

# Los Pericitos: Nuevos Enfoques en la Terapia Regenerativa, Patología Cerebrovascular y Cáncer

Pericytes: New Approaches in Regenerative Therapy, Cerebrovascular Pathology and Cancer

\*,\*\*,\*\*\*\*Enrique Montiel-Eulefi; \*\*,\*\*\*\*Leticia Barrientos Díaz; \*\*\*,\*\*\*\*Pamela Leal; \*\*\*\*,\*\*\*\*Juan Carlos Roa; \*\*,\*\*\*\*Jennie Risopatrón; \*\*,\*\*\*\*Luis A. Salazar; \*,\*\*\*\*Fernando Romero & \*,\*\*\*\*Raúl Sánchez

---

MONTIEL-EULEFI, E.; BARRIENTOS, D. L.; LEAL, P.; ROA, J. C.; RISOPATRÓN, J.; SALAZAR, L. A.; ROMERO, F. & SÁNCHEZ, R. Los pericitos: nuevos enfoques en la terapia regenerativa, patología cerebrovascular y cáncer. *Int. J. Morphol.*, 29(3):769-781, 2011.

**RESUMEN:** Las células madre mesenquimales son poblaciones multipotentes de células que tienen amplia capacidad de diferenciación, plasticidad y potencial inmunosupresor, lo que las hace una herramienta de gran importancia en las terapias basadas en células. En función de su potencial, se ha determinado que las células perivasculares poseen características de células madre de gran potencial clínico, no obstante, las propiedades biológicas que llevan a su diferenciación son menos comprendidas. Los últimos avances en la comprensión de la relación entre pericitos y las células madre mesenquimales plantean funciones específicas de tejido, así como, su potencial uso terapéutico en las isquemia, tales como, la cerebro-vascular y un mejor entendimiento de la vascularización patológica tumoral. A pesar de la creciente aceptación que las células perivasculares están relacionada o son células madre mesenquimales, existen escasas pruebas experimentales que muestren la diferenciación de pericitos en diferentes tipos de células (Feng *et al.*, 2010). En esta revisión documentamos los fundamentos biológicos de los pericitos que respaldan su uso en terapia regenerativa.

**PALABRAS CLAVE:** Pericitos; Terapia regenerativa; Patología cerebrovascular; Cáncer.

---

## INTRODUCCIÓN

Los pericitos fueron descritos hace más de 100 años como células perivasculares, además, reciben el nombre de células de Rouget en honor a su descubridor, Charles Rouget, y también, se les conoce como células murales, debido a la presencia de fibras contráctiles tales como las células vasculares del músculo liso (Hirschi & D'Amore, 1996). Actualmente, se reconocen como células murales vasculares embebidas dentro de la base de la membrana de los microvasos sanguíneos, donde hacen contacto específico con el endotelio. *In vivo*, los pericitos poseen un cuerpo celular con un núcleo destacado y un citoplasma de contenido reducido, con varias prolongaciones largas que abarcan la pared del endotelio abluminal. Ellos están embebidos en la membrana basal de la microvasculatura, que está formada por los pericitos y las células endoteliales (Mandarino *et al.*, 1993). Rucker *et al.* (2000), señalan que los pericitos además de servir de soporte, también se comunican con las células endoteliales por contacto físico directo y mediante vías

de señalización paracrinas. La actual vinculación de las células perivasculares con las células madre mesenquimales abre una amplia gama de posibilidades de terapia regenerativa y nuevos planteamientos de su papel en tejidos normales, así como, en patologías asociadas a estos tejidos como hipertensión, ateromas y los procesos derivados de la injuria tisular tales como la remodelación y regeneración de tejidos en el corazón y en el cerebro isquémico, así como, un papel relevante en el desarrollo tumoral y cáncer.

**Los pericitos como células madre mesenquimales.** Las células mesenquimales como células madre son una herramienta valiosa para la terapia de patologías que necesitan de regeneración de tejidos para recuperar la funcionalidad orgánica, como por ejemplo en la regeneración de tejido isquémico en el corazón y también en el cerebro, sin embargo, sus aplicaciones terapéuticas no se limitan solo a uso estructural dado que también pueden ser usadas como

\* Centro de Biotecnología en Reproducción (CEBIOR), Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. .

\*\* Departamento de Ciencias Básicas. Facultad de Medicina. Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

\*\*\* Departamento de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina. Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

\*\*\*\* Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos Naturales (BIOREN). Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

inmunomoduladores. Las fuentes de células madre (SC) son numerosas y se pueden agrupar en dos tipos principales de acuerdo a su origen: las células madre embrionarias (ESC) y las células madre adultas (ASC). Aunque las ESC poseen gran capacidad proliferativa que las convierte en una fuente inagotable (Robinson *et al.*, 2005; Xue *et al.*, 2005), el trabajo con células de embrión humano tiene limitaciones técnicas y éticas, que plantea el uso de distintos procedimientos de recolección de SC de tejidos adultos, donde las células perivasculares son una fuente fácil y directa de obtención de células pluripotentes. Las fuentes de células madre adultas para la terapia varían desde la recuperación desde la propia sangre periférica hasta su obtención desde las células del bulbo olfatorio. El pequeño número de células obtenidas, ha hecho necesario llevar a cabo la investigación de métodos más eficientes en la obtención de SC, por ejemplo, desde médula ósea y de la sangre de cordón umbilical (UCB), a los que se puede agregar el beneficio de la incorporación de las células perivasculares del tejido de cordón umbilical (UC), que tienen un gran potencial en la terapia celular. Los pericitos tienen una ontogenia compleja, ya que se pueden desarrollar a partir de diferentes células, en función de su ubicación en el embrión. Es así, como se ha sugerido un origen mesodérmico para las células murales que se desarrollan alrededor de vasos troncales en desarrollo, en la placa del mesénquima axial y lateral (Hungerford & Little, 1999), mientras que el origen a partir de la cresta neural ha sido demostrado, en parte, para los pericitos del cerebro (Etchevers *et al.*, 2002; Etchevers *et al.*, 2001). Las células murales coronarias pueden derivar de las células del epicardio, que se derivan del mesodermo espláncico (Creazzo *et al.*, 1998). Generalmente, se considera que los pericitos son de origen mesenquimal, pero también se ha sugerido transdiferenciación a partir de las células endoteliales (DeRuiter *et al.*, 1997), aunque esta no es una vía principal de formación de pericitos durante el desarrollo normal. Recientemente, se ha demostrado el origen a partir de la médula ósea de células murales durante la angiogénesis en el adulto (Rajantie *et al.*, 2004). Últimamente, se ha propuesto que el epiblasto embrionario que da lugar a células madre primordiales, también da origen a las células que rodean los vasos, tomando un nicho perivascular, que se asocia a los inicios de la diferenciación de las células madre hematopoyéticas desde el hemangioblasto en el eje AGM y a la formación de la vasculatura primordial en el saco vitelino (Montiel-Eulefi *et al.*, 2009). En embriones de roedores, las ESC expresan marcadores específicos como c-Kit, VASA/Ddx4, Oct-4, SSEA-1/TEC-1 a principios de los días 6-6,5 dpc (Montiel-Eulefi *et al.*; Ratajczak *et al.*, 2007). El desarrollo de células madre embrionarias derivadas del epiblasto, pueden migrar a órganos hematopoyéticos a través de rutas asociadas al eje AGM, mediante mecanismos moleculares similares a los observados para las PGC, que derivan hacia

las crestas gonadales y a diversos órganos, donde su asociación con los vasos forma una capa de células perivasculares o pericitos, lo que puede ser una posible explicación de la pluripotencia de estas células como células madre mesenquimales en tejidos adultos (Crisan *et al.*, 2009; Crisan *et al.*, 2008a; Kucia *et al.*, 2007; Montiel-Eulefi *et al.*) (Fig. 1). El origen embrionario de los pericitos los hace pertenecer a una estirpe de células pluripotente y anatómicamente reconocible, que en los últimos años ha recibido un creciente interés por mantener un estado indiferenciado como un tipo de célula madre. Investigaciones llevadas a cabo en la última década en la biología de células madre mesenquimales sugiere que las células madre mesenquimales de varios tejidos residen en un nicho perivascular y estas células pueden ser identificadas como pericitos (da Silva Meirelles *et al.*, 2008a). Sin embargo, existen escasas pruebas experimentales que muestren la diferenciación de pericitos en diferentes tipos de células (Feng *et al.*, 2010).

**Pericitos en el sistema vascular.** La regulación del sistema vascular a nivel local es controlado por las interacciones entre las células endoteliales y las células perivasculares, incluyendo a varios otros tipos de células perivasculares como el músculo liso, los pericitos de capilares venosos y arteriales, que juegan roles claves en la regulación dinámica del sistema vascular y del medio ambiente capilar (D'Amore *et al.*, 1988; Hungerford & Little). Principalmente, la regulación se produce a través de tres mecanismos: (a) comunicación con el endotelio subyacente por mediadores solubles y contacto célula-célula, (b) síntesis, remodelamiento y mantención de la membrana basal, y (c) regulación del tono microvascular (Ingber, 2002).

**Funciones de los pericitos.** Los pericitos se han asociado principalmente con la estabilización y los procesos de hemodinámica de los vasos sanguíneos. Ellos pueden censar estímulos angiogénicos, guiar tubos de germinación, obtener funciones endoteliales de supervivencia, e incluso exhibir actividades similares a los macrófagos (Bergers & Song, 2005). Dentro de las principales funciones que se les reconoce, encontramos:

**Regulación del flujo sanguíneo.** De manera similar a la células musculares de los grandes vasos, los pericitos, dentro de los capilares, pueden producir vasoconstricción y vasodilatación, para regular el diámetro vascular y el flujo de sangre capilar (Rucker *et al.*), evidencia que se obtuvo por la identificación de proteínas contráctiles tales como la  $\alpha$ -SMA, la tropomiosina, y la miosina. Estos filamentos también se producen en células musculares, y por lo tanto en gran medida contribuyen a la confusión entre la definición de las células musculares lisas y los pericitos. A la fecha, se han identificado varias moléculas que regulan el tono con-

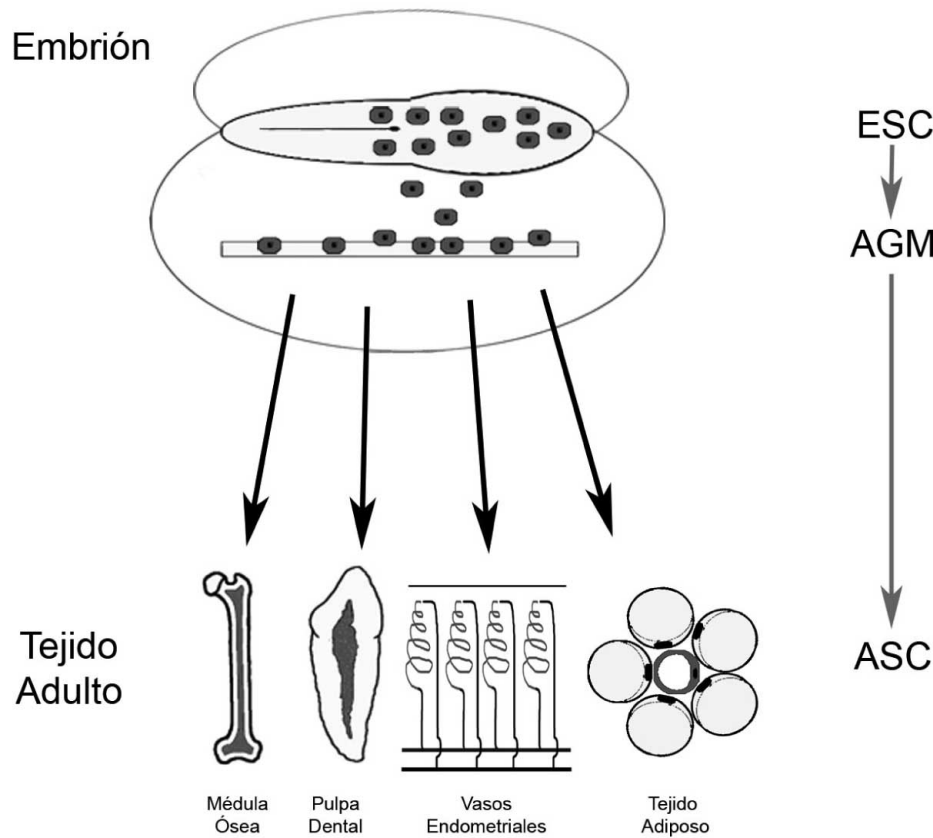


Fig. 1. Las células madre embrionarias (ESC) adquieren un nicho perivascular en el saco vitelino que se proyecta en los nichos vasculares de las distintas fuentes de células madre adultas (ASC) durante la ontogenia. Las células madre embrionarias pueden identificarse tempranamente en el embrión bilaminar y migran hacia las regiones de la aorta/gonadas/mesonefros (AGM) y al saco vitelino. Estas células se diferenciarían en distintos tipos de células madre como las hematopoyéticas y perivasculares como células periciticas, que mantienen un estado pluripotente en los tejidos adultos como la médula espinal, la pulpa dentaria, la vasculatura endometrial y el tejido adiposo. Estas fuentes de células madre adultas de origen perivascular son promisorias para la terapia celular y su nuevo enfoque como células madre plantea nuevas perspectivas sobre la angiogénesis, la regeneración tisular normal y en patologías degenerativas, como también en el cáncer.

tráctil del pericito. Por ejemplo, los pericitos poseen receptores tanto colinérgicos como adrenérgicos (a-2 y b-2). La respuesta b-adrenérgica, de los pericitos, conduce a la relajación, mientras que la respuesta a-2 es antagónica y produce contracción (Rucker *et al.*). Otras sustancias vasoactivas que se unen a los pericitos son la angiotensina II y endotelina-1. La expresión de la endotelina-1 es inducida por las células endoteliales, que también producen óxido nítrico, un potente vasodilatador que promueve la relajación de los vasos por un mecanismo dependiente de GMPC. Estas moléculas funcionan como señales paracrin, regulando la contracción y relajación del pericito, y aportando evidencia que las células endoteliales y los pericitos interactúan en la regulación del flujo sanguíneo (Rucker *et al.*, 2000). Finalmente, los niveles de oxígeno también regulan la contracción de los pericitos *in vitro*, de tal manera que niveles elevados de dióxido de carbono inducen la relajación de ellos (Hirschi & D'Amore).

**Función tejido específica.** La densidad de los pericitos difiere en cuanto a la función en los vasos y órganos en los que se encuentran. Los pericitos son muy abundantes en las arteriolas y vénulas pequeñas, pero son más bien escasos en

los capilares. Aunque se desconoce cómo los pericitos eligen su ubicación exacta en la pared del vaso, ellos no se distribuyen al azar, si no que está determinado funcionalmente. Se ha observado que, preferentemente, cubren las uniones de las células endoteliales, específicamente durante la inflamación (Sims, 2000). La densidad de los pericito es dependiente de los niveles de la presión sanguínea, y se observa que, en los seres humanos, los pericitos son más abundantes en el torso y las piernas, es decir, en los lugares donde se necesita una presión aumentada para bombear la sangre hacia arriba (Sims, 2000). La cobertura de los pericitos también varía entre los tejidos. En varios órganos, tales como el cerebro, el hígado y los riñones, se ha demostrado que los pericitos realizan funciones específicas y por lo tanto, en estos órganos, han recibido otros nombres (Bergers & Song). Es así como la mayor densidad de pericitos se encuentra en los vasos de los tejidos neurales, como el cerebro y la retina. La razón de esto es que las células endoteliales, en el cerebro, forman un endotelio continuo con complejas, uniones herméticas, y que interactúan con los pedicelos de los astrocitos y con numerosos pericitos para crear la barrera hematoencefálica (BHE), que protege las células del cerebro de factores derivados de la sangre y

potencialmente tóxicos (Ballabh *et al.*, 2004; Cleaver & Melton, 2003). Los pericitos desempeñan un papel esencial en la integridad estructural de los vasos y la BHE. La degeneración de vasos se observa en la hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis (Verbeek *et al.*, 1997), y se ha demostrado que los pericitos protegen de la hipoxia inducida por la interrupción de la BHE *in vitro* (Hayashi *et al.*, 2004). Es importante mencionar que, en el cerebro, los pericitos, pueden llevar a cabo actividades similares a los macrófagos, proporcionando así una defensa inmunológica. Este fenotipo ha planteado la hipótesis que, en el cerebro, los pericitos pueden actuar como las células precursoras de los macrófagos (Thomas, 1999). Al igual que los macrófagos, los pericitos toman moléculas pequeñas y solubles por pinocitosis, limpiando el fluido extracelular como parte de la BHE. Thomas (1999), señala que los pericitos también tienen actividad fagocítica. Las células hepáticas estrelladas (HSC), también denominadas células Itoh (el nombre de su descubridor, Toshio Itoh) (Suematsu & Aiso, 2001), son el equivalente a los pericitos en el hígado (Sato *et al.*, 2003). Están situados entre las placas de las células del parénquima y las células endoteliales sinusoidales. En contraste con el endotelio cerebral permanente, las células endoteliales del hígado son muy porosas y discontinuas. Ellas se alinean en los sinusoides hepáticos y median el intercambio de metabolitos entre la sangre portal, las células de Kupffer y los hepatocitos y la transformación de las toxinas (Abbott, 2002). Otro órgano en el cual se encuentran es en el riñón. Aquí, los pericitos de los capilares glomerulares se llaman células mesangiales y representan aproximadamente el 30% de las células glomerulares (Betsholtz, 2004).

**Participación en el desarrollo vascular y en la angiogénesis.** Durante la embriogénesis los pericitos no sólo participan en los procesos hemodinámicos si no que también tienen un papel activo en la formación de vasos. Los vasos sanguíneos que se desarrollan tempranamente durante la embriogénesis se derivan de los precursores mesodérmicos llamados angioblastos (Carmeliet, 2004). Además, se cree que las células endoteliales comparten un precursor común con las células hematopoyéticas, este precursor es llamado hemangioblasto. La hipótesis, de un precursor común, es apoyada por las observaciones de que las células hematopoyéticas y endoteliales en desarrollo comparten marcadores comunes de la superficie y que las células hematopoyéticas pueden brotar de los principales vasos sanguíneos del embrión (Carmeliet; Cho *et al.*, 2003). En el adulto, el proceso de vascularización está por lo general en reposo. Sin embargo, aunque la angiogénesis es relativamente rara, se produce en la cicatrización de heridas y en el sistema reproductor femenino durante el ciclo menstrual y el embarazo.

En la enfermedad vascular, el proceso de neovascularización es similar al proceso embrionario e implica la acción coordinada de muchas moléculas. La angiogénesis también se produce en condiciones patológicas como la retinopatía diabética y el crecimiento tumoral (Bergers & Song; Gerhardt & Betsholtz, 2003). La diferencia entre angiogénesis fisiológica y patológica consiste en un equilibrio regulado estrictamente por los factores proangiogénicos y antiangiogénicos. Durante la neovascularización fisiológica, los vasos recién formados maduran rápidamente, se estabilizan, y cesa su proliferación, mientras que en condiciones patológicas el crecimiento de los vasos sanguíneos pierde el adecuado equilibrio entre los reguladores positivos y negativos. Los vasos que se formaron durante la angiogénesis patológica no dejan de crecer y se encuentran bajo reconstrucción constante, lo que conduce a un sistema vascular aberrante (Bergers & Song). Los pericitos y las células vasculares del músculo liso residen en la interfase entre el endotelio y el tejido circundante y, como tales, tienen una posición ideal para tomar parte activa en el proceso angiogénico (Allt & Lawrenson, 2001). De esta manera, se han propuesto varias funciones pertinentes a los pericitos para la angiogénesis. Los pericitos pueden (1) sensar las necesidades fisiológicas de los tejidos y la presencia de estímulos angiogénicos, (2) sensar las fuerzas hemodinámicas dentro del vaso (3), depositar o degradar la matriz extracelular, (4) actuar en el control paracrino dependiente del contacto célula-célula de la proliferación endotelial y la diferenciación, y (5) contactar numerosas células endoteliales y, por lo tanto, integrar las señales a lo largo del vaso (Gerhardt & Betsholtz).

**Bases moleculares del remodelamiento microvascular en la patología.** El pericito se ha destacado como un mediador clave en varios procesos microvasculares, que incluyen: (1) la proliferación de células endoteliales y la diferenciación (Armulik *et al.*, 2005), (2) la contractilidad y el tono (Rucker *et al.*), (3) la estabilización y permeabilidad (von Tell *et al.*, 2006), y (4) la morfogénesis durante el inicio de la enfermedad (Yamagishi & Imaizumi, 2005). Durante la angiogénesis, los microvasos nacientes son precedidos por un endotelio proliferativo y activamente móvil, con una membrana basal inmadura. Esta fase de migración y proliferación origina un tubo capilar primitivo, seguido de una fase de maduración microvascular marcada por un reclutamiento de presuntos pericitos dependientes del Factor de Crecimiento del Fibroblasto-2 y del Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas (FGF-2-y PDGF) endotelial, que ocurre de forma concomitante con la remodelación de la membrana basal. Activado por el contacto de la célula endotelial, el presunto pericito asume un estado de contracción madura iniciando la expresión del repertorio de proteínas del músculo liso contráctil (Papetti *et al.*, 2003). Los pericitos han sido pos-

tulados para gobernar el cambio fenotípico desde un brote de proliferación angiogénico a una conducción microvascular madura que posee un endotelio capilar en reposo (Armulik *et al.*; Bergers & Song). Tanto a través del contacto celular dependiente pericito/endotelio, así como de mecanismos independientes del endotelio, los pericitos suprimen el crecimiento endotelial (Orlidge & D'Amore, 1987) y la migración (Sato & Rifkin, 1989).

**Señalización intracelular a través de la vía Rho GTPasa pericito específica.** La familia Rho de GTPasas pequeñas es conocida desde hace mucho tiempo por su participación en el control de la actina del citoesqueleto en muchos tipos celulares distintos al músculo liso vascular (Etienne-Manneville & Hall, 2002). También, se ha demostrado que mecanismos similares ocurren en los pericitos. Estas vías Rho-dependientes de GTP (así como otras Rho-independiente de GTP) funcionan para coordinar la proliferación de los pericitos y el fenotipo contráctil al mismo tiempo que modulan la función del endotelio capilar y del tono microvascular.

**Señalización de Rho en la desregulación del tono microvascular.** Además del control endotelial en la enfermedad vasoproliferativa, la alteración de la señalización de la regulación microvascular, está siendo señalada como un factor causal de la patogénesis de varias patologías vasculares no proliferativas. Basados en la reciente comprensión de la familia de señalización Rho GTPasa, en la regulación de la contractilidad del músculo liso (Hirata *et al.*, 1992), se ha dilucidado un papel clave para la señalización Rho a través de la Rho-quinasa tanto en la mantención fisiológica (Noma *et al.*, 2006) como en la desregulación patológica (Loirand *et al.*, 2006) del sistema cardiovascular. En particular, se ha demostrado la desregulación de la señalización Rho-quinasa en el músculo liso vascular, lo que se ha explorado en modelos animales con vasoespasmo cerebral (Watanabe *et al.*, 2005), accidente cerebrovascular (Rikitake *et al.*, 2005), vasoespasmo coronario (Kandabashi *et al.*, 2003), remodelación ventricular post-infarto de miocardio (Hattori *et al.*, 2004) e insuficiencia cardíaca (Qvigstad *et al.*, 2005), aterosclerosis (Mallat *et al.*, 2003) y estrés oxidativo (Noma *et al.*, 2003; Higashi *et al.*, 2003). Además, la investigación de la señalización de Rho-quinasa en células endoteliales ha permitido obtener mayor información de los procesos de aterogénesis (Ming *et al.*, 2004), de protección cardiovascular (Wolfgram *et al.*, 2004), y del daño endotelial en la diabetes (Didion *et al.*, 2005; Rikitake & Liao, 2005).

**La hipertensión primaria en la patología vascular.** La Rho quinasa juega un papel clave en la patogénesis de la hipertensión primaria o esencial y la remodelación microvascular (Lee *et al.*, 2004; Loirand *et al.*). El equili-

brio dinámico dependiente de calcio entre la contractilidad activada por ligando (Somlyo & Somlyo, 2003) y la relajación mediada por óxido nítrico (Carvajal *et al.*, 2000) que determinan el tono vascular parece estar mediada por la Rho quinasa a nivel del músculo liso con inversión de arterias (Ming *et al.*, 2002; Sauzeau *et al.*, 2003). Al mismo tiempo, los datos que se desprenden de pacientes humanos indican que la inhibición de la vía Rho quinasa puede corregir la alteración de la regulación del tono vascular periférico presentes en la insuficiencia cardíaca (Kishi *et al.*, 2005), enfermedad arterial coronaria (Nohria *et al.*, 2006), e incluso en el tabaquismo (Noma *et al.*, 2003), mientras que tiene efectos mínimos sobre el tono en los controles normales, señalando a la vía Rho-quinasa como un blanco terapéutico prometedor en la enfermedad vascular. Muchos de estos usos terapéuticos de los antagonistas de Rho se han demostrado utilizando ensayos *in vitro* de la función del músculo liso en animales y en estudios con humanos. Sin embargo, aunque los ensayos *in vitro* demuestran específicamente la función del músculo liso en la tensión arterial y arteriolar, los modelos de animal completo (por ejemplo, modelos de ratón en la hipertensión) pueden incorporar efectos adicionales de la inhibición de Rho microvascular y, en particular, en los pericitos específicos del capilar y los niveles post-capilar que hasta el momento han sido atribuidos exclusivamente a las células musculares lisas (Kutcher & Herman, 2009).

**Funciones de los pericitos en la regulación del tono microvascular y en la patología.** Aunque la presión arterial sistémica es el principal parámetro utilizado para monitorear y estudiar la hipertensión esencial, a nivel celular, el intercambio metabólico se produce principalmente en condiciones de flujo microvascular capilar. Además de los mecanismos de protección a nivel de las arterias y precapilares arteriolares, el blindaje del lecho capilar, tanto de las fluctuaciones extremas de la presión, así como, de la hipertensión constante, pareciera que la microvasculatura posee mecanismos complementarios adicionales de control del tono y del flujo a nivel local. Componentes importantes de la regulación dinámica de lechos vasculares tales como el sistema nervioso central y el sistema vascular de la retina, por ejemplo, pueden apoyarse en la señalización de Rho dependiente de GTP en los pericitos microvasculares (Kutcher & Herman). Resultados recientes indican que el pericito puede tener una importancia no reconocida previamente, no sólo a nivel local del lecho capilar, sino como un mediador de los efectos sistémicos de la desregulación del tono microvascular. Tanto en la corteza cerebelosa como en la retina, así como en la contracción del músculo estriado, el aumento en la demanda de oxígeno inicia una respuesta vasodilatadora en los segmentos capilares cercanos que se propaga a través de las uniones de la red de células capilares endoteliales asociadas a los pericitos, extendiéndose lo su-

ficiente para dilatar arteriolas precapilares ubicadas próximamente (Cohen & Sarelius, 2002; Peppiatt *et al.*, 2006). Estos resultados implican que la regulación del tono vascular en algunos lechos capilares, puede originarse localmente, en el nivel de los pericitos asociados a capilares, con posterior retroalimentación realizada desde células del músculo liso asociadas a arteriolas proximales. Esta posibilidad sugiere que algunos elementos de regulación del tono vascular atribuidos, previamente, sólo al músculo liso pueden, ser mediados por pericitos. Si esto es así, la investigación adicional en la regulación de tono microvascular y la función de las células endoteliales podrá aclarar novedosos mecanismos de señalización a nivel de los capilares, orquestada por la actividad de múltiples tipos de células perivasculares (Kutcher & Herman).

**Papel de los pericitos en la regeneración tisular post isquemia cerebral.** La evidencia de un papel de los pericitos en la reparación del tejido neural se ha obtenido principalmente del estudio de modelos animales con isquemia cerebral experimental como modelo de los accidentes cerebrovasculares. Estos estudios demuestran que los pericitos y las células perivasculares como las células adventicias, dan lugar a las neuronas en la zona subgranular y células gliales en el giro dentado del hipocampo tras isquemia inducida experimentalmente (Yamashima *et al.*, 2004). Por otra parte, la expresión del factor derivado del estroma-1 y angiopoyetina 1 en el nicho vascular de las zonas de infarto, se relaciona con la orientación y la supervivencia de progenitores neuronales intrínsecos de la zona subventricular de los ratones después del daño cerebro-vascular focal (Ohab *et al.*, 2006). Los pericitos que rodean los vasos sanguíneos del cerebro expresan constitutivamente nestina, un marcador de las células progenitoras neuronales (Alliot *et al.*, 1999), y por lo tanto, participan en la regeneración neuronal (Crisan *et al.*, 2008a). La existencia de células madre en nichos perivasculares sustenta la hipótesis que las células madre mesenquimales (MSC) que se encuentran en diversos tejidos se derivan de un nicho perivascular (Caplan, 2008; Crisan *et al.*, 2009; da Silva Meirelles *et al.*, 2008b). La capacidad de estas células para diferenciarse en varios tipos de células *in vitro* refleja la eficacia del nicho en el mantenimiento de la troncalidad. Hasta ahora las pruebas recogidas indican que los pericitos tienen funciones de SC en la zona perivascular en el organismo después del parto (da Silva Meirelles *et al.*, 2008b). En el cerebro, la neurogénesis se produce en las proximidades de los vasos sanguíneos y puede estar asociada con la angiogénesis. Una red de factores de crecimiento, así como, morfogenética, que incluye a sonic hedgehog, las proteínas morfogenéticas del hueso (BMPs), Ephs/efrinas, Notch y factor de crecimiento de fibroblastos, el óxido nítrico y la eritropoyetina, activa nichos de SC en adultos en zonas de regeneración neuronal (zona

subventricular (SVZ), subgranular (SGZ) de la zona del hipocampo), participando también en la regulación de la angiogénesis. Además, los vasos sanguíneos son conductos para la distribución de los factores paracrinos, como las hormonas (hormonas sexuales, los glucocorticoides y la prolactina) y citoquinas, que provienen de fuentes distantes. Estas señales de "larga distancia" puede actuar directamente sobre los nervios y SC progenitoras y las células endoteliales o ambos para regular la angiogénesis y la neurogénesis (Gould *et al.*, 2000; Lenington *et al.*, 2003). El potencial terapéutico de las células madre ya ha sido reconocido, donde los pericitos han sido capaces de regenerar tejido esquelético y promover la recuperación funcional del corazón y los riñones enfermos (Corselli *et al.*, 2010). Actualmente, los pericitos se consideran células pluripotenciales y capaces de diferenciarse en tejidos provenientes de las tres capas germinales. Los datos recientes han arrojado luz sobre el papel de los pericitos en el sistema nervioso central (SNC), como células reguladoras con capacidad de SC (Dore-Duffy, 2008; Dore-Duffy *et al.*, 2006). Se ha descrito que los pericitos del cerebro vienen de las células pluripotenciales de la cresta neural, que apoya la hipótesis de un origen común (Etchevers *et al.*, 2001). Los pericitos del SNC puede ser una fuente de SC viables con el potencial de producir una neurogénesis dirigida después de un accidente cerebro-vascular y que sería importante para futuras estrategias terapéuticas (Dore-Duffy; Dore-Duffy *et al.*). La función de los pericitos en la remodelación del cerebro después de la lesión es indiscutible, sin embargo, la interrogante, de si los pericitos fuera del sistema nervioso central tienen las mismas propiedades de SC que en las regiones ventriculares del cerebro, es aún tema por resolver. La determinación del origen y la identidad de las SC junto con sus nichos en el tejido adulto también proporciona información importante sobre su participación en la regeneración tisular endógena y sus posibles aplicaciones como células pluri o multi-potentes en la terapia de regeneración celular (Adams *et al.*, 2009; Crisan *et al.*, 2009; Crisan *et al.*, 2008b; Crisan *et al.*, 2008c; Chen *et al.*, 2009; da Silva Meirelles *et al.*, 2008b). La evidencia acumulada en los últimos años muestra la presencia de SC multi o pluripotentes como MSC y pericitos, así como, las SC y el linaje progenitores hematopoyéticos en las paredes vasculares con células progenitoras que expresan marcadores endoteliales y Sca-1, así como, de progenitoras de músculo liso. SC se han aislado de diferentes tejidos vasculares incluyendo adiposo abdominal, la médula ósea, la pulpa dental, y el cordón umbilical (Crisan *et al.*, 2009; da Silva Meirelles *et al.*, 2008b). Los debates actuales de la función de pericitos como SC proponen que las células madre mesenquimales (MSC) son indistinguibles de los pericitos (Chen *et al.*). Aunque aún no se ha resuelto cómo las MSC o pericitos contribuyen a la formación, la maduración y la homeostasis de todos los

tejidos vascularizados (Caplan; da Silva Meirelles *et al.*, 2008b). Dado que los vasos sanguíneos y con ellos los pericitos son parte de todos los tejidos y órganos, habría muchas aplicaciones terapéuticas si estas células se diferencian en fenotipos definidos (Ergun *et al.*, 2011). El potencial de estas células a diferenciarse en fenotipos neuronales, donde los pericitos de la micro-vasculatura del cerebro muestran una actividad pluripotencial SC, expresan marcadores neuronales como nestina, GFAP, la NF1 y O4 en condiciones de diferenciación (Dore-Duffy *et al.*), apoya la idea de que los pericitos son células pluripotentes de la barrera hematoencefálica. El origen de la cresta neural de los pericitos, sumado, a una alta similitud con MSC y otras fuentes de CS, plantean la hipótesis de que todas las fuentes de SC tienen un origen común neuroectodérmico/epiblasto (Etchevers *et al.*, 2001; Montiel-Eulefi *et al.*). Esta hipótesis explicaría también porque las SC indiferenciadas expresan genes neuronales (Tarnok *et al.*, 2010).

**Los pericitos en el cáncer.** Durante la angiogénesis tumoral, el microambiente tumoral es reconocido como crítico para el entendimiento de la patología del cáncer. El estroma tumoral, un importante elemento del microambiente tumoral está compuesto de la matriz extracelular, fibroblastos, células endoteliales y células murales (Bagley *et al.*, 2005). Los pericitos normales se encuentran embebidos dentro de la membrana basal capilar, como células solitarias o formando una simple capa celular, desde allí coordinan la señalización intracelular en conjunto con las células endoteliales y otros componentes de la pared vascular (Bergers & Song). En la patofisiología, los pericitos y las células tipo pericitos han sido implicados como mediadores de procesos asociados con el cáncer incluyendo angiogénesis y metástasis (Raza *et al.*, 2010). Diferencias en la morfología de los pericitos y su distribución en el lecho vascular sugieren una función tejida específica. Siendo el número de pericitos variable entre los tejidos y el tamaño de vasos sanguíneos. Los pericitos también están presentes en la microvasculatura tumoral y su grado de cobertura/distribución varía de acuerdo al tipo de tumor, llegando a cubrir entre un 73% hasta un 92% de los brotes endoteliales en algunos tipos de tumor murino (Morikawa *et al.*, 2002). La cobertura de pericitos varía dependiendo del tejido tumoral, por ejemplo los carcinomas de islotes pancreáticos exhiben una mayor densidad de pericitos mientras que glioblastomas y carcinomas de células renales muestran una menor densidad de pericitos respecto del tejido normal. Los tumores con pocos pericitos se caracterizan por una densa red vascular con una activa proliferación de células endoteliales (Eberhard *et al.*, 2000). El papel de los pericitos en la vasculatura normal se encuentra bien documentado, sin embargo, su contribución al desarrollo tumoral es un tema emergente. El reclutamiento de pericitos hacia el tumor puede ser atribuido, en parte, a la

vía de señalización del factor crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). En el modelo de fibrosarcoma, el PDGF-h fue identificado como un importante factor en el reclutamiento de pericitos a la vasculatura del tumor. En gliomas humanos, el ligando PDGF-h y el receptor PDGF-h (PDGF-Rh) se encuentran sobreexpresados, y en ratones, esta sobreexpresión aumenta la formación de glioma mediante la atracción de pericitos (Dhar *et al.*; Erber *et al.*, 2004; Guo *et al.*, 2003). La etapa inicial de la angiogénesis comienza con la disociación de pericitos y células endoteliales seguido en las etapas posteriores a la invasión y la proliferación de estas células y subsecuente tubulogénesis endotelial y estabilización vascular. Durante la etapa inicial, los pericitos adoptan un fenotipo angiogénico que es morfológicamente evidente, similar a células abultadas con procesos citoplasmáticos acortados. En comparación con pericitos en reposo, los pericitos activados pueden cambiar sus perfiles de expresión, dando lugar a fenotipos altamente proliferativo con capacidad pluripotente (Gerhardt & Betsholtz; Raza *et al.*). Algunas funciones importantes de los pericitos en la angiogénesis son 1) Sensar la necesidad fisiológica del tejido y la presencia de estímulos angiogénicos, 2) Sensar la fuerza hemodinámica dentro del vaso sanguíneo, 3) Depositar o degradar matriz extracelular, 4) Actuar en el control paracrino y dependiente del contacto célula-célula de la proliferación y diferenciación endotelial y 5) Contactar numerosas células endoteliales y de esa manera integrar la señal a lo largo del vaso sanguíneo. En ciertas enfermedades, tales como la retinopatía diabética se especula que los pericitos son las primeras células afectadas, conduciendo a cambios secundarios del endotelio y a una desregulación de la angiogénesis (Gerhardt & Betsholtz; Gerhardt & Semb, 2008). Un mejor entendimiento del papel de los pericitos se ha logrado mediante el análisis histológico de tejidos y estudios de la interacción física entre pericitos y las EPC. Los hallazgos indican que los pericitos y las EPC pueden ser modelos útiles para el descubrimiento de fármacos antiangiogénicos, que interactúan para formar vasos primitivos, y contribuyen en parte a la malignidad, a través, de la normalización de la vasculatura tumoral. La hiperplasia vascular que involucra un agresivo reclutamiento de pericitos y células endoteliales, es una característica particularmente fuerte de los tumores mamarios (Abramsson *et al.*, 2003; Munaron & Fiorio Pla, 2009). En el modelo angiogénico de ovario, los pericitos juegan un papel importante en la angiogénesis. Estos son las primeras células angiogénicas que invaden el folículo de Graafian, normalmente avascular. Este modelo sugiere que los pericitos estimulados por VEGF, así como, también por el contacto célula-célula, pueden actuar promoviendo la sobrevivencia endotelial y guiando la migración. Sin embargo, este papel está en contradicción con otros estudios que sugieren que los pericitos retrasan la migración endotelial (Morikawa *et*

*al.*). Actualmente, existe gran interés en estudiar el papel regulatorio de los pericitos en la modulación del fenotipo endotelial durante la angiogénesis tumoral (Ryska, 2000). De acuerdo a observaciones histológicas, la pérdida de pericitos mediante apoptosis o des-diferenciación fue propuesta inicialmente para resaltar la disfunción endotelial e hiperplasia observada en este estado. Modelos recientes de quimioterapia anti-angiogénica confirman que el uso de pequeñas moléculas y anticuerpos es útil en la destrucción específica de vasos asociados débilmente a pericitos, mientras que vasos maduros con una firme asociación a pericitos pueden ser más refractarios a la terapia (Joyce, 2005). Otros estudios predicen que alteraciones en la composición de la membrana basal podría estar modulando las interacciones pericito-endotelio y que la vía de señalización endotelial asociada a la matriz podría estar controlando el reclutamiento de pericitos sugiriendo un posible mecanismo para la disfunción de la regulación del crecimiento pericito-endotelial sin la actual pérdida de pericitos (Kutcher & Herman, 2009). Consistente con un prominente papel de la matriz como regulador de la interacción endotelio-pericito, se ha observado un rápido crecimiento de brotes neovasculares en la membrana basal, seguido de una regresión de la vasculatura tumoral en menos de 24 horas de haber discontinuado la monoterapia para VEGF. Por otra parte, la importancia del factor de crecimiento dependiente de plaquetas (PDGF) en el reclutamiento y diferenciación de pericitos a nivel de los capilares nacientes ha sido fuertemente apoyada por múltiples estudios farmacológicos, PDGF se ha convertido en un blanco promisorio para quimioterapias anti-angiogénicas (Erber *et al.*). Algunos grupos han mostrado una eficacia aumentada y mayor durabilidad de la terapia anti-angiogénica combinando la inhibición en tumores, de los receptores VEGF y PDGF (Erber *et al.*; Mancuso *et al.*, 2006; Wilkinson-Berka *et al.*, 2004). Un mecanismo similar ha sido demostrado en el modelo de neovascularización ocular, donde la regresión microvascular es acoplada a la deserción de pericitos asociados a vasos, derivados ya sea por apoptosis o desdiferenciación inducida por microambiente, sin pérdida de pericitos. Estos datos implican que la desestabilización pericito-endotelio sin pérdida de pericitos o apoptosis puede ser suficiente para producir una marcada regresión vascular (Kutcher *et al.*). Interesantemente, recientes trabajos han revelado que la capacidad de los pericitos para arrestar el crecimiento adyacente de células endoteliales *in vitro*, puede ser atenuada mediante la manipulación del estado pericito Rho GTP (Budzyn *et al.*, 2005). Estos resultados demuestran que alteraciones en el acoplamiento mecano-químico de las células endoteliales y los pericitos puede ser suficiente para iniciar angiogénesis patológica, sin el requerimiento de deserción pericitica o apoptosis (Kutcher *et al.*).

En conclusión, las células periciticas mantienen un estado pluripotente en los tejidos adultos y son promisorias para la terapia celular, donde un nuevo enfoque como células madre plantea nuevas perspectivas sobre la angiogénesis, la regeneración tisular normal y patológica, como también en el cáncer. Sin embargo, estamos a la puerta de novedosos avances en la regulación de la regeneración tisular desde células perivasculares, donde los procesos inflamatorios, de hipertensión, injuria e isquemia pueden reorganizar tejidos. Estos factores que inducen la reorganización celular participarían en la formación de distintos tipos celulares desde células indiferenciadas como las células madre mesenquimales o perivasculares. Sin embargo, son necesarios más datos genéticos que permitan esclarecer los mecanismos que provocan tales procesos y que develaran las posibles terapias a las puertas de una nueva medicina basada en la terapia celular.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Programa Bicentenario de Ciencia y Tecnología de CONICYT (PSD-32) en conjunto con la Universidad de la Frontera. El Dr. Montiel agradece el apoyo del proyecto de investigación asociativa (PIA) DI10-7003 de la Dirección de Investigación y Postgrado de la Universidad de La Frontera. La Dra. Leal agradece el apoyo del proyecto de investigación DIUFRO DI08-0077 de la Dirección de Investigación y Postgrado de la Universidad de La Frontera. La Dra. Barrientos agradece el apoyo del proyecto de investigación DIUFRO DI10-0031 de la Dirección de Investigación y Postgrado de la Universidad de La Frontera.

---

MONTIEL-EULEFI, E.; BARRIENTOS, D. L.; LEAL, P.; ROA, J. C.; RISOPATRÓN, J.; SALAZAR, L. A.; ROMERO, F. & SÁNCHEZ, R. Pericytes: new approaches in regenerative therapy, cerebrovascular pathology and cancer. *Int. J. Morphol.*, 29(3):769-781, 2011.

**SUMMARY:** Mesenchymal stem cells are a multipotent population of cells that have extensive capacity for differentiation, plasticity and immunosuppressive potential, making them an important tool in cell-based therapies. According to their potential, it has been determined that perivascular cells have stem cell characteristics of great clinical potential, however, the biological properties that lead to their differentiation are less understood. Recent advances in understanding the relationship between pericytes and mesenchymal stem cells pose tissue-specific functions, as well as their potential therapeutic use in ischemia, such as cerebro-vascular and a better understanding of the



pathological tumor vascularization. Despite the growing acceptance that perivascular cells are related, or that they are mesenchymal stem cells, there is little experimental evidence to show the differentiation of pericytes in different cell types (Feng *et al.*, 2010). In this review we document the biological basis of pericytes that support their use in regenerative therapy.

**KEY WORDS: Pericytes; Regenerative therapy; Cerebrovascular disease; Cancer.**

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, N. Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain barrier permeability. *J. Anat.*, 200:527, 2002.
- Abramsson, A.; Lindblom, P. & Betsholtz, C. Endothelial and nonendothelial sources of PDGF-B regulate pericyte recruitment and influence vascular pattern formation in tumors. *J. Clin. Invest.*, 112:1142-51, 2003.
- Adams, V.; Challen, G. A.; Zuba-Surma, E.; Ulrich, H.; Vereb, G. & Tarnok, A. Where new approaches can stem from: focus on stem cell identification. *Cytometry A*, 75:1-3, 2009.
- Alliot, F.; Godin, I. & Pessac, B. Microglia derive from progenitors, originating from the yolk sac, and which proliferate in the brain. *Brain Res. Dev. Brain Res.*, 117:145-52, 1999.
- Allt, G. & Lawrenson, J. G. Pericytes: cell biology and pathology. *Cells Tissues Organs*, 169:1-11, 2001.
- Armulik, A.; Abramsson, A. & Betsholtz, C. Endothelial/pericyte interactions. *Circ. Res.*, 97:512-23, 2005.
- Bagley, R. G.; Weber, W.; Rouleau, C. & Teicher, B. A. Pericytes and endothelial precursor cells: cellular interactions and contributions to malignancy. *Cancer Res.*, 65:9741-50, 2005.
- Ballabh, P.; Braun, A. & Nedergaard, M. The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiol. Dis.*, 16:1-13, 2004.
- Bergers, G. & Song, S. The role of pericytes in blood-vessel formation and maintenance. *Neuro. Oncol.*, 7:452-64, 2005.
- Betsholtz, C. Insight into the physiological functions of PDGF through genetic studies in mice. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 15:215-28, 2004.
- Budzyn, K.; Marley, P. D. & Sobey, C. G. Opposing roles of endothelial and smooth muscle phosphatidylinositol 3-kinase in vasoconstriction: effects of rho-kinase and hypertension. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 313:1248-53, 2005.
- Caplan, A. I. All MSCs are pericytes? *Cell Stem Cell*, 3:229-30, 2008.
- Carmeliet, P. Manipulating angiogenesis in medicine. *J. Intern. Med.*, 255:538-61, 2004.
- Carvajal, J. A.; Germain, A. M.; Huidobro-Toro, J. P. & Weiner, C. P. Molecular mechanism of cGMP-mediated smooth muscle relaxation. *J. Cell Physiol.*, 184:409-20, 2000.
- Cleaver, O. & Melton, D. A. Endothelial signaling during development. *Nat. Med.*, 9:661-8, 2003.
- Cohen, K. D. & Sarelius, I. H. Muscle contraction under capillaries in hamster muscle induces arteriolar dilatation via K(ATP) channels and nitric oxide. *J. Physiol.*, 539:547-55, 2002.
- Corselli, M.; Chen, C. W.; Crisan, M.; Lazzari, L. & Peault, B. Perivascular ancestors of adult multipotent stem cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 30:1104-9, 2010.
- Creazzo, T. L.; Godt, R. E.; Leatherbury, L.; Conway, S. J. & Kirby, M. L. Role of cardiac neural crest cells in cardiovascular development. *Annu. Rev. Physiol.*, 60:267-86, 1998.
- Crisan, M.; Chen, C. W.; Corselli, M.; Andriolo, G.; Lazzari, L. & Peault, B. Perivascular multipotent progenitor cells in human organs. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1176:118-23, 2009.
- Crisan, M.; Deasy, B.; Gavina, M.; Zheng, B.; Huard, J.; Lazzari, L. & Péault, B. Purification and long-term culture of multipotent progenitor cells affiliated with the walls of human blood vessels: myoendothelial cells and pericytes. *Methods Cell Biol.*, 86:295-309, 2008a.
- Crisan, M.; Huard, J.; Zheng, B.; Sun, B.; Yap, S.; Logar, A.; Giacobino, J. P.; Casteilla, L. & Péault, B. Purification and culture of human blood vessel-associated progenitor cells. *Curr. Protoc. Stem Cell Biol.*, Chapter 2:Unit 2B.2.1-2B.2.13, 2008b.
- Crisan, M.; Yap, S.; Casteilla, L.; Chen, C. W.; Corselli, M.; Park, T. S.; Andriolo, G.; Sun, B.; Zheng, B.; Zhang, L.;

- Norotte, C.; Teng, P. N.; Traas, J.; Schugar, R.; Deasy, B. M.; Badylak, S.; Buhning, H. J.; Giacobino, J. P.; Lazzari, L.; Huard, J. & Péault, B. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. *Cell Stem Cell*, 3:301-13, 2008c.
- Chen, C. W.; Montelatici, E.; Crisan, M.; Corselli, M.; Huard, J.; Lazzari, L. & Péault, B. Perivascular multi-lineage progenitor cells in human organs: regenerative units, cytokine sources or both? *Cytokine Growth Factor Rev.*, 20:429-34, 2009.
- Cho, H.; Kozasa, T.; Bondjers, C.; Betsholtz, C. & Kehr, J. H. Pericyte-specific expression of Rgs5: implications for PDGF and EDG receptor signaling during vascular maturation. *FASEB J*, 17:440-2, 2003.
- D'Amore, P. A.; Orlidge, A. & Herman, I. M. Chapter 8 Growth Control in the retinal microvasculature. *Prog. Retin. Eye Res.*, 7:233-58, 1988.
- da Silva Meirelles, L.; Caplan, A. I. & Nardi, N. B. In Search of the *In Vivo* Identity of Mesenchymal Stem Cells. *Stem cells*, 26:2287-99, 2008a.
- da Silva Meirelles, L.; Caplan, A. I. & Nardi, N. B. In search of the *in vivo* identity of mesenchymal stem cells. *Stem Cells*, 26:2287-99, 2008b.
- DeRuiter, M. C.; Poelmann, R. E.; VanMunsteren, J. C.; Mironov, V.; Markwald, R. R. & Gittenberger-de Groot, A. C. Embryonic endothelial cells transdifferentiate into mesenchymal cells expressing smooth muscle actins *in vivo* and *in vitro*. *Circ. Res.*, 80:444-51, 1997.
- Dhar, K.; Dhar, G.; Majumder, M.; Haque, I.; Mehta, S.; Van Veldhuizen, P. J.; Banerjee, S. K. & Banerjee, S. Tumor cell-derived PDGF-B potentiates mouse mesenchymal stem cells-pericytes transition and recruitment through an interaction with NRP-1. *Mol. Cancer*, 9:209, 2010.
- Didion, S. P.; Lynch, C. M.; Baumbach, G. L. & Faraci, F. M. Impaired endothelium-dependent responses and enhanced influence of Rho-kinase in cerebral arterioles in type II diabetes. *Stroke*, 36:342-7, 2005.
- Dore-Duffy, P. Pericytes: pluripotent cells of the blood brain barrier. *Curr. Pharm. Des.*, 14:1581-93, 2008.
- Dore-Duffy, P.; Katychev, A.; Wang, X. & Van Buren, E. CNS microvascular pericytes exhibit multipotential stem cell activity. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 26:613-24, 2006.
- Eberhard, A.; Kahlert, S.; Goede, V.; Hemmerlein, B.; Plate, K. H. & Augustin, H. G. Heterogeneity of angiogenesis and blood vessel maturation in human tumors: implications for antiangiogenic tumor therapies. *Cancer Res.*, 60:1388-93, 2000.
- Erber, R.; Thurnher, A.; Katsen, A. D.; Groth, G.; Kerger, H.; Hammes, H. P.; Menger, M. D.; Ullrich, A. & Vajkoczy, P. Combined inhibition of VEGF and PDGF signaling enforces tumor vessel regression by interfering with pericyte-mediated endothelial cell survival mechanisms. *FASEB J.*, 18:338-40, 2004.
- Ergun, S.; Tilki, D. & Klein, D. Vascular wall as a reservoir for different types of stem and progenitor cells. *Antioxid. Redox Signal*, In press, 2011.
- Etchevers, H. C.; Couly, G. & Le Douarin, N. M. Morphogenesis of the branchial vascular sector. *Trends Cardiovasc. Med.*, 12:299-304, 2002.
- Etchevers, H. C.; Vincent, C.; Le Douarin, N. M. & Couly, G. F. The cephalic neural crest provides pericytes and smooth muscle cells to all blood vessels of the face and forebrain. *Development*, 128:1059-68, 2001.
- Etienne-Manneville, S. & Hall, A. Rho GTPases in cell biology. *Nature*, 420:629-35, 2002.
- Feng, J.; Mantesso, A. & Sharpe, P. T. Perivascular cells as mesenchymal stem cells. *Expert Opin. Biol. Ther.*, 10:1441-51, 2010.
- Gerhardt, H. & Betsholtz, C. Endothelial-pericyte interactions in angiogenesis. *Cell Tissue Res.*, 314:15-23, 2003.
- Gerhardt, H. & Semb, H. Pericytes: gatekeepers in tumour cell metastasis? *J. Mol. Med.*, 86:135-44, 2008.
- Gould, E.; Tanapat, P.; Rydel, T. & Hastings, N. Regulation of hippocampal neurogenesis in adulthood. *Biol. Psychiatry*, 48:715-20, 2000.
- Guo, P.; Hu, B.; Gu, W.; Xu, L.; Wang, D.; Huang, H. J.; Cavenee, W. K. & Cheng, S. Y. Platelet-derived growth factor-B enhances glioma angiogenesis by stimulating vascular endothelial growth factor expression in tumor endothelia and by promoting pericyte recruitment. *Am. J. Pathol.*, 162:1083-93, 2003.
- Hattori, T.; Shimokawa, H.; Higashi, M.; Hiroki, J.; Mukai, Y.; Kaibuchi, K. & Takeshita, A. Long-term treatment

- with a specific Rho-kinase inhibitor suppresses cardiac allograft vasculopathy in mice. *Circ. Res.*, 94:46-52, 2004.
- Hayashi, K.; Nakao, S.; Nakaoko, R.; Nakagawa, S.; Kitagawa, N. & Niwa, M. Effects of hypoxia on endothelial/pericytic co-culture model of the blood-brain barrier. *Regul. Pept.*, 123:77-83, 2004.
- Higashi, M.; Shimokawa, H.; Hattori, T.; Hiroki, J.; Mukai, Y.; Morikawa, K.; Ichiki, T.; Takahashi, S. & Takeshita, A. Long-term inhibition of Rho-kinase suppresses angiotensin II-induced cardiovascular hypertrophy in rats *in vivo*: effect on endothelial NAD(P)H oxidase system. *Circ. Res.*, 93:767-75, 2003.
- Hirata, K.; Kikuchi, A.; Sasaki, T.; Kuroda, S.; Kaibuchi, K.; Matsuura, Y.; Seki, H.; Saida, K. & Takai, Y. Involvement of rho p21 in the GTP-enhanced calcium ion sensitivity of smooth muscle contraction. *J. Biol. Chem.*, 267:8719-22, 1992.
- Hirschi, K. K. & D'Amore, P. A. Pericytes in the microvasculature. *Cardiovasc. Res.*, 32:687-98, 1996.
- Hungerford, J. E. & Little, C. D. Developmental biology of the vascular smooth muscle cell: building a multilayered vessel wall. *J. Vasc. Res.*, 36:2-27, 1999.
- Ingber, D. E. Mechanical signaling and the cellular response to extracellular matrix in angiogenesis and cardiovascular physiology. *Circ. Res.*, 91:877-87, 2002.
- Joyce, J. A. Therapeutic targeting of the tumor microenvironment. *Cancer Cell*, 7:513-20, 2005.
- Kandabashi, T.; Shimokawa, H.; Miyata, K.; Kunihiro, I.; Eto, Y.; Morishige, K.; Matsumoto, Y.; Obara, K.; Nakayama, K.; Takahashi, S. & Takeshita, A. Evidence for protein kinase C-mediated activation of Rho-kinase in a porcine model of coronary artery spasm. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 23:2209-14, 2003.
- Kishi, T.; Hirooka, Y.; Masumoto, A.; Ito, K.; Kimura, Y.; Inokuchi, K.; Tagawa, T.; Shimokawa, H.; Takeshita, A. & Sunagawa, K. Rho-kinase inhibitor improves increased vascular resistance and impaired vasodilation of the forearm in patients with heart failure. *Circulation*, 111:2741-7, 2005.
- Kucia, M.; Wu, W. & Ratajczak, M. Z. Bone marrow-derived very small embryonic-like stem cells: their developmental origin and biological significance. *Dev. Dyn.*, 236:3309-20, 2007.
- Kutcher, M. E. & Herman, I. M. The pericyte: cellular regulator of microvascular blood flow. *Microvasc. Res.*, 77:235-46, 2009.
- Kutcher, M. E.; Kolyada, A. Y.; Surks, H. K. & Herman, I. M. Pericyte Rho GTPase mediates both pericyte contractile phenotype and capillary endothelial growth state. *Am. J. Pathol.*, 171:693-701, 2007.
- Lee, D. L.; Webb, R. C. & Jin, L. Hypertension and RhoA/Rho-kinase signaling in the vasculature: highlights from the recent literature. *Hypertension*, 44:796-9, 2004.
- Lennington, J. B.; Yang, Z. & Conover, J. C. Neural stem cells and the regulation of adult neurogenesis. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 1:99, 2003.
- Loirand, G.; Guerin, P. & Pacaud, P. Rho kinases in cardiovascular physiology and pathophysiology. *Circ. Res.*, 98:322-34, 2006.
- Mallat, Z.; Gojova, A.; Sauzeau, V.; Brun, V.; Silvestre, J. S.; Esposito, B.; Merval, R.; Groux, H.; Loirand, G. & Tedgui, A. Rho-associated protein kinase contributes to early atherosclerotic lesion formation in mice. *Circ. Res.*, 93:884-8, 2003.
- Mancuso, M. R.; Davis, R.; Norberg, S. M.; O'Brien, S.; Sennino, B.; Nakahara, T.; Yao, V. J.; Inai, T.; Brooks, P.; Freimark, B.; Shalinsky, D. R.; Hu-Lowe, D. D. & McDonald, D. M. Rapid vascular regrowth in tumors after reversal of VEGF inhibition. *J. Clin. Invest.*, 116:2610-21, 2006.
- Mandarino, L. J.; Sundarraj, N.; Finlayson, J. & Hassell, H. R. Regulation of fibronectin and laminin synthesis by retinal capillary endothelial cells and pericytes *in vitro*. *Exp. Eye Res.*, 57:609-21, 1993.
- Ming, X. F.; Barandier, C.; Viswambharan, H.; Kwak, B. R.; Mach, F.; Mazzolai, L.; Hayoz, D.; Ruffieux, J.; Rusconi, S.; Montani, J. P. & Yang, Z. Thrombin stimulates human endothelial arginase enzymatic activity via RhoA/ROCK pathway: implications for atherosclerotic endothelial dysfunction. *Circulation*, 110:3708-14, 2004.
- Ming, X. F.; Viswambharan, H.; Barandier, C.; Ruffieux, J.; Kaibuchi, K.; Rusconi, S. & Yang, Z. Rho GTPase/Rho kinase negatively regulates endothelial nitric oxide synthase phosphorylation through the inhibition of protein kinase B/Akt in human endothelial cells. *Mol. Cell Biol.*, 22:8467-77, 2002.

- Montiel-Eulefi, E.; Sanchez, R.; Rojas, M. & Bustos-Obregon, E. Epiblast Embryo Stem Cells Give Origin to Adult Pluripotent Cell Populations: Primordial Germ Cell, Pericytic and Haematopoietic Stem Cells. A Review. *Int. J. Morphol.*, 27:1325-33, 2009.
- Morikawa, S.; Baluk, P.; Kaidoh, T.; Haskell, A.; Jain, R. K. & McDonald, D. M. Abnormalities in pericytes on blood vessels and endothelial sprouts in tumors. *Am. J. Pathol.*, 160:985-1000, 2002.
- Munaron, L. & Fiorio Pla, A. Endothelial calcium machinery and angiogenesis: understanding physiology to interfere with pathology. *Curr. Med. Chem.*, 16:4691-703, 2009.
- Nohria, A.; Grunert, M. E.; Rikitake, Y.; Noma, K.; Prsic, A.; Ganz, P.; Liao, J. K. & Creager, M. A. Rho kinase inhibition improves endothelial function in human subjects with coronary artery disease. *Circ. Res.*, 99:1426-32, 2006.
- Noma, K.; Higashi, Y.; Jitsuiki, D.; Hara, K.; Kimura, M.; Nakagawa, K.; Goto, C.; Oshima, T.; Yoshizumi, M. & Chayama, K. Smoking activates rho-kinase in smooth muscle cells of forearm vasculature in humans. *Hypertension*, 41:1102-5, 2003.
- Noma, K.; Oyama, N. & Liao, J. K. Physiological role of ROCKs in the cardiovascular system. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 290:C661-8, 2006.
- Ohab, J. J.; Fleming, S.; Blesch, A. & Carmichael, S. T. A neurovascular niche for neurogenesis after stroke. *J. Neurosci.*, 26:13007-16, 2006.
- Orlidge, A. & D'Amore, P. A. Inhibition of capillary endothelial cell growth by pericytes and smooth muscle cells. *J. Cell Biol.*, 105:1455-62, 1987.
- Papetti, M.; Shujath, J.; Riley, K. N. & Herman, I. M. FGF-2 antagonizes the TGF-beta1-mediated induction of pericyte alpha-smooth muscle actin expression: a role for myf-5 and Smad-mediated signaling pathways. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 44:4994-5005, 2003.
- Peppiatt, C. M.; Howarth, C.; Mobbs, P. & Attwell, D. Bidirectional control of CNS capillary diameter by pericytes. *Nature*, 443:700-4, 2006.
- Qvigstad, E.; Sjaastad, I.; Brattelid, T.; Nunn, C.; Swift, F.; Birkeland, J. A.; Krobert, K. A.; Andersen, G. Ø.; Sejersted, O. M.; Osnes, J. B.; Levy, F. O. & Skomedal, T. Dual serotonergic regulation of ventricular contractile force through 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>4</sub> receptors induced in the acute failing heart. *Circ. Res.*, 97:268-76, 2005.
- Rajantie, I.; Ilmonen, M.; Alminaitte, A.; Ozerdem, U.; Alitalo, K. & Salven, P. Adult bone marrow-derived cells recruited during angiogenesis comprise precursors for periendothelial vascular mural cells. *Blood*, 104:2084-6, 2004.
- Ratajczak, M. Z.; Machalinski, B.; Wojakowski, W.; Ratajczak, J. & Kucia, M. A hypothesis for an embryonic origin of pluripotent Oct-4(+) stem cells in adult bone marrow and other tissues. *Leukemia*, 21:860-7, 2007.
- Raza, A.; Franklin, M. J. & Dudek, A. Z. Pericytes and vessel maturation during tumor angiogenesis and metastasis. *Am. J. Hematol.*, 85:593-8, 2010.
- Rikitake, Y.; Kim, H. H.; Huang, Z.; Seto, M.; Yano, K.; Asano, T.; Moskowitz, M. A. & Liao, J. K. Inhibition of Rho kinase (ROCK) leads to increased cerebral blood flow and stroke protection. *Stroke*, 36:2251-7, 2005.
- Rikitake, Y. & Liao, J. K. Rho-kinase mediates hyperglycemia-induced plasminogen activator inhibitor-1 expression in vascular endothelial cells. *Circulation*, 111:3261-8, 2005.
- Robinson, R. B.; Rosen, M. R.; Brink, P. R. & Cohen, I. S. Letter regarding the article by Xue *et al.*, "Functional integration of electrically active cardiac derivatives from genetically engineered human embryonic stem cells with quiescent recipient ventricular cardiomyocytes". *Circulation*, 112:82-3, 2005.
- Rucker, M.; Strobel, O.; Vollmar, B.; Roesken, F. & Menger, M. D. Vasomotion in critically perfused muscle protects adjacent tissues from capillary perfusion failure. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 279:H550-8, 2000.
- Ryska, A. Angiogenesis in tumors. Part I. Its role in the determination of biological characteristics of tumors; factors controlling the onset and development of angiogenesis. *Cesk. Patol.*, 36:26-31, 2000.
- Sato, M.; Suzuki, S. & Senoo, H. Hepatic stellate cells: unique characteristics in cell biology and phenotype. *Cell Struct. Funct.*, 28:105-12, 2003.
- Sato, Y. & Rifkin, D. B. Inhibition of endothelial cell movement by pericytes and smooth muscle cells: activation of a latent transforming growth factor-beta 1-like molecule by plasmin during co-culture. *J. Cell Biol.*, 109:309-15, 1989.

- Sauzeau, V.; Rolli-Derkinderen, M.; Lehoux, S.; Loirand, G. & Pacaud, P. Sildenafil prevents change in RhoA expression induced by chronic hypoxia in rat pulmonary artery. *Circ. Res.*, 93:630-7, 2003.
- Sims, D. E. Diversity within pericytes. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 27:842-6, 2000.
- Somlyo, A. P. & Somlyo, A. V. Ca<sup>2+</sup> sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase. *Physiol. Rev.*, 83:1325-58, 2003.
- Suematsu, M. & Aiso, S. Professor Toshio Ito: a clairvoyant in pericyte biology. *Keio J. Med.*, 50:66-71, 2001.
- Tarnok, A.; Ulrich, H. & Bocsi, J. Phenotypes of stem cells from diverse origin. *Cytometry A*, 77:6-10, 2010.
- Thomas, W. E. Brain macrophages: on the role of pericytes and perivascular cells. *Brain Res. Rev.*, 31:42-57, 1999.
- Verbeek, M. M.; de Waal, R. M.; Schipper, J. J. & Van Nostrand, W. E. Rapid degeneration of cultured human brain pericytes by amyloid beta protein. *J. Neurochem.*, 68:1135-41, 1997.
- von Tell, D.; Armulik, A. & Betsholtz, C. Pericytes and vascular stability. *Exp. Cell Res.*, 312:623-9, 2006.
- Watanabe, Y.; Faraci, F. M. & Heistad, D. D. Activation of Rho-associated kinase during augmented contraction of the basilar artery to serotonin after subarachnoid hemorrhage. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 288:H2653-8, 2005.
- Wilkinson-Berka, J. L.; Babic, S.; De Gooyer, T.; Stitt, A. W.; Jaworski, K.; Ong, L. G.; Kelly, D. J. & Gilbert, R. E. Inhibition of platelet-derived growth factor promotes pericyte loss and angiogenesis in ischemic retinopathy. *Am. J. Pathol.*, 164:1263-73, 2004.
- Wolfrum, S.; Dendorfer, A.; Rikitake, Y.; Stalker, T. J.; Gong, Y.; Scalia, R.; Dominiak, P. & Liao, J. K. Inhibition of Rho-kinase leads to rapid activation of phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase Akt and cardiovascular protection. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 24:1842-7, 2004.
- Xue, T.; Cho, H. C.; Akar, F. G.; Tsang, S. Y.; Jones, S. P.; Marbán, E.; Tomaselli, G. F. & Li, R. A. Functional integration of electrically active cardiac derivatives from genetically engineered human embryonic stem cells with quiescent recipient ventricular cardiomyocytes: insights into the development of cell-based pacemakers. *Circulation*, 111:11-20, 2005.
- Yamagishi, S. & Imaizumi, T. Diabetic vascular complications: pathophysiology, biochemical basis and potential therapeutic strategy. *Curr. Pharm. Des.*, 11:2279-99, 2005.
- Yamashima, T.; Tonchev, A. B.; Vachkov, I. H.; Popivanova, B. K.; Seki, T.; Sawamoto, K. & Okano, H. Vascular adventitia generates neuronal progenitors in the monkey hippocampus after ischemia. *Hippocampus*, 14:861-75, 2004.

Dirección para correspondencia:  
Enrique Montiel Eulefi, PhD.  
Centro de Biotecnología en Reproducción (CEBIOR)  
Facultad de Medicina  
Universidad de La Frontera  
Montevideo 0870  
Temuco. CP. 4811322  
CHILE

Tel.: +56-45-722089  
Fax.: +56-45-325600

Email: emontiele@gmail.com

Recibido : 08-03-2011  
Aceptado: 27-04-2011