Archive of SID

دانشور
پزشکی

بررسی رفتاری موش‌های صحرایی مدل پارکینسونی پس از پیوند سلول‌های بنیادی مغز استخوان به جسم مخطط

نویسندگان: مریم حاجی‌قاسم‌کاشانی[*1]، دکتر تقی الطریحی[2] و دکتر منصوره موحدین[3]

۱. دانش‌آموخته دکتری علوم تشریح دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۲. استاد گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۳. دانشیار گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

* نویسنده مسئول: Email: kashani_tmu@yahoo.com

دوماهنامه علمی – پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال چهاردهم – شماره ۷۰
شهریور ۱۳۸۶

وصول: ۸۵/۳/۲۰
پذیرش: ۸۵/۸/۲۰

چکیده

مقدمه و هدف: بیماری پارکینسون، یک نوع تخریب پیشرونده سیستم عصبی مرکزی است که در اثرآپوپتوز نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه و به‌دنبال آن، کاهش دوپامین در جسم مخطط ایجاد می‌شود.

یکی از روش‌های درمان این بیماری، استفاده از سلول‌های بنیادی رویانی است، زیرا این سلول‌ها از قدرت خود تکثیری و تمایز بالا برخوردارند، ولی کاربرد آن‌ها در زمینه درمان باعث ایجاد تومور می‌شود. در این روش درمانی، ایجاد پاسخ ایمنی در فرد گیرنده بالا است و موانع قانونی دارد.

بنابراین، سلول‌های بنیادی سوماتیک در درمان این بیماری بیش‌تر مورد توجه قرار گرفته است. در این میان، سلول‌های استرومایی مغز استخوان با توجه به این‌که به راحتی در دسترس هستند و از قدرت خودتکثیری و تمایز به سلول‌های دیگر، از جمله سلول‌های عصبی برخوردارند، روش مناسبی برای درمان بیماری پارکینسون است.

روش کار: در این تحقیق، سلول‌های استرومایی مغز استخوان از موش‌های صحرایی بالغ گرفته و به جسم مخطط موش‌های مدل پارکینسونی از همان نژاد پیوند زده شدند. تست چرخشی حاصل از القای آپومورفین حیوانات در هفته‌های دوم، چهارم و ششم بعد از ضایعه مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: ارزیابی‌های رفتاری نشان داد موش‌های پارکینسونی در گروهی که سلول‌های استرومایی مغز استخوان را دریافت کرده بودند در مقایسه با گروهی که فقط محیط کشت به جسم مخططشان تزریق شده بود، کاهش معناداری را در تست چرخشی نشان می‌دهند.

واژه‌های کلیدی: سلول‌های استرومایی مغز استخوان، بیماری پارکینسون، سلول درمانی، نوروتوکسین 6OHDA، جسم مخطط

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

در مغز استخوان موش صحرایی بالغ دو نوع سلول بنیادی وجود دارد: ۱) سلول‌های بنیادی خونساز، ۲) سلول‌های بنیادی مزانشیمی.

به استثنای سلول‌های اندوتلیالی مغز استخوان که منشأ چندگانه دارند، بقیه از سلول‌های مزانشیمی چند ظرفیتی منشأ می‌گیرند. البته این سلول‌ها را سلول‌های استرومایی مغز استخوان ($BMSC_s$) نیز می‌نامند [۱].

سلول‌های بنیادی مزانشیمی، اولین بار در انسان توسط پیتنجر (Pittenger) و همکارانش در سال ۱۹۹۹ شناسایی شدند[۲]. این سلول‌ها علاوه بر آن‌که محیط مناسبی را برای تمایز سلول‌های بنیادی خونساز به سلول‌های خونی بالغ فراهم می‌کنند، قادرند به غضروف، استخوان و چربی نیز تمایز یابند[۳]. سلول‌های استرومایی مغز استخوان، جزء سلول‌های بنیادی سوماتیک به حساب می‌آیند.

سلول‌های بنیادی سوماتیک در بافت‌های مختلفی مثل مغز، نخاع، خون، پوست، مغز دندان، روده، مغز استخوان، پانکراس، کبد، قرنیه، شبکیه و عضله اسکلتی وجود دارند و در صورت بروز هرگونه ضایعه بافتی، قادرند به انواع سلول‌های دیگر غیر از سلول‌های بافت مربوط به خودشان تمایز یابند که این پدیده را transdifferentiation می‌نامند [۴]؛ به‌طوری‌که سلول‌های استرومایی مغز استخوان می‌توانند به میکروگلیا، آستروگلیا و سلول عصبی نیز تمایز یابند [۵،۶،۷و۸].

از آن‌جا که این سلول‌ها به راحتی در دسترس بوده، از قدرت خود تکثیری و تمایز بالایی برخوردارند و استفاده از آن‌ها هیچ‌گونه موانع اخلاقی و قانونی دارد، از خود بیمار گرفته شده و به خودش نیز پیوند زده می‌شود و از این‌رو، هیچ‌گونه پاسخ ایمنی را در فرد ایجاد نخواهد کرد، می‌توان از این سلول‌ها برای درمان بیماری‌های نورولوژیک حاد و مزمن، مانند پارکینسون، هانتینگتون و ضایعات طناب نخاعی استفاده کرد [۹و۱۰].

بیماری پارکینسون یک نوع تخریب پیشرونده سیستم عصبی مرکزی است که در اثر از دست دادن نورون‌های دوپامینرژیک مسیر جسم سیاه - مخطط ایجاد می‌شود و علائم آن به‌صورت لرزش، سختی عضلات و کندی حرکات ظاهر می‌شود (این علائم زمانی بروز می‌کند که جسم مخطط بیش از هفتاد درصد دوپامین خود را از دست داده باشد). اولین بار جیمز پارکینسون (James Parkinson) در سال ۱۸۱۷ اختلالات حرکتی این بیماری را شرح داد [۱۱و۱۲].

کوتزیاس (Cotzias) و همکارانش در سال ۱۹۶۷ از L-dopa برای درمان بیماری پارکینسون استفاده کردند، ولی در اکثر بیماران، استفاده دراز مدت از این دارو باعث اختلال در حرکات می‌شد[۱۳]. برداشتن گلوبوس پلیدوس و تحریکات شدید هسته‌های ساب‌تالامیک از روش‌های درمانی دیگری بود که از سال ۱۹۹۳ مورد توجه قرار گرفت [۱۱].

جایگزین کردن نورون‌های دوپامینی از دست رفته با جسم سیاه جنینی یکی دیگر از روش‌های درمان بوده است. این بافت قادر است پس از پیوند در بافت میزبان زنده بماند و نورون‌های فعالی ایجاد کند که قادر به ترشح دوپامین هستند؛ ولی حدود ۹۵-۹۰ درصد نورون‌های پیوند شده، دچار آپوپتوز می‌شدند و تهیه بافت‌های جنینی با مشکلات اخلاقی و قانونی همراه بود [۱۴].

به همین دلیل ایوان (Evan) در سال ۱۹۸۱، سلول‌های بنیادی رویانی را از توده سلولی داخلی جنین موش جدا کرد و ۱۷ سال بعد سلول‌های بنیادی رویانی انسانی تولید شد. این سلول‌ها با توجه به دارا بودن ویژگی مهم توانایی تجدید خود به‌طور نامحدود و تمایز به طیف وسیعی از سلول‌های بدن، از جمله سلول‌های دوپامینرژیک برای درمان بیماری پارکینسون، مورد توجه محققین واقع شده بودند [۱۵].

ولی اشکالاتی که این روش دارد آن است که سلول‌های بنیادی رویانی بر روی سلول‌های پشتیبان رشد می‌کنند و بنابراین خالص کردن آن‌ها برای پیوند

www.SID.ir

Archive of SID

باید به درستی انجام شود. یکی دیگر از مشکلات این روش، احتمال تشکیل تومور درمحل پیوند است و مشکل دیگر این است که پاسخ ایمنی را در فرد گیرنده ایجاد می‌کند [۱۳و۱۶]. هدف اصلی از انجام این پژوهش، بررسی توانایی سلول‌های استرومایی مغز استخوان موش صحرایی در درمان موش‌های مدل پارکینسونی است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور جداسازی سلول‌های استرومایی مغز استخوان از موش‌های صحرایی ۸- ۶ هفته نژاد اسپراگوداولی استفاد شد. روش کار به این‌صورت بود که فمور و تیبیای موش‌ها خارج شد و مغز استخوان آن‌ها به همراه محیط Memα و سرم FBS ۱۵ درصد از دیافیز استخوان‌ها در فلاسک ۵۰ سی‌سی کشت گردید.

سلول‌های استرومایی به کف ظرف کشت می‌چسبند و به راحتی از سلول‌های بنیادی خونساز جدا می‌شوند. اولین پاساژ سلولی بین روزهای ۱۱و ۱۵ انجام شد، به‌طوری‌که بعد از دو هفته سلول‌ها شبه فیبروبلاستی غالب شده، با ۳ دقیقه تریپسینه کردن به راحتی از کف فلاسک جدا شدند [۱۸،۱۷،۸و۱۹]. پاساژهای بعدی به‌صورت روزانه انجام شد و بدین‌ترتیب کشت سلول‌ها تا پاساژ ششم پیش رفت. در این مرحله، بیش از ۹۵ درصد سلول‌ها از نوع سلول‌های استرومایی هستند و وجود نشانگرهای سلولی ویژه، مانند فیبرونکتین و آلکالین فسفاتاز این امر را اثبات کرد [۲۰].

مرحله بعد، تهیه موش‌های مدل پارکینسونی است. روش‌های تهیه مدل پارکینسونی در موش صحرایی از طریق جراحی و تزریق نوروتوکسین 6-OHDA است که در سه منطقه می‌توان این تزریق را انجام داد: ۱) بخش متراکم جسم سیاه، ۲) هسته دم‌دار – پوتامن، ۳) مسیر جسم سیاه- مخطط [۲۱و۲۲].

در این تحقیق از روش دوم استفاده شد. به این منظور ۳۲ سر موش صحرایی نژاد اسپراگوداولی با وزن ۲۸۰-۲۲۰ گرم انتخاب شدند. پس از قرار دادن آن‌ها در دستگاه استریوتاکس و کانول‌گذاری، ۵ میکرولیتر از محلول سالین ۰/۹ درصد، حاوی ۱۲/۵ میکروگرم نوروتوکسین 6OHDA با کمک سرنگ‌ها میلتون ۱۰ میکرولیتر و پمپ میکروسرینج به داخل جسم مخطط سمت چپشان تزریق شد (تزریق با سرعت یک میکرولیتر در دقیقه انجام گردید).

با توجه به اطلس پاکسینوس، مختصات محل تزریق نسبت به برگما به این ترتیب بود: ۰/۱ میلی‌متر قدام، ۳ میلی‌متر خارج و ۴/۵ میلی‌متر شکمی از سطح سخت‌شامه، میله دندانی ۳/۳ میلی‌متر زیر سطح افق قرار داده شد [۲۳و۲۴].

دو هفته پس از تزریق نور و توکسین، داروی آپومورفین هیدروکلراید در محلول نرمال سالین ۰/۹ درصد با غلظت mg/kg ۲/۵ تهیه و به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. چند دقیقه بعد از تزریق آپومورفین، موش‌ها در جهت عکس ضایعه شروع به چرخش کردند. تعداد چرخش‌های کامل (۳۶۰ درجه) در یک ساعت شمارش شد و موش‌های پارکینسونی انتخاب [۲۵،۲۴و۲۶] و به دو گروه شش‌تایی تقسیم شدند. به گروه اول (گروه کنترل) فقط محیط کشت Memα تزریق شد و به گروه دوم سلول‌های استرومایی مغز استخوان پیوند زده شد.

نحوه آماده کردن سلول‌ها برای پیوند به این‌صورت بود که پاساژ ششم سلول‌های استرومایی مغز استخوان با BrdU نشاندار شد، به‌طوری که سلول‌ها به مدت ۱۴ ساعت در معرض بروموديوکسی یوریدین با غلظت ۳۰μg در محیط و سرم ۱۵ درصد قرار گرفتند. پس از ارزیابی آن‌ها به روش ایمنوسیتوشیمی و اطمینان از نشاندار شدنشان به‌وسیله BrdU، سلول‌ها در معرض تریپسین ۰/۲۵ درصد و EDTA یک میلی‌مولار قرار گرفته، از کف فلاسک جدا شدند. با استفاده از رنگ‌آمیزی تریپان‌بلو شمارش انجام شد و حدود 10^5 سلول در ۵ میکرولیتر محیط از طریق کانول به داخل جسم مخطط سمت چپ موش‌های گروه دوم تزریق شد. ترزیق با سرعت یک میکرولیتر در دقیقه انجام

www.SID.ir

Archive of SID

گرفت [۲۲و۲۷]، ولی به گروه اول فقط ۵ میکرولیتر محیط کشت تزریق گردید.

تست رفتاری حیوانات در هفته‌های دوم، چهارم و ششم بعد از ضایعه صورت گرفت، به این‌صورت که موش‌ها ۱۰ دقیقه قبل از شروع ارزیابی برای سازگاری با محفظه استوانه‌ای به داخل محفظه منتقل شدند (قطر استوانه ۳۳ سانتی‌متر، ارتفاع آن ۳۵ سانتی‌متر و سطح داخلی آن مدرج است) و سپس چند دقیقه پس از تزریق آپومورفین با غلظت ۲/۵ mg/kg موش‌ها در جهت عکس ضایعه چرخیدند و تعداد چرخش‌ها در یک ساعت محاسبه شد. سپس از آزمون‌های «تی» و «آنوا» برای مقایسه چرخش‌های ثبت شده در دو گروه استفاده شد. نرمالیتی داده‌ها نیز با استفاده از تست K-S به اثبات رسید [۲۸،۲۶].

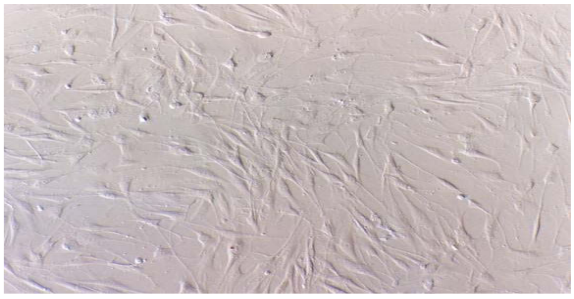
نتایج

اکثر سلول‌ها در پاساژ ششم سلول‌های استرومایی مغز استخوان (BMSCS) موش صحرایی، دوکی شکل هستند و کلونی‌های شبه فیبروبلاستی را ایجاد می‌کنند (شکل ۱و۲). شکل ۳و۴ بررسی ایمنوسیتوشیمی فیبرونکتین و آلکالین فسفاتاز سلول‌ها نشان داد که در این مرحله بیش از ۹۵ درصد سلول‌ها از نوع سلول‌های استرومایی هستند و سلول‌ها در این مرحله آماده برای پیوندند.

شکل۵ سلول‌های BMSCs را نشان می‌دهد که با BrdU نشاندار شده‌اند. بررسی ایمنوسیتوشیمی نیز نشان می‌دهد که بیش از ۸۰ درصد سلول‌ها با BrdU نشاندار می‌شوند.

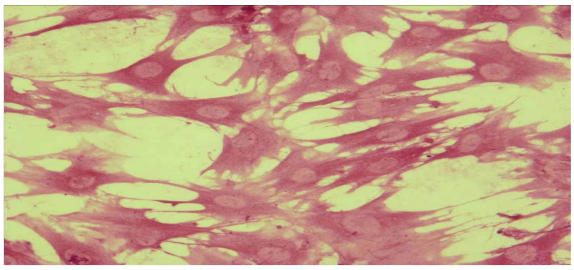
ارزیابی رفتاری موش‌های صحرایی پارکینسونی گروه اول و دوم در شکل ۶ مورد بررسی قرار گرفته است.

به‌طوری‌که کاهش چرخش‌های القا شده به‌وسیله آپومورفین در گروه دوم نسبت به گروه کنترل بسیار چشمگیر است و نتایج نشان می‌دهد در گروهی که BMSCS را دریافت کرده‌اند از هفته دوم پس از پیوند، تعداد چرخش‌های به‌طور معناداری کاهش پیدا کرده است.

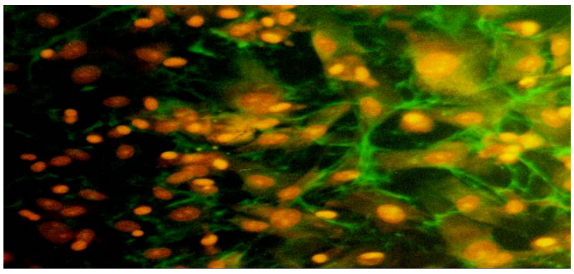


شکل ۱: پاساژ ششم سلول‌های استرومایی مغز استخوان موش صحرایی که در آن سه شکل از سلول‌ها مشاهده می‌شوند: گرد و کوچک، دوکی و کشیده، پهن و بزرگ (بزرگنمایی×۴۰۰).

شکل ۲: پاساژ ششم سلول‌های استرومایی مغز استخوان موش صحرایی که کلونی‌های شبه فیبروبلاستی را ایجاد می‌کنند (بزرگنمایی ×۴۰۰).



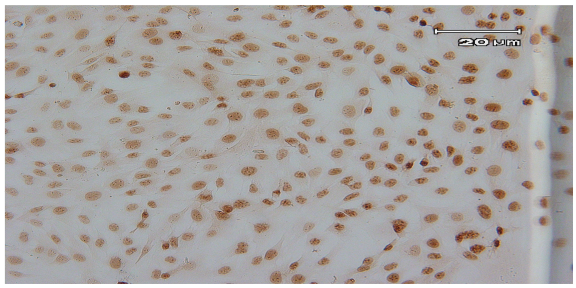
شکل ۳: رنگ‌آمیزی آلکالین فسفاتاز که سیتوپلاسم سلول‌ها به رنگ صورتی دیده می‌شوند (بزرگنمایی ×۴۰۰).



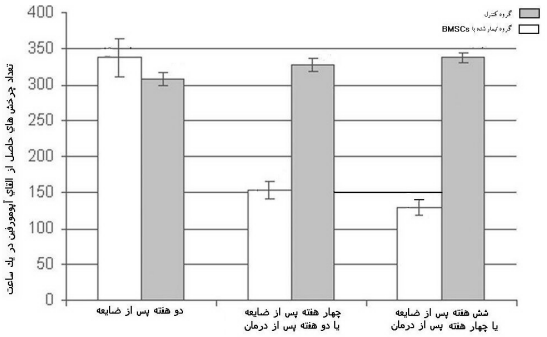
شکل ٤: رنگ‌آمیزی ایمنوفلورسانس که در آن، سیتوپلاسم سلول‌های استرومایی که به آنتی‌بادی فیبرونکتین واکنش مثبت نشان‌داده‌اند به رنگ سبز دیده می‌شود و هسته سلول‌ها با اتیدیوم بروماید به رنگ قرمز است (بزرگنمایی ×۴۰۰).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵: سلول‌های استرومایی که با BrdU نشاندار شده‌اند. سلول‌های BrdU مثبت دارای هسته‌های گرد یا بیضی شکل و کوچک هستند که کروماتین‌شان به رنگ قهوه‌ای تیره دیده می‌شود (بزرگنمایی ×۲۰۰).



شکل۶: نمودار تست چرخشی حاصل از القای آپومورفین در موش‌های صحرایی مدل پارکینسونی قبل و بعد از پیوند سلول.

ستون‌های خاکستری گروه کنترل، در حالی‌که ستون‌های سفید نشان‌دهنده حیوانات پارکینسونی تیمار شده با سلول‌های استرومایی مغز استخوان هستند. دو ستون اول، تست رفتاری حیوانات را دو هفته پس از ضایعه با نوروتوکسین مشخص می‌کند، در حالی‌که ستون دوم و سوم به ترتیب تست رفتاری گروه‌های کنترل و تیمار شده را در هفته‌های دوم و چهارم پس از پیوند نشان می‌دهند.

دو هفته پس از تزریق نوروتوکسین، حیوانات به تست رفتاری پاسخ مثبت نشان می‌دادند، به‌طوری‌که ۳۰۰-۲۵۰ دور به بالا در یک ساعت و در خلاف جهت ضایعه می‌چرخیدند.

قبل از پیوند سلول، تعداد چرخش‌های ثبت شده در دو گروه اختلاف معناداری را نشان نمی‌داد ($p>0/05$).

تعداد چرخش‌های شمارش شده در گروه کنترل، دو هفته بعد از ضایعه، هفته‌های دوم و چهارم پس از تزریق محیط مشابه بوده، اختلاف بین آن‌ها از لحاظ آماری معنادار نیست ($p>0/05$)؛ ولی دو هفته پس از پیوند BMSCS، تفاوت چرخش‌های ثبت شده ما بین گروه‌های کنترل و گروهی که سلول دریافت کرده‌اند معنادار است ($p<0/05$) و حتی چهار هفته پس از پیوند سلول نیز بهبود رفتاری در گروه دوم نسبت به گروه اول مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش، جداسازی و کشت سلول‌های مغز استخوان انجام شد. این سلول‌ها پس از پیوند مستقیم در محل ضایعه به سلول‌های عصبی تمایز می‌یابند. محیطی که سلول‌های بنیادی در آن قرار می‌گیرند می‌تواند تمایز رده خاصی از سلول را به آن‌ها دیکته کند و بیان ژن‌های خاصی را در سلول‌ها القا کند؛ به‌طوری‌که در تحقیقی BMSCs به جسم مخطط موش‌های پارکینسونی پیوند زده شد و چهار هفته بعد این سلول‌ها به آنتی‌بادی تیروزین هیدورکسیلازواکنش مثبت نشان دادند [۲۹].

محمود (Mahmood) و همکارانش در سال ۲۰۰۱، سلول‌های BMSCs را از موش‌های صحرایی نر استخراج کردند و به موش‌های صحرایی ماده که ضایعه تروماتیک مغز داشتند به‌صورت داخل وریدی تزریق کردند. دو هفته پس از پیوند، ۶ درصد سلول‌های پیوندی، مارکر سلول عصبی و ۸ درصد آن‌ها مارکر سلول گلیالی را بیان کردند و علائم نورولوژیک آن‌ها نیز به‌طور چشمگیر بهبود یافته بود [۳۰].

او و همکارانش در سال ۲۰۰۲، سلول‌های BMSCs انسانی را به‌صورت داخل وریدی به موش‌هایی که دچار انسداد شریان مغزی میانی بودند، تزریق کردند و دو هفته پس از پیوند، اکثر این سلول‌ها در محل

www.SID.ir

Archive of SID

ایسکمی مشاهده شد که ۱ درصد آن‌ها مارکر عصبی و ۵ درصد مارکر آسترویستی را بیان کردند [۳۱].

زائو (Zhao) نیز در سال ۲۰۰۲ گزارش کرد پس از پیوند BMSCsهای انسانی به رت‌هایی که دچار ضایعات ایسکمی مغزی شده بودند، سلول‌ها در محل پیوند زنده باقی مانده، مارکر سلول‌های عصبی را بیان کردند و بهبود عملکرد حسی- حرکتی نیز در حیوانات مشاهد شد[۳۲].

احتمالاً چنین سلول‌هایی در محل ضایعه تحت تأثیر محیط اطرافشان، فاکتورهای رشد - از جمله BDNF و NGF - و سیتوکین‌ها را ترشح می‌کنند که با مکانیسم‌های اتوکرین و یا پاراکرین بر خود و سلول‌های میزبان اثر گذاشته، نه تنها میزان بقا و تمایز سلولی را افزایش می‌دهند، بلکه منجر به عصب‌دهی مجدد و برقراری ارتباط عصبی نیز می‌شوند. فاکتورهای نوروتروفیک ترشح شده از سلول‌های پیوندی باعث می‌شوند که یا خود این سلول‌ها به سلول‌های عصبی تمایز یابند و جایگزین سلول‌های آسیب دیده شوند و یا سلول‌های اطراف تحت تأثیر این فاکتورها به سلول‌های عصبی تمایز یابند.

بنابراین، فنوتیپ نورون‌های حاصل از تمایز سلول‌های پیوندی در محل ضایعه نه تنها وابسته به بیان ژن‌های خاص در سلول‌ها است، بلکه القائاتی که از جانب سلول‌های مجاور بر آن‌ها وارد می‌شود در ایجاد این فنوتیپ خاص نقش دارند [۳۳]. این سلول‌ها قادرند از محل پیوندشان در مغز به مناطق دیگر مهاجرت کنند [۱۸].

عزیزی (Azizi) در سال ۱۹۸۸ سلول‌های بنیادی مغز استخوان را به جسم مخطط موش صحرایی پیوند زد. این سلول‌ها تحت شرایط القایی مغز به سلول‌های عصبی تمایز یافتند و ۷۲ روز بعد از پیوند به کورتکس مغز، لوب تمپورال و حتی به سمت مقابل محل پیوند مهاجرت کردند [۳۴].

کوپن (Kopen) در سال ۱۹۹۹ سلول‌های بنیادی مزانشیمی موش را با BrdU نشاندار کرد و به بطن‌های طرفی موش‌های سه روزه پیوند زد. این سلول‌ها به مغز قدامی و مخچه مهاجرت کردند و حتی تعدادی نیز در جسم مخطط و هیپوکامپ به آستروسیت‌ها تمایز یافتند [۲۲].

نیکخواه (Nikkhah) و همکارانش در سال ۲۰۰۲ بخش قدامی مغز میانی جنین موش‌های صحرایی را به جسم سیاه موش‌های پارکینسونی پیوند زدند و به‌دنبال آن، کاهش معناداری در چرخش‌هایی القا شده به‌وسیله آپومورفین را در حیوانات مشاهده کردند[۲۷و۳۵].

در این مطالعه، کاهش معنادار چرخش‌های القا شده به‌وسیله آپومورفین در هفته دوم و چهارم پس از پیوند BMSCs نسبت به گروه کنترل مشاهده شد.

سلول‌های پیوندی با بافت میزبان جوش خورده، در محل زنده مانده، قادرند ارتباطات سیناپسی با جسم مخطط میزبان برقرار کنند.

امکان دارد سلول‌های استرومایی مغز استخوان تحت تأثیر فاکتورهای القایی موجود در جسم مخطط به سلول‌های دوپا مینرژیک تمایز پیدا کنند و به واسطه دوپامین ترشح شده از این سلول‌ها، بیان گیرنده‌های دوپامینی به‌تدریج کاهش پیدا کند و لذا تعداد چرخش‌ها نیز کاهش یابد.

منابع

1. Baksh D, Song L, Tuan R, Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell & gene therapy. J Cell Mol Med, 2004: 8(3): 301-316.
2. Bianco P, Robey P, Marrow stromal stem cells. J. of Invest, 2000: 105(12): 1663-1668.
3. Dominici. M, Hofmann T, Bone marrow mesenchymal cells: biological properties and clinical applications. J. of Biological Regulators and Homeostatic Agents, 2001:15: 28-37.
4. Choop M, Zhang X, Spinal card injury in rat: treatment with bone marrow stromal cell transplantation. Neuroreport, 2000: 11(13): 3001-3005.

www.SID.ir

Archive of SID

5. Mezey E, Chandross K, Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow. Science, 2000: 290:1779-1782.

6. Sanchez-Ramos J, Neural cells derived from adult bone marrow and umbilical cord blood. J of Neuroscience Research, 2002: 69: 880-893.

7. Sanchez- Ramos J, Song S, Cardozo – Pelaez F, Adult bone marrow stromal cells differentste into neural cells in vitro. Experimental Neurology, 2000: 164: 247-256.

8. Woodbury D, Schwarz E, Prockop J, Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. J.of Neuroscience Research, 2000: 69: 880-893.

9. Davis L, Temple S, A self-renewing multipotential stem cell in embryonic rat cerebral cortex. Nature, 1994:327:263-266.

10. 10.Dezawa M, Kanno H, Hoshino M, Matsumoto N, Specific induction of neuronal cell from bone marrow stromal cells and application for autologous transplantation. J.of Clinical Investigation, 2004: 113(12):1701-1710.

11. Lauren R, Christophersen S, Stem cell therapy for Parkinson's disease: Where do we stand?. Cell tissue Res, 2004:318: 261-273.

12. Olanow CW, Tatton WG, Etiolgy and pathogensis of parkinson's disease. Annu Rev Neccrosci,1999:22:123-144.

13. Curt RF, Will embryonic stem cells be useful source of dopamine neurons for transplant into patients with Parkinson's disease?. PNAS, 2002: 99(4): 1755-1757.

14. Arenas E, Stem Cells in the treatment of Parkinson's disease. Brain Research Bulletin, 2002: 57(6): 795-808.

15. Simon JG. Lewis, Maeve A. Caldwell, Roger A. Barker, Modern therapeutic approaches in Parkinson's disease. Expert reviews in molecular medicine. 2003: 5(28): 1-20.

16. Bjorklund M, Sanchez-Pernaute R, Embryonic stem cells develop into functional dopaminergic neurons after transplantation in a Parkinson rat model. PNAS, 2002: 10: 1-16.

17. Azizi SA, Stokes D, Prockop DJ, Engraftment & migration of human bone marrow stromal cells implanted in the brains of albino rats-similarities to astrocyte graft. Proc Nati Acad Sci USA, 1998: 95: 3908-3913.

18. Munoz G, Marcus A, Woodbury D, Adult bone marrow stromal cells in the embryonic brain:engraftment, migration, differentiation and long term survival.J. of Neuroscience, 2004: 24(19): 4585-4595.

19. Yeu IS, Lee HJ, Yi JS, The survival & migration pattern of the bone marrow stromal cells after intracerebral transplantation in rats. J Korean Neurosurg Soc, 2004: 36: 400 – 404.

20. Tropel P, Noel D, Platet N, Isolation and characterisation of mesenchymal stem cells from adult mouse bone marrow, Experimental Cell Research, 2004: 295: 395-406.

21. Deumens R, Blokland A, Prickaerts J, Modeling Parkinson's disease in rats: An evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. Experimental Neurology, 2002:175:303-317.

22. Mendez I, Baker K, Hong M, Simultaneous intrastriatal and intranigral grafting (double grafts) in the rat model of Parkinson's disease. Brain Research Reviews,2000:32:328– 339.

23. Paxinos G, Watson C, The rat brain in stereotaxic Coordinates,2nd Edition, Academic press, San Diego, CA,1986.

24. Przedborski S, Levivier M, Dose – dependent lesions of the dopaminergic nigrostriatal pathway induced by intrastriatel injection of 6-hydroxydopamine. Neuroscience, 1995:67: 631-47.

25. Casas M, Prat G, Rotational behavior in dopamine nigrostriatal denervated rats: effects of a widerange of time intervals between apomorphine administrations. Pharmacology Biochemistry&Behavior,1999: 62(3): 481- 485.

26. Fujita M, Nishino H, Kumazaki M, Expression of dopamine transporter m RNA and its binding site in fetal nigral cells transplanted into the striatum of 6-OHDA lesioned rat. Mol Brain Res, 1996:39: 127-360.

27. Tohill M, Mantovani C, Wiberg M, Rat bone marrow mesenchymal stem cells express glial markers and stimulate nerve regeneration. Neuroscience Letters, 2004: 362: 200-203.

28. Roghani M, Behzadi G, Baluchnejadmojarad T, Efficacy of elevated body swing test in the early model of Parkinson's disease in rat. Physiology & Behavior, 2002:76: 507 -510.

29. Li Y, Chen J, Wang L, Zhang L, Intracerebral transplantation of bone marrow stromal cells in a 1-methyl – 4-phenyl – 1, 2, 3, 6 – tetrahydropyridine. Neuroscience Letters, 2001: 315: 67 – 70.

30. Mahmood A, Wang L, Treatment of traumatic brain injury in female with intravenous adminstration of bone marrow stromal cells. Neurosurgery, 2001: 49: 1196 – 1203.

31. Li Y, Chen J, Chen XG, Wang L, Human marrow stromal cell therapy for stroke in rats: neurotrophins and functional recovery. Neurology, 2002: 59: 514.

32. Hellmann M, Panet H,Barhum Y, Melamed E, Increased survivel and migration of engrafted mesenchymal bone marrow stem cells in 6-hydroxydopamine- lesioned rodent. Neuroscience Letters 2006: 395: 124-128.

www.SID.ir

Archive of SID

33. Garcia R, Aguiar J, Alberti E, Bone marrow stromal cells produce nerve growth factor & glial cell line-derived neurotrophic factors. Biochemical & Biophysical Research Communication, 2004: 316: 753 - 754.

34. Woodbury D, Reynolds K, Black IB, Adult bone marrow stromal cells express germline,ectodermal and mesodermal genes prior to neurogenesis. J.of Neuroscience Research, 2002:96:908-917.

35. Rowena E,Jill B,Behavioral Changes associated with grafts of embryonic ventral mesencephalon tissue into the striatum and/or substantia nigra in a rat model of Parkinson's disease. Behavioral Brain Research, 1999: 104: 179 -187.

www.SID.ir