

ARTÍCULO DE REVISIÓN

CÉLULAS MADRE DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL: OBTENCIÓN, APLICACIONES Y SITUACIÓN EN COSTA RICA

Camacho Solís, Melissa¹; Escalona Rodríguez, Rocío¹; Romero Quirós, Silvia¹; Vargas Vargas, María Alejandra¹; Zúñiga Cubillo, Mariamalia¹ y Mora Román, Juan José².

¹Estudiante de Licenciatura en Farmacia, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

²Departamento de Farmacia Industrial, Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

Resumen: Las células madre pueden ser embrionarias o adultas. En la actualidad, se pueden aislar células madre adultas, de tipo hematopoyético y mensequimal, de distintas fuentes, por ejemplo la sangre de cordón umbilical. Para ello, es necesario llevar a cabo procedimientos establecidos para la obtención de una cantidad adecuada de las mismas, y que además, cumplan con los parámetros de control de calidad requeridos. Entre las aplicaciones que se le ha dado a este tipo de células se incluyen el tratamiento de signos y síntomas de enfermedades degenerativas, así como padecimientos de tipo autoinmune y hematológico. Sin embargo, el rango de enfermedades para el que ha sido aprobada la terapia con ellas es pequeño. En lo que respecta a Costa Rica, la inauguración del primer banco privado de sangre de cordón se dio en el año 2004, y en 2016, se llevó a cabo la apertura del laboratorio de criopreservación en el Hospital San Juan de Dios de la Caja Costarricense de Seguro Social. No obstante, debido a la falta de información que existe en el país sobre este tema, los profesionales en salud se convierten en educadores, quienes podrán informar correctamente a la población sobre esta opción terapéutica.

Palabras clave: células madre adultas, células madre hematopoyéticas, cordón umbilical, bancos de sangre.
Fuente: CeCS, BIREME.

Recibido: 8 Enero 2018. Aceptado: 2 Marzo 2018. Publicado: 25 Abril 2018.

Revista electrónica publicada por el Departamento de Farmacología de la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica, 2060 San José, Costa Rica. © All rights reserved. Licensed under a Creative Commons Unported License.



Contáctenos: rev.med.ucr@gmail.com. Tel: (506) 25-11 4492, Fax: 25-11-4489.

STEM CELLS FROM UMBILICAL CORD BLOOD: OBTAINMENT, APPLICATIONS AND COSTA RICAN SITUATION

Abstract: Stem cells can be embryonic or adult. Currently, hematopoietic and mesenchymal adult stem cells can be isolated from different sources, for example the umbilical cord blood. To do this, it is necessary to carry out established procedures to obtain an adequate amount of them, and that, also comply with the required quality control parameters. Applications for this type of cells include the treatment of signs and symptoms of degenerative diseases, as well as autoimmune and hematological diseases. However, the range of diseases for which this therapy has been approved is small. In Costa Rica, the first umbilical cord blood private bank was inaugurated in 2004, and in 2016, the cryopreservation laboratory was opened at the San Juan de Dios Hospital of the Caja Costarricense de Seguro Social. Thus, due to the lack of information that exists in the country in regard to this issue, health professionals become educators, who can properly inform the population about this therapeutic option.

Key words: adult stem cells, hematopoietic stem cells, umbilical cord, blood banks. Source: CeCS, BIREME.

GLOSARIO

- AEDT:** Ácido etilendiaminotetracético.
CMA: Células madre adultas.
CME: Células madre embrionarias.
CMH: Células madre hematopoyéticas.
CMM: Células madre mesenquimales.
DMSO: Dimetilsulfóxido.
FACT: Fundación para la Acreditación de Terapia Celular.
HLA: Antígenos leucocitarios humanos.
MHC: Complejo mayor de histocompatibilidad.
NOD: Diabéticos no obesos.
SCID: Inmunodeficiencia combinada severa.
SCU: Sangre de cordón umbilical.
TNC: Células nucleares totales.
UFC: Unidades formadoras de colonia.
VIH: Virus de inmunodeficiencia humana.

INTRODUCCIÓN

Las células madre presentan distintas características, entre ellas: indiferenciadas, inmaduras, autorrenovables y capaces de generar uno o más tipos de células diferenciadas, mediante condiciones y estímulos adecuados, lo cual permite que exista una población estable que se esté

dividiendo indefinidamente. En la figura n.º 1 se muestra su clasificación [1, 2, 3].

Actualmente, la terapia celular es una realidad. Es aplicada para restaurar o regenerar ciertos tejidos y células dañadas o perdidas por distintas patologías [4, 5]. Esta opción terapéutica surgió a la luz del trabajo científico enfocado en resolver problemas a nivel de la radiobiología clínica u oncología. En la actualidad, se pueden aislar de médula ósea de organismos jóvenes y adultos, de células tumorales y de la sangre de cordón umbilical (SCU). Estas últimas ya han sido ensayadas, mostrando una gran capacidad para tratar muchas enfermedades de origen inmunohematológico y genético, así como cáncer, diabetes tipo 1, Parkinson, ceguera y lesiones en la médula espinal [6, 7].

El abordar este tema es de suma importancia para profesionales en el área de salud. A través de la historia se ha visto implicado en debates bioéticos, así como en mitos en donde se le atribuye su participación en la clonación humana [8].



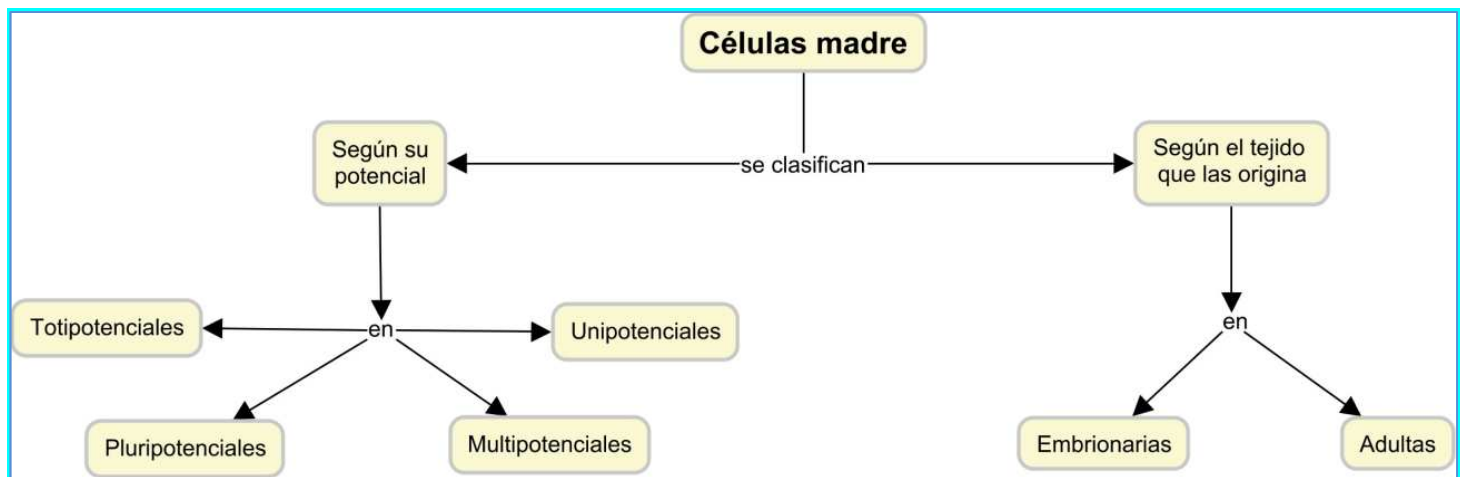


Figura n.º 1. Clasificación de las células madre según su potencial y el tejido que las origina [3].

Para elaborar esta revisión, se obtuvo información de fuentes primarias y secundarias empleando el buscador Google Scholar, así como las bases de datos Access Medicina, Ebsco y ScienceDirect. Esta búsqueda se limitó a fuentes publicadas entre 2010 y 2017. Asimismo, se llevó a cabo una entrevista con el Dr. Luis Miranda Vega, director del Laboratorio de Criopreservación del Banco de Células Madre Provida, el 18 de mayo de 2017.

CONCEPTOS IMPORTANTES

Las células madre poseen dos características fundamentales. La primera es la capacidad de división celular indefinida o autorrenovación. La segunda se refiere a que, en condiciones particulares de microambiente celular y tisular, tienen el potencial para diferenciarse en más de un tipo de célula diferenciada [3, 9, 10, 11].

Las células madre embrionarias (CME) se obtienen a partir de embriones. De forma específica, se requieren las células de la masa interna del blastocito. Estas a su vez se clasifican según su potencia en totipotenciales y pluripotenciales. Las totipotenciales son las que tienen la capacidad de formar las tres capas embrionarias (endodermo, mesodermo y ectodermo), junto con la placenta o capa extraembrionaria. Las pluripotenciales corresponden a aquellas que pueden formar las

tres capas embrionarias, pero no la extraembrionaria [3, 7, 9, 11].

Otra característica utilizada para caracterizarlas es su plasticidad. Este concepto se refiere a la capacidad para atravesar membranas biológicas, y así, poder diferenciarse en cualquier tipo de célula [3, 7, 10, 12].

Por otro lado, las células madre adultas (CMA) forman parte del cuerpo humano después del nacimiento. Se clasifican en multipotenciales y unipotenciales. Las primeras sólo pueden diferenciarse en una capa embrionaria. En estas se encuentran las hematopoyéticas, que se diferencian en progenitoras hematopoyéticas y que posteriormente, pueden generar las progenitoras hematopoyéticas mieloides (dando lugar a plaquetas y glóbulos rojos) y las linfoides (generan células del sistema inmune), y las células madre mesenquimales (CMM) o estromales. Las unipotenciales, no son de mucha importancia, ya que se diferencian en una única línea celular. Sin embargo, son las encargadas de la auto renovación tisular [3, 7, 9, 11].

Las CMA que se obtienen de la SCU se extraen al momento del nacimiento y contienen células progenitoras hematopoyéticas en su mayoría. Algunos estudios también hablan del aislamiento de CMM en el cordón umbilical. Debido a ello, se ha

buscado emplearla en distintas áreas como la medicina regenerativa [3, 7, 13, 14, 15].

Por otra parte, es importante considerar que las células de los tejidos presentan antígenos de histocompatibilidad característicos en la superficie de la membrana. Al realizar un trasplante de una persona a otra, estos son reconocidos como extraños para el huésped. Para disminuir las probabilidades de rechazo del trasplante, se busca la mayor coincidencia antigénica entre el donador y el receptor. Debido al uso de los leucocitos para trasplante, los antígenos de histocompatibilidad son llamados antígenos leucocitarios humanos (HLA, por sus siglas en inglés) [3, 7, 11, 14, 16].

Según lo anterior, las células madre de cordón umbilical son consideradas más seguras y éticamente más aceptadas que las obtenidas de la médula ósea [14, 17]. Estas últimas requieren la compatibilidad de seis antígenos, mientras que las primeras necesitan compatibilidad de cuatro. Esto facilita la donación y disminuye la probabilidad de generar rechazo en un trasplante de un donador a un receptor [14].

Otra ventaja que poseen las de cordón umbilical es que son de fácil obtención y su extracción no conlleva dolor para el bebé o la madre. La gran limitante presentada es el poco volumen que se logra recolectar [11, 14].

OBTENCIÓN DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL

Para la obtención de la materia prima, se debe realizar un análisis de la historia familiar a los posibles donadores. La SCU no debe ser recolectada si se conoce sobre la presencia de enfermedades hereditarias relacionadas a la hematopoyesis o si se identifican discapacidades o enfermedades severas en el feto donante antes de nacer. Otros criterios para la exclusión de unidades de SCU son las enfermedades infecciosas como el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y la hepatitis en la madre, complicaciones severas en el embarazo, parto prematuro con peso menor a 1500 g o existencia de asfisia perinatal fetal. Como

complemento, se debe recolectar la información referente al tipaje de HLA para su uso [18].

Por otro lado, su recolección no debe interferir con el parto y debe ser realizado únicamente por personal entrenado. Esta puede obtenerse luego del corte de cordón umbilical durante partos vaginales o cesáreas, cuando la placenta se encuentra dentro o fuera del útero. La sangre se coloca en bolsas estériles con anticoagulante de citrato-fosfato-dextrosa u otro similar como heparina [19]. No obstante, la heparina presenta factores solubles que pueden influenciar la calidad de las células obtenidas. El ácido etilendiaminotetracético (AEDT) es otra alternativa [20].

El protocolo recomendado para la recolección es comenzar el procedimiento luego del parto del infante y antes que la placenta sea expulsada. Para ello, se prensa el cordón umbilical y se realiza una limpieza exhaustiva con el propósito de desinfectar y prevenir la contaminación con sangre materna o agentes infecciosos. Luego, se punza el cordón en condiciones estériles, permitiendo el flujo de sangre por gravedad en una bolsa de recolección con anticoagulante. El volumen de sangre recolectada varía entre los 70 y los 120 mL. El transporte y el almacenamiento deben mantenerse a 22 ± 4 °C. Seguidamente, es etiquetada, pesada y se anota el volumen [18]. Después de la recolección de la sangre, esta es procesada para reducir el plasma y la cantidad de glóbulos rojos, los cuales no confieren ninguna ventaja terapéutica y se prefiere un volumen menor para la criopreservación [19].

A continuación, se realizan diferentes pruebas. Se debe analizar la viabilidad celular por medio de azul de tripano o 7-amino actinomicina, la potencia por medio de la cuantificación de unidades formadoras de colonia (UFC) o CD34+ y el hematocrito previo a la criopreservación. Se sabe que las cantidades de células nucleares totales (TNC, por sus siglas en inglés) son menores luego del descongelamiento, debido a la muerte de los

neutrófilos, mientras que las células CD34⁺ son mejor preservadas [18, 19, 21].

Estos análisis deben realizarse antes de que las unidades sean almacenadas en nitrógeno líquido o en el vapor de nitrógeno líquido a -150 °C. La sangre puede ser congelada con glicerol. No obstante, es más común el uso de 10 % o menos de dimetilsulfóxido (DMSO) como criopreservante por su durabilidad, sin degradación o pérdida de potencia [18]. El DMSO transporta agua fuera de la célula, previniendo la formación de cristales intracelulares durante la criopreservación y mitigando el daño celular. Sin embargo, se ha relacionado con varios efectos secundarios, principalmente en personas altamente sensibles al compuesto. Algunas infusiones de células provenientes de las unidades de SCU han mostrado efectos tóxicos, debido a los altos niveles de DMSO y los restos de glóbulos rojos se han hemolizados por el proceso de congelación [19, 22].

CARACTERIZACIÓN DE LA SCU

Se han llevado a cabo distintas investigaciones para determinar los parámetros relacionados con la caracterización de la sangre obtenida de cordón umbilical [23, 24, 25]. El conteo celular y el volumen de las muestras son parámetros fundamentales para la elegibilidad de cuáles unidades de SCU serán almacenadas. Las razones más comunes para la exclusión de las mismas son volumen insuficiente, atraso a la hora de la llegada al lugar del procesamiento y bajos conteos celulares [18]. La potencia de la sangre recolectada se relaciona con la habilidad de soportar el estrés durante el procesamiento, la criopreservación y el trasplante. Además, se relaciona con el conteo de TNC, CD34⁺ y UFC [6]. En la tabla n.º 1 se resumen los valores mínimos para asegurar la calidad de las muestras de SCU.

El parámetro reportado con mayor frecuencia es el de TNC. El proceso de manipulación y criopreservación puede afectar negativamente este valor como se mencionó anteriormente. Numerosos estudios han encontrado una relación muy fuerte entre el conteo de TNC con la calidad

de la unidad de sangre analizada. Se han establecido diferentes dosis a trasplantar según este parámetro, por lo que debe asegurarse que una unidad cuente con un mínimo de 9×10^8 TNC [26].

El volumen recolectado es otro parámetro para la estimación de la calidad. El peso al nacer se ha visto relacionado con este parámetro y puede ser utilizado para la selección de los donantes. Es usual que los bancos de SCU establezcan un volumen mínimo de recolección de 40 mL. Todavía no se ha encontrado una relación contundente entre el volumen y el éxito del trasplante de la unidad. Este parámetro se puede relacionar con altos conteos de TNC y células CD34⁺ [26]. Por ende, muchos bancos utilizan el volumen o peso de la sangre y las TNC mencionadas anteriormente como los parámetros de mayor importancia en la selección para la criopreservación. Por lo general, se requiere un volumen mínimo entre 40 y 60 mL [23].

Por otro lado, el antígeno de superficie celular CD34 ha sido estudiado como indicador de células progenitoras sanguíneas [27]. Este marcador es característico de las células madre hematopoyéticas (CMH) y las progenitoras hematopoyéticas. Se trata de una glicoproteína de membrana con un peso de 104 a 120 kDa, que pertenece a la familia de moléculas de adhesión llamadas sialomucinas. Se encuentra involucrado en la regulación de la adhesión de la CMH al tejido estromal. El aumento de su expresión precede la diferenciación celular [28].

Dicho antígeno tiene relación directa con la calidad de esta sangre y su éxito en caso de trasplante. El conteo de células CD34⁺ ha mostrado influenciar el éxito de un trasplante no emparentado, siendo una mejor opción para la predicción del potencial hematopoyético de una unidad de SCU que el conteo de TNC [23]. El conteo puede realizarse antes del almacenamiento, pero debe llevarse a cabo por medio de citometría de flujo de plataforma única, según diferentes guías internacionales. El Departamento de Salud de los

Estados Unidos recomienda un valor mínimo de $1,2 \times 10^6$ células CD34+ por unidad, aunque no se han realizado validaciones adecuadas que respalden este dato [26, 29]. Otra información indica que para trasplantes que no son totalmente compatibles según el HLA, el número de células CD34+ es crucial. La dosis mínima óptima para personas entre 10 y 40 Kg es de $1,7 \times 10^5$ células por kg de peso del receptor. Se debe de tomar en cuenta las pérdidas (10 a 20%) en los procesos de manipulación y criopreservación. Un número de células de 2×10^5 antes del proceso de criopreservación es deseable [23].

Tabla n.º 1. Valores mínimos requeridos para los parámetros más frecuentes empleados en el aseguramiento de la calidad de una muestra de SCU [23, 26, 29].

Parámetro	Valor mínimo
TNC	9×10^8 células/unidad
Volumen mínimo	40 a 60 mL
Células CD34+	$1,2 \times 10^6$ células/unidad

Otro parámetro es la actividad de la enzima aldehído deshidrogenasa [31, 32], que se ha relacionado con la potencia de trasplante de la SCU. Sin embargo, no existe información o guías que respalden el uso de este parámetro. El modelo de ratón xenogénico para demostrar la existencia de CMH en las unidades es usado por algunos investigadores. Este modelo consiste en el trasplante de células en ratones diabéticos no obesos con inmunodeficiencia combinada severa (NOD SCID, por sus siglas en inglés) y el análisis de la repoblación de células humanas en el ratón para confirmar su presencia en la sangre de interés. El ensayo tiene la desventaja de ser muy costoso y requiere ser realizado por personal capacitado [26].

La edad de las unidades es otro parámetro que ha tomado importancia, debido a los cambios que se podrían dar por los largos períodos de almacenamiento. Se ha reportado excelente viabilidad de unidades almacenadas durante varios años. Este parámetro no ha sido ampliamente estudiado y no existen recomendaciones con respecto a sus fechas de expiración. La combinación de diferentes parámetros para la evaluación de la calidad parece ser la opción más factible para el análisis a futuro de los productos en los diferentes bancos de SCU [33].

OBTENCIÓN DE CÉLULAS MADRE DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL

Para la obtención de las células madre a partir de la SCU, es necesaria la fracción mononuclear. A partir de su recolección, las células se diluyen con AEDT 2 mM en proporción 1:1 en una solución salina de amortiguador de fosfatos (PBS-AEDT) y las células mononucleares se separan por centrifugación a $400 \times g$ por 30 minutos por la técnica Ficoll-Hypaque 1,077. El supernatante se recoge y se centrifuga por 10 minutos a $400 \times g$. Después, se realiza un conteo celular por medio de una cámara de Neubauer o un hemocitómetro. Para identificar las viables, se puede realizar un conteo en el microscopio de contraste de fases o por medio de una tinción con azul de tripano [20].

Después, la fracción mononuclear se toma y se le realizan lavados en solución salina heparinizada con 5% de suero autólogo, el cual es filtrado. A continuación, se lleva a cabo el conteo de células y se suspenden en solución salina con 5% de suero autólogo en la concentración determinada. Puede ser administrada al paciente luego de este proceso. Se debe de apartar una muestra para los estudios de esterilidad y viabilidad, y para la determinación del inmunofenotipo por medio de citometría de flujo, y así, caracterizar las subpoblaciones presentes [20, 22].

Si las unidades de SCU fueron criopreservadas y se desean utilizar en un trasplante, deben ser sometidas a un proceso de descongelación. Las unidades han sido tradicionalmente descongeladas utilizando un método de lavado que estabiliza las



células, reduce la toxicidad del DMSO, y permite la remoción de plasma y células sanguíneas que pueden provocar incompatibilidades de tipo ABO. Los inconvenientes de este proceso incluyen la pérdida de TNC [19]. Para la administración de las células madre obtenidas de la SCU, la eliminación del DMSO previo a la infusión puede no ser necesaria [18].

En una investigación, se analizaron diferentes métodos de post descongelamiento de unidades de SCU que fueron analizadas con respecto a su estabilidad en el tiempo, según viabilidad, usando la 7-amino actinomicina, TNC, CD34⁺ o UFC. Los tres métodos de descongelamiento de unidades fueron el método de lavado tradicional, la dilución con albúmina y el proceso sin lavado o dilución. Para los dos primeros procesos, se realizó la dilución de dichas unidades con una solución de albúmina-dextrano, reduciendo la concentración de DMSO del 10 al 5%. Para la tercera técnica, se centrifugaron las muestras, eliminando el líquido sobrenadante. La adición de una solución de albúmina se utilizó para recuperar la osmolaridad y preservar la viabilidad celular. El uso de una solución de albúmina y dextrano disminuyó la pérdida celular dependiente del tiempo [19].

Se llegó a la conclusión que el proceso de lavado, que conlleva la eliminación del DMSO, los glóbulos rojos y el plasma no es necesario cuando se realiza una reducción de plasma y de glóbulos rojos antes de la criopreservación de las unidades. Junto con ello, se encontraron diferencias leves entre los niveles de TNC, CD34⁺ y UFC para los diferentes tratamientos de lavado y dilución, pero los mismos fueron inferiores, cuando se realizó únicamente el descongelamiento. Por lo tanto, las unidades de SCU mostraron ser menos estables. Además, se recomendó el método de dilución, ya que este puede reducir los efectos adversos de DMSO, al disminuir su concentración [19].

Como ya se había mencionado con anterioridad, dos de los tipos de células madre obtenidas a partir de las unidades recolectadas son las hematopoyéticas y las mesenquimales. A

continuación, se explicarán las generalidades de cada una de ellas.

CÉLULAS MADRE HEMATOPOYÉTICAS

Las CMH humanas se pueden caracterizar como CD34⁺, CD133⁺ o CD38⁺ [34]. Pueden ser encontradas en la médula ósea, en la sangre periférica y en la de cordón umbilical [20]. Como se mencionó anteriormente, el antígeno CD34⁺ es el marcador aceptado para la determinación de su contenido [23].

Usualmente, se utilizan poblaciones no purificadas. Sin embargo, se pueden emplear factores de diferenciación o de crecimiento como el factor estimulante de colonias de granulocitos. Para la obtención de células purificadas, pueden ser seleccionadas con anticuerpos anti CD34 o anti CD133, y así, separar las células positivas. Un método es el sorteo de células magnético. Este se realiza luego de su recolección, lavado y posterior incubación a 4 °C con microperlas magnéticas conjugadas con anticuerpos. Seguidamente, se lavan las células y se resuspenden en un amortiguador apropiado para agregarlas a una columna de separación magnética. Las células negativas para el marcador eluyen de la columna y se retienen de preferencia las positivas. Al retirarse la columna del campo magnético, las positivas eluyen. Para aumentar la pureza, se pueden someter a un ciclo extra [20].

Las CMH de cordón umbilical presentan una mayor respuesta proliferativa ante las citoquinas y dependen menos de células mesenquimales que las encontradas en sangre periférica o en médula ósea [35]. Asimismo, la SCU contiene una mayor proporción de células hematopoyéticas más primitivas que la médula ósea, y tienen telómeros más largos, por lo que son capaces de realizar hematopoyesis por un tiempo mayor, de dividirse más veces y de generar un gran número de células hijas [28].

Otra ventaja de las células CD34⁺ es su resistencia. Durante el estrés del parto, estas se ven estimuladas constantemente por citoquinas, por lo que son menos sensibles ante sustancias tóxicas.

Como complemento, se pueden cultivar utilizando citoquinas en medios específicos, logrando la expansión de eritroblastos, megacarioblastos, y precursores del linaje de granulocitos y macrófagos [28].

CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES

La generación de CMM a partir de la SCU es posible, pero impredecible y ha tenido un éxito bajo. Las ventajas son la disponibilidad de la fuente primaria y la naturaleza primitiva de las células madre. Estas, al igual que las obtenidas por medio de la médula ósea, tienen la capacidad de autorenovación, ser multipotenciales, lograr su diferenciación en tejidos mesenquimales (hueso, cartílago, tendones, músculos, tejido adiposo y estroma), formar colonias de células fibroblastos, expresar marcadores de CMM [36] (CD29, CD44, CD73, CD90 CD105) [37, 38, 39, 40] y migrar hasta sitios con inflamación, estimulando la proliferación o la diferenciación de células progenitoras residentes, y promoviendo la recuperación de células dañadas mediante la secreción de factores de crecimiento y el remodelamiento de matrices. Una de las desventajas principales es la cantidad encontrada en las muestras, que se estima ser de 0,00003 % de células no diferenciadas [36].

Se cree que estas se derivan del tejido placentario. No obstante, la presencia de dicho tejido podría ser resultado del proceso de obtención de la SCU [36]. Lo cierto es que en ella se han encontrado células primitivas multipotenciales capaces de diferenciarse en células derivadas de las tres capas germinales (endodermo, mesodermo y ectodermo) [28].

APLICACIONES ACTUALES Y FUTURAS

Contrario a la percepción de muchas personas, el rango de enfermedades para las cuales hay aplicaciones validadas e incorporadas en guías terapéuticas basadas en células madre es pequeño. Todavía se está obteniendo información inequívoca de estudios clínicos apropiados que demuestren si son seguras y funcionales. Estos permitirán determinar los protocolos estandarizados para su recolección, preparación y administración [9, 41, 42].

El cordón umbilical posee potencial como fuente de CMH y CMM. Los avances en la investigación básica en materia de trasplantes en modelos animales han permitido aplicarlo en ensayos clínicos controlados en diferentes patologías. En el caso de la terapia celular, diversas investigaciones han demostrado que la administración intralesional o intravenosa de las células provenientes de la SCU sin manipulación *ex vivo* alguna podrían permitir la regeneración de tejido dañado [9, 43]. Por tal razón, se muestran algunas de las posibles aplicaciones de las CMH y CMM.

APLICACIONES DE LAS CMH

La SCU es considerada una fuente rica de CMH, las cuales a su vez pueden ser empleadas en trasplantes. Estas tienen la capacidad de dar lugar a tejido hematopoyético, epitelial, endotelial y neuronal. Su trasplante es un procedimiento en el que las células son infundidas para restaurar la función de la médula ósea, afectada por enfermedades propias de este órgano o como consecuencia de una alteración secundaria. Los verdaderos alcances de sus beneficios o complicaciones en su empleo aún faltan por determinarse [43].

Existen estudios donde utilizaron el trasplante en miocardio en pacientes con enfermedades cardiovasculares, obteniendo buenos resultados [44]. En otro estudio, se dio la inyección intramuscular de CMH en pacientes con isquemia crítica de las extremidades. Se reportó que el tratamiento redujo las tasas de amputación en pacientes que recibieron dosis altas de tratamiento hasta un 22% [43, 45].

Asimismo, se ha observado que el trasplante ha sido eficaz en el tratamiento de niños menores de dos años de edad con ciertos errores innatos del metabolismo, como la mucopolisacaridosis, el síndrome de Hurler, la leucodistrofia y la enfermedad de Krabbe. Otro ensayo clínico utilizando SCU en niños menores de 5 años con diabetes tipo 1, mostró un mejor control en el manejo de la glucosa en sangre. Los ensayos clínicos sugirieron que la infusión de CMH puede

apoyar el mantenimiento y la regeneración de islotes, así como la restauración del sistema inmune. Pero, se reconoce que es necesario evaluar por más tiempo a los participantes, para obtener información concluyente de su eficacia [43, 46, 47].

La información obtenida ha ocasionado que la terapia celular utilizando SCU haya extendido su utilidad clínica, en particular mediante el uso de CMH en niños con enfermedades hematológicas malignas o no malignas, hereditarias, metabólicas, autoinmunes y neurológicas. Sin embargo, la dosis baja de células disponibles en las unidades de SCU es la principal limitación de su uso generalizado en pacientes adultos con neoplasias malignas hematológicas. No obstante, un estudio estableció la posibilidad de combinar dos unidades para superar la limitación de celularidad en la realización de trasplante único en los pacientes adultos [43].

En cuanto a la vía de administración, estas se trasplantan generalmente a pacientes a través de la infusión por vía intravenosa. Pero, en el tratamiento a nivel de sistema nervioso central, esta vía no puede emplearse. La barrera hematoencefálica es el mayor obstáculo para el suministro de la terapia celular desde el compartimento intravascular, por lo que los avances de las investigaciones en el tratamiento de las enfermedades como el Alzheimer y el Parkinson permanecen en etapa preclínica. Estos han demostrado que ciertas células por sí mismas pueden tener la capacidad innata para migrar a las regiones dañadas dentro del cerebro, y tal vez, podrían utilizarse en la terapia dirigida [43].

En la actualidad, se están llevando a cabo más de 2000 estudios clínicos relacionados con el uso de CMH para el tratamiento de numerosas enfermedades [48]. A pesar de los avances en su biología, aún existen una serie de obstáculos que hay que superar. Estos son: la dificultad de expansión *ex vivo*, la baja eficiencia de mantenimiento después del trasplante (menos del 5 % de las células trasplantadas se conservan

después del trasplante) y su destino incierto *in vivo* [49].

APLICACIONES DE LAS CMM

Las aplicaciones terapéuticas de las CMM están creciendo constantemente y se está convirtiendo en una alternativa para diversas formas de aplicaciones tanto clínicas como de investigación [13]. Su capacidad de autoregeneración y pluripotencialidad las convierten en una opción para proveer regeneración y reemplazo. Se ha logrado una diferenciación exitosa de las mismas a distintos tipos de células (cardiomiocitos, miocitos, células endoteliales y epiteliales). Sin embargo, falta mucho por conocer sobre los factores que pueden afectar su proliferación y su diferenciación [50, 51].

Las aplicaciones en niños con displasia broncopulmonar son las más estudiadas [51, 52]. También, se han observado buenos resultados en la aplicación terapéutica hematológica en niños, para la restauración de funciones de los tejidos dañados en pacientes con diabetes, encefalopatía hipóxico-isquémica neonatal, autismo y parálisis cerebral [43, 53].

El rol inmunomodulador es otro de los beneficios terapéuticos de estas células. Las mismas pueden modular la respuesta inmune innata y adquirida, y promover un efecto antiapoptosis. Se ha apreciado que puede disminuir la inflamación e incrementar la reparación tisular a través de un efecto paracrino [52, 54].

Por otra parte, poseen la característica de no expresar el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés) II, ni moléculas co-estimuladoras y expresar de manera baja el MHC I. Esta capacidad inmunomoduladora está influenciada por el microambiente en el que se encuentren. Estudios experimentales han exhibido que no todas las condiciones clínicas pueden ser favorecidas por esta terapia. Hay que entender el impacto a nivel molecular y celular, y sus interacciones con el microambiente tisular específico para lograr resultados favorables en la terapia [10].

En realidad, cada especialidad médica ha encontrado la posibilidad de su uso. La aplicación clásica es en trasplante de médula ósea o la construcción de piel artificial para quemados. Esta última ha sido utilizada como terapia regenerativa o reconstructiva para cualquier órgano o tejido corporal. Inicialmente, su utilidad se creyó que se debía a su capacidad de transdiferenciación tisular. Sin embargo, diferentes investigaciones han reconocido como principal capacidad la producción de factores paracrinos y endocrinos a través de la secreción de productos mitogénicos celulares, antiapoptóticos, antiinflamatorios, antifibróticos y angiogénicos. Igualmente, la inducción o la atracción de linfocitos T reguladores hacia el tejido donde son colocadas parece crucial en la función y la persistencia a largo plazo del efecto inmunorregulador y reparador [10, 55].

De hecho, hay estudios clínicos y preclínicos para evaluar posibles efectos regenerativos en pulmón y encéfalo. Al aplicar estas células, se reportó una disminución de la injuria pulmonar inducida por hiperoxia y se demostró un efecto dosis dependiente [51, 56]. La regeneración de la microvasculatura pulmonar es una estrategia terapéutica prometedora para restaurar la hemodinámica pulmonar en pacientes con hipertensión arterial pulmonar avanzada [43].

Además, han sido empleadas en ensayos clínicos en pacientes adultos con enfermedades neurológicas degenerativas o daño de la médula espinal [43].

En el caso de las lesiones hepáticas, se realizó un ensayo en pacientes con hepatitis B crónica, los cuales recibieron una transfusión de CMM. Se observó una mejoría en la función hepática. La terapia también ha sido segura y beneficiosa en el tratamiento de personas con insuficiencia hepática aguda asociada con la infección del virus de hepatitis B. Las transfusiones han aumentado de manera significativa las tasas de supervivencia [43, 57].

Actualmente, de los 2076 ensayos clínicos con CMM que se están llevando a cabo en todo el

mundo, 405 se centran en el estudio de su eficacia y su seguridad en diferentes aplicaciones terapéuticas. La mayoría de estos se encuentran en fase I, II o fases combinadas I-II. Tan sólo un total de 24 están en fase III. Los resultados obtenidos hasta el momento las proponen como una prometedora alternativa terapéutica para el tratamiento de distintas enfermedades como las lesiones de cartílago y hueso, diabetes, esclerosis múltiple y el infarto de miocardio, entre otras, habiéndose determinado hasta la fecha que su administración *in vivo* es segura y factible. Hay que considerar que aún quedan barreras por tomar en cuenta cómo son demostrar su eficacia para muchas de las enfermedades actualmente estudiadas, determinar sus efectos a largo plazo una vez administradas en el paciente a tratar, seleccionar la dosis y la vía de administración, entre otras [58, 59].

Cabe mencionar que, pese a la amplia literatura existente sobre su potencial clínico, los nuevos conocimientos y el refinamiento de técnicas para la caracterización de estas células, falta mucho por investigar. Si bien los estudios sugieren que los protocolos experimentales no causan daño inmediato, no existen aún reportes de estudios diseñados para establecer la eficacia de estos tratamientos [9].

Todas estas aplicaciones se resumen en la tabla n.º 2.

SITUACIÓN ACTUAL EN COSTA RICA

En Costa Rica, la obtención, el procesamiento y el almacenamiento de células madre adultas humanas provenientes de SCU u otros tejidos se rige por la Ley 17398 publicada en La Gaceta en el año 2009 [60]. En esta, se establece que su finalidad puede ser para terapia en la que haya sido científicamente comprobado que su empleo mejora el estado de salud o la calidad de vida del paciente, para investigación científica y para docencia, siempre y cuando se cumpla con los lineamientos establecidos por el Ministerio de Salud y la Caja Costarricense de Seguro Social.

Tabla n.º 2. Condiciones clínicas y patologías en las cuales se han desarrollado estudios referentes al uso de las CMH y las CMM [43, 44, 45, 46, 47, 51, 52, 53, 54, 55, 58, 59].

CMH	CMM
Restauración de la función de la médula ósea	Displasia broncopulmonar
Trasplante de miocardio	Diabetes
Isquemia crítica de las extremidades	Encefalopatía hipóxico-isquémica neonatal
Mucopolisacaridosis	Autismo
Síndrome de Hurler	Parálisis cerebral
Leucodistrofia	Modulación de la respuesta del sistema inmune
Enfermedad de Krabbe	Trasplante de médula ósea y miocardio
Diabetes tipo 1	Construcción de piel artificial
Alzheimer	Enfermedades neurodegenerativas (esclerosis múltiple)
Parkinson	Daño en cartílagos, huesos y médula espinal

Debido a la falta de información disponible en el país sobre la recolección y el uso de las células madre de cordón umbilical, se realizó una entrevista al Dr. Luis Miranda Vega.

El primer banco de SCU en Costa Rica fue fundado en el año 2004 con el nombre de Provida y bajo la tutela del Dr. Eduardo Glen Castro. Esta institución se formó después de intentar la introducción de una franquicia que pretendía recolectar la sangre

en Costa Rica y almacenar las células madre en Estados Unidos.

No obstante, el problema era el tiempo que se tardaba en almacenarla después de su recolección. Esto se produjo porque a la sangre le aplican todas las leyes de trasiego internacional de órganos y los servicios de paquetería que se utilizaban no estaban disponibles todos los días de la semana, ni durante las 24 horas de un determinado día. Estos dos factores implicaban la muerte de una gran cantidad de células madre antes de que la muestra llegase a ser almacenada. Sin embargo, a finales del año 2008 se instaló en el país la empresa Cordón de Vida, que facilitó esta operación.

Uno de los objetivos de crear un banco de SCU como Provida era cumplir con el requisito internacional establecido por la Fundación para la Acreditación de Terapia Celular (FACT, por sus siglas en inglés). Esta dicta que las células madre deben ser almacenadas en las primeras 36 horas después del parto, con el fin de que sea posible obtener y criopreservar la mayor cantidad de células viables. El mismo cuenta con los permisos del Ministerio de Salud, y del Colegio de Microbiólogos y Químicos de Costa Rica [61].

Cabe destacar que esta institución no realiza ningún tipo de investigación. Sus funciones consisten en recolectar la sangre en el momento del parto, obtener las células madre, criopreservarlas y llegar a utilizarlas en algún tratamiento. Su personal recolecta muestras tanto en hospitales gubernamentales como en clínicas privadas. Incluso, hay ginecólogos en el país que trabajan con esta empresa y se encargan de la obtención de las mismas en un parto vaginal o por cesárea.

Cuando una persona adquiere el servicio de Provida, firma un contrato en el que se responsabiliza por la recolección de la muestra, ya que el momento exacto en el que nacerá un bebé es impredecible en muchos casos. Asimismo, se establece que el bebé es el dueño legal de las células madre y que los padres son tutores hasta que alcance la mayoría de edad.



Por otra parte, en 2009 inició sus labores un nuevo banco de SCU llamado Criocel [62]. Esta empresa ofrece los mismos servicios que Provida.

A nivel público, en el año 2006 nació el proyecto de abrir en el país un banco de células madre de cordón umbilical de este tipo. No obstante, fue hasta el año 2016 que se inauguró el laboratorio de criopreservación en el Hospital San Juan de Dios de la Caja Costarricense de Seguro Social, a cargo de la Dra. Priscilla Orlich. Este proyecto fue financiado, en parte, por el gobierno de Japón, que donó más de cien millones de dólares en equipo y brindó becas a profesionales para recibir capacitaciones en ese país.

Este laboratorio funciona mediante donaciones voluntarias de mujeres sanas y mayores de 18 años de edad que hayan presentado un embarazo sano. Su finalidad es reunir la mayor cantidad de muestras posibles, para así tener una considerable variabilidad genética que mejore la probabilidad de encontrar donantes compatibles para pacientes que necesiten un trasplante con estas células. A diferencia de los servicios brindados por Provida y Criocel, las muestras recolectadas por este banco estarán disponibles para quien las necesite y no únicamente para aquellos que tengan la posibilidad de costear el servicio.

La implementación de este banco implicaría un aumento en el número de profesionales del área de la salud que se especialicen en este tipo de tratamientos, lo cual representa un posible beneficio para todos aquellos pacientes que se ven en la necesidad de recurrir a él.

Parte del éxito de este banco público depende de que se brinden las capacitaciones adecuadas a personal de salud, como lo son médicos obstetras, enfermeras y ginecólogos. Estos a su vez serán los encargados de transmitir información correcta a las mujeres embarazadas que las motive a donar esta sangre. Lo anterior es un gran reto, ya que en el país aún existen muchos mitos que rodean este tipo de terapia, además de una gran cantidad de información errónea que circula en los medios de comunicación.

CONCLUSIONES

La SCU es una buena fuente de CMH y CMM, estas últimas en menor grado, ya que no representa un proceso invasivo o dañino para el donante. A pesar de ello, presenta la desventaja de que la cantidad de células nucleadas que pueden obtenerse es menor a las que se pueden extraer de médula ósea.

Entre las aplicaciones que se le ha dado a este tipo de células cabe destacar el tratamiento de signos y síntomas de enfermedades degenerativas, como lo son el Parkinson, diabetes tipo 1, padecimientos de tipo autoinmune y hematológico. Sin embargo, el rango de enfermedades para el que ha sido aprobada la terapia con ellas es pequeño y existen riesgos que deben ser tomados en cuenta, como lo son las apariciones de metaplasias malignas causadas por el tratamiento.

En cuanto a Costa Rica, se dio la inauguración del primer banco de SCU privado en año 2004, y más recientemente, se llevó a cabo la apertura del laboratorio de criopreservación en el Hospital San Juan de Dios. Esto amplía el panorama para tratar una gran cantidad de pacientes con este tratamiento y mejora las probabilidades de encontrar un donador compatible en aquellos casos en los que se requiera un trasplante.

Actualmente, debido a la desinformación que existe en el país sobre este tema, han surgido diversas clínicas que aseguran ser capaces de curar enfermedades degenerativas, como el Parkinson, el Alzheimer, la diabetes y la hipertensión arterial, a partir de material obtenido del tejido adiposo. Estas aseveraciones no son del todo certeras, de modo que es necesario evitar que continúen ocurriendo situaciones que le dan una mala reputación a la terapia con células madre y pueden poner en riesgo la vida del paciente.

Ante la información incorrecta alrededor del tema, los profesionales en salud se convierten en educadores, quienes podrán informar correctamente a la población sobre esta opción terapéutica. Así, será posible erradicar malos conceptos, evacuar las dudas de la mejor manera, salvaguardar la integridad de los pacientes, y



proteger los beneficios que su obtención y su uso pueden implicar.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO: Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica.

REFERENCIAS

1. Arias ME, Felmer R. Biología de las células madre embrionarias (ES) en distintas especies: potenciales aplicaciones en biomedicina. *Arch Med Vet.* 2009; 41:185-195.
2. Piña-Aguilar RE. La importancia del clínico en el desarrollo de las terapias con células madre. *Rev Med Chile.* 2007; 135:1084-1086.
3. Rodríguez Pardo VM. Células madre: Conceptos generales y perspectivas de investigación. *Univ Sci.* 2005; 10(1):5-14.
4. Trounson A, DeWitt ND. Stem cell biology: Towards the reality of cell therapeutics. *Nat Cell Biol.* 2012; 14(4):331.
5. Stoltz JF, Zhang L, Ye JS, De Isla N. Organ reconstruction: Dream or reality for the future. *Bio-Med Mater Eng.* 2017; 28:S121-S127.
6. González-López GM, Sánchez-González DJ, Trejo-Bahena NI, Nuñez-Sánchez M, Sosa-Luna CA. La terapia celular en la práctica médica (Revisión). *Rev Sanid Milit Mex.* 2009; 63(2):74-83.
7. Hernández Ramírez P, Dorticós Balea E. Medicina regenerativa. Células madre embrionarias y adultas. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 2004; 20(3). Accedido: 12-10-17. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892004000300001&lng=es&nrm=iso&tlng=es
8. Rodríguez Yunta E. El potencial terapéutico de las células madre. *Eticidad del uso de las células madre embrionarias. Ars Medica Revista de Ciencias Médicas.* 2016; 32(2):162-164.
9. Amiel-Pérez J, Casado F. Células madre: limitaciones y oportunidades en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2015; 32(4):777-786.
10. Cerón W, Lozada-Requena I, Ventocilla K, Jara S, Pinto M, Cabello M et al. Células tronco mesenquimales: definiciones, cultivo y aplicaciones potenciales. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2016; 33(4):758-771.
11. Quesada Leyva L, León Ramentol CC, Fernández Torres S, Nicolau Pestana E. Células madre: una revolución en la medicina regenerativa. *MEDISAN.* 2017; 21(5):574-581.
12. Annese V, Navarro-Guerrero E, Rodríguez-Prieto I, Pardo R. Physiological Plasticity of Neural-Crest-Derived Stem Cells in the Adult Mammalian Carotid Body. *Cell Rep.* 2017; 19(3):471-478.
13. Castagnino JM. Células madre embrionarias. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 2005; 39(3):277-278.
14. Mancías Guerra C. Bancos de sangre de cordón umbilical, Jaime Pérez JC, Gómez Almaguer D, editores. *Hematología: La sangre y sus enfermedades.* 4a ed. Nueva York: McGraw-Hill; 2015.
15. Arbós A, Nicolau F, Quetglas M, Ramis JM, Monjo M, Muncunill J et al. Obtención de células madre mesenquimales a partir de cordones umbilicales procedentes de un programa altruista de donación de sangre de cordón. *Inmunología.* 2013; 32(1):3-11.
16. Fox S. *Fisiología Humana.* 14a ed. México DF: McGraw-Hill; 2016.
17. McGuckin CP, Forraz N. Potential for access to embryonic-like cells from human umbilical cord blood. *Cell Prolif.* 2008; 41(Suplemento 1):31-40.
18. Butler MG, Menitove JE. Umbilical cord blood banking: an update. *J Assist Reprod Genet.* 2011; 28(8):669-676.
19. Regan DM, Wofford JD, Wall DA. Comparison of cord blood thawing methods on cell recovery, potency, and infusion. *Transfusion.* 2010; 50(12):2670-2675.
20. Da Silva Meirelles L, Nardi NB. Methods of Isolation and Culture of Adult Stem Cells. Goligorsky MS, editor. *Regenerative Nephrology.* San Diego: Academic Press; 2011. p. 217-229.
21. Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy e International Netcord Foundation. *International Standards for Cord Blood Collection, Processing, Testing, Banking, Selection and Release.* Omaha; 2016.



22. Secco M, Zucconi E, Vieira NM, Fogaça LL, Cerqueira A, Carvalho MD et al. Multipotent Stem Cells from Umbilical Cord: Cord Is Richer than Blood! *Stem Cells*. 2008; 26(1):146-150.
23. Jaime-Pérez JC, Monreal-Robles R, Rodríguez-Romo LN, Mancías-Guerra C, Herrera-Garza JL, Gomez-Almaguer D. Evaluation of Volume and Total Nucleated Cell Count as Cord Blood Selection Parameters: A Receiver Operating Characteristic Curve Modeling Approach. *Am J Clin Pathol*. 2011; 136(5):721-726.
24. Page KM, Mendizabal A, Betz-Stablein B, Wease S, Shoulars K, Gentry T et al. Optimizing Donor Selection for Public Cord Blood Banking: Influence of Maternal, Infant, and Collection Characteristics on Cord Blood Unit Quality. *Transfusion*. 2013; 54(2):340-352.
25. Mazzoccoli G, Miscio G, Fontana A, Copetti M, Francavilla M, Bosi A et al. Time related variations in stem cell harvesting of umbilical cord blood. *Scientific Reports*. 2016; 6(1): 1-10.
26. Allan D, Petraszko T, Elmoazzen H, Smith S. A Review of Factors Influencing the Banking of Collected Umbilical Cord Blood Units. *Stem Cells Int*. 2013; 2013:1-7.
27. Shenoy S, Bose B. Identification, isolation, quantification and systems approach towards CD34, a biomarker present in the progenitor/stem cells from diverse lineages. *Methods*. 2017; 131:147-156.
28. Hordyjewska A, Popiołek Ł, Horecka A. Characteristics of hematopoietic stem cells of umbilical cord blood. *Cytotechnology*. 2014; 67(3):387-396.
29. Querol S, Gomez SG, Pagliuca A, Torrabadella M, Madrigal JA. Quality rather than quantity: the cord blood bank dilemma. *Bone Marrow Transplant*. 2010; 45(6):970-978.
30. Shahaduzzaman M, Willing AE. Umbilical cord blood (UCB) progenitor and stem cell biology and therapy. Atala A, editor. *Progenitor and Stem Cell Technologies and Therapies*. Cambridge; 2012. p. 263-268.
31. Moreb JS. Aldehyde dehydrogenase as a marker for stem cells. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2008; 3(4):237-246.
32. Xu X, Chai S, Wang P, Zhang C, Yang Y, Yang Y et al. Aldehyde dehydrogenases and cancer stem cells. *Cancer Lett*. 2015; 369:50-57.
33. Rich IN. Improving Quality and Potency Testing for Umbilical Cord Blood: A New Perspective. *Stem Cells Transl Med*. 2015; 4(9):967-973.
34. Pranke P, Hendrikx J, Debnath G, Alespeiti G, Rubinstein P, Nardi N et al. Immunophenotype of hematopoietic stem cells from placental/umbilical cord blood after culture. *Braz J Med Biol Res*. 2005; 38(12):1775-1789.
35. Almamun M, Schnabel JL, Gater ST, Ning J, Taylor KH. Isolation of Precursor B-cell Subsets from Umbilical Cord Blood. *J Visualized Exp*. 2013; 74: e50402.
36. Peters R, Wolf MJ, van den Broek M, Nuvolone M, Dannenmann S, Stieger B et al. Efficient Generation of Multipotent Mesenchymal Stem Cells from Umbilical Cord Blood in Stroma-Free Liquid Culture. *PLoS ONE*. 2010; 5(12):e15689.
37. Wu H, Zeng X, Yu J, Shang Y, Tu M, Cheang LH et al. Comparison of nucleus pulposus stem/progenitor cells isolated from degenerated intervertebral discs with umbilical cord derived mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res*. 2017; 361:324-332.
38. Morath I, Hartmann TN, Orian-Rousseau V. CD44: More than a mere stem cell marker. *Int J Biochem Cell Biol*. 2016; 81:166-173.
39. Gugliandolo A, Bramanti P, Mazzon E. Mesenchymal stem cell therapy in Parkinson's disease animal models. *Curr Res Transl Med*. 2017; 65:51-60.
40. Cleary MA, Narcisi R, Focke K, van der Linden R, Brama PAJ, van Osch GJVM. Expression of CD105 on expanded mesenchymal stem cells does not predict their chondrogenic potential. *Osteoarthritis Cartilage*. 2016; 24:868-872.
41. Connolly R, O'Brien T, Flaherty G. Stem cell tourism – A web-based analysis of clinical services available to international travellers. *Travel Med Infect Dis*. 2014; 12(6 parte B):695-701.
42. Ratajczak MZ, Ciechanowicz AK, Kucharska-Mazur J, Samochowiec J. Stem cells and their potential clinical applications in psychiatric disorders. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*. 2018; 80:3-9.
43. Fernández Sánchez V, Ibañez Cervantes G, Bello López JM. Células troncales provenientes de sangre



de cordón umbilical: de la investigación a la aplicación clínica. *Rev Med UV*; 2015: 45-52.

44. Povsic TJ, Junge C, Nada A, Schatz RA, Harrington RA, Davidson CJ et al. A phase 3, randomized, double-blinded, active-controlled, unblinded standard of care study assessing the efficacy and safety of intramyocardial autologous CD34+ cell administration in patients with refractory angina: Design of the RENEW study. *Am Heart J*. 2013; 165(6): 854-861.e2.
45. Losordo DW, Kibbe MR, Mendelsohn F, Marston W, Driver VR, Sharafuddin M et al. A Randomized, Controlled Pilot Study of Autologous CD34+ Cell Therapy for Critical Limb Ischemia. *Circ Cardiovasc Interv*. 2012; 5(6):821-830.
46. Prasad VK, Kurtzberg J. Emerging trends in transplantation of inherited metabolic diseases. *Bone Marrow Transplant*. 2008; 41(2):99-108.
47. Boelens JJ, Wynn RF, O'Meara A, Veys P, Bertrand Y, Souillet G et al. Outcomes of hematopoietic stem cell transplantation for Hurler's syndrome in Europe: A risk factor analysis for graft failure. *Bone Marrow Transplant*. 2007; 40(3):225-233.
48. Rusu E, Necula LG, Neagu AI, Alecu M, Stan C, Albulescu R et al. Current status of stem cell therapy: opportunities and limitations. *Turk J Biol*. 2016; 40:955-967.
49. Gomberg-Maitland M, Bull TM, Saggari R, Barst RJ, Elgazayerly A, Fleming TR et al. New trial designs and potential therapies for pulmonary artery hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2013; 62 (suplemento 25):D82-D91.
50. Mueller M, Wolfs TGA, Schoeberlein A, Gavilanes AWD, Surbek D, Kramer BW. Mesenchymal stem/stromal cells – a key mediator for regeneration after perinatal morbidity? *Mol Cell Pediatr*. 2016; 3(6).
51. Villalón H, Peñaloza G, Tuma D. Terapia Regenerativa en Neonatología. *Rev Med Clin Condes*. 2016; 27(4):529-539.
52. Blencowe H, Cousens S, Chou D, Oestergaard M, Say L, Moller A et al. Born too soon: the global epidemiology of 15 million preterm births. *Reprod Health*. 2013; 10(suplemento 1):S2.
53. Phinney DG, Isakova IA. Mesenchymal stem cells as cellular vectors for pediatric neurological disorders. *Brain Res*. 2014; 1573:92-107.
54. Borghesi A, Cova C, Gazzolo D, Stronati M. Stem cell therapy for neonatal diseases associated with preterm birth. *J Clin Neonatol*. 2013; 2(1):1-7.
55. Engela AU, Baan CC, Dor FJMF, Weimar W, Hoogduijn MJ. On the interactions between mesenchymal stem cells and regulatory T cells for immunomodulation in transplantation. *Front Immunol*. 2012; 3:1-8.
56. Chang YS, Choi SJ, Sung DK, Kim SY, Oh W, Yang YS et al. Intratracheal transplantation of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells dose-dependently attenuates hyperoxia-induced lung injury in neonatal rats. *Cell Transplant*. 2011; 20(11-12):1843-1854.
57. Shi M, Zhang Z, Xu R, Lin H, Fu J, Zou Z et al. Human mesenchymal stem cell transfusion is safe and improves liver function in acute-on-chronic liver failure patients. *Stem Cells Transl Med*. 2012; 1(10):725-731.
58. Guadix JA, Zugaza JL, Gálvez-Martín P. Características, aplicaciones y perspectivas de las células madre mesenquimales en terapia celular. *Med Clin (Barcelona)*. 2017; 148(9):408-414.
59. Sandoval Rodríguez AS, Meza Ríos A, García Bañuelos JJ, Armendáriz Borunda J. Células madre y su aplicación en la terapia celular. Salazar Montes AM, Sandoval Rodríguez AS, Armendáriz Borunda JS, editores. *Biología Molecular. Fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud*. 2a ed. México DF: McGraw Hill; 2016.
60. 17398 Ley especial para regular la obtención, procesamiento y almacenamiento de células madre adultas humanas provenientes de sangre de cordón umbilical o de otros tejidos. (La Gaceta, No. 197, de 09-10-2009).
61. Provida. Certificados y Respaldos. http://www.bsuprovida.com/sobre_nosotros/#certificaciones_y_respaldo. 2018. Accedido el 2 de febrero de 2018.
62. Criocel. Quiénes somos. <http://www.criocel.net/quienesSomos.php>. 2018. Accedido el 2 de febrero de 2018.

CORRESPONDENCIA

Mora Román, Juan José

Correo: juanjose.moraroman@ucr.ac.cr

