

TERAPIA REGENERATIVA EN NEONATOLOGÍA

REGENERATIVE THERAPY IN NEONATOLOGY

DR. HERNÁN VILLALÓN (1), DR. GABRIEL PEÑALOZA (2), PS. DANIELA TUMA (3)

(1) Unidad de Neonatología. Departamento de Pediatría. Clínica Las Condes. Profesor Agregado de Pediatría. Universidad de Chile.

(2) Residente. Unidad de Neonatología. Departamento de Pediatría. Clínica Las Condes. Servicio de Neonatología. Hospital San Camilo. San Felipe.

(3) Psicóloga Clínica Infanto-Juvenil. Unidad de Neonatología. Clínica Las Condes.

Email: hvillalon@clc.cl

RESUMEN

La terapia regenerativa con células madre o mesenquimales, aparece como una interesante posibilidad en neonatología, principalmente en aquellas enfermedades crónicas, en las cuales la patogenia involucra mecanismos inflamatorios persistentes, con los consecuentes trastornos en la regeneración y remodelación de órganos y tejidos. El potencial inmunomodulador y regenerativo de estas células, representarían una promisoria solución terapéutica; sin embargo, los resultados de los ensayos en modelo animal y en algunas series clínicas, hasta ahora, no han estado exentos de controversia por los efectos laterales y las consideraciones éticas. Se presenta una revisión de los distintos aspectos relacionados con las células mesenquimales y su potencial de beneficio terapéutico en neonatología, en el contexto de los mecanismos de daño involucrados en estos niños, así como los elementos de debate asociados.

Palabras clave: Células mesenquimales, neonatología, pluripotencial, terapia regenerativa, inflamación.

SUMMARY

Regenerative therapy with stem or mesenchymal cells, appears as an interesting possibility in neonatology, especially in those chronic diseases in which the pathogenesis involves persistent inflammatory mechanisms, with consequent disorders in regeneration and organ and tissue remodeling. The immunomodulatory and regenerative capacity of these cells represent a promising therapeutic solution; however, results in animal models and some clinical series, so far, have not been without controversy by side effects and ethical considerations. A review of the various aspects of mesenchymal cells and their potential therapeutic benefit in neonatology, in the context of damage mechanisms involved in these children, as well as elements associated discussion is presented.

Key words: Stem cells, neonatology, pluripotency, regenerative therapy, inflammation.

I. INTRODUCCIÓN

El aumento de la sobrevida en el prematuro extremo menor de 28 semanas, ha llevado también, a un incremento en la cantidad de secuelas capaces de deteriorar la calidad de vida. Una proporción significativa de estos niños puede desarrollar una **displasia broncopulmonar (DBP)**, con los riesgos asociados a esta condición (1). En prematuros, la morbitletalidad, tiene una relación inversa con la edad gestacional. La prematuridad extrema, menores de 32 semanas de gestación, se observa en 1% de los embarazos únicos y en 9% de los dobles (2). Las noxas perinatales, se pueden ver en niños nacidos de pretérmino y de término. En el caso de los prematuros, el espectro de lesión encefálico, sugiere que la fisiopatología subyacente no se debe a una lesión única, sino diversos trastornos de la sustancia blanca y gris (3), lo que dificulta el enfrentamiento. En recién nacidos de término, el daño encefálico por asfixia o accidentes vasculares puede afectar 1 a 3 niños por cada 1000 nacidos vivos (4), los que son principalmente tratados con hipotermia, pero incluso, con esta modalidad de tratamiento, un 40 - 50% de los niños puede morir o quedar con severas secuelas neurológicas (5). En el caso de los prematuros menores de 33 semanas de EG, una secuela importante la constituye la **parálisis cerebral (PC)**, en quienes el riesgo de desarrollarla puede llegar a ser 30 veces mayor que en los niños nacidos a término (6). La parálisis cerebral (PC), es una secuela que se ha intentado manejar de diversas maneras. El sulfato de magnesio antenatal, previo al nacimiento, en menores de 30 semanas de gestación, ha disminuido las tasas de PC y mortalidad asociada a PC a los 2 años de edad; sin embargo, los estudios controlados randomizados no han demostrado beneficios neurológicos en el largo plazo (7, 8), es más, una significativa proporción de estos niños, además de la PC, pueden presentar epilepsia, hiperactividad importante y trastornos del neurodesarrollo (9). Los mecanismos de lesión, en estos niños, están frecuentemente exacerbados por la inflamación fetal, en la que se afecta preferencialmente la sustancia blanca, lo que puede llevar a una leucomalacia periventricular y hemorragia de la matriz germinal (3).

Aproximadamente, un 25% de los prematuros extremos, puede desarrollar una displasia broncopulmonar con consecuencias de largo plazo, como deterioro respiratorio crónico y retraso del neurodesarrollo (10). Actualmente, se entiende la patogenia de la DBP como una alteración basada en la inmadurez y en un desarrollo capilar y alveolar desorganizado, lo que representa, también, un trastorno del desarrollo (11). Está apareciendo evidencia, en modelo animal y humano, respaldando el potencial

terapéutico de las células madres o troncales, en numerosas enfermedades como es el caso de la DBP, en la que la depleción o disfunción de estas células en el pulmón en desarrollo, sería parte de la patogenia. Así, el reemplazo de las células troncales residentes, podría generar un potencial beneficio terapéutico (12, 13). Inicialmente, el origen de estas células era el sistema hematopoyético, hoy se están obteniendo, también, de otros tejidos, como células de cordón umbilical, que se han utilizado, incluso, en trasplantes de médula ósea (14). Así mismo, se están estudiando otras aplicaciones en neonatología, como síndromes malformativos de diagnóstico prenatal (15). Por estas razones, resultan una alternativa novedosa y atractiva, basada en sus capacidades inmunomoduladoras y regenerativas (16). Hoy, el acceso a ellas resulta bastante más fácil, ya que se pueden obtener de la sangre de cordón umbilical o de la gelatina de Wharton (17). Esta revisión, tiene como objetivo, describir los beneficios potenciales de las células madres o troncales, en el daño crónico de origen perinatal.

II. MECANISMOS DE DAÑO PERINATAL

Los sistemas más estudiados, por las secuelas e impacto en la calidad de vida de los prematuros, son el respiratorio y neurológico, por lo que centraremos en ellos esta revisión.

El sistema inmune en prematuros extremos, puede presentar una adecuada reacción a través de inmunidad innata, pero escasa aún de la adaptativa (Th1, Th2, Treg), así, la inapropiada capacidad de regulación de la respuesta inflamatoria, pareciera ser un elemento común en el daño a órganos y tejidos en estos niños (18). De esta manera, la inflamación, como fenómeno fisiológico, también puede causar daño en tejidos inmaduros, como ocurre en pulmón y cerebro (19) y también en otros; en modelos animales, se ha visto que la exposición a lipopolisacárido (LPS), desencadena una fuerte respuesta de la inmunidad innata, no sólo en tejidos expuestos, sino también en otros remotos no expuestos (20-22). Uno de los hitos iniciales importantes es el flujo de neutrófilos y macrófagos al sitio de la inflamación, lo cual puede amplificar la respuesta inflamatoria y alterar la capacidad modulatoria de algunos factores (18), como el factor de crecimiento transformante Beta (Beta-TGF), esto sumado a la liberación de citokinas pro-inflamatorias, puede incrementar los fenómenos de apoptosis (23). De esta manera, los fenómenos inflamatorios perinatales, pueden tener un efecto modulador del desarrollo fisiológico o patológico de sistemas y órganos del recién nacido, dependiendo de la magnitud y capacidad autorregula-

toria de dicho proceso (24). Así, la infección / inflamación materna, no sólo es un riesgo mayor de parto prematuro, sino también, puede desencadenar una respuesta sistémica inflamatoria fetal, la cual puede dañar los tejidos fetales (25).

En modelo animal, se puede inducir injuria pulmonar, exponiendo a roedores recién nacidos a altas concentraciones de oxígeno (26, 27), y se ha observado una significativa reducción de células madres circulantes y residentes en los tejidos afectados (12), así como también de células progenitoras endoteliales (EPC) circulantes y residentes de pulmón y médula ósea (28) y de células epiteliales alveolares tipo II (29). Finalmente, la injuria pulmonar lleva a una remodelación epitelial alveolar precoz disfuncional, que promueve la inflamación (30). En resumen, usando este modelo animal de daño pulmonar inducido por hiperoxia, se ha encontrado una significativa perturbación de las células formadoras de colonias endoteliales (ECFC), de las células progenitoras endoteliales (EPC), de las células madre mesenquimales (MSC) y de las células epiteliales pulmonares (12, 31). Las evidencias clínicas en niños prematuros extremos con displasia broncopulmonar, han mostrado alteraciones en las células madre mesenquimales en aspirado traqueal (32, 33) y en muestras de sangre de cordón umbilical (34, 35). La presencia de estas células madre mesenquimales en aspirado traqueal, se han considerado indicadoras de un mayor riesgo de desarrollar esta condición clínica (36), muestran un patrón de expresión genética específico de pulmón y secretan citoquinas proinflamatorias (33). La hipertensión pulmonar, propia de los cuadros displásicos severos, estaría relacionada al desarrollo de capilares dismórficos, lo cual, a su vez, sería consecuencia de un patrón alterado de factores de crecimiento angiogénico, como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y sus receptores (37). La plasticidad del pulmón en desarrollo en el prematuro extremo, aún no se conoce completamente. Los seguimientos de largo plazo, sugieren una recuperación incompleta del crecimiento pulmonar en los casos severos de displasia broncopulmonar (38).

En el sistema nervioso central (SNC), los estudios han identificado diferentes fases de daño. La muerte neuronal primaria se relaciona a la depleción de energía, la secundaria y terciaria, a la excitotoxicidad, disfunción mitocondrial y acumulación de radicales libres, lo que conduce a necrosis celular o apoptosis, con deterioro de la mielinización y función axonal (39). En estas dos últimas fases, se puede producir inflamación persistente y gliosis, y consecuentemente, una sensibilización a mayor injuria y detrimento de la maduración oligodendrocítica (40),

influenciando, además, fases críticas de la mielinización y plasticidad cortical (41). Así, el desarrollo cerebral, mielinización, vascularización y apoptosis, están fuertemente influenciadas por la respuesta inflamatoria, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas (42, 43). Las reguladoras de esta respuesta inmune en el SNC son las células gliales, capaces de orquestar la liberación de citoquinas pro y anti inflamatorias (44, 45). Las citoquinas pro inflamatorias, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) e interferón gamma (IFN-gamma), son citotóxicos para las oligodendrocitos (46); sin embargo, pueden producir citoquinas anti inflamatorias como IL-10, capaz de disminuir la expresión de IL-1B y TNF-alfa, contribuyendo así a resolver la inflamación y promover procesos de reparación (45). Por último, la formación de una cicatriz astrogliótica, pone una barrera alrededor de los tejidos lesionados, impidiendo el paso de células inflamatorias a las zonas sanas (46).

La inflamación, aparece como uno de los mecanismos más importantes en la producción de daño perinatal en el prematuro y que va más allá del efecto de la noxa tisular primaria, generando un efecto amplificador sobre tejidos vecinos y remotos, afectando, además, el desarrollo de las distintas líneas de células regenerativas precursoras.

III. CÉLULAS MADRE MESENQUIMÁTICAS O ESTROMALES (MSC): descripción, funcionamiento, beneficios terapéuticos potenciales

La célula madre o troncal, se define como una célula con capacidad de autorregeneración y diferenciación. Las de origen embrionario fueron las que primero se identificaron, pero su uso terapéutico se ha visto limitado por consideraciones éticas y su potencial oncogénico, principalmente el desarrollo de teratomas (47).

Las células mesenquimales (MSC), son consideradas células troncales somáticas, ya que se originan de "nichos" de células troncales, como son la médula ósea, piel, tejido adiposo, cordón umbilical y tejidos placentarios (48). Estas células tienen la capacidad de adaptarse al microambiente de los órganos dañados. Su utilidad radica, tanto en el reemplazo o restauración del tejido perdido y/o en la protección o rescate de las células injuriadas (49). Estas células, son pluripotenciales, es decir, presentan una gran capacidad de diferenciación. Sin embargo, se debe aclarar que no son totipotenciales, ya que no poseen la capacidad de formar un individuo completo. Esta característica, sólo es propia de los blastómeros antes del estado de mórula.

Ante las dificultades mencionadas, en el uso de células

troncales de origen embrionario, las obtenidas de los anexos fetales, se están utilizando en la actualidad con fines terapéuticos (50), ya que éstas, en comparación con las obtenidas de médula ósea, presentan ventajas, tales como, una mejor disponibilidad, menos riesgo de rechazo y menores riesgos de infección (51).

Uno de los problemas, en la actualidad, es la caracterización de las MSC, ya que lo heterogéneo de su origen, dificulta los estudios y las definiciones. Estas caracterizaciones, hoy, se realizan sobre criterios mínimos (52). Se ha logrado identificar diferentes patrones de expresión genética en la superficie de la membrana celular, las que difieren dependiendo del origen tisular y de las técnicas de cultivo utilizados (53, 54). Así, por ejemplo, MSC derivadas de líquido amniótico (LA), expresa en la superficie celular muchos marcadores característicos de las MSC obtenidas de médula ósea, como son CD73, CD90, CD 105 y complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) tipo I (55). La falta de MHC tipo II, CD40, CD80, y CD86, sugiere un fenotipo de baja inmunogenicidad, comparado con otras fuentes de MSC (56). Sin embargo, MSC derivadas de gelatina de Wharton expresan marcadores diferentes, a pesar de ser ambas originarias de estructuras fetales (57, 58).

Las células originadas de gelatina de Wharton, son consideradas más primitivas que las obtenidas de médula ósea (59), como consecuencia de esto, son capaces de diferenciarse más eficientemente a precursores neurales (60). Existiría, además, otra variable determinada por la condición clínica subyacente, la que también podría afectar el fenotipo de la MSC. Así, en aquellas obtenidas de cordón umbilical en embarazos con pre eclampsia, pareciera haber una mayor tendencia a diferenciarse hacia neuroglías, en relación a las de embarazos no complicados (49, 61).

Otra característica interesante de las MSC, es su capacidad de migración y de alojarse en el sitio del daño ("homing"), lo cual está influenciado por múltiples factores. Estas características son muy importantes al considerar sus posibles beneficios terapéuticos (62). La aparente capacidad migratoria y de "homing" de las MSC y la ausencia de potencial oncogénico, se ha descrito en diferentes estudios y en diferentes modelos de enfermedad (63, 64). En modelo de lesión inducida por hiperoxia en tejido pulmonar, en estudios animales, MSC inyectadas por vía periférica, fueron detectadas en la zona dañada (65). En otros estudios experimentales, se identificó Quemoquinas como las principales moléculas responsables del "homing", en los que tuvieron particular relevancia los receptores quimiotácticos CXCR3, CXCR4, y CXCR6 (66-68). La secre-

ción de otros factores, tales como el Factor 1-alfa derivado celular estromal (SDF-1alfa), que se une al receptor CXCR4, promueve la migración de las MSC al sitio de la lesión (69). Aún queda por conocer de las diferentes señales que promueven esta migración hacia los tejidos dañados en los que la MSC ejerce su efecto terapéutico, los que pueden ser de mucha importancia futura, para diseñar las diferentes estrategias de intervención.

La capacidad inmunomoduladora de las MSC, ha sido demostrada en varios estudios, en los cuales se ha reportado que el secretoma es capaz de alterar la respuesta inmune innata y adaptativa (70, 71). El desplazamiento de los macrófagos alveolares, de un fenotipo M1 (pro inflamatorio) a M2 (protector), atenúa la lesión pulmonar en modelos de daño inducido por LPS, propios de inmunidad innata (72). Esta capacidad, así como la de promover linfocitos T reguladores (inmunidad adaptativa), es propia de la MSC (73). También, se ha descrito la inhibición de células T auto reactivas, como las observadas en modelos animales de lesión encefálica hipoxica-isquémica (74, 75). Pero no sólo se ha reportado modulación de células T (Th1), sino también, proliferación de linfocitos B (Th2), función de neutrófilos, monocitos y toxicidad de *Natural-Killer* (inmunidad innata). Es decir, una capacidad de modulación inmune amplia (76-78). Aunque estos efectos modulatorios solo se conocen parcialmente, el contacto célula a célula y los factores solubles serían relevantes (79). Adicionalmente, los efectos de las MSC van más allá de la acción sobre elementos constitutivos del sistema inmune, produciendo y liberando citoquinas por sí mismas, como son IL-1, IL-6, IFN-Gamma, TNF-Alfa y TGF-Beta; además, factores de crecimiento como VEGF (80, 81).

Además de los efectos inmunomoduladores, se han identificado mediadores secretados por las MSC, que a través de mecanismos paracrinos tienen efectos tróficos: neurogénesis, angiogénesis, hematopoyesis, regeneración cardiovascular (82, 83). Las obtenidas de gelatina de Wharton, gatillan supervivencia y diferenciación neuronal *in vivo* e *in vitro* (84, 85). Así, se ha logrado identificar diversos factores tróficos: VEGF-A, Angiopoietina-1, factor de crecimiento de fibroblastos (FGF-1 y FGF-2), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), factor neurotrófico encéfalo-derivado (BDNF), factor neurotrófico derivado de línea glial (GDNF) y factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) (86-90).

Beneficios terapéuticos potenciales: La capacidad de auto regeneración y pluripotencialidad de las MSC, la convierten en una opción interesante de estudiar, para

proveer regeneración y reemplazo en encéfalo y pulmón dañado, aunque se debe considerar el riesgo oncogénico (91, 92). Se ha logrado una diferenciación exitosa de las MSC a distintos tipos de células, cardiomiositos, miocitos, células endoteliales y epiteliales (93-95). Además, células capaces de expresar un tipo de células, pueden diferenciarse a otras, también, como ocurre con MSC que pueden hacerlo hacia neuroglías y neumocitos (96-100). Falta mucho por conocer sobre los factores que pueden afectar la proliferación y diferenciación de estas células, entre ellas, los factores de crecimiento y proteínas de la matriz intercelular (49).

El estudio de los beneficios terapéuticos de las MSC en niños prematuros, se basa en la eficacia demostrada en modelos animales (101), y de la variedad de terapias asociadas a células troncales, las aplicaciones en niños con DBP son las más estudiadas (102).

El rol inmunomodulador es otro de los beneficios terapéuticos de las MSC (103), ya que aparte de su potencial regenerativo, pueden modular la respuesta inmune innata y adquirida, además de un efecto anti apoptosis. Puede disminuir la inflamación e incrementar la reparación tisular, a través de un efecto paracíntico (104, 105), este último mecanismo se ha sugerido al analizar las tasas de injerto en el pulmón utilizando MSC (106). Por todos estos potenciales beneficios, en la actualidad, hay estudios clínicos y en modelo animal, para evaluar posibles efectos regenerativos en pulmón y encéfalo (107, 108).

En modelos experimentales animales de DBP, la administración de MSC de médula ósea, por vía intratraqueal, intravenosa o intraperitoneal, atenuó la inflamación pulmonar, el daño vascular y mejoró el crecimiento celular alveolar (12, 109-111). Al aplicar MSC de cordón umbilical humano, se reportó una disminución de la lesión pulmonar inducida por hipoxia y se demostró un efecto dosis - dependiente (112).

Sin embargo, existe discordancia en los resultados y existe evidencia de resultados no beneficiosos en el uso terapéutico de las MSC. Por ejemplo, la inyección intravenosa de células mesenquimales mejora el infarto al miocardio, sin un reemplazo permanente de las células dañadas. En el pulmón, pueden embolizar, causando lesión de las células endoteliales (113).

Pareciera ser, que el potencial de inmunomodulación y protección de las células troncales, después de una lesión, depende de la comunicación bidireccional entre las células huésped dañadas y las injertadas, a través del

intercambio de información específica, más que un efecto directo de las MSC (114). De hecho, las células troncales no secretarían directamente factores de crecimiento y citoquinas, sino más bien, estimulan el crecimiento y complementan a las células huésped (115, 116). Aunque esta línea de investigación es prometedora, el potencial de las MSC para reemplazar células y tejidos dañados, no está probado y es materia de constante debate (107, 117, 119). En esta discusión, debiera también, comenzar a incluirse el efecto de la epigenética, ya que la expresión fenotípica final de la célula pluripotencial, puede depender de las condiciones ambientales (120), que en este caso podrían estar determinadas por el microambiente tisular.

Finalmente, ante la pregunta, acerca de si los factores secretados por las MSC o por las células huésped, representa la gran alternativa para la terapia del pulmón y SNC en el recién nacido, la respuesta no es clara y la discusión sigue aún abierta (113).

IV. FUENTES DE EXTRACCIÓN

El origen de las células troncales, se puede dividir en dos grandes grupos:

- **Embrionarias:** Se pueden obtener del blastocisto. Estas células tienen un mayor potencial oncogénico, principalmente, la formación de teratomas y las consideraciones éticas asociadas a su uso y manejo, han desincentivado una mayor investigación en sus potenciales beneficios.
- **No embrionarias:** Células mesenquimales o estromales (MSC), son las mayormente aceptadas por la comunidad científica y en las que se ha focalizado la investigación.

Así, las principales fuentes de MSC que hoy se utilizan, son (121, 122):

Médula ósea:

- Se obtiene mediante punciones en múltiples sitios bien espaciados en las crestas ilíacas y requiere anestesia.

Sangre periférica:

- Se recolecta después de estimulación con factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF).

Sangre de cordón umbilical:

- Las células madre de sangre de cordón umbilical se recolectan inmediatamente después del parto.
- La sangre del cordón umbilical puede obtenerse de bancos de cordón umbilical en dosis única o doble.
- Las células madre de sangre de cordón tiene la ventaja de estar disponible inmediatamente.
- La colección es fácil e inofensiva.

- Menor cantidad que las obtenidas de colección de medula ósea o sangre periférica.
- El trasplante con células madres derivadas de la sangre de cordón lleva a una incidencia y severidad reducida de rechazo.

Tejido de cordón umbilical:

- Se toma inmediatamente después del parto.
- Se realiza un corte extenso de cordón y se deposita en un medio de transporte, para la posterior purificación de células madres mesenquimáticas.
- Puede ser tan eficiente como la obtención de sangre de cordón umbilical.
- Requiere crio preservación.

Tejido adiposo:

- Se deriva del mesodermo embrionario y contiene un estroma que puede ser aislado con facilidad.
- Se puede obtener células pluripotenciales de su fracción estromal (ADAS, Adipose-Derived Adult Stem Cells).
- Pueden diferenciarse hacia linajes específicos
 - Adipogénico
 - Condrogénico
 - Osteogénico
 - Miogénico
 - Neurogénico
- La aspiración del tejido adiposo (liposucción) es bien tolerada
- Es abundante y de fácil acceso

Tejido dentario:

- Se realiza la extracción dentaria, para obtener el tejido pulpar, desde el cual se cultivan las células troncales

V. ASPECTOS ÉTICOS

Actualmente, las terapias regenerativas utilizando células madres, es una opción teórica, como alternativa de tratamiento en enfermedades perinatales, y si bien, impresiona promisorio, en campos como la cascada inflamatoria y sus consecuencias o la capacidad regenerativa en SNC y pulmón, también se ha considerado su potencial en enfermedades genéticas y síndromes malformativos. Sin embargo, aún no hay consensos y las aplicaciones en neonatología, están todavía en el campo de la investigación (123, 124).

El optimismo que lleva los avances tecnológicos y de conocimiento sobre las cualidades de las células madres, ha generado un debate extenso y complejo sobre el límite que puede tener esta ciencia. Desde sus inicios, las investigaciones y experimentaciones con células madres han

gatillado diversas discusiones éticas y controversias, sobre todo cuestionamientos basados en la metodología de obtención de éstas, en las cuales, el origen embrionario es sobre lo que se ha centrado mayoritariamente la discusión y no genera consensos (125).

Actualmente las intervenciones en este campo se basan en el uso de células mesenquimales adultas o específicas de tejido (somáticas), ya que no plantean, en principio, más conflictos éticos que los referentes al consentimiento informado de la persona de la que se extraigan las células, a diferencia de lo observado en la llamada clonación terapéutica, para la obtención y posterior manipulación de células madre embrionarias. Estas poseen la capacidad de generar cualquier célula diferenciada en el organismo (pluripotenciales), pero quienes se oponen han sostenido que se trata de una intervención ilícita. El principal argumento en contra del uso de este tipo de células, es que teóricamente, se puede haber realizado la fecundación con el único fin de lograr un embrión del cual obtener este material. El manejo citológico posterior, también es tema de debate. El desarrollo del cultivo de células embrionarias *in vitro* pretende superar este dilema ético instalado (126).

Desde el punto de vista de la psicología, los avances médicos y tecnológicos en el campo de la Neonatología, nos desafían a reflexionar en torno a nuestro rol en el apoyo y orientación a los padres frente a los cuestionamientos sobre la vulnerabilidad de sus hijos y las garantías o "seguros de vida" que estos avances prometen, principalmente, cuando se ofrecen en el contexto de un procedimiento, como es el parto, en el cual, la obtención de células de cordón umbilical y/o tejido placentario, es relativamente fácil. La evidencia, aún incompleta, referente a los múltiples beneficios, debiera motivar a un consentimiento adecuado y exhaustivamente informado, considerando el costo económico que implica para los padres. Por estas razones, entre otras, mientras la discusión se mantenga en un plano hipotético y sin un completo respaldo científico, se debe actuar con mucha precaución, evitando fomentar expectativas, que pudieran ser irreales, principalmente, cuando se trata de situaciones de vulnerabilidad psicológica, como es la de enfrentar una realidad dolorosa, como resultado de una enfermedad crónica y de mal pronóstico en un hijo(a).

En la actualidad, uno de los principales obstáculos, además del acceso limitado a este tipo de tratamientos y los costos, es la falta de evidencia clínica para el trasplante de células madre en patologías distintas a la leucemia.

Con el objetivo de que las Células MSC sean una alter-

nativa optimista de tratamiento de diversas enfermedades, es nuestra responsabilidad como equipo médico, y disciplina científica en desarrollo, establecer los límites y normas éticas bajo las cuales basamos los avances en la manipulación genética y uso de células mesenquimales. Así mismo, debemos saber que cuando se trata de ser padres, no existe límite para cualquier intento de mejorar la calidad y expectativa de vida de los propios hijos.

VI. CONCLUSIONES

La terapia regenerativa con células madre en neonato-

logía, hoy, se ve enfrentada a la falta de evidencias sólidas que avalen su uso, en cuanto a una eficacia y seguridad necesaria para su utilización terapéutica. Sin embargo, las investigaciones en curso son promisorias, en cuanto a proponer una modalidad de tratamiento tendiente a recuperar anatómica y funcionalmente tejidos, órganos y sistemas, que en la actualidad conducen a enfermedades crónicas. Se requiere más investigación al respecto. Por estas mismas razones, se recomienda una conducta conservadora al aconsejar a los padres de estos niños y no crear falsas expectativas, principalmente, cuando existe un desarrollo explosivo de empresas que ofrecen la "cura milagrosa" en base a las MSC.

Los autores declaran no tener conflictos de interés, en relación a este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Blencowe H, Cousens S, Chou D, Oestergaard M, Say L, et al. *Born Too Soon Preterm Birth Action Group: Born too soon: the global epidemiology of 15 million preterm births*. Reprod Health 2013; 10(suppl 1):S2.
2. Schaaf JM, Mol BW, Abu-Hanna A, Ravelli AC (2011) Trends in preterm birth: singleton and multiple pregnancies in the Netherlands, 2000–2007. BJOG 118(10):1196–1204.
3. Volpe JJ Brain injury in premature infants: a complex amalgam of destructive and developmental disturbances. Lancet Neurol (2009) 8(1):110–124.
4. Graham EM, Ruis KA, Hartman AL, Northington FJ, Fox HE A systematic review of the role of intrapartum hypoxia-ischemia in the causation of neonatal encephalopathy. Am J Obstet Gynecol (2008) 199(6):587–595.
5. Edwards AD, Brocklehurst P, Gunn AJ, Halliday H, Juszczak E, et al (2010) Neurological outcomes at 18 months of age after moderate hypothermia for perinatal hypoxic ischaemic encephalopathy: synthesis and meta-analysis of trial data. BMJ 340:c363
6. MacLennan AH, Thompson SC, Gecz J Cerebral palsy: causes, pathways, and the role of genetic variants. Am J Obstet Gynecol. (2015) doi:10.1016/j.ajog.2015.05.034
7. Doyle LW, Anderson PJ, Haslam R, Lee KJ, Crowther C, Australasian Collaborative Trial of Magnesium Sulphate Study GSchool-age outcomes of very preterm infants after antenatal treatment with magnesium sulfate vs placebo. JAMA (2014) 312(11):1105–1113
8. Cahill AG, Stout MJ, Caughey AB Intrapartum magnesium for prevention of cerebral palsy: continuing controversy? Curr Opin Obstet Gynecol (2010) 22(2):122–127
9. Robertson CM, Watt MJ, Yasui Y Changes in the prevalence of cerebral palsy for children born very prematurely within a population-based program over 30 years. JAMA (2007) 297(24):2733–2740.
10. Jensen EA, Schmidt B Epidemiology of bronchopulmonary dysplasia. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol (2014) 100(3):145–157.
11. Van Marter LJ Epidemiology of bronchopulmonary dysplasia. Semin Fetal Neonatal Med (2009) 14(6):358–366.
12. Van Haften T, Byrne R, Bonnet S, Rochefort GY, Akabutu J, et al: Airway delivery of mesenchymal stem cells prevents arrested alveolar growth in neonatal lung injury in rats. Am J Respir Crit Care Med 2009;180:1131–1142.
13. Blaisdell CJ, Gail DB, Nabel EG. National Heart, Lung, and Blood Institute perspective: lung progenitor and stem cells—gaps in knowledge and future opportunities. Stem Cells 2009;27(9):2263–70.
14. Porta F, Forino C, De Martiis D, Soncini E, Notarangelo L, et al. Stem cell transplantation for primary immunodeficiencies. Bone Marrow Transplant 2008;41:S83–6.
15. Cairo MS, Rocha V, Gluckman E, Hale G, Wagner J. Alternative allogeneic donor sources for transplantation for childhood diseases: unrelated cord blood and haploidentical family donors. Biol Blood Marrow Transplant 2008;14:S44–53.
16. 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.
17. O'Reilly M, Thebaud B. Using cell-based strategies to break the link between bronchopulmonary dysplasia and the development of chronic lung disease in later life. Pulm Med 2013;2013:874161.
18. Speer CP Pulmonary inflammation and bronchopulmonary dysplasia. J Perinatol (2006) 26(Suppl 1):S57–S62.
19. Hagberg H, Mallard C, Ferriero DM, Vannucci SJ, Levison SW, Vexler ZS, Gressens P The role of inflammation in perinatal brain injury. Nat Rev Neurol (2015) 11(4):192–208

20. Maneenil G, Kemp MW, Kannan PS, Kramer BW, Saito M, et al, Kallapur SG Oral, nasal and pharyngeal exposure to lipopolysaccharide causes a fetal inflammatory response in sheep. (2015) *PLoS ONE* 10(3):e0119281.
21. Strackx E, Sparnaaij MA, Vlassaks E, Jellema R, Kuypers E, Vles JS, Kramer BW, Gavilanes AW Lipopolysaccharide-induced chorioamnionitis causes acute inflammatory changes in the ovine central nervous system. *CNS Neurol Disord Drug Targets* (2015) 14(1):77-84.
22. Kuypers E, Willems MG, Jellema RK, Kemp MW, Newnham JP, Delhaas T, et al. Responses of the spleen to intraamniotic lipopolysaccharide exposure in fetal sheep. (2015) *Pediatr Res* 77(1-2):29-35. doi:10.1038/pr.2014.152.
23. Kunzmann S, Speer CP, Jobe AH, Kramer BW Antenatal inflammation induced TGF-beta1 but suppressed CTGF in preterm lungs. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* (2007) 292(1):L223-L231.
24. Martínez-López DG, Funderburg NT, Cerissi A, Rifaie R, Aviles-Medina L, Llorens-Bonilla BJ, et al. Lipopolysaccharide and soluble CD14 in cord blood plasma are associated with prematurity and chorioamnionitis. *Pediatr Res* (2014) 75(1-2):67-74.
25. Eklind S, Mallard C, Leverin AL, Gilland E, Blomgren K, Mattsby-Baltzer I, Hagberg H Bacterial endotoxin sensitizes the immature brain to hypoxic-ischaemic injury. *Eur J Neurosci* (2001) 13(6):1101-1106.
26. O'Reilly M, Thébaud B: Animal models of bronchopulmonary dysplasia. The term rat models. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2014;307:L948-L958.
27. Berger J, Bhandari V: Animal models of bronchopulmonary dysplasia. The term mouse models. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2014;307:L936-L947.
28. Balasubramaniam V, Mervis CF, Maxey AM, Markham NE, Abman SH: Hyperoxia reduces bone marrow, circulating, and lung endothelial progenitor cells in the developing lung: implications for the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007;292:L1073-L1084.
29. Yee M, Vitiello PF, Roper JM, Staversky RJ, Wright TW, McGrath-Morrow SA, et al.: Type II epithelial cells are critical target for hyperoxia-mediated impairment of postnatal lung development. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006;291:L1101-L1111.
30. Atochina-Vasserman EN, Bates SR, Zhang P, Abramova H, Zhang Z, Gonzales L, et al. Early alveolar epithelial dysfunction promotes lung inflammation in a mouse model of Hermansky-Pudlak syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* (2011) 184(4):449-458.
31. Alphonse RS, Vadivel A, Fung M, Shelley WC, Critser PJ, et al: Existence, functional impairment, and lung repair potential of endothelial colony-forming cells in oxygen-induced arrested alveolar growth. *Circulation* 2014;129: 2144-2157.
32. Popova AP, Bozyk PD, Bentley JK, Linn MJ, Goldsmith AM, Set al: Isolation of tracheal aspirate mesenchymal stromal cells predicts bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics* 2010;126:e1127-e1133.
33. Bozyk PD, Popova AP, Bentley JK, Goldsmith AM, Linn MJ, et al: Mesenchymal stromal cells from neonatal tracheal aspirates demonstrate a pattern of lung-specific gene expression. *Stem Cells Dev* 2011; 20:1995-2007.
34. Baker CD, Ryan SL, Ingram DA, Seedorf GJ, Abman SH, Balasubramaniam V: Endothelial colony-forming cells from preterm infants are increased and more susceptible to hyperoxia. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;180:454- 461.
35. Baker CD, Balasubramaniam V, Mourani PM, Sontag MK, Black CP, et al: Cord blood angiogenic progenitor cells are decreased in bronchopulmonary dysplasia. *Eur Respir J* 2012;40:1516-1522.
36. Popova AP, Bozyk PD, Bentley JK, Linn MJ, Goldsmith AM, et al: Isolation of tracheal aspirate mesenchymal stromal cells predicts bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics* 2010;126:e1127-e1133.
37. Thebaud B Angiogenesis in lung development, injury and repair: implications for chronic lung disease of prematurity. *Neonatology* (2007) 91(4): 291-297.
38. Donohue PK, Gilmore MM, Cristofalo E, Wilson RF, Weiner JZ, et al Inhaled nitric oxide in preterm infants: a systematic review. *Pediatrics* (2011) 127(2):e414-e422.
39. Pleasure D, Soulka A, Singh SK, Gallo V, Bannerman P Inflammation in white matter: clinical and pathophysiological aspects. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* (2006) 12(2):141-146.
40. Favrais G, van de Looij Y, Fleiss B, Ramanantsoa N, Bonnin P, et al Systemic inflammation disrupts the developmental program of white matter. *Ann Neurol* (2011) 70(4):550-565
41. Hagberg H, Mallard C, Ferriero DM, Vannucci SJ, Levison SW, et al The role of inflammation in perinatal brain injury. *Nat Rev Neurol* (2015) 11(4):192-208.
42. Shrivastava K, Chertoff M, Llovera G, Recasens M, Acarin L Short and long-term analysis and comparison of neurodegeneration and inflammatory cell response in the ipsilateral and contralateral hemisphere of the neonatal mouse brain after hypoxia/ischemia. *Neurology Res Int* (2012) 2012:781512.
43. Hagberg H, Mallard C, Ferriero DM, Vannucci SJ, Levison SW, et al The role of inflammation in perinatal brain injury. *Nat Rev Neurol* (2015) 11(4):192-208.
44. Sofroniew MV Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation. *Nat Rev Neurosci* (2015) 16(5):249-263.
45. Brown GC, Neher JJ Inflammatory neurodegeneration and mechanisms of microglial killing of neurons. *Mol Neurobiol* (2010) 41(2-3):242-247.
46. Buntinx M, Moreels M, Vandenabeele F, Lambrechts I, Raus J, et al (2004) Cytokine-induced cell death in human oligodendroglial cell lines: I. Synergistic effects of IFN-gamma and TNFalpha on apoptosis. *J Neurosci Res* 76(6):834-845.
47. Ramalho-Santos M, Willenbring H On the origin of the term "stem cell". *Cell Stem Cell* (2007) 1(1):35-38.
48. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, et al Multilineage

- cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* (2001) 7(2):211-228.
49. Mueller M, Wolfs T, Schoeberlein A, Gavilanes A, Surbek D, Kramer B. Mesenchymal stem/stromal cells-a key mediator for regeneration after perinatal morbidity? *Molecular and Cellular Pediatrics* (2016) 3:6 DOI 10.1186/s40348-016-0034-x.
50. Arnalda Lanfranchi a, Fulvio Porta a, Gaetano Chirico, Stem cells and the frontiers of neonatology. *Early Human Development* 85 (2009) S15-S18.
51. De Coppi P, Bartsch Jr G, Siddiqui MM, Xu T, Santos CC, et al. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nat Biotechnol* 2007;25:100-6.
52. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, et al Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* (2006) 8(4):315-317.
53. Roobrouck VD, Vanuytsel K, Verfaillie CM Concise review: culture mediated changes in fate and/or potency of stem cells. *Stem Cells* (2011) 29(4): 583-589.
54. Joerger-Messerli M, Bruhlmann E, Bessire A, Wagner A, Mueller M, Surbek DV, Schoeberlein A Preeclampsia enhances neuroglial marker expression in umbilical cord Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells. *J Matern Fetal Neonatal Med* (2015) 28(4):464-469.
55. In 't Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-van der Keur C, Noort WA, Claas FH, et al Amniotic fluid as a novel source of mesenchymal stem cells for therapeutic transplantation. *Blood* (2003) 102(4):1548- 1549.55.
56. Moorefield EC, McKee EE, Solchaga L, Orlando G, Yoo JJ, Walker S, et al Cloned, CD117 selected human amniotic fluid stem cells are capable of modulating the immune response. *PLoS ONE* (2011) 6(10):e26535.
57. Fong CY, Chak LL, Biswas A, Tan JH, Gauthaman K, Chan WK, et al Human Wharton's jelly stem cells have unique transcriptome profiles compared to human embryonic stem cells and other mesenchymal stem cells. *Stem Cell Rev* (2011) 7(1):1-16.
58. Subramanian A, Fong CY, Biswas A, Bongso A Comparative characterization of cells from the various compartments of the human umbilical cord shows that the Wharton's jelly compartment provides the best source of clinically utilizable mesenchymal stem cells. *PLoS ONE* (2015) 10(6): e0127992.
59. Troyer DL, Weiss ML Wharton's jelly-derived cells are a primitive stromal cell population. *Stem Cells* (2008) 26(3):591-599.
60. Balasubramanian S, Thej C, Venugopal P, Priya N, Zakaria Z, et al Higher propensity of Wharton's jelly derived mesenchymal stromal cells towards neuronal lineage in comparison to those derived from adipose and bone marrow. *Cell Biol Int* (2013) 37(5):507-515.
61. Joerger-Messerli M, Bruhlmann E, Bessire A, Wagner A, Mueller M, et al. Preeclampsia enhances neuroglial marker expression in umbilical cord Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells. *J Matern Fetal Neonatal Med* (2015) 28(4):464-469.
62. Sohni A, Verfaillie CM Mesenchymal stem cells migration homing and tracking. *Stem Cells Int* (2013) 2013:130763.
63. Yang WZ, Zhang Y, Wu F, Min WP, Minev B, et al. Safety evaluation of allogeneic umbilical cord blood mononuclear cell therapy for degenerative conditions. *J Transl Med* (2010) 8:75.
64. Schoeberlein A, Mueller M, Reinhart U, Sager R, Messerli M, Surbek DV. Homing of placenta-derived mesenchymal stem cells after perinatal intracerebral transplantation in a rat model. *Am J Obstet Gynecol* (2011) 205(3): 277.
65. Zhang X, Wang H, Shi Y, Peng W, Zhang S, Zhang W, et al. Role of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the prevention of hyperoxia-induced lung injury in newborn mice. *Cell Biol Int* (2012) 36(6):589-594.
66. Jaerve A, Muller HW Chemokines in CNS injury and repair. *Cell Tissue Res* (2012) 349(1):229-248.
67. Gao LR, Zhang NK, Ding QA, Chen HY, Hu X, Jiang S, et al. Common expression of stemness molecular markers and early cardiac transcription factors in human Wharton's jellyderived mesenchymal stem cells and embryonic stem cells. *Cell Transplant* (2013) 22(10):1883-1900.
68. Yang JX, Zhang N, Wang HW, Gao P, Yang QP, Wen QP CXCR4 receptor overexpression in mesenchymal stem cells facilitates treatment of acute lung injury in rats. *J Biol Chem* (2015) 290(4):1994-2006.
69. Yang DY, Sheu ML, Su HL, Cheng FC, Chen YJ, Chen CJ, et al. Dual regeneration of muscle and nerve by intravenous administration of human amniotic fluid-derived mesenchymal stem cells regulated by stromal cell-derived factor-1alpha in a sciatic nerve injury model. *J Neurosurg* (2012) 116(6):1357-1367.
70. Aslam M, Baveja R, Liang OD, Fernandez-Gonzalez A, Lee C, Mitsialis SA, et al. Bone marrow stromal cells attenuate lung injury in a murine model of neonatal chronic lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* (2009) 180(11):1122-1130.
71. Bruno S, Dereggibus MC, Camussi G The secretome of mesenchymal stromal cells: role of extracellular vesicles in immunomodulation. *Immunol Lett.* (2015) doi:10.1016/j.imlet.2015.06.007.
72. Maron-Gutierrez T, Silva JD, Asensi KD, Bakker-Abreu I, Shan Y, Diaz BL, et al Effects of mesenchymal stem cell therapy on the time course of pulmonary remodeling depend on the etiology of lung injury in mice. *Crit Care Med* (2013) 41(11):e319-e333.
73. Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, Milanesi M, Longoni PD, et al Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood* (2002) 99(10):3838-3843.
74. Jellema RK, Wolfs TG, Lima Passos V, Zwanenburg A, Ophelders DR, Kuypers E, et al Mesenchymal stem cells induce T-cell tolerance and protect the preterm brain after global hypoxia-ischemia. *PLoS ONE* (2013) 8(8):e73031.
75. Duffy MM, Ritter T, Ceredig R, Griffin MD Mesenchymal stem cell effects on T-cell effector pathways. *Stem Cell Res Ther* (2011) 2(4):34.

76. Franquesa M, Hoogduijn MJ, Bestard O, Grinyo JM *Immunomodulatory effect of mesenchymal stem cells on B cells*. *Front Immunol* (2012) 3:212.
77. Raffaghello L, Bianchi G, Bertolotto M, Montecucco F, Busca A, et al *Human mesenchymal stem cells inhibit neutrophil apoptosis: a model for neutrophil preservation in the bone marrow niche*. *Stem Cells* (2008) 26(1):151-162.
78. Spaggiari GM, Capobianco A, Abdelrazik H, Bechetti F, Mingari MC, et al *Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2,3-dioxygenase and prostaglandin E2*. *Blood* (2008) 111(3):1327-1333.
79. Rahmat Z, Jose S, Ramasamy R, Vidyadarshan S *Reciprocal interactions of mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells and BV2 microglia after lipopolysaccharide stimulation*. *Stem Cell Res Ther* (2013) 4(1):12.
80. Chang YS, Ahn SY, Jeon HB, Sung DK, Kim ES, et al *Critical role of vascular endothelial growth factor secreted by mesenchymal stem cells in hyperoxic lung injury*. *Am J Respir Cell Mol Biol* (2014) 51(3):391-399.
81. Guan XJ, Song L, Han FF, Cui ZL, Chen X, et al *Mesenchymal stem cells protect cigarette smoke-damaged lung and pulmonary function partly via VEGF-VEGF receptors*. *J Cell Biochem* (2013) 114(2): 323-335.
82. Gao LR, Zhang NK, Ding QA, Chen HY, Hu X, Jiang S, et al *Common expression of stemness molecular markers and early cardiac transcription factors in human Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells and embryonic stem cells*. *Cell Transplant* (2013) 22(10):1883-1900.
83. Hsieh JY, Wang HW, Chang SJ, Liao KH, Lee IH, Lin WS, et al *Mesenchymal stem cells from human umbilical cord express preferentially secreted factors related to neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis*. *PLoS ONE* (2013) 8(8):e72604.
84. Teixeira FG, Carvalho MM, Neves-Carvalho A, Panchalingam KM, Behie LA, Pinto L, et al *AJ Secretome of mesenchymal progenitors from the umbilical cord acts as modulator of neural/glial proliferation and differentiation*. *Stem Cell Rev* (2015) 11(2):288-297.
85. Pires AO, Neves-Carvalho A, Sousa N, Salgado AJ *The secretome of bone marrow and Wharton jelly derived mesenchymal stem cells induces differentiation and neurite outgrowth in SH-SY5Y cells*. *Stem Cells Int* (2014) 2014: 438352.
86. Constantin G, Marconi S, Rossi B, Angiari S, Calderan L, et al *(Adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorate chronic experimental autoimmune encephalomyelitis*. *Stem Cells* 2009) 27(10):2624-2635.
87. Bai L, Lennon DP, Caplan AI, DeChant A, Hecker J, et al *Hepatocyte growth factor mediates mesenchymal stem cell-induced recovery in multiple sclerosis models*. *Nat Neurosci* (2012) 15(6):862- 870.
88. Voulgari-Kokota A, Fairless R, Karamita M, Kyriargyri V, Tseveleki V, et al *Mesenchymal stem cells protect CNS neurons against glutamate excitotoxicity by inhibiting glutamate receptor expression and function*. *Exp Neurol* (2012) 236(1):161-170.
89. Gu W, Zhang F, Xue Q, Ma Z, Lu P, Yu B *Transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells reduces lesion volume and induces axonal regrowth of injured spinal cord*. *Neuropathology* (2010) 30(3):205-217.
90. Meng F, Meliton A, Moldobaeva N, Mutlu G, Kawasaki Y, et al *Asef mediates HGF protective effects against LPS-induced lung injury and endothelial barrier dysfunction*. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* (2015) 308(5):L452-L463.
91. Ramalho-Santos M, Willenbring H *On the origin of the term "stem cell"*. *Cell Stem Cell* (2007) 1(1):35-38.
92. Caplan AI *Mesenchymal stem cells*. *J Orthop Res* (1991) 9(5):641-650.
93. Nartprayut K, U-Pratya Y, Kheolamai P, Manochantr S, Chayosumrit M, et al *Cardiomyocyte differentiation of perinatally derived mesenchymal stem cells*. *Mol Med Rep* (2013) 7(5):1465-1469.
94. Li D, Chai J, Shen C, Han Y, Sun T *Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells differentiate into epidermal-like cells using a novel co-culture technique*. *Cytotechnology* (2014) 66(4):699-708.
95. Wu KH, Zhou B, Lu SH, Feng B, Yang SG, et al *In vitro and in vivo differentiation of human umbilical cord derived stem cells into endothelial cells*. *J Cell Biochem* (2007) 100(3):608-616.
96. Leite C, Silva NT, Mendes S, Ribeiro A, de Faria JP, et al *Differentiation of human umbilical cord matrix mesenchymal stem cells into neural-like progenitor cells and maturation into an oligodendroglial-like lineage*. *PLoS ONE* (2014) 9(10):e111059.
97. Yan ZJ, Hu YQ, Zhang HT, Zhang P, Xiao ZY, et al *Comparison of the neural differentiation potential of human mesenchymal stem cells from amniotic fluid and adult bone marrow*. *Cell Mol Neurobiol* (2013) 33(4):465-475.
98. Mendez JJ, Ghaedi M, Steinbacher D, Niklason LE *Epithelial cell differentiation of human mesenchymal stromal cells in decellularized lung scaffolds*. *Tissue Eng Part A* (2014) 20(11-12):1735-1746.
99. Huang K, Kang X, Wang X, Wu S, Xiao J, Li Z, et al *Conversion of bone marrow mesenchymal stem cells into type II alveolar epithelial cells reduces pulmonary fibrosis by decreasing oxidative stress in rats*. *Mol Med Rep* (2015) 11(3):1685-1692.
100. Cerrada A, de la Torre P, Grande J, Haller T, Flores AI, et al *Human decidua-derived mesenchymal stem cells differentiate into functional alveolar type II-like cells that synthesize and secrete pulmonary surfactant complexes*. *PLoS ONE* (2014) 9(10):e110195.
101. Strübe L, Thebaud B, *Advances in bronchopulmonary dysplasia*. *Expert Rev. Respir. Med.* 2014; 8(3): 327-338.
102. O'Reilly M, Thebaud B, *Using cell-based strategies to break the link between bronchopulmonary dysplasia and the development of chronic lung disease in later life*. *Pulm Med* 2013;2013:874161.

103. 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.
104. Lee JW, Fang X, Krasnodembskaya A, Howard JP, Matthay MA Concise review: mesenchymal stem cells for acute lung injury: role of paracrine soluble factors. *Stem Cells* (2011) 29(6):913-919.
105. Phillips AW, Johnston MV, Fatemi A The potential for cell-based therapy in perinatal brain injuries. *Transl Stroke Res* (2013) 4(2):137-148.
106. Fung ME, Thebaud B. Stem cell-based therapy for neonatal lung disease: it is in the juice. *Pediatr Res* 2014;75:2-7.
107. Kotton DN, Morrisey EE Lung regeneration: mechanisms, applications and emerging stem cell populations. *Nat Med* (2014) 20(8):822-832.
108. Stabler CT, Lecht S, Lazarovici P, Lelkes PI Mesenchymal stem cells for therapeutic applications in pulmonary medicine. *Br Med Bull.* doi: (2015) 10.1093/bmb/lbv026
109. Aslam M, Baveja R, Liang OD, et al. Bone marrow stromal cells attenuate lung injury in a murine model of neonatal chronic lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 180(11):1122-30.
110. Tropea KA, Leder E, Aslam M, et al. Bronchioalveolar stem cells increase after mesenchymal stromal cell treatment in a mouse model of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2012;302(9):829-37.
111. Zhang H, Fang J, Su H, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells attenuate lung inflammation of hyperoxic newborn rats. *Pediatr Transplant* 2012;16(6):589-98.
112. Chang YS, Choi SJ, Sung DK, 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): 1843-54.
113. Lee RH, Pulin AA, Seo MJ, Kota DJ, Ylostalo J, Larson BL, et al. Intravenous hMSCs improve myocardial infarction in mice because cells embolized in lung are activated to secrete the anti-inflammatory protein TSG-6. *Cell Stem Cell* (2009) 5(1):54-63.
114. Pluchino S, Cossetti C How stem cells speak with host immune cells in inflammatory brain diseases. *Glia* (2013) 61(9):1379-1401.
115. Ribeiro CA, Salgado AJ, Fraga JS, Silva NA, Reis RL, et al. The secretome of bone marrow mesenchymal stem cells-conditioned media varies with time and drives a distinct effect on mature neurons and glial cells (primary cultures). *J Tissue Eng Regen Med* (2011) 5(8):668-672.
116. Glenn JD, Whartenby KA Mesenchymal stem cells: emerging mechanisms of immunomodulation and therapy. *World J Stem Cells* (2014) 6(5): 526-539.
117. Bianco P, Cao X, Frenette PS, Mao JJ, Robey PG, et al The meaning, the sense and the significance: translating the science of mesenchymal stem cells into medicine. *Nat Med* (2013) 19(1):35-42
118. Uccelli A, Benvenuto F, Laroni A, Giunti D Neuroprotective features of mesenchymal stem cells. *Best Pract Res Clin Haematol* (2011) 24(1):59-64.
119. Krause B, Castro-Rodríguez J, Uauy R, Casanello P. Conceptos generales de epigenética: proyecciones en Pediatría. *Rev Chil.Pediatr.* (2016); 87 (1): 4-10.
120. Squillaro T, Peluso G, Galderisi U. Clinical Trials With Mesenchymal Stem Cells: An Update. *Cell Transplantation* (2016); 25: 829-848.
121. Fabián M, Rodríguez B, Álvarez Pérez M. Aislamiento y caracterización parcial de células madre de pulpa dental. *Revista Odontológica Mexicana* (2010); 14 (1): 15-20.
122. O'Reilly M, Thébaud B. Stem Cells for the Prevention of Neonatal Lung Disease. *Neonatology* (2015);107:360-364
123. Lanfranchi A, Porta F, Chirico G. Stem cells and the frontiers of neonatology Early Hum Dev. 2009 Oct (2009);85(10 Suppl):S15-18.
124. Oyarzún E. Células madres: nuevas fronteras para la medicina. *Rev. Chil. Obstet. Ginecol.* (2005) 70(4): 211-212.
125. Salinas H, Adauy A, Ide R.. Reflexiones acerca de células troncales obtenidas mediante la utilización de embriones humanos. *Rev. Chil. Obstet. Ginecol.* (2005) 70(4), 264-271