مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال پنجم، شماره دوم، پیاپی هجدهم، پاییز ۱۳۹۵ (۵۱-۳۵)

پیشرفت‌های اخیر در سلول درمانی ضایعات نخاعی

شیوا نعمتی[۱*]، ابراهیم شهبازی[۲]، مهدی حصارکی[۳]، سحر کیانی[٤]، رضا حاجی حسینی[٥]
۱. دانشجوی دکتری بیوشیمی، دانشگاه پیام نور مرکز تهران و پژوهشگر پژوهشکده سلول‌های بنیادی، پژوهشگاه رویان
۲. دانشجوی دکتری زیست‌شناسی تکوینی، دانشگاه علم و فرهنگ و پژوهشگر پژوهشکده سلول‌های بنیادی، پژوهشگاه رویان
۳. دانشجوی دکتری زیست‌شناسی تکوینی، دانشگاه علم و فرهنگ و پژوهشگر پژوهشکده سلول‌های بنیادی، پژوهشگاه رویان
٤. استادیار، فیزیولوژی جانوری، عضو هیات علمی پژوهشکده سلول‌های بنیادی، پژوهشگاه رویان
۵. استاد، عضو هیات علمی، دانشگاه پیام نور مرکز تهران شرق
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۱۲ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۰۹/۰۷)

چکیده
ضایعه نخاعی شرایط تخریبی‌ای است که هزینه‌های زیادی را بر بیمار و جامعه او تحمیل می‌کند و متأسفانه تاکنون هیچ درمان مؤثری برای بیماری‌های سیستم عصبی و بالاخص ضایعات نخاعی ارائه نشده است. پیوند سلول‌های بنیادی یک استراتژی امیدوارکننده است که البته هنوز در ابتدای راه بوده و آزمایشات و کارآزمائی‌های بالینی بسیاری قبل از رسیدن آن به کلینیک باید به انجام و تایید مجامع پزشکی برسد. تحقیقات در زمینه بیولوژی سلول‌های بنیادی و باز برنامه نویسی سلول‌ها به‌سرعت در حال پیشرفت بوده و امید دست یابی به درمان کلینیکی پیوند سلولی را در بین بیماران مبتلا به این ضایعه افزایش می‌دهد. در این مطالعه، اپیدمیولوژی ضایعه نخاعی، پاتوفیزیولوژی و آزمایشات و کارآزمایی‌های بالینی انجام شده را مورد بحث و بررسی قرار خواهیم داد. همچنین مطالعه معضلات موجود برای استفاده کلینیکی از استراتژی پیوند سلولی و پیشرفت‌های اخیر در زمینه استفاده از سلول‌های بنیادی جنینی انسانی برای پیوند به افراد مبتلا به ضایعه نخاعی از مباحث ارائه شده در مقاله حاضر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: سلول‌های بنیادی، ضایعه نخاعی، پیوند سلولی، کارآزمایی بالینی.

Recent Advances in Cell therapy of spinal cord injury

Shiva Nemati[1]*, Ebrahim Shahbazi[2], Mehdi Hesaraki[3], Sahar Kiani[4], Reza Haji Hosseini[5]
1. Ph.D. Candidate in Biochemistry, Payame Noor University, Tehran Iran. And Researcher in Department of Stem Cells and Developmental Biology, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran
2. Ph.D. candidate in Developmental Biology, Department of Stem Cells and Developmental Biology, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran
3. Ph.D. candidate in Developmental Biology, Department of Stem Cells and Developmental Biology, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran.
4. Professor Asistant, Department of Stem Cells and Developmental Biology, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran.
5. Professor in Biochemistry, Payame Noor university, Tehran, Iran
(Received: Jan. 2, 2015 - Accepted: Nov. 27, 2016)

Abstract
Spinal cord injury (SCI) is a devastating condition producing great personal and societal costs and for which there is no effective treatment. Stem cell transplantation is a promising therapeutic strategy, though much preclinical and clinical research work remains. Here, we briefly describe SCI epidemiology, pathophysiology, and transplantation trial in human developments, including termination of the first human embryonic stem cell experimental and clinical stem cell strategies. Research in stem cell biology and cell reprogramming is rapidly advancing, with the hope of moving stem cell therapy closer to helping people with SCI. We examine issue important for clinical translation and provide a commentary on recent SCI.

Keywords: stem cell, Spinal cord injury, Cell transplantation, Clinical translation

* نویسنده مسئول: شیوا نعمتی E-mail: shivanemati2004@yahoo.com

مقدمه

ضایعات نخاعی شرایط تخریبی‌ای است که به‌واسطه از بین رفتن حس، حرکت و حرکات ارادی اندام‌های تحتانی در حد تروما رخ می‌دهد. علی‌رغم تلاش‌های محقیقن و پیشرفت‌های قابل توجه در در درمان و جراحی‌های بعد از ضایعه و ظهور روش‌های سلول درمانی با استفاده از سلول‌های بنیادی در این دسته از بیماران، تاکنون هیچ درمان مؤثری برای بیماری‌های سیستم عصبی و بالاخص ضایعات نخاعی ارائه نشده است (Tator, 2006; Khazaei *et al*., 2014; Mariano *et al*., 2014).

تاکنون موارد متعددی از درمان‌های کلینیکی مختلف که به شکل تجربی بعد از آسیب نخاعی موجب بهبود عملکردی می‌شود گزارش شده اما جالب آن که مکانیسم بهبود در موارد نادری شناسایی وگزارش گردیده است. بنابراین بررسی پاتوفیزیولوژی این قبیل آسیب‌ها می‌تواند موجب درک بهتر و طراحی روش‌های درمانی مناسب‌تر شود.

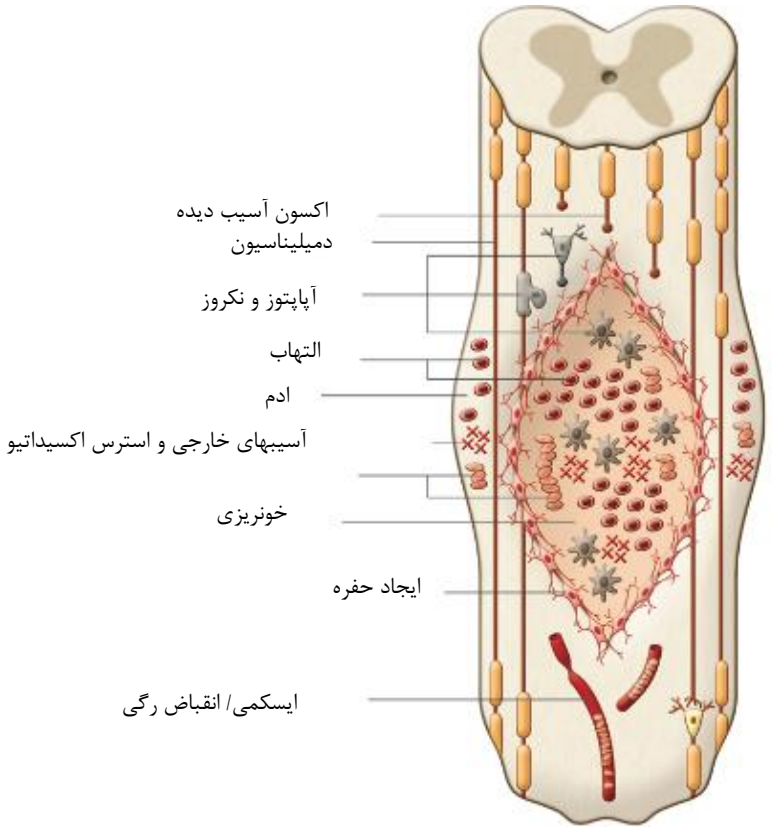
ما نیز در ابتدا به‌طور خلاصه پاتوفیزیولوژی آسیب‌های نخاعی را مرورکرده، سپس مروری بر انواع مختلفی از روش‌های درمانی را که در بیش از یک مورد از مدل‌های حیوانی آزمایشگاهی به‌کار گرفته شده است و بهبودهای عملکردی هر چند محدود را موجب شده‌اند، خواهیم داشت.

اپیدمیولوژی، اتیولوژی و شیوع ضایعات نخاعی

در سراسر جهان، بروز سالانه ضایعه نخاعی چیزی در حدود ۱۵–۴۰ مورد در هر یک میلیون جمعیت می‌باشد (Ackery *et al*., 2004). در کانادا، مؤسسه Rick Hansen تخمین زده است که هم اکنون ۸۵۰۰۰ فرد با بیماری ضایعه نخاعی زندگی می کنند که سالیانه ۴۰۰۰ نفر بر تعداد آنها افزوده می شود. و در ایالات متحده آمریکا تخمین زده شده که شیوع این بیماری بیش از یک میلیون نفر بوده و سالیانه ۱۲۰۰۰ بیمار جدید در این کشور به این گروه افزوده می‌شود (Mothe & Tator, 2012). باید خاطرنشان کرد که شیوع این بیماری در ایران به حدود ۴,۴ نفر به ازای هر ۱۰۰۰۰ نفر می‌باشد و همچنین بررسی گزارشات حاکی از آن است که آمار جانبازان با ضایعه نخاعی در طی هشت سال دفاع مقدس (در جنگ ایران و عراق بین سال‌های ۱۹۸۰–۱۹۸۸) حدود ۴۰۰۰۰۰ نفر می‌باشد (Javadi *et al*., 2014). بروز آسیب دیدگی دارای الگوی توزیع متقارن بین بالغین و نوجوانان بوده و بیشترین تعداد مابین افراد بین ۱۶–۳۰ سال اتفاق می‌افتد (Mothe & Tator, 2012). دومین پیک بروز بیماری در افراد سالخورده می باشد که بیشتر به‌دلیل افتادن از بلندی و یا کهولت سن ایجاد می‌گردد.

پاتوفیزیولوژی ضایعات نخاعی

شایع‌ترین نوع آسیب نخاعی وارد آمدن ضربه حاد و فشرده شدن ناگهانی نخاع در اثر ضربه می‌باشد (CH, 1995). در این حالت معمولاً برخی از بافت‌های عصبی در ناحیه subpial حفظ می‌شوند (Tator, 1995; Hulsebosch, 2002). مکانیسم اولیه آسیب وارده نکروز، ادم، خونریزی و انقباض رگ‌ها می‌باشد. در ادامه آبشاری از مکانیسم‌های ثانویه آسیب القا می‌گردد، که شامل ایسکمی، آپاپتوز، اختلال در توزیع مایعات و الکترولیت‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها، تولید رادیکال‌های آزاد و پاسخ‌های التهابی می‌باشند که در نتیجه آسیب بیشتر و کاهش جریان خون اتفاق می‌افتد (Tator and Fehlings, 1991). در نهایت، یک حفره پر از مایع یا کیست در مرکز طناب نخاعی به‌وجود می‌آید که توسط یک لبه subpial که محتوی تعدادی از اکسون‌ها حفظ شده که تعداد زیادی از آنها فاقد غشا میلینی هستند، پوشیده شده است (شکل۱). آستروسیت‌های هیپرتروفیک، ماکروفاژها و سایر سلول‌ها ماتریکس خارج سلولی، مولکول‌های مهاری را از قبیل اسکار گلیالی ترشح می‌کنند که منجر به ایجاد سدهای فیزیک–شیمیایی در برابر ترمیم می‌گردد (Fawcett & Asher, 1999).



شکل ۱. پاتولوژی ضایعه نخاعی. شکل بالا مجموع وقایع پاتوفیزیولوژیکی را که بعد ایجاد ضایعه نخاعی بوقوع می پیوندد از قبیل وقایع فازهای حاد (مثل ادم و خونریزی)، تحت حاد (مثل التهاب)، مزمن (ایجاد حفره) را نشان می‌دهد. مکانیسم های اولیه و ثانویه بعد از ایجاد ضایعه شامل ادم، خونریزی، التهاب، آپاپتوز، نکروز، سمیت خارج سلولی، پرکسیداسیون لیپیدی، عدم تعادل الکترولیت‌ها، ایسکمی/ اسپاسم رگی و انسداد رگی می‌باشند (Anwar *et al.*, 2016).

الیگودندروسیت‌ها و نورون‌ها دچار مرگ می‌شوند و این امر موجب از بین رفتن پوشش میلینی و تخریب نقل و انتقالات سیناپسی می‌گردد. در فازهای مزمن و تحت حاد حفره پر از مایع یا کیست در مرکز طناب نخاعی ایجاد می‌گردد که با ماکروفاژها و آستروسیت‌های هیپرتروفیک پوشیده شده‌اند. اینها و سایر سلول‌ها ماتریکس خارج سلولی و مولکول‌های مهاری مثل کندروتین سولفات پروتئوگلیکان‌ها را ترشح می‌کنند که منجر به ساخت اسکار گلیالی شده و یک سد فیزیکی و شیمیایی را در برابر ترمیم ایجاد می‌کند.

بعضی مدل‌های آزمایشگاهی موش صحرایی[1] و موش[2] ضایعات نخاعی، شرایط کاملاً مشابهی را با پاتولوژی ضایعات نخاعی انسانی ایجاد می‌کنند. که شامل فشردگی خارج دورایی، کانتوژن، مدل کراش در رت می‌باشند (Tator, 2009). ضایعات نخاعی بر اساس زمان سپری شده از ضایعه اولیه به سه فاز تقسیم می‌شوند که عبارتند از: فاز حاد: تا چندین روز بعد از ایجاد ضایعه، تحت حاد: بین یک تا دو هفته بعد از ایجاد آسیب یا فاز مزمن: چهار هفته یا بیشتر بعد از ایجاد ضایعه. مباحثی که در ادامه به آنها پرداخته می‌شوند شامل استراتژی‌های پیوند سلولی می‌باشند و در عین حال نشان می‌دهند که در فاز دوم یا تحت حاد از کارایی بالاتری نسبت به دو فاز دیگر برخوردار می‌باشند.

1. Rat
2. Mouse

ویژگی‌های عمومی پیوند سلولی برای ضایعات نخاعی

سلول درمانی یک استراتژی امیدوارکننده برای بهبود بیماری ضایعه نخاعی می‌باشد و مطالعات پاراکلینیکی نشان داده است که پیوند سلولی می‌تواند برخی از وقایع ثانویه‌ای که بعد از ایجاد جراحت ایجاد می‌شوند را بهبود بخشیده و برخی بافت‌های از دست رفته را ترمیم نماید. اولین تجربه‌ها در زمینه سلول درمانی از دهه ۱۹۷۰ توسط گروه Aguayo *et al*. آغاز شد. این گروه نشان دادند که پیوند عصب محیطی می‌تواند منجر به بهبود و ترمیم اکسون‌های موجود در سیستم عصبی مرکزی گردد. در ادامه گروه Reier نشان دادند که پیوند طناب نخاعی جنینی رشد دوباره اکسون‌های میزبان را حمایت می‌کند. از آنجایی‌که تعداد زیادی از استراتژی‌های پیوند سلولی تاکنون به انجام رسیده است که گزارش‌های بهبود هم در مورد آنها ارائه شده است (Fehlings *et al*., 2011; Thomas *et al*., 2011; Enzmann, Benton *et al*., 2006). ما بر آن شدیم تا در این مطالعه چندین استراتژی کلینیکی مورد تائید را که از سلول‌های بنیادی جنینی[1] (ES)، سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSC)[2] همانند سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان (BMSCs)[3]، سلول‌های بنیادی عصبی/ پیش‌ساز عصبی (NSPCs)[4] و سلول‌های بنیادی پرتوان القایی را مرود بحث و ارائه قرار دهیم (شکل ۲). البته پیوند سایر انواع سلول‌ها مثل سلول‌های شوان، گلیاهای مشتق از پیاز بویایی، فیبروبلاست‌های دستکاری شده با تغییرات ژنتیکی که نوروتروپین‌ها را ترشح می‌کنند و ماکروفاژهای فعال شده هم برای درمان این ضایعات به‌کار گرفته شده‌اند که موضوع بحث ما در این مقاله نمی‌باشند (Fehlings *et al*., 2011; Thuret *et al*., 2006).

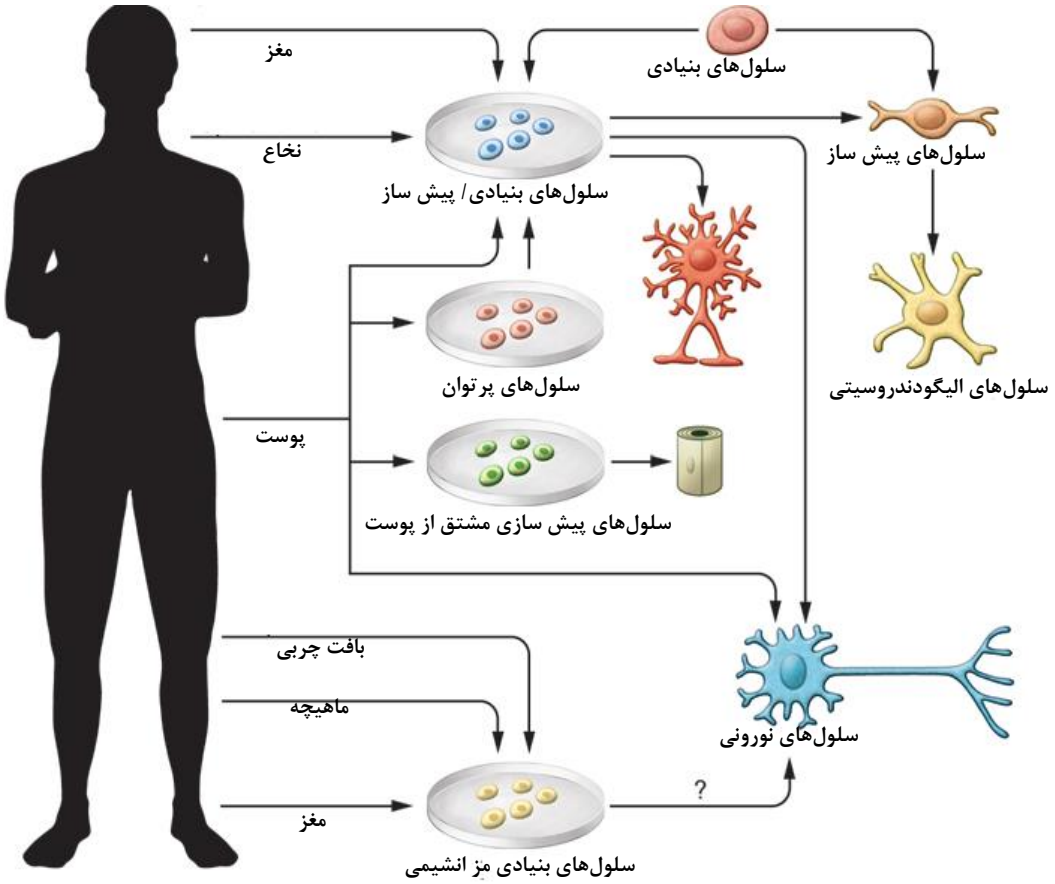
1. Embryonic Stem Cell
2. Mesenchymal Stem Cell
3. Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell
4. Neural Stem/Progenitor Stem Cell

تعریف سلول‌های بنیادی

یک سلول بنیادی در واقع سلولی است که به‌صورت پیوسته تکثیر می‌شود. از طرفی این تقسیم به‌صورت نامتقارن بوده و منجر تولید یک سلول خودنوزای مادری و یک سلول دختری می‌گردد که برای تمایز تخصص پیدا می‌کند. در مقابل سلول‌های پیش ساز با توان اندک خود برای تکثیر و ظرفیت بالایشان برای تمایز شناخته می‌شوند. چندین مکانیسم برای بهبود ضایعه بعد از پیوند فرض می‌شود، که بر اساس نوع سلول، از قبیل جایگزینی الیگودندروسیت‌ها یا نورون‌ها، بازسازی جریانات نورونی، تحریک حفظ سلول‌های نورونی و گلیالی میزبان، افزایش بیان سیتوکین‌ها و نوروتروپین‌ها به‌وسیله سلول‌های پیوندی یا میزبان، تحریک رگ‌زایی، ایجاد پل درون کیست یا حفره، کاهش التهاب یا گلیوسیز، تحریک سلول‌های پیش‌ساز درون‌زاد خود بیمار و ایجاد محیط مساعد برای پلاستیسیتی و ترمیم اکسونی (شکل ۳). در اغلب مطالعات مکانیسم دقیق بهبودی تاکنون مشخص نشده است.

سلول‌های بنیادی جنینی

سلول‌های بنیادی جنینی (ES)، سلول‌های پرتوانی هستند که از توده سلولی داخلی بلاستوسیست در حال تکوین جداسازی‌شده و قادر هستند به همه انواع سلول‌های یک فرد بالغ تبدیل شوند (Evans and Kaufman, 1981). سلول‌های بنیادی جنینی انسانی به‌صورت شاخص از جنین‌های پیش از مرحله لانه‌گزینی یا در مرحله بلاستوسیست یا با تولید جنین‌های مصنوعی به روش لقاح مصنوعی در آزمایشگاه جدا می‌شوند. این سلول‌ها را همچنین می‌توان با انتقال هسته به داخل سلول‌های سوماتیکی یا تخم‌های فعال‌شده توسط فعالیت پارتنوژنتیکی نیز تولید کرد. سلول‌های بنیادی جنینی بعد از پیوند قابلیت ایجاد تراتوما (سلول‌های سرطانی) را به‌صورت بسیار شایعی دارا می‌باشد، لذا برای جلوگیری از این امر قبل از پیوند بهتر است این سلول‌ها تا حدی تمایز بیابند.

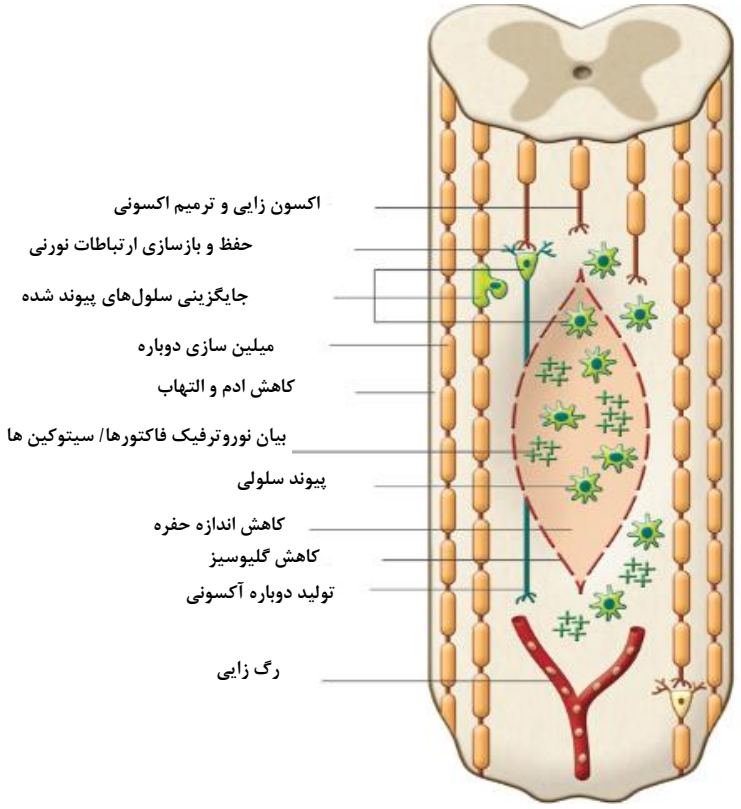


شکل ۲. منابع سلول‌های بنیادی برای پیوند به نخاع آسیب دیده. شمای مقابل منابع بافتی مختلف را برای سلول‌های بنیادی قابل استفاده در درمان ضایعات نخاعی را نشان می دهد. این سلول‌ها شامل: سلول‌های بنیادی/ پیش سازی عصبی، سلول‌های پرتوان القایی، سلول‌های پیش ساز مشتق از پوست، سلول‌های بنیادی مزانشیمی، سلول‌های بنیادی جنینی و سلول‌های نورونی مستقیم جدا شده از بافت عصبی می باشند (Mothe and Tator 2012).

پروتکل‌های بسیاری در حال تکامل به سمت تولید سلول‌های پیش‌ساز عصبی (Carpenter *et al*., 2001; Reubinoff *et al*., 2001; Tropepe *et al*., 2001; Zhang *et al*., 2001)، نورون‌های خاصی هدف بیماری‌های مختلف سیستم عصبی (Carpenter *et al*., 2001; Wichterle *et al*., 2002; Wada *et al*., 2009)، رده‌های سلولی گلیالی (Brustle *et al*., 1999; Nistor *et al*., 2005) از سلول‌های بنیادی جنینی هستند. مطالعات نشان دادند که در صورت پیوند سلول‌های بنیادی جنینی موشی که در مرحله پیش تمایزی هستند به داخل نخاع رت ضایعه دیده، این سلول‌ها به سلول‌های نورنی و گلیالی تمایز پیدا کرده و موجب بهبود نسبی حیوان مدل شدند (McDonald *et al*., 1999). همان‌طورکه در بالا به آن اشاره شد، ضایعه نخاعی منجر به دمیلیناسیون نورون‌ها شده و الیگودندروسیت‌ها آنها برای اپاپتوز کاندید می‌کنند. سلول‌های بنیادی جنینی می‌توانند به سلول‌های پیش‌ساز الیگودندروسیتی (OPC)[1] تمایز پیدا کنند و منجر به میلین‌سازی زوائد اکسونی درون نخاع رت آسیب دیده گردد (Sharp *et al*., 2010; Keirstead *et al*., 2005). از مزایای سلول‌های بنیادی جنینی انسانی این است که این سلول‌ها علی‌رغم اینکه فعالیت تلومرآزی بالایی دارند،

1. Oligodendrocyte progenitor cells

می‌توانند تقریباً به‌صورت مداوم و بدون خطا تکثیر شوند. و از طرفی، تولید رده‌های سلولی تخصص یافته با درصد خلوص بالا بدون آنکه هیچگونه ناهنجاری در کروموزم‌ها رخ دهند کار بسیار مشکلی است. بنابراین این فرضیه مطرح می‌شود که بعد از پیوند سلول‌های بنیادی جنینی به بیمار، به دلیل تکثیر مهار نشده و مشکلات کروموزومی ناشی از آن، خطر تومور زایی مطرح می‌شود.



شکل ۳. مکانیسم احتمالی ترمیم ضایعه نخاعی به دنبال پیوند سلولی. شکل مقابل بعضی از مکانیسم‌های احتمالی ترمیمی بعد از پیوند سلول‌های بنیادی به داخل نخاع آسیب دیده را نشان می‌دهد (Fink & Cafferty, 2016).

سلول‌های بنیادی/ پیش ساز عصبی (NSPCs)[1]

سلول‌های بنیادی/ پیش‌ساز عصبی سلول‌های چند توانی هستند که تعهد پیدا کرده‌اند به سلول‌های نورونی تبدیل شوند و می‌توانند در شرایط آزمایشگاهی به‌صورت خودنوزا تکثیر شوند. این سلول‌ها به‌صورت عمومی به شکل اسفیرهایی تحت عنوان نوروسفیر و در شرایط فاقد سرم و در حضور فاکتورهای رشدی مثل فاکتور رشد فیبروبلاستی (bFGF)[2] و فاکتور رشد اپیدرمی (EGF)[3] تکثیر گردند. نوروسفیرها تجمعات سه بعدی از سلول‌ها هستند که از ترکیبی از سلول‌های پیش ساز اولیه، درصد کمی از سلول‌های بنیادی و تعداد بسیار کمی از سلول‌های تمایز یافته تشکیل شده است. سلول‌های بنیادی عصبی به فاکتورهای رشد در محیط کشت پاسخ داده و به‌صورت انتخابی در حالت سوسپانسیون به شکل نوروسفیر تکثیر می‌شوند و زمانی‌که در محیط کشت حاوی سرم مورد کشت قرار گیرند به سلول‌های نورونی، الیگودندروسیتی و آستروسیتی تمایز می یابند (Mothe & Tator, 2012).

1. Neural stem/progenitor cells
2. B fibroblast growth factor
3. Epidermal growth factor

سلول‌های بنیادی عصبی را می‌توان از سلول‌های بنیادی جنینی (ES) که از توده سلولی درونی جنین به‌دست می‌آید، تولید کرد. علاوه بر این این سلول‌ها را می‌توان از مغز حیوان بالغ هم جداسازی و مورد استفاده قرار داد. سلول‌های بنیادی عصبی در منطقه خاصی از مغز بنام ناحیه ساب ونتیکولار، در شکنج دندانه‌دار هیپوکمپ، ناحیه مرکزی کانال نخاعی و مغز قدامی قرار گرفته‌اند (Morshead *et al*., 1994). سلول‌های چند توان بنیادی عصبی را توانسته اند از کانال مرکزی نخاعی جداسازی کنند و در آزمایشگاه تحت کشت قرار دهند. همچنین نشان دادند که این سلول‌ها توانایی تمایز به الیگودندروسیت‌ها را در شرایط آزمایشگاهی و در موجود زنده دارا می‌باشند. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که پیوند این دسته از سلول‌های بنیادی/ پیش‌ساز عصبی به داخل نخاع آسیب دیده در بهبود عملکرد و حفاظت نورونی و بازسازی نورونی دارای نقش قابل توجهی می‌باشد (Hofstetter *et al*., 2005; Moreno-Manzano *et al*., 2009). علاوه براین گفته می‌شود که این دسته از سلول‌ها دارای نقش سازگار کنندگی با سیستم ایمنی بوده و توانایی لانه گزینی در بافت آسیب‌دیده و ترشح برخی فاکتورهای نوروتروفیک را دارا می‌باشند (Hawryluk *et al*., 2012; Yan *et al*., 2004). لازم به ذکر است که اغلب مطالعات پیوند سلولی در ضایعات نخاعی بر روی سلول‌های بنیادی عصبی جوندگان انجام شده است زیرا به‌دست آوردن و کشت دادن این سلول‌ها از منابع انسانی کار بسیار مشکلی می‌باشد (Ostenfeld *et al*., 2002; Piao *et al*., 2006).

پیش‌سازهای به‌دست آمده از سلول‌های پوستی

پیش‌سازهای مشتق از پوست که سلول‌های بنیادی پاپیلا نامیده می‌شود هم گزارش شده که قادرند به انواع مختلفی از سلول‌ها از جمله سلول‌های نورونی تمایز پیدا کنند. علی‌رغم اینکه گفته می‌شود این سلول‌ها از بافت‌های مزانشیمی در درمیس مشتق می‌شوند، نشان داده شده است که فقط به سلول‌های مشتق از سلول‌های مزانشیمی همچون سلول‌های ماهیچه ای و چربی تبدیل نمی‌شوند. بلکه می‌توانند به سلول‌های رده اپیتلیالی مثل نورون‌ها، گلیاها و کراتینوسیت‌ها هم تبدیل می‌گردند. علاوه بر اینها سلول‌های بنیادی فولیکول مویی، که پروتئین نستین را در خود بیان می‌کنند هم گفته می‌شود که توانایی تمایز به رده سلول‌های اپیتلیالی را مثل سلول‌های نورونی را داشته و علاوه بر این سلول‌های بنیادی ستیغ عصبی هم نامیده می‌شوند (Krejci & Grim, 2010). این دسته از سلول‌ها می‌توانند به پیش‌سازهای مزودرمی و نورون‌های محیطی و سلول‌های شوان تبدیل شوند. بنابراین می‌توانند برای اهداف سلول درمانی در ترمیم‌های وابسته به نورون هم در مورد بافت عصبی محیطی و هم بافت عصبی مرکزی مثل مغز و نخاع مورد استفاده قرار بگیرند (Kanno, 2013).

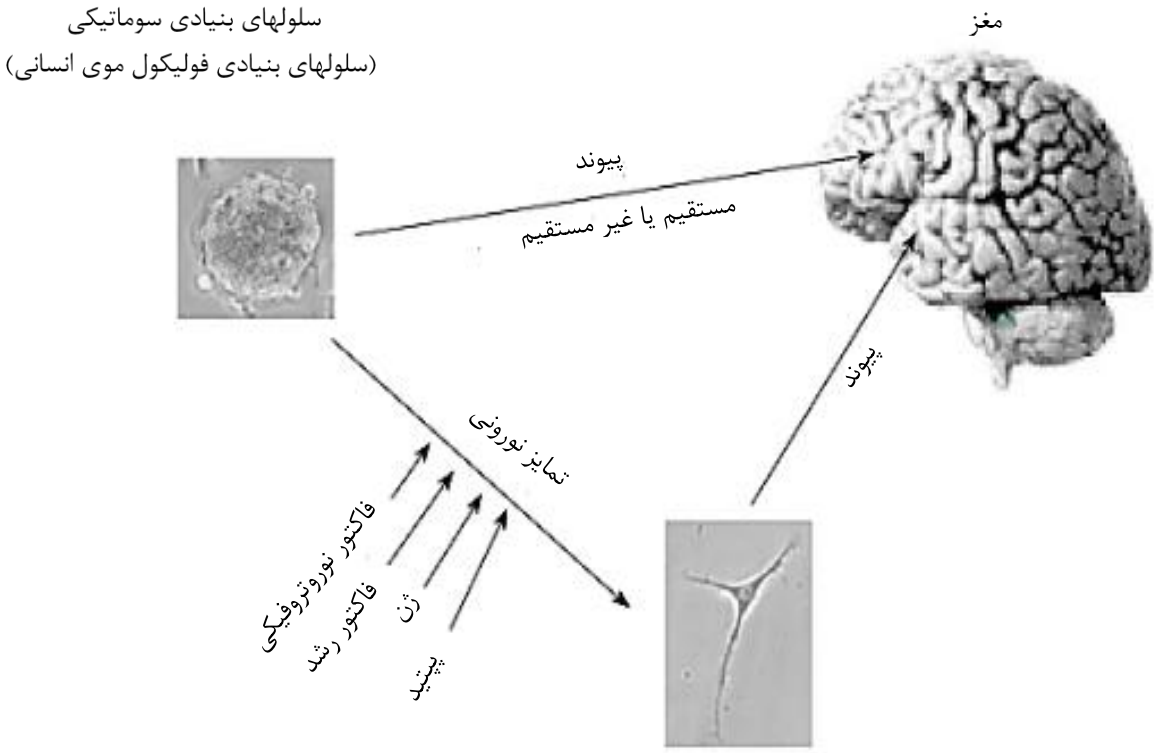
پیوند سلول‌های پیش‌ساز مشتق از پوست که از سلول‌های شوان مشتق شده‌اند به رت‌های مبتلا به ضایعه نخاعی نشان داد که زوائد آکسونی شروع به تشکیل کردند، میلین‌سازی دوباره انجام شد (Biernaskie *et al*., 2007).

سلول‌های بنیادی خون‌ساز و سلول‌های بنیادی مزانشیمی

سلول‌های بنیادی مغز استخوان بالغ محتوی انواع مختلفی از جمعیت‌های سلول‌های بنیادی می‌باشد که منشأ غیرنورونی داشته و شامل سلول‌های بنیادی خونساز و سلول‌های بنیادی مغز استخوان می باشد و از منابع متنوعی به‌دست می‌آیند که در ادامه توضیح داده می‌شوند (Mothe & Tator, 2012).

سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی

سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی دقیقاً از لحاظ خصوصیات با سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان مشابه هم می‌باشند.



شکل ٤. پیوند سلول‌های سوماتیکی به داخل سیستم عصبی مرکزی. سلول‌های سوماتیکی مثل سلول‌های فولیکول موی انسانی می‌توانند به شکل نوروسفیر، تیمار نشده یا تمایز داده شده به روش‌های مختلف، همچنین به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم به مغز پیوند شوند (Mothe and Tator, 2012).

این دسته از سلول‌ها می‌توانند به انواع متنوعی از سلول‌های حاصل از تمایز طبیعی بافت‌های مزانشیمی، اپتیلیالی و بافت‌های اندوژنوس تمایز پیدا کنند. اخیراً در مطالعه تمایز مستقیم این سلول‌ها را به سلول‌های مشابه موتورنورن‌ها گزارش کرده‌اند، که این تمایز با استفاده از رتینوئیک اسید و سونیک هج هاک[1] انجام شده است. سلول به‌دست آمده پتانسیل استفاده برای سلول درمانی را در بیماری‌هایی مثل هانتیگتون یا خونریزی درون سفاقی را از خود نشان داده است (Chen *et al*., 2012; Lee *et al*., 2009). استفاده از مدل‌های حیوانی و کارآزمایی‌های بالینی انسانی برای این سلول‌ها به انجام رسیده است، اما هنوز کار کلینیکی بر روی انسان با محدودیت‌های قابل توجهی در حال انجام می‌باشد.

1. Sonic Hedgrhog

در این مطالعه گزارش شده است که سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی توانایی ترشح فاکتورهای تروفیکی مثل VEGF و HGF را که در ترمیم بافت مغزی دچار ایسکمی حائز اهمیت است را از خود ترشح می کنند.

سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از خون بندناف

خون بند ناف انسانی محتوی سلول‌های بنیادی خونساز و سلول‌های بنیادی مزانشیمی است. سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از خون بندناف توانایی تمایز به سلول‌های نورونی را داشته و به‌صورت کلینیکی در سلول درمانی بیماریهای سیستم عصبی مرکزی مورد استفاده قرار می گیرد. مطالعات نشان داده است که تمایز نورونی سلول‌های بنیادی مزانشیمی خون بند ناف توسط پروتئین کیناز و استروژن القا می شود (Kang *et al*., 2007;

Wang *et al*. 2007). تمایز این سلول‌ها به سلول‌های نورونی دوپامینرژیک که قابل استفاده برای بیماری پارکینسون می باشد نیز در آزمایشگاه به اثبات رسیده است.

سلول‌های بنیادی پالپ دندان

سلول‌های بنیادی پالپ دندانی سلول‌های پرتوان مشتق از ستیغ عصبی هستند، بنابراین توان تبدیل شدن به سلول‌های نورنی را دارا می‌باشند. پیوند این سلول‌ها در بیماری‌ها سیستم عصبی و ضایعات نخاعی به اثبات رسیده است. این فرضیه وجود دارد که سلول‌های بنیادی پیوند شده پالپ دندانی بالغ انسانی منجر به تحریک رشد آکسونی می‌گردد (Arthur *et al*., 2009). همچنین گفته می‌شود در صورتی‌که این سلول‌ها را در یک محیط مناسب و مغذی رشد عصبی قرار دهیم قابلیت تبدیل شدن به نورون‌های بالغ و عملکردی را دارا می‌باشند.

سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از جفت

سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از جفت جز سلول‌های بنیادی مزانشیمی سوماتیکی می‌باشد و در صورت قرار گرفتن در کنام مناسب توانایی تمایز به فنوتیپ‌های نورونی را دارا می‌باشد. در مطالعات گذشته در شرایط آزمایشگاهی این سلول‌ها را توانسته‌اند به سلول‌های دوپامینرژیک تبدیل کنند. از این سلول‌ها در سلول درمانی بیماری‌های عصبی مقاوم استفاده شده است (Martini *et al*., 2013).

مونوسیت‌های خون محیطی

مونوسیت‌های خون محیطی شامل سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌باشند که سلول‌های چندتوان بوده و توانایی تیدیل شدن به سلول‌های نورونی را دارا می‌باشند. یکی از مزایای عمده این منبع در دسترس بودن راحت و ارزان آن است و با کمترین تهاجم به بدن فرد قابل دسترسی می‌باشد. با استفاده از تیمار این سلول‌ها با NGF[1]، آنها شروع به تولید انولاز مختص سلول‌های نورونی، نوروفیلامنت و پروتئین همکار با میکروتوبول 1-B کردند. این سلول‌ها توانایی تمایز به سلول‌های میکروگلیا را که جز سلول‌های حمایت‌کننده سیستم عصبی هستند را دارا می‌باشند و همچنین می‌توانند کاندید مناسبی برای پیوند اتولوگ در بیماری‌های سیستم عصبی باشند.

تعداد زیادی از کارآزمایی‌های بالینی به اتمام رسیده و در حال انجام از سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان و سلول‌های بنیادی خونساز در بیماری ضایعات نخاعی به ثبت رسیده است. در مجموع، اطلاعات ارائه شده باوجود اینکه سلول‌های بنیادی مزانشیمی تأثیرات مثبتی در بهبود ضایعات نخاعی می‌تواند داشته باشد ولی تلاش برای پیدا کرد منبع سلولی مناسب با کارایی بالاتر همچنان ادامه دارد (Zhao *et al*., 2003).

سلول‌های پرتوان القایی

سلول‌های بنیادی القایی پرتوان با باز برنامه نویسی سلول‌های بالغ کاملاً تمایز یافته به سمت موقعیت پرتوانی حاصل شده است. از مزایای قابل این دسته از سلول‌ها دسترسی آسان آن است زیرا به‌راحتی می‌تواند با یک بوپسی ساده از پوست یک بیمار مبتلا به ضایعه نخاعی یا هر بیماری دیگری و باز برنامه‌ریزی سلول‌های آن به منبع سلول‌های پرتوان القایی دست یافت و بعد از هدایت این سلول‌ها به سمت سلول هدف آنرا برای پیوند مورد استفاده قرار داد. این سلول‌ها برای اولین بار توسط Takahashi & Yamanaka (2006) از سلول‌های سوماتیکی موش مثل سلول‌های فیبروبلاست تولید شد. برای تولید این سلول‌ها از انتقال ژنتیکی چهار فاکتور رونویسی شامل OCT4، SOX2، KLF4 و

1. Neural growth factor

c-MYC استفاده گردیدسلول‌های پرتوان القایی انسانی نیز از سلول‌های سوماتیکی تولید شده است. در واقع تکنولوژی تولید سلول‌های پرتوان انسانی بدون نیاز به جنین یک جهش عمده و یک پیشرفت قابل توجه در بیولوژی سلول‌های بنیادی می‌باشد.

مطالعات گسترده‌ای در زمینه مقایسه توانایی و قابلیت‌های سلول‌های پرتوان القایی با سلول‌های بنیادی جنینی انجام شد. این دسته از سلول‌ها از لحاظ خصوصیات کلیدی کاملاً مشابه سلول‌ها بنیادی جنینی می‌باشد که شامل مورفولوژی، پرتوانی، خودنوزایی و بیان ژنی می‌باشند. در طول کشت و نگهداری سلول‌های بنیادی جنینی در آزمایشگاه این سلول‌ها با نقایص ژنتیکی مواجه می‌شوند که سلول‌های پرتوان القایی هم چنین خصوصیتی را از خود نشان می‌دهند. یکی از معایب استفاده از سلول‌های پرتوان القایی بیان فاکتورهای باز برنامه نویسی همکار با تولید تراتوما (سرطان) می‌باشد (Ben-David and Benvenisty, 2011). برای غلبه بر این مشکل تلاش‌های زیادی در جهت تولید این سلول‌ها بدون استفاده از وکتورهای ویروسی صورت گرفته است.

اخیراً، تولید سلول‌های بنیادی عصبی از سلول‌های پرتوان القایی انسانی به اثبات رسیده است اما تنها میزان کارایی تمایز این سلول‌ها از سلول‌های بنیادی جنینی کمتر می‌باشد. یعنی در مقایسه با سلول‌های بنیادی جنینی تعداد کمتر از سلول‌های پرتوان القایی به سلول‌های نورونی تبدیل می‌شوند. همچنین، بعضی از انواع سلول‌های نورونی مشتق از سلول‌های بنیادی پرتوان القایی تمایل به سرطانی شدن را بعد از پیوند به سیستم عصبی مرکزی از خود نشان می‌دهند. بنابراین تلاش‌های زیادی در جهت حل این مشکل صورت گرفته و در حال انجام می‌باشد. نتایج مطالعات انجام شده با سلول‌های سالم و مطمئن از سلول‌های پرتوان القایی بعد از ضایعه نخاعی کانتوژن، میلین‌سازی، رشد آکسونی و تحریک ترمیم حرکتی را به‌همراه داشته است (Tsuji *et al*., 2010). در مقابل، پیوند نوروسفیرهای مشتق از سلول‌های پرتوان القایی نامطمئن منجر به ایجاد تومورهای سرطانی بدخیم و کلهش ناگهانی بهبود حرکتی می‌شود (Tsuji *et al*., 2010). اخیراً فردی به نام Okano (Tsuji *et al*., 2010). نوروسفیرهای مشتق از سلول‌های پرتوان القایی را به نخاع موش آسیب دیده پیوند زدند و بهبود عملکرد حیوان مدل را گزارش دادند. در این مطالعه توموری مشاهده نشد. همچنین یک مطالعه اخیر هم نشان داد که سلول‌های بنیادی مشابه نورواپیتلیالی که از سلول‌های پرتوان القایی به‌دست آمده بود، توانستند ارتباطات سیناپسی را برقرار کنند و عملکردی حرکتی را بهبود بخشند (Fujimoto *et al*., 2012).

تبدیل مستقیم به سلول‌های نورونی

اخیراً تبدیل مستقیم یک سلول به یک نوع سلول دیگر با گذر از مرحله پرتوانی نشان داده شده است. برای مثال سلول‌های هماتوپوئیتیک به‌صورت مستقیم از سلول‌های فیبروبلاست پوستی بدون اینکه بیان نابجای فاکتورهای رونویسی هماتوپوئیتیک وجود داشته باشد، تولید شده است (Szabo *et al*., 2010.) و سلول‌های جنینی فیبروبلاستی به سلول‌های کاردیومیوسیت‌ها تبدیل شده است (Efe *et al*., 2010). چندین مطالعه تبدیل مستقیم سلول‌های پوستی موشی و انسانی و سلول‌های کبدی را به نورون‌ها گزارش کرده‌اند (که تحت عنوان نورونهای القایی نامیده می‌شوند)، که برخی از فاکتورهای رونویسی نورونی را خود بیان می‌کنند (Marro *et al*., 2011). فاکتورهای بازبرنامه‌نویسی در سوییچ کردن یک سرنوشت سلولی به یک نوع سلول دیگر وارد عمل می‌شوند. اگرچه تعداد نورونهای القا شده بسیار اندک می‌باشد اما هنوز حافظه اپی‌ژنتیکی سلول‌های‌دهنده خود را دارا می‌باشند.

اخیراً Marro *et al*. (2011) توانستند سلول‌های فیبروبلاست جنینی موشی را مستقیماً به سلول‌های پیش‌ساز نورونی که قادر به تبدیل به نورون و گلیا بوده و همچنین قادر به تکثیر و نگهداری برای مدت طولانی در آزمایشگاه بودند را تولید کنند (Lujan *et al*., 2012). مرحله بعدی این خواهد بود که آیا می‌توان پیش‌سازهای نورونی القایی را از سلول‌های فیبروبلاست فرد بالغ به‌صورت ایمن تولید کرد؟ این پیشرفت در بیولوژی سلول‌های بنیادی این فرض را مطرح می‌کند که پرتوانی لازمه بازبرنامه‌نویسی سلول‌های سوماتیکی نمی‌باشد. این تکنولوژی جایگزین برای بازبرنامه‌نویسی سلولی برای درمان‌های جایگزینی سلولی اتولوگ جلوی هرگونه مشکل را که وابسته به استفاده از سلول‌های پرتوان القایی بود از جمله تومورزایی را می‌گیرد. اگرچه هنوز مطالعات زیادی لازم است تا تولید مستقیم این سلول‌ها به مراحل تأیید کامل برسد.

خلاصه‌ای از مباحث مطرح شده در زمینه استفاده از سلول درمانی در ضایعات نخاعی

استفاده کلینیکی از پیوند سلول‌های بنیادی در ضایعات نخاعی هنوز با بحث‌های زیادی روبرو است. بنابراین، فاز اولیه کارآزمایی بالینی با تعداد محدودی مریض بدون اینکه نمونه کنترلی وجود داشته باشد و درنتیجه ارزیابی‌ها کاملاً دقیق باشد آغاز شده است. ثبت نام تعداد مناسب و زیادی بیمار ضایعه نخاعی برای کارآزمایی بالینی کار بسیار مشکلی است زیرا شدت بیماری و سطوح ضایعه، سن بیمار و ضایعات همراه با ضایعه اولیه در بیماران مختلف متفاوت بوده و از تنوع زیادی برخوردار می‌باشد. عموماً برای درمان‌های وابسته به پیوند سلولی، جمعیت هدف مبتلا به ضایعه نخاعی بیمارانی هستند که احتمال بهبودی آنها در حداقل ممکن قراردارد. یکی دیگر از محدودیت‌های ممکن تعداد بسیار زیاد سلول مورد نیاز برای انجام پیوند سلولی (دو میلیون سلول برای هر بیمار) می‌باشد و همچنین زمان طولانی که باید برای مشاهده نتایج باید صرف شود (نزدیک به شش‌ماه) می‌باشد. فرآیند تولید سلول‌های پیش‌ساز از سلول‌های بنیادی جنینی فرآیند گرانی بوده و مساله فوق در مورد سلول‌های پرتوان القایی هم صادق می‌باشد. پیشرفت‌های اخیر در تولید مستقیم سلول‌های مورد نیاز، پتانسیل قابل توجه کلینیکی پیوند سلولی را مشخص می کند. اما هنوز مطالعات زیادی لازم است تا انجام شود در جدول ۱ به برخی از مطالعات انجام شده در این زمینه اشاره شده است. در مقابل بیش از پنجاه سال از مطالعه سلول‌های بنیادی خونساز می‌گذرد و هم‌اکنون به‌صورت روتین در درمان بیماری‌های خونی و سرطان‌های خون مورد استفاده قرار می‌گیرد. مطالعات زیادی در زمینه استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی در سکته مغزی، مالتیپل اسکلروسیز و موقعیت‌های ارتوپدی انجام و به چاپ رسیده است (Borlongan *et al*., 2011; Connick *et al*., 2012; Gomez-Barrena *et al*., 2011). حجم بسیار زیاد اطلاعات در زمینه اطلاعات کارآزمایی بالینی و گزارشات حاکی از موفقیت‌های درمانی و ایمن بودن پیوندهای انجام شده دلایل محکمی بر استفاده روز افزون این سلول‌ها در درمان‌های کلینیکی می‌باشد. علاوه بر مطالب ذکر شده و مراحلی که قبل از همه گیر شدن سلول درمانی باید انجام شود، پیچیدگی بافت نخاع که دچار ضایعه می‌گردد و همچنین آسیب‌های ثانویه حاصل از آن هم که منجر به ایجاد تروما و به‌هم‌ریختگی بافت و ساختار نخاع می‌شود هم از موضوعات بحث برانگیز در این زمینه می‌باشد. اما خوشبختانه، با پیشرفت‌های سریع در زمینه بیولوژی سلول‌های بنیادی و نتایج مؤثر و قابل توجه حاصل از مطالعات در زمینه سلول درمانی در ضایعات نخاعی امید به دسترسی به این مهم در آینده نزدیک دور از انتظار نمی‌باشد.

جدول ۱. خلاصه ای از کارآزمائی‌های بالینی برای پیوند سلولی در ضایعات نخاع

نوع سلول بنیادی	کشور	موقعیت مطالعه	فاز بیماری	تعداد بیمار	مدت زمان پیوند بعد از ضایعه	روش انتقال سلول
سلول‌های پیش‌ساز الیگودندروسیتی مشتق از سلول‌های بنیادی جنینی	آمریکا	خاتمه یافته به چاپ نرسیده	I;ASIA A	۱۰ نفر ثبت نام- ۵ پیوند	تحت حاد: ۱-۲ هفته	درون نخاعی، یکبار
سلول‌های بنیادی مونوسیتی پیوند اتولوگ	برزیل	خاتمه یافته (Callera and do Nascimento, 2006)	I;ASIA A-C	۱۰ نفر (۳۴ ساله)،	مزمن متوسط سه سال	اینترا تکتال با LP، یکبار
سلول‌های بنیادی مونوسیتی پیوند اتولوگ	جمهوری چک	خاتمه یافته (Sykova *et al*., 2006)	I/ II;ASIA A	۲۰نفر (۱۹-۴۱ سال)	تحت حاد۱۰-۳۰ روز مزمن ۲-۱۷ ماه	درون رگی
سلول‌های بنیادی مونوسیتی پیوند اتولوگ	کره	خاتمه یافته (Yoon *et al*., 2007)	I/ II; ASIA A	۳۵ (۱۵-۵۷)	حاد:۲ هفته تحت حاد: ۲-۸ هفته مزمن:۸ هفته	درون نخاعی، یکبار
سلول‌های بنیادی مونوسیتی پیوند اتولوگ	اکوادور	خاتمه یافته (Geffner *et al*., 2008)	I/II	۸ (۲۷-۴۴ سال)	حاد ۵روز-۶ ماه مزمن ۵-۲۱ سال	درون نخاعی به همراه اینتراتکتال LP
سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان پیوند اتولوگ	کره	خاتمه یافته (Park *et al*., 2012)	I/II; ASISAA-B	۱۰ (۳۴-۶۱ سال)	مزمن بیشتر از یک ماه	درون نخاعی
سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان پیوند اتولوگ	مصر	خاتمه یافته (Ra *et al*., 2011)	I/II ASIA	۸۰ (۱۰-۳۶ سال)	مزمن ۱۰ ماه-۳ سال	مشخص نشده
سلول‌های بنیادی مزانشیمی (بافت چربی) پیوند اتولوگ	کره	خاتمه یافته	I;ASIA A-C	۸ (۱۹-۶۰ سال)	بیشتر از ۲ ماه	درون رگی
سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان پیوند اتولوگ	هند	خاتمه یافته	I/II ASIA A	۱۲ (۲۰-۵۵ سال)	حاد: < ۲ هفته تحت حاد: ۲-۸ مزمن: ۶ هفته<	اینترا تکتال برای حاد، مزمن: درون نخاعی

سپاسگزاری

این مقاله نتیجه انجام یک طرح پژوهشی بوده است که با حمایت پژوهشکده سلول‌های بنیادی رویان انجام شده است. از همکاری و مساعدت‌های ریاست محترم پژوهشکده جناب آقای دکتر بهاروند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

Ackery, A.; Tator, C.; Krassioukov, A.; (2004). A global perspective on spinal cord injury epidemiology. J Neurotrauma; 21(10): 1355-1370.

Anwar, M.A.; Al Shehabi, T.S.; Eid; A.H.; (2016). "Inflammogenesis of Secondary Spinal Cord Injury". Front Cell Neurosci; 10: 98-105.

Arthur, A.; Shi, S.; Zannettino, A.C.; Fujii, N.; Gronthos, S.; Koblar, S.A.; (2009). Implanted adult human dental pulp stem cells induce endogenous axon guidance. Stem Cells; 27(9): 2229-2237.

Ben-David, U.; Benvenisty, N.; (2011). The tumorigenicity of human embryonic and induced pluripotent stem cells. Nat Rev Cancer; 11(4): 268-277.

Biernaskie, J.; Sparling, J.S.; Liu, J.; Shannon, C.P.; Plemel, J.R.; Xie, Y.; Miller, F.D.; Tetzlaff, W.; (2007). "Skin-derived precursors generate myelinating Schwann cells that promote remyelination and functional recovery after contusion spinal cord injury". J Neurosci; 27(36): 9545-9559.

Borlongan, C.V.; Glover, L.E.; Tajiri, N.; Kaneko, Y.; Freeman, T.B.; (2011). The great migration of bone marrow-derived stem cells toward the ischemic brain: therapeutic implications for stroke and other neurological disorders. Prog Neurobiol; 95(2): 213-228.

Brustle, O.; Jones, K.N.; Learish, R.D.; Karram, K.; Choudhary, K.; Wiestler, O.D.; Duncan, I.D.; McKay, R.D.; (1999). Embryonic stem cell-derived glial precursors: a source of myelinating transplants. Science; 285 (5428): 754-756.

Callera, F.; do Nascimento, R.X.; (2006). Delivery of autologous bone marrow precursor cells into the spinal cord via lumbar puncture technique in patients with spinal cord injury: a preliminary safety study. Exp Hematol; 34(2): 130-131.

Carpenter, M.K.; Inokuma, M.S.; Denham, J.; Mujtaba, T.; Chiu, C.P. Rao, M.S.; (2001). Enrichment of neurons and neural precursors from human embryonic stem cells. Exp Neurol; 172(2): 383-397.

CH, T.; (1995). Epidemiology and general characteristics of the spinal cord injury patient. In: Benzel EC, ed. Contemporary Management of Spinal Cord Injury. Park Ridge, Illinois, USA: American Association of Neurological Surgeons; 9-13.

Chen, J.; Tang, Y.X.; Liu, Y.M.; Hu, X.Q.; Liu, N.; Wang, S.X.; Zhang, Y.; Zeng, W.G.; Ni, H.J.; Zhao, B.; Chen, Y.F.; Tang, Z.P.; (2012) Transplantation of adipose-derived stem cells is associated with neural differentiation and functional improvement in a rat model of intracerebral hemorrhage. CNS Neurosci Ther; 18(10): 847-854.

Connick, P.; Kolappan, M.; Crawley, C.; Webber, D.J.; Patani, R.; Michell, A.W.; Du, M.Q.; Luan, S.L.; Altmann, D.R.; Thompson, A.J.; Compston, A.; Scott, M.A.; Miller, D.H.; Chandran, S.; (2012). Autologous mesenchymal stem cells for the treatment of secondary progressive multiple sclerosis: an open-label phase 2a proof-of-concept study. Lancet Neurol; 11(2): 150-156.

Efe, J.A.; Hilcove, S.; Kim, J.; Zhou, H.; Ouyang, K.; Wang, G.; Chen, J.; Ding, S.; (2010). "Conversion of mouse fibroblasts into cardiomyocytes using a direct reprogramming strategy". Nat Cell Biol; 13(3): 215-222.

Enzmann, G.U.; Benton, R.L.; Talbott, J.F.; Cao, Q.; Whittemore, S.R.; (2006). Functional considerations of stem cell transplantation therapy for spinal cord repair. J Neurotrauma; 23(3-4): 479-495.

Evans, M.J.; Kaufman, M.H.; (1981). Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. Nature; 292(5819): 154-156.

Fawcett, J.W.; Asher, R.A.; (1999). The glial scar and central nervous system repair. Brain Res Bull; 49(6): 377-391.

Fehlings, M.G.; Vawda, R.; (2011) Cellular treatments for spinal cord injury: the time is right for clinical trials. Neurotherapeutics; 8(4): 704-720.

Fink, K.L.; Cafferty, W.B.; (2016). Reorganization of Intact Descending Motor Circuits to Replace Lost Connections After Injury. Neurotherapeutics; 13(2): 370-381.

Fujimoto, Y.; Abematsu, M.; Falk, A.; Tsujimura, K.; Sanosaka, T.; Juliandi, B.; Semi, K.; Namihira, M.; Komiya, S.; Smith, A.; Nakashima, K.; (2012) Treatment of a mouse model of spinal cord injury by transplantation of human induced pluripotent stem cell-

derived long-term self-renewing neuroepithelial-like stem cells. Stem Cells; 30(6): 1163-1173.

Geffner, L.F.; Santacruz, M.; Izurieta, M.; Flor, L.; Maldonado, B.; Auad, A. H.; Montenegro, X.; Gonzalez, R.; and Silva. F.; (2008)."Administration of autologous bone marrow stem cells into spinal cord injury patients via multiple routes is safe and improves their quality of life: comprehensive case studies". Cell Transplant; 17(12): 1277-1293.

Gomez-Barrena, E.; Rosset, P.; Muller, I.; Giordano, R.; Bunu, C.; Layrolle, P.; Konttinen, Y.T.;and Luyten, F.P.; (2011). "Bone regeneration: stem cell therapies and clinical studies in orthopaedics and traumatology." J Cell Mol Med; 15(6): 1266-1286.

Hawryluk, G.W.; Mothe, A.J.; Chamankhah, M.; Wang, J.; Tator, C.; and Fehlings, M.G.;(2012)."In vitro characterization of trophic factor expression in neural precursor cells." Stem Cells Dev; 21(3): 432-447.

Hofstetter, C. P.; Holmstrom, N.A.; Lilja, J.A.; Schweinhardt, P.; Hao, J.; Spenger, C.; Wiesenfeld-Hallin, Z.; Kurpad, S.N.; Frisen, J.; and Olson. L; (2005)."Allodynia limits the usefulness of intraspinal neural stem cell grafts; directed differentiation improves outcome." Nat Neurosci; 8(3): 346-353.

Hulsebosch, C.E.; (2002). "Recent advances in pathophysiology and treatment of spinal cord injury." Adv Physiol Educ; 26(1-4): 238-255.

Javadi, M.; Hafezi-Nejad, N.; Vaccaro, A.R.; and Rahimi-Movaghar. V.; (2014). "Medical complications and patient outcomes in Iranian veterans with spinal cord injury." Adv Clin Exp Med; 23(2): 269-275.

Kang, J.H.; Lee, C.K.; Kim, J.R.; Yu, S.J.; Jo, J.H.; Do, B.R.; Kim, H.K.; and Kang, S.G.;(2007). "Estrogen stimulates the neuronal differentiation of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells (CD34-)." Neuroreport; 18(1): 35-38.

Kanno, H.; (2013). "Regenerative therapy for neuronal diseases with transplantation of somatic stem cells." World J Stem Cells; 5(4): 163-171.

Keirstead, H. S.; Nistor, G.; Bernal, G.; Totoiu, M,; Cloutier, F,; Sharp, K.; and Steward. O,; (2005). "Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitor cell transplants remyelinate and restore locomotion after spinal cord injury." J Neurosci; 25(19): 4694-4705.

Khazaei, M.; Siddiqui, A.M.; and Fehlings, M.G.; (2014). "The Potential for iPS-Derived Stem Cells as a Therapeutic Strategy for Spinal Cord Injury: Opportunities and Challenges." J Clin Med; 4(1): 37-65.

Krejci, E.; and Grim, M.; (2010). "Isolation and characterization of neural crest stem cells from adult human hair follicles." Folia Biol (Praha); 56(4): 149-157.

Lee, S. T.; Chu, K.; Jung, K.H.; Im, W.S.; Park, J.E.; Lim, H.C.; Won,C.H.; Shin, S.H.; Lee, S.K.; Kim, M.; and Roh, J.K.; (2009). "Slowed progression in models of Huntington disease by adipose stem cell transplantation." Ann Neurol; 66(5): 671-681.

Lujan, E.; Chanda, S.; Ahlenius, H.; Sudhof, T.C.; and Wernig, M.; (2012). "Direct conversion of mouse fibroblasts to self-renewing, tripotent neural precursor cells." Proc Natl Acad Sci USA; 109(7): 2527-2532.

Mariano, E.D.; Batista, C.M.; Barbosa, B.J.; Marie, S.K.; Teixeira, M.J.; Morgalla, M.; Tatagiba, M.; Li, J.; and Lepski, G.; (2014). "Current perspectives in stem cell therapy for spinal cord repair in humans: a review of work from the past 10 years." Arq Neuropsiquiatr; 72(6): 451-456.

Marro, S.; Pang, Z.P.; Yang, N.; Tsai,

M.C.; Qu, K.; Chang, H.Y.; Sudhof, T.C.; and M. Wernig.;(2011). "Direct lineage conversion of terminally differentiated hepatocytes to functional neurons." Cell Stem Cell; 9(4): 374-382.

Martini, M.; Jeremias, S.; Tda, S.; Kohler, M.C.; Marostica, L.L.; Trentin, A.G.; and Alvarez-Silva, M.; (2013). "Human placenta-derived mesenchymal stem cells acquire neural phenotype under the appropriate niche conditions." DNA Cell Biol; 32(2): 58-65.

McDonald, J.W.; Liu, X.Z.; Qu, Y.; Liu, S.; Mickey, S.K.; Turetsky, D.; Gottlieb, D.I.; and Choi. D.W.; (1999). "Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord." Nat Med; 5(12): 1410-1412.

Moreno-Manzano, V.; Rodriguez-Jimenez, F.J.; Garcia-Rosello, M.; Lainez, S.; Erceg, S.; Calvo, M.T.; Ronaghi, M.; Lloret, M.; Planells-Cases, R.; Sanchez-Puelles, J.M.; and Stojkovic, M.; (2009). "Activated spinal cord ependymal stem cells rescue neurological function." Stem Cells; 27(3): 733-743.

Morshead, C. M.; Reynolds, B.A.; Craig, C.J.; McBurney, M.W.; Staines, W.A.; Morassutti, D.; Weiss, S.; and Van der Kooy, D.; (1994). "Neural stem cells in the adult mammalian forebrain: a relatively quiescent subpopulation of subependymal cells." Neuron; 13(5): 1071-1082.

Mothe, A. J.; and Tator, C.H.; (2012). "Advances in stem cell therapy for spinal cord injury." J Clin Invest; 122(11): 3824-3834.

Nistor, G. I.; Totoiu, M.O.; Haque, N.; Carpenter, M.K.; and Keirstead, H.S.; (2005). "Human embryonic stem cells differentiate into oligodendrocytes in high purity and myelinate after spinal cord transplantation." Glia; 49(3): 385-396.

Ostenfeld, T.; Joly, E.; Tai, Y.T.; Peters, A.; Caldwell, M.; Jauniaux, E.; and Svendsen, C.N.;(2002). "Regional specification of rodent and human neurospheres." Brain Res Dev Brain Res; 134(1-2): 43-55.

Park, J. H.; Kim, D.Y.; Sung, I.Y.; Choi, G.H.; Jeon, M.H.; Kim, K.K.; and Jeon, S.R.; (2012). "Long-term results of spinal cord injury therapy using mesenchymal stem cells derived from bone marrow in humans." Neurosurgery; 70(5): 1238-1247; discussion 1247.

Piao, J. H.; Odeberg, J.; Samuelsson, E.B.; Kjaeldgaard, A.; Falci, S.; Seiger, A.; Sundstrom, E.; and Akesson, E.; (2006). "Cellular composition of long-term human spinal cord- and forebrain-derived neurosphere cultures." J Neurosci Res; 84(3): 471-482.

Ra, J. C.; Shin, I.S.; Kim, S.H.; Kang, S.K.; Kang, B.C.; Lee, H.Y.; Kim, Y.J.; Jo, J.Y.; Yoon, E.J.; Choi, H.J.; and Kwon, E.; (2011). "Safety of intravenous infusion of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in animals and humans." Stem Cells Dev; 20(8): 1297-1308.

Reubinoff, B.E.; Itsykson, P.; Turetsky, T.; Pera, M.F.; Reinhartz, E.; Itzik, A.; and Ben-Hur, T.; (2001). "Neural progenitors from human embryonic stem cells." Nat Biotechnol; 19(12): 1134-1140.

Sahni, V.; and Kessler, J.A.; (2010) "Stem cell therapies for spinal cord injury." Nat Rev Neurol; 6(7): 363-372.

Sharp, J.; Frame, J.; Siegenthaler, M.; Nistor, G.; and Keirstead, H.S.; (2010). "Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitor cell transplants improve recovery after cervical spinal cord injury." Stem Cells; 28(1): 152-163.

Sykova, E.; Homola, A.; Mazanec, R.; Lachmann, H.; Konradova, S.L.; Kobylka, P.; Padr, R.; Neuwirth, J.;

Komrska, V.; Vavra, V.; Stulik, J.; and Bojar, M.; (2006). "Autologous bone marrow transplantation in patients with subacute and chronic spinal cord injury." Cell Transplant; 15(8-9): 675-687.

Szabo, E.S.; Rampalli, R.M.; Risueno, A.; Schnerch, R.; Mitchell, A.; Fiebig-Comyn, M.; Levadoux-Martin, M.; Bhatia, (2010). Direct conversion of human fibroblasts to multilineage blood progenitors. Nature; 468(7323): 521-526.

Tator, C.P.P.; (2009). Acute clip impact-compression model. In: Chen J, Xu ZC, Xiao-Ming X, Zhang JH, eds. Animal Models of Acute Neurological Injuries. York, New York, USA: Humana Press; 449-460.

Tator, C.H.; (1995). "Update on the pathophysiology and pathology of acute spinal cord injury." Brain Pathol; 5(4): 407-413.

Tator, C.H.; (2006). "Review of treatment trials in human spinal cord injury: issues, difficulties, and recommendations." Neurosurgery; 59(5): 957-982; discussion 982-957.

Tator, C. H.; and Fehlings, M.G.; (1991). "Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms." J Neurosurg; 75(1): 15-26.

Tetzlaff, W.; Okon, E.B.; Karimi-Abdolrezaee, S.; Hill, C.E.; J. Sparling, J.S.; Plemel, J.R.; Plunet, W.T.; Tsai, E.C.; Baptiste, D.; Smithson, L.J.; Kawaja, M.D.; Fehlings, M.G.; and Kwon, B.K.; (2011). "A systematic review of cellular transplantation therapies for spinal cord injury." J Neurotrauma; 28(8): 1611-1682.

Thomas, K.E.; and Moon, L.D.; (2011). "Will stem cell therapies be safe and effective for treating spinal cord injuries?" Br Med Bull; 98: 127-142.

Thuret, S.; Moon, L.D.; and Gage, F.H.; (2006). "Therapeutic interventions after spinal cord injury." Nat Rev Neurosci; 7(8): 628-643.

Tropepe, V.; Hitoshi, S.; Sirard, C.; Mak, T.W.; Rossant, J.; and Van der Kooy, D.; (2001). "Direct neural fate specification from embryonic stem cells: a primitive mammalian neural stem cell stage acquired through a default mechanism." Neuron; 30(1): 65-78.

Tsuji, O.; Miura, K.; Okada, Y.; Fujiyoshi, K.; Mukaino, M.; Nagoshi, N.; Kitamura, K.; Kumagai, G.; Nishino, M.; Tomisato, S.; Higashi, H.; Nagai, T.; Katoh, H.; Kohda, K.; Matsuzaki, Y.; Yuzaki, M.; Ikeda, E.; Toyama, Y.; Nakamura, M.; Yamanaka,S.; and Okano, H.; (2010)."Therapeutic potential of appropriately evaluated safe-induced pluripotent stem cells for spinal cord injury." Proc Natl Acad Sci USA; 107(28): 12704-12709.

Wada, T.; Honda, M.; Minami, H.; Tooi, N.; Amagai, Y.; Nakatsuji, N.; and Aiba, K.; (2009)."Highly efficient differentiation and enrichment of spinal motor neurons derived from human and monkey embryonic stem cells." PLoS One; 4(8): e6722.

Wang, T.T.; Tio, M.; Lee, W.; Beerheide, W.; and Udolph, G.; (2007). "Neural differentiation of mesenchymal-like stem cells from cord blood is mediated by PKA." Biochem Biophys Res Commun; 357(4): 1021-1027.

Wichterle, H.; Lieberam, I.; Porter, J.A.; and Jessell, T.M.; (2002). "Directed differentiation of embryonic stem cells into motor neurons." Cell; 110(3): 385-397.

Wright, K. T.; Masri, W.; Osman, A.; Chowdhury, J.; and Johnson, W.E.; (2011)."Concise review: Bone marrow for the treatment of spinal cord injury: mechanisms and clinical applications." Stem Cells; 29(2): 169-178.

Yan, J.; Welsh, A.M.; Bora, S.H.; Snyder, E.Y.; and Koliatsos, V.E.; (2004).

"Differentiation and tropic/trophic effects of exogenous neural precursors in the adult spinal cord." J Comp Neurol; 480(1): 101-114.

Yoon, S. H.; Shim, Y.S.; Park, Y.H.; Chung, J.K.; Nam, J.H.; Kim, M.O.; Park, H.C.; Park, S.R.; Min, B.H.; Kim, E.Y.; Choi, B.H.; Park, H.; (2007). "Complete spinal cord injury treatment using autologous bone marrow cell transplantation and bone marrow stimulation with granulocyte macrophage-colony stimulating factor: Phase I/II clinical trial." Stem Cells; 25(8): 2066-2073.

Zhang, S. C.; Wernig, M.; Duncan, I.D.; Brustle, O.; and Thomson, J.A.; (2001). "In vitro differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells." Nat Biotechnol; 19(12): 1129-1133.

Zhao, Y.; Glesne, D.; and Huberman, E.; (2003). "A human peripheral blood monocyte-derived subset acts as pluripotent stem cells." Proc Natl Acad Sci USA; 100(5): 2426-2431.