

Células Madre: Proyecciones de su uso en Neurología

Bernardita Soler ¹, Juan Pablo Gigoux ¹, Patricio Tagle ², Rommy Von Bernhardt ¹, Ricardo Fadic ¹.

1. Departamento de Neurología
2. Departamento de Neurocirugía

Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile

Introducción

Células madres indiferenciadas están presentes en numerosos tejidos. Una de sus principales características es su potencialidad de diferenciarse en diferentes tipos de células. El interés por la biología de las células madres, la posibilidad de definir su diferenciación y las complicaciones potenciales de su uso ha crecido en forma exponencial durante los últimos años debido a las posibilidades terapéuticas que ofrecen. Entre las patologías neurológicas en las que se plantean el uso de células madres se destacan la enfermedad de Parkinson, enfermedad cerebro vascular, esclerosis lateral amiotrófica y lesiones de la médula espinal.

Esta revisión tiene por objetivo describir brevemente el desarrollo de esta posible alternativa terapéutica en el tiempo, sus principales características y las áreas potenciales de su aplicación clínica.

Historia

En 1981 se elaboraron los métodos necesarios para la obtención del desarrollo de células madres de ratones. Veinte años más tarde se logró realizar esta acción en células humanas (tabla 1). James Thomson (University of Wisconsin-Madison) aísla células del blastocito y desarrolla la primera línea de células madres embriónicas humanas en 1998 (1). Al mismo tiempo, John Gearhart (Johns Hopkins University)

reporta el aislamiento de células madres a partir de células fetales gonadales, conocidas como células primordiales (2). Los investigadores crearon a partir de estas dos fuentes, células madres pluripotenciales capaces de auto renovarse por largos períodos de tiempo y dar origen a diferentes linajes celulares. En enero de 1999, el equipo de Angelo Vescovi, (Instituto Nacional de Neurobiología de Milán), publica en la revista Science la descripción del cultivo y diferenciación de células madres nerviosas de ratas adultas en células hematopoyéticas (3). El año 2001 el grupo de Paul Sanberg (University of South Florida, en la reunión anual de la Asociación Americana para el Avance de las Ciencias informó sobre la obtención de células madres procedentes de cordón umbilical, su tratamiento con ácido retinoico y hormonas de crecimiento y posterior inyección en el sistema sanguíneo. El reporte indicó que dicho tratamiento favorecía la recuperación de las ratas tras un infarto cerebral. En diciembre 2001, el equipo del laboratorio de biología molecular del Instituto Nacional de la Salud de Estados Unidos de Norteamérica, informaba en la XLII

reunión anual de la Sociedad Americana de Hematología que habían regenerado células cardíacas de ratones con trasplante de células madre hematopoyéticas.

El año 2002 se cultivan células neuronales adultas a partir de células madres embrionarias, luego en el año 2004 se induce la diferenciación de células madres neuronales a partir de células madres de cordón umbilical y células madres hematopoyéticas.

El año 2006 científicos estadounidenses recuperan la movilidad de extremidades inferiores de ratones sometidos a lesiones medulares espinales o trauma neurológico. Además el año 2006 se aíslan células madres embrionarias humanas derivadas de blastómeros únicos y en enero de 2007 también del líquido amniótico en humanos y ratones.

En el año 2008, Chung y cols., informan el aislamiento exitoso de células madres embrionarias a partir del blastocisto, sin producir la destrucción embrionaria (4).

Células madre

Las células madres serían capaces de diferenciarse a cualquier estirpe celular, y presentan así la potencialidad de remplazar a todas las células de cada

tejido y órgano como el corazón, páncreas y sistema nervioso (5,6).

En neurología existen múltiples enfermedades para las cuales existen sólo tratamientos paliativos o sintomáticos, por lo que el desarrollo de terapias celulares ha despertado gran interés por sus aplicaciones terapéuticas potenciales (5). Este tipo de terapia cobra especial importancia debido a que las neuronas son células post-mitóticas y por ende especialmente susceptibles a daño.

Definición

Una célula madre es aquella célula indiferenciada que cumple con las siguientes características (5-6):

1. Es clonogénica, es decir, capaz de expandirse por auto-renovación ilimitada mediante división simétrica.
2. Es capaz de presentar división asimétrica, dando origen a una descendencia similar a la original y a otra que puede generar células derivadas de las tres capas embrionarias (ectodermo, mesodermo y endodermo).

Clasificación

Las células madre se clasifican en dos grandes grupos: embrionarias y adultas (7). Las células madres embrionarias son capaces de diferenciarse a más tipos de tejidos que las células madre adultas. Un ejemplo de ellas son las células derivadas de la masa celular interna del embrión en estadio de blastocisto (7-14 días).

Las células madres adultas, además de cumplir con ser clonogénicas y ser capaces de división asimétrica, son capaces de tomar localización, forma y función adecuadas para diferentes ambientes celulares (8). Se ha identificado células con estas características de variados orígenes: células hematopoyéticas y del sistema inmune, células de las criptas intestinales, epiteliales, mesenquimales (cartílago, hueso, tejido conectivo) y también células madres neuronales (de las que hablaremos mas adelante), pero se piensa que aún son desconocidas todas las áreas donde existirían células madres (4-9). Actualmente se está estudiado los diferentes factores de crecimiento asociados a la diferenciación de las

células madres y la gama de linajes celulares en los que éstas se pueden diferenciar (Tabla 2).

Células madres neuronales

Durante el desarrollo embrionario, las células madres se originan a partir de las capas del neuroectodermo que rodea los ventrículos, a partir de esta zona migran hacia la corteza diferenciándose a neuronas o células de la glía y formando los circuitos neuronales que existen en el adulto, según las diferentes señales de destinación que reciben.

En el adulto se ha documentado división celular continua en algunas áreas del sistema nervioso central: la capa subgranular del giro dentado del hipocampo, el bulbo olfatorio y la región subventricular de los ventrículos laterales. Se plantea que, siguiendo la dirección del desarrollo embrionario, existiría un flujo de nuevas neuronas, que permanece durante toda la vida hacia el bulbo olfatorio, denominado corriente migratoria rostral (rostral migratory stream: RMS) (10-12).

Métodos de selección y purificación de progenitores neuronales

Se han identificado líneas de precursores neurales que se desarrollan en cultivos especializados con exposición a mitógenos específicos. Para el aislamiento de células madres a partir de un tejido adulto, se requieren diferentes métodos de selección, que diferencian los tipos celulares presentes en la muestra de tejido por tamaño, unión a lectinas (carbohidratos), antígenos de superficie y marcadores de expresión de genes. Un ejemplo de estos, es el método FACS (fluorescence activated cell sorting), basado en la citometría de flujo asociada a ligandos fluorescentes, que se unen a determinados antígenos presentes en las células madre (11,13). Después del aislamiento de células madres se realizan los cultivos celulares a los que se agregan factores de crecimientos y nutrientes según el tipo de célula que se quiere obtener y según el estudio o tipo de terapia en la que se van a utilizar.

Las células madres humanas que se utilizan en los modelos experimentales neurológicos actualmente son:

1. Células madres o progenitores neurales obtenidos de tejidos fetales en cultivo.
2. Líneas de células madres neuronales inmortalizadas.
3. Progenitores y células estromales hematopoyéticas.

Células madre hematopoyéticas

El trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos ha demostrado definitivamente que existen células madre multipotenciales hematopoyéticas en la médula ósea y en la sangre periférica (14).

Hoy en día se acepta que existe un progenitor común endotelial y hematopoyético (hemangioblasto), lo que estaría apoyado por los hallazgos de potencialidad endotelial en las células troncales hematopoyéticas de la médula ósea (15).

El potencial de las células madres hematopoyética para adquirir características de músculo esquelético, neuronas adultas así como células de la glía, hepatocitos y de contribuir a otros tejidos como el epitelio pulmonar,

gastrointestinal, renal o a la piel ha sido descrito recientemente principalmente in vivo (16). A pesar de todos estos esfuerzos, ninguno de los estudios publicados hasta el momento demuestra que una única célula madre hematopoyética contribuya de forma robusta y funcional a la regeneración de un tejido distinto del hematopoyético y por tanto en sentido estricto no cumple los criterios necesarios para hablar de versatilidad. Cada uno de los trabajos mencionados puede ser criticado en este sentido. Sin embargo, si tomamos los estudios de forma conjunta, sí que aportan evidencias de la existencia de células madres hematopoyéticas con estas características y potencialidades (17).

Aplicaciones clínicas potenciales de las células madres en neurología

Las enfermedades del sistema nervioso central, incluyendo el cáncer, enfermedades congénitas y degenerativas serían potencialmente tratables a través de terapia con células madres. Los mayores avances se relacionan a las enfermedades degenerativas, en las que destaca la enfermedad de Parkinson (5). Sin

embargo, en los últimos años ha aumentado la investigación en su uso en el accidente vascular encefálico, las lesiones medulares y enfermedades de la motoneurona como la esclerosis lateral amiotrófica,

Enfermedad de Parkinson

Existen dos líneas de investigación para el tratamiento de la Enfermedad de Parkinson, la primera evalúa la implantación de células madres indiferenciadas en primates, las que se diferencian a células de la glía. Su función es la producción de factores neurotróficos, neurogénesis, angiogénesis, disminuyendo la inflamación y neurodegeneración, permitiendo de esta manera proteger a las neuronas dopaminérgicas presente y favorecer la producción *de novo* de neuronas dopaminérgicas a través de factores neurotróficos (18).

La segunda línea busca desarrollar precursores dopaminérgicos inducidos a través de una serie de mediadores como el factor de crecimiento de fibroblasto 8 y

SHH (“Sonic Hedgehog”) (19). Existen múltiples trabajos con cultivos de células dopaminérgicas obtenidas a partir de células del blastocisto, es decir de origen embrionario, pero no hay en la actualidad trabajos con células madres adultas.

Hay evidencia de la existencia de neurogénesis en la sustancia nigra durante el desarrollo de la enfermedad de Parkinson, la que sería un mecanismo compensador. Por ello, actualmente se plantean estrategias terapéuticas basadas en la promoción de la neurogénesis endógena, a través de factores de crecimiento (20-27).

Enfermedad vascular encefálica

Actualmente no existe una terapia que permita el reemplazo de neuronas y circuitos perdidos en el accidente vascular encefálico, es por esto, que la investigación en la terapia con células madres ha cobrado especial importancia. Se han publicado protocolos experimentales de trasplante en ratas primates y seres humanos asociados a células madres y su potencial acción en este tema (28-32).

Las células madres tendrían múltiples mecanismos de acción entre los que destacan la liberación de factores tróficos desde el implante, restauración de la función sináptica por reinervación, la actividad anti-inflamatoria, actuando como células gliales. La recuperación se explicaría por mecanismos de integración de las células transplantadas en circuitos del huésped, neuroprotección de células del huésped, aumento de la neovascularización, disminución de la respuesta inflamatoria y reclutamiento de progenitores endógenos.

En el año 2008 Stroemer y colaboradores publicaron la obtención de una línea de células madres adultas clonadas (ReN001), que resultó exitoso en el tratamiento de infartos cerebrales establecidos en roedores (33). Aún se encuentra pendiente la autorización de la FDA (“Food and Drug Administration”) para iniciar estudios en seres humanos.

El tiempo de ventana en estos modelos aún no está definido, puesto que los estudios realizados incluyen pacientes hasta 4 años post accidente vascular encefálico, pero los resultados sugieren

que el beneficio máximo se observaría hasta un mes después del evento; la valoración de recuperación clínica ha sido a través de múltiples escalas como Rankin, NIHSS, Europea Stroke Scale, European Stroke Scale Motor subscale y el índice de Barthel (28-32)

Enfermedades desmielinizantes

Son enfermedades donde el daño principal es a nivel de los oligodendrocitos por lo que el objetivo terapéutico inicial fue transplantar células productoras de mielina (34,35). Actualmente existen estudios de series de casos donde se han trasplantado células madres hematopoyéticas en niños con leucodistrofia, reportándose mejoría en la clínica, a través de escalas de medición de severidad de la enfermedad. Además, se observan cambio en las imágenes con resonancia magnética, mostrando recuperación parcial de áreas dañadas, y por último, se observó una mejoría en parámetros de laboratorio de los pacientes, tales como la disminución de proteínas en el líquido cerebroespinal (34).

Otros estudios realizados en animales donde las células madres son obtenidas de la región subventricular cerebral han presentado éxito en lograr remielinización *in vivo* cuando son cultivadas con factores de crecimiento (EGF) y transplantadas a un modelo animal deficiente en mielina o un modelo de lesión medular (35).

En implantes de precursores de oligodendrocitos se obtuvieron importantes diferencias en el comportamiento de las células de origen fetal, comparadas con las de origen adulto. Las células fetales migraron y se implantaron de forma más eficiente; sin embargo, las células de origen adulto presentaron mayor remielinización y mejoría funcional. Se piensa que, las células adultas serían más adecuadas en el tratamiento de las enfermedades de curso más agudo (11).

Lesión traumática de la médula espinal

Para lograr la mejoría funcional del paciente post lesión de médula espinal, es necesaria la permanencia de 10-15% de conectividad interneuronal en el área lesionada (36).

En la reconstrucción de la médula espinal dañada, las células madres tendrían la función de reemplazo de múltiples tipos celulares (neuronas y glía), así como secretar factores de crecimiento para disminuir el proceso de fibrosis y cicatrización producida después de la lesión. Se espera que factores locales endógenos ayuden a determinar la diferenciación de células madres neuronales hacia los fenotipos adecuados. Sin embargo, la diferenciación hacia tipos celulares inadecuados o la falta de conectividad llevaría potencialmente a la falta de mejoría o incluso a la aparición de complicaciones como alodinia, lo que se ha observado en modelos experimentales animales. Se han realizado ensayos con implantes intramedulares de células de bulbo olfatorio que reportan factibilidad y seguridad (10,13,35,36).

Esclerosis lateral amiotrófica

En esta enfermedad, ocurre una degeneración de la primera y segunda motoneurona, por lo que se presentan síntomas y signos de la disfunción de ambas. Estudios experimentales con

ratones mutados para el gen de SOD1 (esclerosis lateral amiotrófica) mostraron mejoría en la supervivencia de neuronas en cultivo (38). Los implantes de células hematopoyéticas y de cordón umbilical humano además prolongan la supervivencia del ratón (37-40).

Trabajos publicados por los equipos de investigación de los Drs. Jason (Jefferson University, Filadelfia) y Mazzini (University of Novara, Italia) han reportado series de pacientes que han recibido trasplantes intraespinales de células madres hematopoyéticas, informando una respuesta favorable al tratamiento (41-43). En el último estudio publicado por Manzini y cols., se realizó un seguimiento por 4 años a 7 pacientes con esclerosis lateral amiotrófica con compromiso moderado a severo de la médula espinal y sin compromiso a nivel bulbar, a quienes se les transplantó células madres hematopoyéticas. Debido al número reducido de pacientes y a la gran variabilidad que presenta el curso de esta enfermedad, no fue posible obtener conclusiones definitivas sobre el beneficio de esta terapia, reiniciándose un estudio fase 1 (44). Sin embargo, se debe

destacar que el estudio no reportó efectos adversos, ni crecimiento anormal de las células madres.

Conclusiones

La terapia con células madres se ha desarrollado en forma importante en múltiples áreas de la medicina en los últimos treinta años. En el ámbito de la neurología, se espera que se constituya en una alternativa para enfermedades hasta ahora sin terapia curativa.

Los mecanismos por los cuales el trasplante de células madres pueden modificar la historia natural de estas enfermedades no son claros todavía. Tampoco lo es el proceso de localización/migración de estas células en el sistema nervioso central. Una alternativa posible común para este grupo de enfermedades es que modifiquen el ambiente proinflamatorio local asociados a todas ellas. En la actualidad se comienza a vislumbrar el mecanismo de acción y destinación de las células madres.

Existen múltiples modelos experimentales que sugieren su utilidad tanto en animales como en humanos. Se cree que la

obtención de resultados será especialmente auspiciosa en el contexto de intervenciones asociadas que

combinen la terapia celular con el uso de factores de crecimiento celular, neuroprotección y neurorehabilitación.

Tabla 1
Cronología de estudios con células madres

1960	Las células de carcinoma embrionario son consideradas células madres.
1961	En ratones irradiados se demuestra potencialidad de células hematopoyéticas extraídas de médula ósea de regenerar múltiples líneas celulares.
1970	Células de carcinoma embrionario son inyectadas en blastocitos, creando primer ratón quimérico. Producción de células madres en cultivo a partir de células embrionarias de ratón.
1981	Células madres embrionarias de ratón son aisladas a partir del blastocito.
1984-88	Se descubre que la exposición a ácido retinoico favorece que las células de carcinoma embrionario se diferencien a células de tipo neuronal.
1989	Desarrollo de tres líneas germinales a partir, de células de carcinoma embrionario.
1992	Samuel Weiss y Brent Reynolds descubren células neuronales capaces de dividirse en cerebro de ratones.
1994	Producción de cultivos celulares a partir del blastocito
1995-96	Células madre embrionarias de primates son cultivadas y posteriormente fertilizadas <i>in vitro</i> .
1998	Primera propagación exitosa de células embrionarias humanas.
1999	Horwitz y colaboradores describen los primeros estudios de trasplante de médula ósea en humanos para el tratamiento de osteogénesis imperfecta.
2000	Theisse y colaboradores detectan hepatocitos derivados de células madres del donante en un trasplante de médula ósea heterólogo.
2000	Se realizan cultivos a partir de células madres embrionarias de ratón, con posterior trasplante a ratones inmunodeprimidos, en quienes se obtiene proliferación, diferenciación en las tres capas germinales y formación de teratomas.
2001	Presidente George Bush aprobó fondos federales limitados para investigación con células madres embrionarias.
2002	Song y colaboradores informan la diferenciación de células madres neuronales células neuronales adultas funcionales
2003	Mezey y colaboradores obtienen neurogénesis en ratones a partir de células de médula ósea.
2004	Inducción de células neuronales adultas a partir de células madres de cordón umbilical y células madre hematopoyéticas.
2005	Se crea el primer banco de células madre en el mundo.
2006	Se obtienen células madre humanas a partir de blastómeros únicos.
2007	Se aíslan células madres embrionarias a partir del líquido amniótico de ratones y humanos.
2008	Chung y colaboradores aíslan y desarrollo cultivo de células madres embrionarias, sin destrucción de blastocisto.
2008	Se realizan el primer trasplante de células madre autólogas de médula ósea a médula espinal en pacientes con esclerosis lateral amiotrófica en la pontificia Universidad Católica de Chile.

Tabla 2

Plasticidad potencial de células madres adultas

Localización célula madre	Tipo de célula generada
Encéfalo	Neuronas, oligodendrocitos, células músculo esqueléticas, células hemáticas
Médula ósea	Células endoteliales, hemáticas, cartílago, hueso, adipositos, músculo cardíaco y esquelético, piel, células gastrointestinales, timo, pulmonar, epitelial, neuronal
Músculo esquelético	Músculo esquelético, hueso, cartílago, adipositos, músculo liso
Miocardio	Células miocárdicas, células endoteliales
Piel	Queratinocitos
Hígado	Células hepáticas
Testículo y ovarios	Células gónadales
Ducto pancreático	Células de los islotes
Células adiposas	Adipositos, cartílago, hueso, músculo.

Tabla 3
Diferencia entre progenitor neuronal y célula madre hematopoyética

	Progenitor neuronal	Precursor hematopoyética
Tejido donde se aísla	Área subventricular y subgranular cerebral	Médula ósea, frecuentemente isquion
Potencial diferenciación	Neuronas, oligodendrocitos, células músculo esqueléticas, células hemáticas	Células endoteliales, hemáticas, cartílago, hueso, adipositos, músculo cardíaco y esquelético, piel, células gastrointestinales, timo, pulmonar, epitelial, neuronal

Referencias

1. Thomson JA, Itsovitz-Eldor J, Shapiro SS. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998; 282: 1145-7.
2. Gearhart J. New potential for human embryonic stem cell. *Science*. 1998; 282: 1061-2.
3. Vescovi AL, Snyder EJ. Establishment and properties of neural stem cell clones: Plasticity in vitro and in vivo. *Brain Pathol*. 1999; 9: 569-98.
4. Chung Y, Klimanskaya I, Becker S, Li, T, Maserati M, Lu SJ, et al. Human embryonic Stem Cell lines generated without embryo destruction. *Cell Stem Cell*. 2008; 2: 113-7.
5. Kirschstein R. Stem cells: Scientific progress and future research directions. Department of Health and Human Services. 2001:75-90.
6. Rosenthal N. Prometheus's vulture and the stem cell promise. *N Engl J Med*. 2003; 349: 267-74.
7. Tuch BE. Stem cells a clinical update. *Aust Fam Physician*. 2006; 35: 719-21.
8. Miller RH. The promise of stem cells for neural repair. *Brain Res*. 2006; 1091: 258- 64.
9. Korbling M, Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair - a new therapeutic concept? *N Engl J Med*. 2003; 349: 570-82.
10. Van der Kooy D, Weiss S. Why stem cells. *Science*. 2000; 287: 1439-41.
11. Goldman S. Stem and progenitor cell-based therapy of the human central nervous system. *Nat Biotechnol*. 2005; 23: 862- 71.
12. Martino G, Pluchino S. The therapeutic potential of neural stem cells. *Nature*. 2006; 7: 395-406.
13. Kim SU. Genetically engineered human neural stem cells for brain repair in neurological diseases. *Brain Dev*. 2007; 29: 193- 201.
14. Armitage JO. Medical progress: bone marrow transplantation. *N Engl J Med*. 1994; 330: 827-38.
15. Grant MB, May WS, Caballero S, Brown GA, Guthrie SM, Mames RN, et al. Adult hematopoietic stem cells provide functional hemangioblast activity during retinal neovascularization. *Nat Med*. 2002; 8: 607-12.

16. Martin-Rendon E, Watt SM. Stem cell plasticity. *Br J Haematol.* 2003; 122: 877-91.
17. LaBarge MA, Blau HM. Biological progression from adult bone marrow to mononucleate muscle stem cell to multinucleate muscle fiber in response to injury. *Cell.* 2002; 111: 589-601.
18. Sanberg P. Neural stem cells for Parkinson's disease: To protect and repair. *PNAS.* 2007, 104: 11869-70.
19. Carson C, Aigner S, Gage F. Stem cells: The good, bad and barely in control. *Nature.* 2006, 12: 1237- 9.
20. Iacovitti L, Donaldson A. A protocol for the differentiation of human embryonic stem cells into dopaminergic neurons using only chemically defined human additives: Studies in vitro and in vivo. *Brain Res.* 2007; 1127: 19-25.
21. Fischbach G, McKhann G. Cell therapy for Parkinson's Disease. *N Engl J Med.* 2001; 344: 763-5.
22. Newman MB, Bakay RA. Therapeutic potentials of human embryonic stem cells in Parkinson's disease. *Neurotherapeutics.* 2008; 5: 237-51.
23. Wang Yi, Chen S, Dehua Y. Stem cell transplantation: A promising therapy for Parkinson's disease. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2007; 114: 243-50.
24. Lie DC, Dzievczapolski G, Willhoite AR, Kaspar BK, Shults CW, Gage FH. The adult substantia nigra contains progenitor cells with neurogenic potential. *J Neurosci.* 2002; 22: 6639- 49.
25. Zhao M, Momma S, Delfani K, et al. Evidence for neurogenesis in the adult mammalian substantia nigra. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100: 7925-30.
26. Fischer LJ, Jinnah HA, Kale LC. Survival and function of intrastrially grafted primary fibroblast genetically modified to produce L-dopa. *Neuron.* 1991; 6: 371-8.
27. During MJ, Naegele JR, O'Malley KL. Long term behavioral recovery in parkinsonian rats by an HSV vector expressing tyrosine hydroxilasa. *Science.* 1994; 266: 1399- 1403.
28. Bliss T, Guzman R, Daadi M. Cell transplantation therapy for stroke. *Stroke.* 2007; 38: 817- 26.
29. Borlongan C, Hess D. New hope for stroke patients: Mobilization of endogenous stem cells. *CMAJ.* 2006; 174: 927- 33.

30. Greenberg D. Stem cells and stroke recovery. *Stroke*. 2007; 38: 809.
31. Arvidsson A, Collin T, Kirik D, Kokaia Z, Lindvall O. Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. *Nat Med*. 2002; 8: 963-70.
32. Harley I, Kornblum MD. Introduction to neural stem cells. *Stroke*. 2007; 30: 810-6.
33. Stroemer P, Hope A, Patel S, Pollock K, Sinden J. Development of a human neural stem cell line for use in recovery from disability after stroke. *Front Biosci*. 2008; 13: 2290-2.
34. Krivit W, Shapiro E, Peters Ch. Hematopoietic stem-cell transplantation in globoid-cell leukodystrophy. *N Engl J Med*. 1998; 338: 1119-26.
35. Dietz Volker, Curt A. Neurological aspects of spinal-cord repair: Promises and challenges. *Lancet Neurol*. 2006; 5: 688-94.
36. McDonald JW. Repairing the damaged spinal cord. *Sci Am*. 1999; 281: 64-73.
37. Silani V, Cova L. Stem-cell therapy for amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet Neurol*. 2004; 364: 200-2.
38. De Hemptinne I, Boucherie C. Unilateral induction of progenitor in the spinal cord of hSOD1 transgenic rats correlates with an asymmetrical hind limb paralysis. *Neurol Res*. 2006; 28: 523-6.
39. Kerr DA, Llado J, Shamblott MJ, et al. Human embryonic germ cell derivatives facilitate motor recovery of rats with diffuse motor neuron injury. *J Neurosci*. 2003; 23: 5131-40.
40. Mitome M, Low H. Towards the reconstruction of central nervous system white matter using neural precursor cells. *Brain*. 2001; 124: 2147-61.
41. Mazzini L, Fagioli F, Boccaletti R, et al, Stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis: A methodological approach in humans. *Amyotroph Lateral Scler other motor neuron disord*. 2003; 4: 158- 61.
42. Janson CG, Ramesh TM, During MJ, et al, Human intrathecal transplantation of peripheral blood stem cells in amyotrophic lateral sclerosis. *J Hematother Stem Cels Res*. 2001; 10: 913-5.
43. Swash M. Stem cells therapy in human ALS. *Amyotroph Lateral Scler other motor neuron disord*. 2003; 4: 133- 134.
44. Mazzini L, Mareschi K, Ferrero I, Vassallo E, Oliveri G, Nasuelli N, et al. Stem cell treatment in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *J Neurol Sci*. 2008; 265: 78- 83.