

Potencial terapéutico de las células madre en la enfermedad cerebrovascular

*Rosmery Villa-Delgado**
*Luis Rafael Moscote-Salazar***
*Gabriel Alcalá-Cerra****
*Rubén Sabogal-Barrios*****

RESUMEN

La enfermedad cerebrovascular es una importante causa de muerte e incapacidad en todo el mundo. Esta enfermedad es consecuencia de un complejo grupo de procesos fisiopatológicos que afectan la vasculatura del sistema nervioso, resultando en isquemia y modificaciones del metabolismo neuronal. Se ha demostrado que células neurales han ayudado a reparar los daños asociados a la enfermedad cerebrovascular en modelos animales y han conducido a mejoras en su capacidad física. Además, se ha observado que la aplicación endógena de células madre ocasiona neurogénesis espontánea en respuesta a la lesión isquémica y se puede mejorar a través de una adecuada infusión de citoquinas. En esta revisión se analizan diversos aspectos de la potencial aplicación de las células madre como estrategia terapéutica en el manejo de la enfermedad cerebrovascular. (MÉD.UIS. 2010;23(1):43-8).
Palabras clave: Células madre. Enfermedad cerebrovascular. Ictus. Cerebro.

SUMMARY

Therapeutic potential of stem cells in Cerebrovascular Disease.

Cerebrovascular disease is a major cause of death and disability in the worldwide, this disease results from a complex set of pathophysiologic processes that affect the nervous system vasculature, resulting in ischemia and changes in neuronal metabolism. It has been shown that neural cells helped repair damage associated with cerebrovascular disease in animal models and have led to improvements in physical capacity. Furthermore, it appears that the application of endogenous stem cells causes spontaneous neurogenesis in response to ischemic injury and can be improved through proper infusion of cytokines. This review discusses various aspects of the potential application of stem cells as a therapeutic strategy in the management of cerebrovascular disease. (MED.UIS. 2010;23(1):43-8).

Key words: Stem cells. Cerebrovascular disease. Stroke. Brain.

INTRODUCCIÓN

La Enfermedad Cerebrovascular (ECV) es una importante causa de muerte e incapacidad en todo el mundo; esta enfermedad es consecuencia de un complejo grupo de procesos fisiopatológicos que afectan la vasculatura del sistema nervioso, resultando en isquemia y modificaciones del metabolismo neuronal.

Los científicos han buscado desde hace tiempo diferentes formas de reparar el daño cerebral causado por el Ataque Cerebrovascular (ACV); la terapia de rehabilitación es elemental para maximizar la recuperación funcional en la fase inicial de la lesión, pero una vez que la recuperación se ha detenido no existe un tratamiento disponible que mejore la discapacidad del paciente¹. El trasplante de células madre se ha propuesto como una fuente potencial de

*Estudiante de 9° semestre de Medicina. Universidad de Cartagena. Cartagena. Colombia.

**MD Jefe de Residentes de Neurocirugía. Universidad de Cartagena. Cartagena. Colombia.

***MD Residente de I año de Neurocirugía. Universidad de Cartagena. Cartagena. Colombia.

****MD Neurocirujano. Docente Neurocirugía. Universidad de Cartagena. Cartagena. Colombia.

Correspondencia: Dr. Luis Rafael Moscote-Salazar. Universidad de Cartagena, Facultad de Medicina, Campus de Zaragocilla. Sección de Neurocirugía. Tercer piso. Cartagena de Indias. e-mail: neptuno102@gmail.com

Artículo recibido el 10 de enero de 2010 y aceptado para publicación el 26 de marzo del 2010.

células nuevas para reemplazar el tejido dañado luego de una injuria al sistema nervioso central, debido a la gran capacidad de diferenciación de estas células y a la posibilidad de ser una fuente de moléculas tróficas para reducir al mínimo los daños y promover la recuperación funcional^{2,3}.

Se ha demostrado que células neurales han ayudado a reparar los daños asociados a la ECV en modelos de animales y han conducido a mejoras en su capacidad física. Además, se ha observado que la aplicación endógena de células madre ocasiona neurogénesis espontánea en respuesta a la lesión isquémica y se puede mejorar a través de una adecuada infusión de citoquinas⁴. Adicionalmente, la aplicación exógena de células madre de varios tejidos como médula ósea, piel, músculo, cerebro, entre otros, son capaces de generar células nerviosas que sobreviven y forman conexiones sinápticas en el trasplante después de un accidente cerebrovascular^{2,5}.

ENFERMEDAD CEREBROVASCULAR

La Organización Mundial de la Salud define ECV como una afección neurológica focal o en ocasiones general de aparición súbita, que perdura más de 24 horas o que cause la muerte y con presunto origen vascular. Esta definición incluye ACV isquémico, la hemorragia intracerebral y la hemorragia subaracnoidea⁶.

Es causa de una gran cantidad de muertes e incapacidades en todo el mundo; aproximadamente el 80% de las ECV son causadas por un bajo flujo sanguíneo cerebral (isquemia) y el otro 20% por hemorragias tanto intraparenquimatosas como subaracnoideas³. Se considera que la ECV es la tercera causa de muerte después de la enfermedad del corazón y el cáncer, y es la principal causa de incapacidad en personas adultas, principalmente en mayores de 55 años^{6,7}; lo que resulta en importantes disfunciones sensoriomotoras, neurológicas, comportamentales y diversos tipos de parálisis, por lo que constituye uno de los principales motivos de consulta³.

Los factores pronósticos de supervivencia más importantes son la edad, la preservación de la conciencia y la ausencia de ACV previos³. En el 2007 según la Asociación Americana del Corazón el riesgo de un ACV aumenta a más del doble por cada década de la vida sobre los 55 años⁷.

En la actualidad, la única intervención disponible para reducir el tamaño del infarto cerebral es el Activador Tisular Recombinante del Plasminogeno (en inglés: *Recombinat Tissue Plasminogen Activator* ó rt-PA) por vía intravenosa a dosis de 0,9 mg/kg. El uso de rt-PA está aprobado para el ictus isquémico agudo sólo si se administra dentro de las tres primeras horas del inicio de la isquemia, aunque se ha observado que

administrado 4,5 horas después también se obtiene mejoría en el resultado clínico del paciente. Esta terapia muestra beneficio en la evolución clínica del ACV isquémico en pacientes estrictamente seleccionados; lo cual se considera reco-mendación clase I, nivel de evidencia tipo A⁸.

No obstante, este tratamiento sólo se aplica a una escasa cantidad de pacientes, que incluso no llega a superar el 5% debido a las limitaciones en la utilización de esta terapia como el retraso en la llegada de los pacientes a los hospitales, los estrictos criterios de exclusión entre otros^{2,9}.

Debido a la incapacidad que genera esta enfermedad, se ha visto la necesidad de investigar el potencial terapéutico que tienen las células madre para mejorar la lesión cerebral causada por las enfermedades cerebrovasculares, pues, estas células tienen la capacidad de generar una variedad de nuevos tipos de células funcionales, y de secretar factores neurotróficos y neuroprotectores en el lugar de la injuria en la fase aguda e incluso tiempo después cuando el tratamiento médico convencional ya no es eficaz.

TERAPIA CELULAR EN LA ENFERMEDAD CEREBROVASCULAR

El reto clínico en la ECV es lograr la restauración definitiva y a su vez, mejorar o revertir los daños en el sistema nervioso central a través de la reparación neuronal con células madre. Estas son células indiferenciadas o no especializadas que tienen la capacidad de replicarse ilimitadamente y que bajo ciertas condiciones fisiológicas o experimentales pueden ser inducidas a diferenciarse en células específicas, por lo que tienen un gran potencial terapéutico. Los científicos trabajan con Células Madre Embrionarias (CME), células madre germinales y adultas o somáticas¹⁰.

Las CME son aisladas de la masa celular interna del blastocisto y poseen el más amplio potencial de autorenovación; son pluripotentes, es decir, que puede dar lugar a todos los tipos de células dentro del embrión en desarrollo. Sin embargo, la técnica y las dificultades éticas relacionadas con las CME han promovido la búsqueda de alternativas como las células madre adultas, las cuales son células no especializadas encontradas entre células diferenciadas en un tejido o en un órgano como la médula ósea, músculo, piel, páncreas, hígado, intestino y cerebro (zona subventricular, giro dentado, hipocampo, zona subgranulosa y ventrículos laterales)^{2,4}. Estas células madre adultas tienen la capacidad de dar lugar al desarrollo de células de tejidos totalmente diferentes del que las alojó, lo que se conoce como plasticidad o trasdiferenciación¹⁰.

Se ha observado que las células madre adultas residentes en muchas partes del organismo como piel, intestino y músculo pueden contribuir a la regeneración después de la lesión de estos; pero en el cerebro a pesar de la presencia de Células Madre Neuronales (CMN), la neurogénesis espontánea como respuesta a una injuria cerebral se produce en algunas regiones; sin embargo, es limitada como para permitir una recuperación funcional, debido a un número insuficiente, ubicación restringida de estas células, y/o estar condicionada por las limitaciones impuestas por el microambiente que no podrá ser favorable para la diferenciación neuronal¹¹.

Por lo anterior, se han estado investigando estrategias para ampliar esta respuesta regenerativa endógena; ya que, se ha demostrado que las CMN cultivadas *in vitro* con la presencia del factor de crecimiento fibroblástico, el factor de crecimiento epidérmico y la supresión de citoquinas, dan lugar a tres tipos de células nerviosas, las cuales son, neuronas, astrocitos y oligodendrocitos^{2,15}.

Actualmente, las células madre se utilizan en los estudios científicos principalmente para terapias de reemplazo o sustitución celular de varias enfermedades, lo anterior puede lograrse ya sea por diferenciación *in vitro* de las células madre, seguido por el trasplante directo de células prediferenciadas en la región afectada, o por el trasplante de las células madre, seguida de la diferenciación espontánea *in vivo* según la necesidad del tipo de células; estas últimas se utilizan más cuando son necesarios múltiples tipos de células, es decir, para restaurar la función a un tejido ampliamente dañado².

La biología de las células madre es una de las áreas más fascinantes en la investigación científica. En la actualidad, lo que se pretende con el tratamiento de células madre en ECV, es dar soporte trófico a las neuronas existentes con el fin de evitar la degeneración excesiva y promover el crecimiento e integración de las nuevas neuronas para sustituir a las que se perdieron después de la lesión a través de activación de vías moleculares, ya que la terapia celular induce la remodelación de la lesión cerebral por medio de angiogénesis, neurogénesis y plasticidad axonal o formación de conexiones⁵.

Lo anterior se puede lograr mediante la utilización de CME o células madre adultas, aunque se han investigado otros tipos de células para la restauración de la función cerebral después del ACV, principalmente en modelos de roedores, como células fetales de la especie porcina, células madre cultivadas, líneas celulares inmortalizadas, células de la médula ósea e inclusive células pineales. Estas líneas clonales tienen pocas limitaciones éticas; sin embargo, existen

varios interrogantes acerca de su seguridad y eficacia pues esto se debe garantizar antes de considerar la realización de ensayos clínicos¹³.

IDENTIFICACIÓN DE LA NEUROGÉNESIS ENDÓGENA Y EXÓGENA:

Se han utilizado los análogos de timidina para la neurogénesis endógena como la bromodeoxyuridina y la timidina tritiada, las cuales se identificarán en el núcleo de cualquier célula nueva pocas horas después de la administración; no obstante, estos análogos poseen una serie de consideraciones para su uso, dentro de los que se incluyen la disolución de su componente con la continua proliferación celular y la toxicidad a altas dosis². También se ha utilizado un sistema de lentivirus, pero la especificidad de tales técnicas aun no ha sido demostrada¹⁰.

La identificación precisa de las células trasplantadas también ha sido problemática, ya que existe el inconveniente de que estas puedan salirse de las células no trasplantadas, lo que llevaría a la identificación incorrecta de las células del huésped. Para este tipo de identificación de los análogos de timidina no pueden considerarse marcadores convenientes de células trasplantadas². Por lo que es necesario el desarrollo de marcadores detectables que puedan permitir la cuantificación y localización de las células trasplantadas.

LA ISQUEMIA CEREBRAL INDUCE NEUROGÉNESIS

El hecho de que exista un aumento de la neurogénesis por parte de las CMN no es una garantía de que se observe un incremento íntegro del número de neuronas funcionales. En modelos de animales principalmente de roedores se demostró en 1998 que tras la inducción de un modelo de isquemia cerebral se incrementó la neurogénesis del hipocampo. Además, en varios estudios del 2002 se evidenció que la neurogénesis en el giro dentado y en la zona subventricular aumenta en respuesta a una lesión isquémica focal, con un nivel máximo de proliferación alrededor de la semana 1 a 2 después de la injuria^{2,13}. Esta neurogénesis es extensa y continua durante varios meses luego de la lesión¹³.

Lo mencionado anteriormente corresponde a zonas neurogénicas, es decir, en donde se ha demostrado que existen CMN pero ¿Qué sucede en lugares del cerebro donde no existen estas células? Se han realizado varios estudios y es poca la información sobre migración de CMN de la zona subventricular y el giro dentado a regiones del cerebro donde existe pérdida neuronal.

En el 2002 y 2006, dos grupos independientes observaron migración de neuroblastos de la zona subventricular hacia la penumbra isquémica en un

modelo hecho con ratas. Sin embargo, no se investigó la supervivencia y la maduración de estas células en tiempos posteriores y también se desconoce la distancia a la que estas células pueden migrar en el cerebro humano. Además lo anterior no excluye la posibilidad de la generación de nuevas neuronas en el área de la lesión^{4,13}.

Por otro lado, la mayoría de los estudios sobre neurogénesis se han realizado en modelos animales jóvenes, mientras que el ACV ocurre en cerebros envejecidos; por lo que se puede pensar que existiría menos respuesta a la lesión en zonas neurogénicas, pero se ha demostrado neurogénesis inducida por ACV en pacientes de hasta 84 años de edad². Esto se evidenció a través de marcadores que expresan las células neuronales inmaduras y de un marcador de proliferación observado cerca de los vasos sanguíneos en la zona de penumbra de infartos corticales.

Mediante estímulos fisiológicos, moléculas endógenas y agentes exógenos pueden regular la neurogénesis adulta; esto a través de factores como el factor de crecimiento fibroblástico, el factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento transformador α , el factor neuro-trófico derivado del cerebro que pertenece a la familia de las neurotrofinas, el cual está relacionado con los fenómenos de neurogénesis, sobrevida y diferenciación de nuevas neuronas en áreas específicas del sistema nervioso central^{4,14,15}. Adicionalmente, se ha demostrado que la eritropoyetina y el factor de crecimiento insulínico tipo 1 se encuentran aumentados en la zona subventricular posterior a un evento isquémico, por lo que se presume que también promueve la generación de nuevas neuronas¹¹.

Con algunos de los anteriores factores neutróficos se han planteado estrategias terapéuticas, mediante la activación de varias vías con el fin de lograr promover la generación de nuevas neuronas, así como la movilización al lugar de la lesión y la supervivencia de éstas. En ratones, la utilización células madre combinado con el factor estimulante de colonias de granulocitos, o el factor de crecimiento epidérmico más eritropoyetina aumenta la neurogénesis y mejora la recuperación funcional^{2,15}. En un modelo de ratas el tratamiento con gonadotropina coriónica humana más eritropoyetina 24 horas después del ACV logró disminuir significativamente el volumen total de la lesión¹⁶.

Debe tenerse sumo cuidado con estas terapias, ya que la realización de estudios clínicos con este tipo de técnicas pueden estar asociados con efectos adversos. Por ejemplo, cuando se utiliza factor de crecimiento fibroblástico se puede inhibir la diferenciación de células progenitoras de oligodendrocitos y a su vez provocar lesiones desmielinizantes; igualmente,

se debe pensar que tras una excesiva estimulación de la neurogénesis se incrementa el riesgo de una transformación tumoral, de los cuales el glioma es el más común y a su vez el más agresivo.

TERAPIA CON CÉLULAS MADRE EXÓGENAS EN LA ENFERMEDAD CEREBROVASCULAR

Dado que las CMN han demostrado algunas limitaciones para reemplazar el tejido lesionado después de un ACV se propone que es mejor la utilización de trasplantes celulares, pues está técnica ha estado en progreso desde hace aproximadamente dos décadas² además ofrece varias ventajas como una mayor manipulación del destino celular, capacidad de trasplantar un número deseado de células, y reducción de los riesgos asociados con el potencial mitogénico.

Como se había mencionado anteriormente, los objetivos del trasplante de células madre en ECV es dar soporte trófico a las actuales neuronas y promover el crecimiento e integración de las nuevas neuronas con el fin de mejorar la recuperación funcional. Los beneficios observados con las células madre a diferencia de otras terapias, son capacidad de lograr la neuroprotección y sustitución celular luego de varias semanas de haber ocurrido la lesión¹¹.

La vía de administración de las células madre puede ser sistémica (vasos sanguíneos) o local (cerebro). Estas células poseen capacidad migratoria hacia el área lesionada. Por lo general, las células de la medula ósea son trasplantadas sistémicamente mientras que las células neuronales se administran localmente; la primera técnica es más atractiva, menos invasiva y ha demostrado ser más efectiva^{17,18}, la segunda tiene la ventaja de proporcionar acceso inmediato a la zona lesionada¹².

La terapia intravascular se fundamenta principalmente en la respuesta inflamatoria que se produce en el cerebro luego de un ACV. Se cree que existe un proceso de migración transendotelial de las células madre, regulada de forma similar a la de las células inflamatorias, es decir, quimiotaxis, adhesión y migración¹⁷. Sin embargo, no se sabe mucho acerca de la distribución proporcional de las células administradas por vía intravenosa a nivel de todo el organismo¹⁸.

El éxito en la diferenciación y supervivencia de las neuronas en la zona de la lesión repercute en importantes cambios en la recuperación funcional. En la actualidad, se utilizan varias fuentes de células madres como células fetales que tienen altos niveles de telomerasa, lo que explica su proliferación ilimitada¹¹. Estas pueden ser inmortalizadas a través de la sobreexpresión de protooncogenes como el Ras

o sobreexpresión de la telomerasa, pero en este tipo de modificaciones genéticas se corre el riesgo de alteración de algunos genes implicados en la regulación del ciclo celular¹¹.

Las CMN pueden ser cultivadas en presencia de factores de crecimiento como el factor de crecimiento epidérmico y el factor de crecimiento fibroblástico, lo que da lugar a la formación de neuroesferas, que son pequeños agregados de células cerebrales que incluyen a las células madre y a su progenie neuronal en diferentes estadios de desarrollo, de donde se logra generar neuronas, astrocitos, oligodendrocitos e incluso pueden ser capaces de reemplazar a la mayoría de los tipos de células afectadas por una lesión isquémica y formar conexiones con las células del huésped¹⁵.

La mayoría de los estudios no han observado cambios trascendentales en el tamaño del infarto después de un trasplante con CMN, sin embargo, se ha visto que las células madre poseen efectos neuroprotectores e inmunomoduladores, con lo que se logra conseguir la preservación de los circuitos neuronales existentes. Secundario a esto, se ha evidenciado la plasticidad sináptica, es decir, la generación de nuevas conexiones a través del trasplante de células madre y esto se demostró electrofisiológicamente *in vivo* después de la administración de CME en modelos de ratón y en humanos¹⁹.

Además de las CME, quizás lo que más se utiliza en este tipo de terapia para ECV en modelos de animales son las células de la médula ósea y células de la sangre del cordón umbilical, pues son pluripotentes y su empleo ha demostrado disminución en el tamaño del infarto y en modelos de animales mejoría en la recuperación funcional, aunque estos resultados han sido difíciles de reproducir a nivel clínico¹. Cuando se expone células de la médula ósea a diversos factores de crecimiento se produce el desarrollo de células que se asemejan morfológicamente a las neuronas, incluso se tiñen positivamente para marcadores neuronales y se muestran electrofisiológicamente como neuronas¹³.

En un estudio publicado en el año 2000, se ensayó la seguridad y la viabilidad del trasplante celular neuronal en humanos con antecedente de ACV, se demostró que entre 12 a 18 meses de transcurrido el evento la mitad de los pacientes tuvo una mejoría evaluado por el puntaje de la escala Europea de Enfermedad Cerebrovascular (*ESS del inglés European Stroke Scale*) de 3 a 10 puntos, con una mejoría media de 2,9 puntos en todos los pacientes²⁰.

Posiblemente, en lo que más temor se tiene en este tipo de terapia, es la transformación tumoral de las células madre, principalmente cuando se utilizan CME, debido a su pluripotencialidad; para

evitar esta formación, especialmente de teratomas, se han propuesto algunas técnicas de trasplantes como los injertos derivados de CME libres de células indiferenciadas pluripotentes²² o el uso de células preferenciadas hacia precursores neuronales o neuronas².

CONCLUSIÓN

La ECV es la principal causa de discapacidad en los seres humanos pero carece de un tratamiento eficaz, actualmente el empleo de células madre tal vez cause un impacto significativo en el futuro enfoque de este tipo de lesión con el fin de aminorar el déficit funcional.

El hallazgo de células madre con potencial neurogénico residentes en varios lugares del cerebro adulto plantea la posibilidad de que tales células pueden ser utilizadas para restaurar las neuronas y células gliales en las zonas lesionadas, esto se lograría aumentando la respuesta endógena neurogénica, debido a que el cerebro parece ser más dinámico y flexible de lo que se creía posible. Tal vez, se puede despertar y mejorar la capacidad inherente del cerebro para producir nuevas células y la reparación en sí.

Las células madre es una de las áreas más fascinante de la biología actual, pero a pesar de los avances que se han logrado sobre el potencial terapéutico en la ECV existen varios interrogantes referente al sitio del trasplante, la cantidad de células a trasplantar, el tiempo necesario para que las células nuevas puedan adaptarse y a las vez integrarse de manera efectiva, la probabilidad de un rechazo por parte del paciente y principalmente la fuente de éstas.

Por lo anterior, es esencial un cuidadoso trabajo de investigación respecto al tema; además, deben aclararse un poco más los mecanismos que subyacen los beneficios tróficos de la terapia celular debido a que los estudios sugieren que esta terapia puede conducir a opciones viables de tratamiento para la lesión cerebral por isquemia. Este tratamiento neuroregenerativo puede ser realista, por lo que se requiere un gran esfuerzo investigativo para convertirse en algo cada vez más sólido.

El trasplante de células neuronales cultivadas en modelos animales con un método cada vez más seguro ha demostrado mejoría funcional y motora en ratas con ACV. Aunque el trasplante de células madres obtenidos de fetos humanos en pacientes con enfermedades neurodegenerativas sigue siendo evaluado, el uso clínico de este tipo de tejido es limitado debido a las dificultades éticas. Estas técnicas de tratamiento han demostrado ser seguras, bien toleradas por animales y humanos y conducen a una mejoría neurológica funcional y motora.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kondziolka D, Wechsler L. Stroke repair with cell transplantation: neuronal cells, neuroprogenitor cells, and stem cells. *Neurosurg Focus* 2008;24(3&4):E12 .
2. Burns TC, Verfaillie CM, Low WC. Stem Cells for Ischemic Brain Injury: A Critical Review. *J Comp Neurol* 2009;515:125–44.
3. Paula S, Pedroso M, Dalbem A. O potencial terapêutico das células-tronco em doenças do sistema nervosa. *Scientia Medica, Porto Alegre: PUCRS* 2005;15(4).
4. Ping Y, Lang B, Baskaya M, Dempsey R, Vemuganti R. The potential of neural stem cells to repair stroke-induced brain damage. *Acta Neuropathol* 2009;117:469–80.
5. Zheng Gang Zhang, Michael Chopp. Neurorestorative therapies for stroke: underlying mechanisms and translation to the clinic. *Lancet Neurol* 2009;8:491–500.
6. Manual de la OMS para la vigilancia paso a paso de accidentes cerebrovasculares de la OMS: estrategia paso a paso de la OMS para la vigilancia de accidentes cerebrovasculares / Enfermedades no Transmisibles y Salud Mental, Organización Mundial de la Salud, 2005.
7. Lloyd-Jones D, Adams R, Mercedes Carnethon: Heart Disease and Stroke Statistics—2009 Update, A Report From the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. 2009;119:e21-e181
8. Accidente cerebrovascular. *Rev Argent Cardiol* 2003;71(supl 2).
9. Werner Hacke, Markku Kaste, Erich Bluhmki, et al: Thrombolysis With Alteplase 3 to 4,5 Hours after Acute Ischemic Stroke. *N Engl J Med* 2008;359:1317-29.
10. Rodríguez-Pardo V. Células Madre: Conceptos Generales Y Perspectivas De Investigación. *Universitas Scientiarum* 2005;10(1):5-14.
11. Consuegra Manzano E; Ballesteros Salcero H; Alcalá García G; Nieto Osorio P; Santana Contillo M; Rodríguez Delaytz J: El ABC Del Estado Del Arte En Células Madre. *UNIMETRO* 2006;24(41):31–44.
12. Ben Roitberg. Transplantation for stroke. *Neurol Res* 2004;26, April.
13. Thored P, Arvidsson A, Cacci E, et al. Persistent Production of Neurons from Adult Brain Stem Cells During Recovery after Stroke. *Stem Cells* 2006;24:739–47.
14. Snapyan M, Lemasson M, Brill M. Vasculature Guides Migrating Neuronal Precursors in the Adult Mammalian Forebrain via Brain-Derived Neurotrophic Factor Signaling. *J Neurosci* 2009;29(13):4172–88.
15. Lobo M, Alonso J, Redondo C, et al. Cellular Characterization of Epidermal Growth Factor-expanded Free-floating Neurospheres. *J Histochem Cytochem* 2003;51:89–103.
16. Belayeva L, Khoutorova L, Zhaob K, Davidoff A, Moorec A, Cramer S. A novel neurotrophic therapeutic strategy for experimental stroke. *Brainresearch* 2009;1280 :117–23.
17. Guzman R, Choi R, Gera A. Intravascular cell replacement therapy for stroke. *Neurosurg Focus* 2008;24(3&4):E14.
18. Hicks A, Jolkkonen J. Challenges and possibilities of intravascular cell therapy in stroke. *Acta Neurobiol Exp* 2009;69:1-10.
19. Muotri A, Nakashima K, Toni N, Sandler V, Fred H. Development of functional human embryonic stem cell-derived neurons in mouse brain. *PNAS* 2005;102(51)18645.
20. Kondziolka D, Wechsler L, Goldstein S, et al.. Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke. *Neurology*. 2000;55(4):565-9.
21. Kondziolka D, Steinberg G, Wechsler L. Neurotransplantation for patients with subcortical motor stroke: a Phase 2 randomized trial. *J Neurosurg* 2005;103:38–45
22. Sánchez-Pernaute, Lorenz Studer, Ferrari D. Long-Term Survival of Dopamine Neurons Derived from Parthenogenetic Primate Embryonic Stem Cells (Cyno-1) After Transplantation. *Stem Cells* 2005;23:914–22.
23. Ronald van Os, Leonie M. Kamminga, Gerald de Haan. Stem Cell Assays: Something Old, Something New, Something Borrowed. *Stem Cells* 2004;22:1181–90.