanguíneos), glóbulos blancos (monocitos, linfocitos y polimorfonucleares) y plaquetas. Hasta hace poco tiempo, se pensaba que una célula de la sangre situada en la médula no podía dar lugar a células de un tejido muy diferente, como por ejemplo las células nerviosas del cerebro. Sin embargo, un número de experimentos y hallazgos durante los últimos años han demostrado que a partir de células madres alojadas en un tejido se puede dar lugar al desarrollo de células de tejidos totalmente diferentes del que se encuentran, fenómeno que se conoce como “plasticidad”. Ejemplos de dicho fenómeno son: las células madre de sangre que se convierten en neuronas, las células madre del hígado que se pueden utilizar para producir insulina, y las células madre hematopoyéticas que pueden desarrollarse en el músculo del corazón.

Clasificación

Las células madre se pueden clasificar de tres maneras: A) Según su capacidad de re-población tisular in vivo. B) Según su potencial de diferenciación; C) Según el tejido de origen en: células madre embrionarias o adultas,

A) Según su capacidad de repoblación tisular

Las células madres se clasifican según el tiempo que les toma restaurar un tejido lesionado en: células con un corto periodo de regeneración, con un periodo de regeneración a mediano plazo o con un largo plazo de regeneración⁸.

Los tejidos del cuerpo van sufriendo un desgaste natural a lo largo de la vida de un individuo; sin embargo, para mantener un adecuado funcionamiento el organismo posee una capacidad de renovación⁸⁻¹⁰. Existen tejidos cuyas células se encuentran en continua renovación, entre

los que se encuentran las células sanguíneas, las células germinales, la epidermis y los epitelios que revisten los órganos como el tubo digestivo o el riñón⁹. En estos tejidos hay dos tipos de células: unas células diferenciadas que viven generalmente unos días; y unas células madres que generan en cada ciclo celular una célula especializada para reemplazar la célula muerta, y otra célula que permanece indiferenciada para conservar la fuente de células madre¹⁰⁻¹².

Esta capacidad de renovación, fue ampliamente aprovechada por la medicina regenerativa tradicional. Estos conocimientos fueron usados para reparar fracturas en huesos, corregir malformaciones óseas, regenerar la piel perdida en quemaduras, e incluso para renovar las células sanguíneas en determinadas enfermedades. Todo ello sin más dificultades que superar los problemas inmunológicos del posible rechazo¹³. Así, el nuevo hueso formado tras una fractura no se desarrolla a partir de las células óseas diferenciadas sino de células madre óseas, que están contenidas en la trama arquitectural del hueso, y que son estimuladas por la destrucción de este tejido a dividirse y repararlo⁹.

En el organismo también hay tejidos formados por células que podríamos llamar permanentes, cuya pérdida, al menos en principio, parece irremplazable. Es el caso del sistema nervioso, corazón, tiroides o hígado. Se trata de células bien diferenciadas, muy especializadas, generalmente incapaces de dividirse y, en ningún caso, capaces de formar otro tipo celular diferente⁸.

Varias investigaciones demostraron, que en tejidos dañados constituidos por células permanentes puede inducirse la regeneración a partir de células madre quiescentes; es decir, células madres que se encuentran ocultas, habitualmente en hibernación en el tejido lesionado, pueden activarse ante determinados estímulos para dividirse y dar lugar a células hijas que se diferencian reemplazando así las células perdidas por la lesión^{7,14}. Así ocurre con el músculo esquelético, cuyas células, aunque no se dividen, se pueden regenerar a partir de mioblastos⁵.

No todos los tejidos son capaces de regeneración ante una lesión. La destrucción de tejido muscular cardíaco durante los infartos de miocardio o de tejido nervioso en los infartos cerebrales, o degeneración progresiva de ambos tejidos durante enfermedades degenerativas o simplemente con el envejecimiento, no son procesos reparables por los mecanismos naturales de renovación^{7,13,15}.

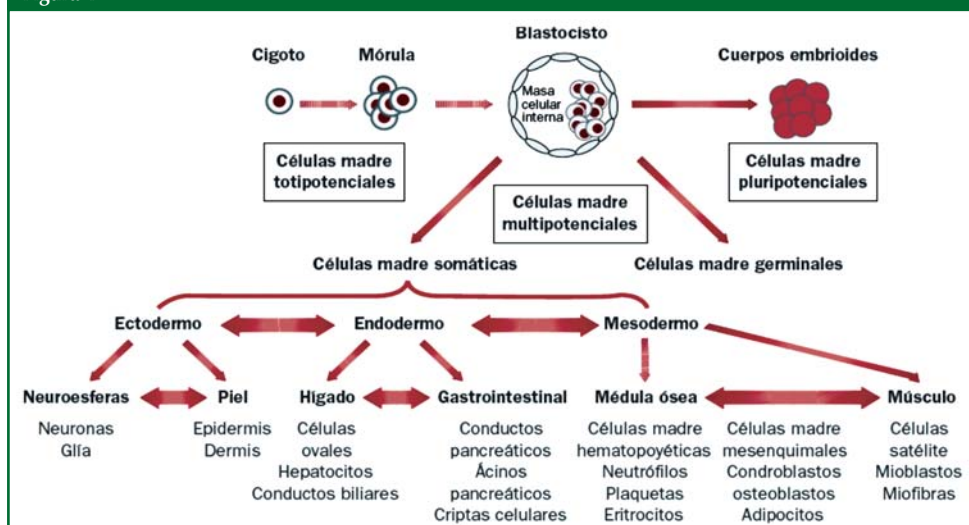
B) Según su potencial de diferenciación

De acuerdo al tipo de tejido que originan; es decir, según su potencial de diferenciación existen cuatro tipos de células madre: totipotentes, pluripotentes, multipotentes y unipotentes:

a) Células Totipotentes: El término “totipotencial” (del latín totus, que significa completo) hace referencia al potencial que tienen estas células de generar un embrión completo (tejido embrionario y extraembrionario)¹⁵. Corresponde a las células más primitivas, producto inmediato de la fecundación con capacidad de diferenciarse hacia todos los tejidos que forman los órganos de un organismo (figura 1)¹⁶.

b) Células Pluripotentes: El término “Pluripotencial” (del latín plures, que significa muchos o varios) es utilizado para describir las células madre que pueden dar origen a progenitores que forman cualquiera de las tres capas germinales embrionarias: mesodermo, endodermo y ectodermo. Es importante destacar que para que una célula madre pueda considerarse como pluripotente tiene que cumplir las siguientes condiciones: una única célula debe ser capaz de diferenciarse a progenitores especializados procedentes de cualquier capa embrionaria; demostrar la funcionalidad in vitro e in vivo de las células en las que se ha diferenciado; y, finalmente, que se produzca un asentamiento claro y persistente de éstas en el tejido blanco, tanto en presencia como en ausencia de daño en los tejidos en los cuales se injerta¹². Estas células se desarrollan aproximadamente en el cuarto día de la fertilización del ovulo y pueden diferenciarse a cualquier tipo celular, excepto a células totipotenciales y de la placenta (figura 1)⁴.

Figura 1



Modelo Jerárquico de las células madre de acuerdo con su potencial. Las células madres totipotenciales encontradas en la Mórula del embrión. Las pluripotenciales encontradas en los cuerpos embrioides. Las células multipotenciales localizadas en el blastocisto. Las células madres unipotenciales localizadas en los tejidos adultos.

c) Células Multipotentes: Las células madre multipotenciales son aquellas que pueden dar origen a precursores relacionados solamente con una de las tres capas embrionarias; por ejemplo, células madre que dan origen a tejidos derivados exclusivamente del endodermo como tejido pancreático o pulmonar^{8,15}. Estas células se encuentran en la circulación periférica de un recién nacido y pueden ser recuperadas de sangre de placenta colectada del cordón umbilical (figura 1)⁴.

d) Células unipotentes: corresponden a las células que solo pueden generar células diferenciadas a lo largo de una sola línea celular, tal como su nombre lo refiere (del latín unus: uno). La mayoría de las células madre de un tejido específico que no ha sufrido ningún tipo de agresión o daño son del tipo unipotencial y son las responsables de la fase fisiológica de auto-renovación tisular, donde la cantidad de células perdidas es igual al número de nuevas células. Sin embargo, si el tejido es alterado en su estructura básica a través de un fenómeno lesivo y se requiere de diversos tipos celulares para su reparación, se pueden activar células del tipo multipotencial para reparar el daño (Ver figura 2)¹.

C) Según el tejido de Origen

Las células madre se pueden obtener del embrión o de un organismo adulto, de ahí se deriva la clasificación en células madre embrionarias y de células madre adultas^{2,6}.

a) Las células madre embrionarias: pueden ser obtenidas a partir de las primeras etapas de formación del embrión solamente durante los primeros cuatro días después de la fertilización^{8,17}, justo en el momento en el que el cigoto se ha constituido como mórula las células expresan dos genes CDX-2 y OCT, mientras las células pasan a la siguiente ronda de división CDX-2 es regulado inhibitoriamente en las células más internas, mientras que OCT se mantiene suprimido en las células más externas la distinta regulación de estos genes se mantiene en las divisiones sucesivas; después de 10 ciclos de división para comenzar el proceso de segmentación de 2 hasta 32 blastómeros (68 h). Éstas son entonces precursores totipotenciales con capacidad de proliferar indefinidamente in vitro⁴. El primer reporte acerca del aislamiento de células madre embrionarias provenientes de blastocistos humanos proviene de 1994 cuando se determinó que estas células in vitro se diferencian espontáneamente en "cuerpos embrionarios", Estructuras que contienen elementos de las tres capas germinales a partir de las cuales se pueden formar varios tipos de células^{7,8}.

Los blastómeros del trofoblasto se multiplican rápidamente y se separan de las células centrales para conformar una cavidad entre el trofoblasto (futura placenta) y el embrioblasto (futuro individuo), llamado blastocelo, adquiriendo el preembrión el nombre de blastocisto. Las células de un blastocisto ya no son totipotentes, puesto que una sola de estas no es capaz de generar un individuo completo. Las células de la capa externa del blasto-

cisto producen CDX-2 esta capa trofoblástica se convertirá en la placenta; por otro lado en el interior OCT se encuentra en un pequeño grupo de células con una enorme capacidad para diferenciarse esta masa interna interna esta formada por células con potencial de diferenciación para producir todas las estirpes celulares del cuerpo una habilidad conocida como pluripotencialidad. Las células de la masa celular interna del blastocisto ahora son células pluripotentes⁴.

La ventaja más resaltante del uso de células madre embrionarias en investigación es su habilidad de proliferar indefinidamente, son capaces de generar una gran variedad de grupos celulares, lo que permite que bajo ciertas condiciones puedan ser manipuladas in vitro con el fin de producir precursores de un linaje específico y contribuir así al tratamiento de enfermedades en las que existen tejidos claramente comprometidos como diabetes y Parkinson; además, pueden ser utilizadas para el estudio de enfermedades producidas durante el desarrollo embrionario y contribuir a identificar sus bases genéticas; sin embargo, al tratarse de células muy indiferenciadas, éstas pueden inducir la formación de ciertas neoplasias^{17,18}.

b) Las células Madres Adultas: se pueden encontrar en la mayoría de los tejidos de un individuo totalmente desarrollado, como la médula ósea, el sistema gastrointestinal, el músculo esquelético, el hígado, el páncreas y el pulmón. Las células madres adultas más estudiadas, hasta ahora, son las que se derivan de la médula ósea; allí se han identificado por lo menos tres grupos: células madre estromales, células madre hematopoyéticas y un grupo que algunos autores identifican como "side population" y del cual se conoce muy poco^{2,5,15}.

Las células madre estromales también conocidas como células madres mesenquimales, se han identificado por marcadores de superficie que han permitido aislarlas como SH2, SH3, CD29, CD44, CD71 y CD90. Éstas no expresan antígenos de superficie típicos de las células madre hematopoyéticas como el CD34 y CD45; y además, son capaces de diferenciarse a tejidos mesodérmicos funcionales como osteoblastos, condroblastos, adipocitos y mioblastos esqueléticos; Éstas constituyen un modelo muy útil en aplicaciones clínicas para ciertas enfermedades tanto en terapia regenerativa como en terapia génica^{7,19}.

Las células madre hematopoyéticas, responsables de la renovación constante de las células sanguíneas, aparecen en el embrión entre la tercera y cuarta semana de gestación, estas células migran desde el saco vitelino hasta el hígado y el bazo y por último llegan a la médula ósea a través de la circulación fetal durante el segundo y tercer trimestre de gestación. Estas células han sido aisladas de sangre periférica y de médula ósea; estas células multipotenciales tienen la capacidad de diferenciarse en dos grupos de progenitores hematopoyéticos: progenitor mielóide y progenitor linfóide, los cuales a

su vez se diferencian hacia linajes de células sanguíneas especializadas^{2,5,20,21}.

Las llamadas "side population cells (SP)" han sido aisladas tanto a partir de médula ósea como de músculo utilizando técnicas de citometría de flujo (FACS). Se sabe que las SP son capaces de diferenciar a HSC en humanos, roedores y otras especies. Además algunos estudios describen que las SP podrían dar lugar a otros tipos de células especializadas e integrarse en distintos tejidos *in vivo*^{21,22}.

Las células madre multipotenciales adultas (MAPCs) son una población celular de la médula ósea cuyo descubrimiento ha suscitado la atención del mundo científico ya que se han descrito como auténticas células pluripotenciales con una capacidad diferenciadora muy similar a las células madre embrionarias²². Las MAPCs han sido aisladas tanto de médula ósea humana como de líneas celulares murinas. Estas son capaces de proliferar *in vitro* más de 120 divisiones celulares sin un aparente envejecimiento ya que mantienen unos niveles altos de telomerasa durante todo el tiempo de cultivo. Se ha descrito que las MAPCs no expresan CD34, CD44, MHC I, MHC II, CD45 y c-kit; expresan niveles bajos de Flk-1, Sca-1 y Thy-1, y altos de CD13, SSEA-1 (ratón/rata) y SSEA-4 (humano). Al igual que las células madre embrionarias, en las MAPCs se detecta la activación de los factores de transcripción Oct-4 y Rex-1, factores que son necesarios para mantener la célula en un estado proliferativo e indiferenciado. *In vitro*, las MAPCs pueden ser inducidas a diferenciarse en tejidos derivados del mesodermo como hueso, cartílago, adipocitos, músculo esquelético, estroma hematopoyético; endotelio como células hepáticas ó a tejidos derivados del ectodermo como neuronas, astrocitos y oligodendrocitos^{2,8}.

Diferencias entre células madre embrionarias y adultas

Las células madre embrionarias y adultas se diferencian en el número y en los tipos diferenciados de células en las que pueden convertirse. Las células madre embrionarias pueden convertirse en cualquier tipo de célula del cuerpo porque son pluripotentes y en algunos casos totipotentes. Las células madre adultas por el contrario presentan un potencial de diferenciación más limitado se diferencian primordialmente a las líneas celulares del órgano en el que residen, es decir son multipotentes y en algunos casos unipotentes. Por otro lado, existe cierta evidencia que demuestra la plasticidad de las células madre adultas, por lo que pueden ser consideradas pluripotentes^{13,23-25}.

Las células madre embrionarias crecen relativamente fácil en cultivos *in vitro*, lo que las convierte en excelentes candidatos para experimentación; las células madre adultas están en tejidos maduros y aun no se ha logrado desarrollar métodos que permitan su cultivo proliferativo *in vitro*⁵.

Nuevos enfoques terapéuticos con células madre

Terapia celular

Las células madre han sido utilizadas inicialmente para la regeneración de tejidos destruidos o dañados, como ocurre en el caso de las enfermedades neurodegenerativas, la diabetes o la patología cardíaca; y finalmente como vehículo terapéutico de genes, por ejemplo en el caso de enfermedades monogénicas como la hemofilia o incluso como vehículo de terapias antitumorales o antiangiogénicas².

A) Terapia celular en enfermedades neurológicas

Las células madre tienen un enorme potencial como células capaces de reconstruir las neuronas y estructuras dañadas en enfermedades como el Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la enfermedad de Alzheimer, la esclerosis en placas, los infartos cerebrales o las lesiones medulares²⁶⁻²⁹. En la enfermedad de Parkinson (EP) se han realizado trasplantes en humanos utilizando células de origen fetal con resultados aceptables¹³. Estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que tanto las células madre embrionarias como las adultas son capaces de diferenciarse a neuronas dopaminérgicas. Sin embargo, no está claro hasta qué punto dichas células son capaces de restablecer los circuitos neuronales destruidos en la EP y por tanto eliminar los síntomas de la enfermedad²⁹.

Estudios recientes sugieren que las células madre embrionarias poseen la capacidad de diferenciarse a neuronas y facilitar la recuperación motora en animales con lesiones espinales²⁶. En modelos animales se ha probado que las células de la glía envolvente o las células mesenquimales de la médula ósea favorecen el recrecimiento de los axones³⁰. Un estudio reciente ha demostrado en un modelo de esclerosis múltiple en ratón (encefalitis autoinmune experimental) que la inyección de neuroesferas (células madre neurales), tanto por vía intravenosa como intratecal, promueve la remielinización multifocal³¹. Estudios realizados en animales sugieren que las células de médula ósea son reclutadas a las zonas de infarto cerebral y que contribuyen a la mejoría funcional cuando son inyectadas focalmente e incluso intravenosamente⁸.

B) Terapia celular en enfermedades cardiovasculares

Existen diversas fuentes de células madre que podrían utilizarse para reparar el tejido cardíaco necrosado y que incluyen cardiomiocitos fetales, células madre cardíacas, células madre de médula ósea o células madre embrionarias diferenciadas hacia músculo cardíaco. Sin embargo las células con las que mayor experiencia existe en modelos animales son las células satélites o mioblastos³².

En la actualidad diversos estudios, tanto en modelos animales como en humanos, se han utilizado células madre del músculo en individuos con infarto al miocardio (IM). El primer implante de mioblastos autogénicos en un paciente con IM se realizó en junio del 2000^{32,33} un total de 5 ensayos clínicos se han publicado desde entonces

en pacientes con antecedentes de accidentes cardíacos en los que se han implantado mioblastos autogénicos en combinación con la cirugía de bypass aortocoronario o de forma percutánea endocavitaria³⁴, obteniéndose resultados satisfactorios. Sin embargo, no se ha podido demostrar que las células diferenciadas en estos pacientes sean capaces de transmitir las señales electromecánicas derivadas de las células musculares cardíacas o de transdiferenciarse a células musculares cardíacas.

También se han utilizado células madre mononucleadas de médula ósea, células enriquecidas en progenitores hematopoyéticos o endoteliales y los resultados se han monitorizado mediante resonancia magnética, ecocardiografía o tomografía por emisión de positrones. Algunos estudios han utilizado pacientes controles a los que no se les han implantado células madres; en cualquier caso los pacientes han recibido tratamientos adicionales. Los resultados de los estudios son positivos, demostrando que el tratamiento con células es capaz de mejorar la función cardíaca y de contribuir a la mejora funcional de los pacientes, tanto en modelos agudos como crónicos³².

C) Terapia celular en oftalmología

Durante situaciones patológicas, como traumatismos, lesiones por sustancias químicas o físicas, el síndrome de Stevens Johnson o el penfigoide ocular; la capacidad de regeneración de las células limboconiales responsables de mantener la córnea se ve afectada originando un daño permanente³⁵. Para estos casos el autotrasplante de limbo conjuntival es más eficaz que el trasplante de córnea, ya sea autotrasplante usando células del ojo contralateral si este se encuentra sano ó con células de un donante cuando el daño es bilateral. Se pueden usar células histocompatibles de un donante vivo, o células no compatibles de donante cadáver³⁶.

Las células del limbo junto con membrana amniótica se han utilizado con éxito para promover una rápida reepitelización de la córnea. La duración de estos trasplantes parece ser el problema más importante, ya que mientras unos reportes afirman que estos son permanentes otros estudios indican que la viabilidad de las células del donante no se mantiene indefinidamente³⁵.

D) Terapia celular en traumatología

Desde hace tiempo ya, es bien conocida la capacidad de reconstruir huesos, cartílagos y tendones dañados que poseen los organismos vivos, gracias a esto una persona que ha sufrido graves fracturas en un accidente de tránsito es capaz de recuar la movilidad de su cuerpo⁹. El autotrasplante de células madres adultas puede ser un tratamiento eficaz para la reparación de la superficie articular.

Las células madre mesenquimales (MSCs) pueden obtenerse a partir de médula ósea, pero también de grasa e incluso de otros tejidos. In vitro, son capaces de autorrenovarse y proliferar extensamente, sin perder su capacidad de diferenciarse hacia osteoblasto, condroci-

tos, adipocitos o incluso músculo esquelético según las condiciones en las que se cultivan. Por esta razón se ha utilizado para la reparación de lesiones óseas extensas, defectos cartilagosos y lesiones traumáticas^{5,13,19,24}.

E) Terapia celular en endocrinología

Funcionamiento de órganos como el hígado, el riñón y el páncreas continuamente son afectados por enfermedades o traumas severos, por lo que usualmente deben realizarse trasplantes de órganos completos para mejorar la calidad de vida de los pacientes. Estos trasplantes desencadenan respuestas inmunológicas severas, que han sido tratadas tradicionalmente con inmunosupresores¹³. Recientemente se ha sugerido que las propiedades inmunomoduladoras de las células madres sobretodo las mesenquimáticas o MSCs puede ser explotada para el trasplante de órganos con el fin de evitar el rechazo de los mismos³⁷. En contraposición a los agentes farmacológicos más usados que utilizan solo una vía fisiológica MSCs trabajan empleando varios mecanismos y tienen un efecto potencial en las vías regenerativas³⁸. Estas capacidades de las MSCs las convierte en los candidatos más apropiados para el trasplante de órganos y regeneración de tejidos.

a) Terapia celular para la reparación de tejido hepático

Grandes avances se han realizado en la regeneración del tejido hepático, recientemente se ha reportado que la administración de derivados de MSCs por vía intravenosa o perfusión extracorporeal con un birreactor provee beneficios significativos de supervivencia en ratas con fallas hepáticas crónicas³⁸. Análisis histopatológicos del tejido hepático después de la implantación mostró una dramática reducción de infiltrados de leucocitos en el hígado, muerte celular hepática y duplicación del ducto biliar. Por otro lado, tomografías computarizadas de leucocitos transferidos mostraron que MSC-CM desvía células inmunes funcionales del tejido lesionado indicando que la terapia muestra propiedades antiinflamatorias útiles para el trasplante de hígado sin embargo, aun no se han reportado datos clínicos en humanos con fallas hepáticas.

b) Terapia celular para la reparación de riñón

Lesiones agudas y crónicas de riñón presentadas tras el trasplante de este órgano presentan una compleja patofisiología entre los que se encuentran isquemia inflamación y filtración linfocitaria. Estudios tanto in vitro como in vivo indican que MSCs puede interferir con cualquiera de estas patologías y ofrecer efectos benéficos empleando múltiples mecanismos. Morigi y colegas sugirieron que injertos de MSCs en riñones dañados y induce la restauración de la estructura y función renal favoreciendo la diferenciación de MSCs en células epitelial tubular en modelos animales de daño renal inducido por cisplatín³⁹. Por el contrario otros investigadores sugieren que el tratamiento con MSCs esta asociado con el mejoramiento de la función renal pero es independiente de la diferenciación de las célu-

las^{40,41}. Hasta ahora no hay reportes del efecto de MSCs de modelos de trasplante de riñón en animales.

c) Terapia celular para la reparación de tejido pancreático

El incremento de pacientes diabéticos, ha desencadenado un mayor interés en el desarrollo de células capaces de producir insulina. Tomando en cuenta las dificultades del trasplante de islotes pancreáticos. La posibilidad de utilizar células madre con capacidad de diferenciarse en células β se ha planteado como una estrategia mucho más atractiva^{6,42}. Las características de las células madre pancreática aun son un misterio, sin embargo distintos estudios sugieren el potencial de células obtenidas a partir de hígado, conductos pancreáticos o islotes pancreáticos, o incluso células de médula ósea para producir células secretoras de insulina⁴³. En cualquier caso, una de las principales limitaciones con cualquiera de los tipos celulares descritos es que el porcentaje de células secretoras de insulina que se pueden obtener es muy pequeño, lo cual limita su aplicación terapéutica⁴⁴.

Lee y colaboradores observaron que ratones diabéticos tratados con MSC humanos mostraron un incremento de islotes pancreáticos y células β funcionales, esto aumenta la posibilidad de usar MSCs en humanos para aumentar la secreción de insulina⁴¹. Los mecanismos combinados de apoyo a la función pancreática y las propiedades inmunomodulatorias de MSCs proveen grandes beneficios que para el control de la diabetes^{43,45}.

Diversos grupos de investigación están evaluando el uso potencial del tejido fetal como fuente de células progenitoras de islotes pancreáticos. Realizando implantes en ratones con células madres fetales humanas frescas (de tejido pancreático), islotes humanos purificados y cultivo de islotes (células diferenciadas), se encontró un mayor contenido de insulina en los islotes purificados y células madres; sin embargo dicho contenido de insulina disminuía en todas las muestras a excepción de las provenientes de islotes purificados. Cuando los islotes cultivados fueron implantados en los ratones, el incremento en la concentración de insulina se mantuvo por un periodo de tres meses; sugiriendo que las células progenitoras que se encontraban en los islotes cultivados fueron capaces de reproducirse y diferenciarse en islotes funcionales, mientras que los islotes purificados, ya diferenciados no lograron proliferar y entraron en un estado de agotamiento⁴⁶. Los grandes problemas para mantener un cultivo eficiente de progenitores pancreático, así como la baja eficiencia en la diferenciación hacia islotes funcionales, hace que el uso de células madres para tratar la diabetes sea aun un sueño.

Otra fuente de progenitores pancreáticos son las células multipotenciales aisladas de ductos pancreáticos,

las cuales pueden diferenciarse a células pancreáticas ó endocrinas. Dichas células endocrinas diferenciadas secretan bajas cantidades de insulina al ser expuestas a bajas concentraciones de glucosa; y altas concentraciones de insulina, cuando son expuestas a altas concentraciones de glucosa⁴⁷. Las células multipotenciales pueden crecer indefinidamente y además pueden mantenerse en cultivo por largo tiempo, lo que las convierte en candidatos ideales para el tratamiento de la diabetes; siendo posible utilizar las células del ducto de los pacientes. Sin embargo, estas células son sensibles al ataque autoinmune por lo que aun representan un problema para pacientes con DMTI.

Otro grupo de investigadores implantaron en células embriogénicas de ratón parte del gen de la insulina fusionado a un gen de resistencia a antibióticos. Las células fueron posteriormente cultivadas en presencia de antibióticos y en variadas concentraciones de glucosa. Las células sobrevivientes que respondieron óptimamente a las concentraciones de glucosa liberando insulina; fueron implantadas en ratones diabéticos, encontrándose en estos una mejoría de los síntomas⁴⁸.

Uno de los avances mas recientes, fue un estudio en el cual 23 pacientes diabéticos autoinmunes entre 13-31 años de edad, con una DMTI de aproximadamente 37 días de diagnóstico sin historia de cetoacidosis u otras complicaciones; fueron sometidos a un trasplante con células madres hematopoyéticas autólogas extraídas de su propia médula ósea⁴⁹. Las células madres fueron liberadas de la médula usando ciclofosfamida y el factor estimulador de granulocitos y macrófagos, la sangre fue posteriormente extraída. Las células progenitoras del tipo CD34 fueron colectadas a razón de 3 millones por kilogramo de peso. Utilizando el protocolo de trasplante de médula ósea las células fueron implantadas en el páncreas y se hicieron mediciones de glucosa y péptido C durante 58 meses después del trasplante encontrándose que 20 de los pacientes revirtieron los efectos de la enfermedad. 8 de estos pacientes recayeron a los 2 meses y reiniciaron el tratamiento con insulina a bajas dosis. Los 12 pacientes restantes permanecieron libres de las inyecciones con insulina por 31 meses. Estos 12 pacientes mostraron una mayor concentración de péptido C en sangre durante los meses 24 y 36 después del trasplante⁴⁹.

A pesar de estos resultados satisfactorios, se requieren otras investigaciones para evaluar la capacidad de este tratamiento para cambiar la historia natural de la diabetes tipo 1.

Conclusiones

A pesar de los grandes avances en investigación sobre el potencial terapéutico de las células madres en los últimos años, las aplicaciones clínicas de la terapia celular no ha arrojado resultados concluyentes que permitan proponer la aplicación de estos nuevos enfoques terapéuticos en nuestro medio a corto o mediano plazo. Las células madres embrionarias presentan niveles bajos de expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clases I y II, y al diferenciarse, estas moléculas no alcanzan los niveles esperados de órganos adultos lo que las convierte en excelentes candidatos para el trasplante celular, sin embargo, se ha reportado que las células madres embrionarias son altamente tumorigénicas²⁷.

Por otro lado el trasplante con células madres adultas se encuentra limitado por problemas de rechazo, por lo cual el uso de las células madre adultas estaría limitado a trasplantes autogénicos no serían rechazados por el sistema inmunológico. Esto representa una ventaja significativa; pues el rechazo inmunológico es una complicación seria que solamente puede ser disminuido o evitado con drogas inmunosupresoras.

Referencias

1. Weissman I, Anderson D, Gage F. Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001; 17: 387-403.
2. Prosper F. Células Madres Adultas. *Cardiov Risk Factors* 2004; 31(1): 11-18.
3. Oyarzún E. Células Madres: Nuevas Fronteras para la Medicina. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2005; 70(4): 211-212.
4. Flores F, Panigua J. Las Células Madres Embrionarias Totipotenciales. *Rev Fac Med UNAM* 2006; 49 (6): 235-236.
5. Prósper F, Pérez A, Cosín J, Panizo A, Rifón J, Hernández M, Pérez-Calvo J, Rábago G, Inogés S, Rocha E, Herreros J. Utilización de Células Madre en Terapia Regenerativa Cardíaca. *Rev Med Univ* 2002;46 (2): 24-28.
6. Weir G. Las células madre, ¿la clave de la futura cura de la diabetes?. *Diabetes Voice* 2008; 53 (2): 29-31.
7. Jiang Y, Vaessen B, Lenvik T, Blackstad M, Reyes M, Verfaillie C. Multipotent progenitor cells can be isolated from postnatal murine bone marrow, muscle, and brain. *Exp Hematol* 2002; 30(8):896-904.
8. Rodríguez V. Células Madre: Conceptos Generales y Perspectivas de Investigación. *Univers Sci* 2005; 10 (1): 5-14.
9. Junqueira L, Carneiro J. *Histología básica*, 1983. Ed. Salvat. pp. 506.
10. Liechty K, Mackenzie T, Shaaban A, Radu A, Moseley A, Deans R. Human mesenchymal stem cells engraft and demonstrate site-specific differentiation after in utero transplantation in sheep. *Nat Med* 2000; 6(11): 1282-1286.

11. Masuya, M; Drake, C y Fleming, P. Hematopoietic origin of glomerular mesangial cells. *Blood* 2003; 101:2215- 2218.
12. Lechner V. Stem Cells: Proyecciones en Ingeniería en Tejido. *Rev Ped Elec*.2007; 4(1):0718-0918.
13. Körbling M, Zeev E. Adult Stem Cells for Tissue Repair. A New Therapeutic Concept?. *N Engl J Med* 2003; 349: 570-582.
14. Thomson J, Itskovitz-Eldor J, Shapiro S, Waknitz M, Swiergie, J, Marshall V, Jones J. Embryonic Stem Cell Lines Derived From Human Blastocysts. *Science*. 1998; 282: 1145- 1147.
15. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci* 2000; 98:10344-10349.
16. Castagnino J. Células Madres Embrionarias. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2005; 39 (3): 277-278.
17. Verfaillie C. Pluripotent stem cells. *Transfusion clinique et biologique: journal de la Société française de transfusion sanguine* 2009; 16(2):65-69.
18. Pera M, Reubinoff J, Trounson A. Human Embryonic Stem Cells. *J Cell Science* 2000; 113: 5-10.
19. Lapidot T, Petit I. Current Understanding Of Stem Cell Mobilization: The Roles Of Chemokines, Proteolytic Enzymes, Adhesion Molecules, Cytokines, And Stromal Cells. *Experimental Hematology* 2002 ; 30: 973-981.
20. Asahara T, Masuda H, Takahashi T, Kalka C, Pastore C, Silver M. Bone Marrow Origin Of Endotelial Progenitor Cells Responsible For Postnatal Vasculogenesis In Physiological And Pathological Neovascularization. *Circ Res* 1999 85(3): 221-228.
21. Asakura A, Seale P, Girgis-Gabardo A, Rudnicki M. "Myogenic Specification Of Side Population Cells In Skeletal Muscle". *J Cell Biol* 2002; 159 (1): 123-34.
22. Bello B, IZergina N, Caussinus E, Reichert H. Amplification of neural stem cell proliferation by intermediate progenitor cells in Drosophila brain development. *Neural Development* 2008; 3 (5): 1-17.
23. Ogawa M. Changing Phenotypes Of Hematopoietic Stem Cells. *Experim Hemat* 2002; 30: 3-6.
24. Tsai R, Kittappa R, McKay R. Plasticity, Niches, And The Use Of Stem Cells. *Develop Cell* 2002; 2: 707-712.
25. Sethe S, Scutt A, Stolzing A. Aging Of Mesenchymal Stem Cells. *Ageing Res Rev* 2006; 5: 91-116.
26. Seung K. Human neural stem cells genetically modified for brain repair in neurological disorders. *Neuropathology* 2004; 24(3):159-171.
27. Serakinci N, Guldberg P, Burns J, Abdallah B, Schrodder H, Jensen T, Kassem, M. Adult human mesenchymal stem cell as a target for neoplastic transformation. *Oncogene* 2004; 23:5095-5098.
28. McKay R, Kittappa R. Will Stem Cell Biology Generate New Therapies for Parkinson's Disease?. *Neuron* 2008; 58: 659-661.
29. Dunnett S, Bjorklund A, Lindvall O. Cell therapy in Parkinson's disease - stop or go?. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2(5):365-9.
30. Ramon-Cueto A, Cordero M, Santos-Benito,F, Avila J. Functional recovery of paraplegic rats and motor axon regeneration in their spinal cords by olfactory ensheathing glia. *Neuron* 2000; 25(2):425-35.
31. Pluchino S, Quattrini A, Brambilla E, Gritti A, Salani G, Dina G. Injection of adult neurospheres induces recovery in a chronic model of multiple sclerosis. *Nature* 2003; 422(6933):688-694.

32. Urbanek K, Quaini F, Tasca G, Torella D, Castaldo C, Nadal-Ginard B, Leri Kajstura J, Quaini E, Anversa P. Intense myocyte formation from cardiac stem cells in human cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(18): 10440–10445
33. Leri A, Kajstura J, Anversa P, Frishman W. Myocardial Regeneration and Stem Cell Repair. *Curr Probl Cardiol* 2008; 33:91-153.
34. Herreros J, Prosper F, Perez A, Gavira J, Garcia-Velloso M, Barba J. Autologous intramyocardial injection of cultured skeletal muscle-derived stem cells in patients with non-acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2003; 24(22): 2012-2020.
35. Li W, Hayashida Y, Chen Y, Tseng Y. Niche regulation of corneal epithelial stem cells at the limbus. *Cell Res* 2008; 17:26-36.
36. Tseng S, Prabhasawat P, Barton K, Gray T, Meller D. Amniotic membrane transplantation with or without limbal allografts for corneal surface reconstruction in patients with limbal stem cell deficiency. *Arch Ophthalmol* 1998; 116:431-441.
37. Devine S, Hoffman R. Role of mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Hematol* 2000; 7:358-363.
38. Brooke G, Cook M, Blair C. Therapeutic applications of mesenchymal stromal cells. *Semin Cell Dev Biol* 2007; 18:846-58.
39. Morigi M, Imberti B, Zoja C. Mesenchymal stem cells are renoprotective, helping to repair the kidney and improve function in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:1794-1804.
40. Kunter U, Rong S, Djuric Z. Transplanted mesenchymal stem cells accelerate glomerular healing in experimental glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17:2202-2212.
41. Lee R, Seo M, Reger R. Multipotent stromal cells from human marrow home to and promote repair of pancreatic islets and renal glomeruli in diabetic NOD/scid mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103:17438-43.
42. Efrat S. Cell replacement therapy for type 1 diabetes. *Trends Mol Med* 2002; 8(7):334-339.
43. Hess D, Li L, Martin M, Sakano S, Hill D, Strutt B. Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration. *Nat Biotechnol* 2003; 21 (7):763-70.
44. Clayton E, Doupé P, Klein A, Winton D, Simons B, Jones P. A single type of progenitor cell maintains normal epidermis. *Nature* 2003; 446:185-189.
45. Taira M, Inaba M, Takada K. Treatment of streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats by transplantation of islet cells from two major histocompatibility complex disparate rats in combination with intra bone marrow injection of allogeneic bone marrow cells. *Transplantation* 2005; 79:680-687.
46. Beattie GM, Otonkoski T, Lopez AD, Hayek A. Functional beta-cell mass after transplantation of human fetal pancreatic cells: differentiation or proliferation? *Diabetes* 1997; 46, 244–248.
47. Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC, Tatarkiewicz K, Song KH, Sharma A, O'Neil JJ. In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2000; 97: 7999–8004.
48. Soria B, Roche E, Berná G, Leon-Quinto T, Reig JA, Martin F. Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes* 2000; 49:157–162.
49. Couri C, Oliveira M, Stracieri A, Moraes D, Pieroni F, Barros G, Madeira M, Malmegrim K, Foss-Freitas M, Simões B, Martinez E, Foss M, Burt R, Voltarelli J. C-Peptide Levels and Insulin Independence Following Autologous Nonmyeloablative Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Newly Diagnosed Type 1 Diabetes Mellitus. *JAMA*. 2009; 301(15):1573-1579.