

Θεραπεία με βλαστοκύτταρα

Δ. Αλμαλιώτης,¹ Γ. Κολιάκος,^{2,5} Ε. Παπακωνσταντίνου,³ Α. Κομνηνού,⁴ Α.Θώμας,⁴
Σ. Πετράκης,⁵ Η. Νάκος,¹ Ε. Γούναρη,⁶ Β. Καραμπατάκης

Περίληψη

Με τον όρο stem cells (στελεχειαία κύτταρα ή αρχέγονα κύτταρα, κοινώς βλαστοκύτταρα) δεν περιγράφεται ένας συγκεκριμένος τύπος κυττάρων αλλά μια ποικιλία κυτταρικών τύπων. Η συνηθέστερη ταξινόμηση των βλαστοκυττάρων είναι αυτή που τα διαχωρίζει σε εμβρυικά και ενήλικα βλαστοκύτταρα. Μειονεκτήματα όπως η δυνητική επαγωγή δημιουργίας όγκων και η ανοσολογική ασυμβατότητα με τον ξενιστή σε συνδυασμό με τα ηθικά ζητήματα που προκύπτουν ως προς τη συλλογή και χρήση των εμβρυικών stem cells, εμποδίζουν την κλινική χρησιμοποίηση των κυττάρων αυτών. Έτσι οι έρευνες στρέφονται πλέον στα ενήλικα βλαστοκύτταρα με στόχο την ταυτοποίηση των διαφόρων πληθυσμών τους στον ενήλικο οργανισμό και άμεση χρησιμοποίησή τους για αναδόμηση-αναγέννηση κατεστραμμένων ιστών.

Λέξεις κλειδιά: Βλαστοκύτταρα, μεσενχυματικά, εμβρυικά βλαστοκύτταρα, ενήλικα βλαστοκύτταρα.

1. Εργαστήριο Πειραματικής Οφθαλμολογίας, Ιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

2. Τμήμα Βιολογικής Χημείας, Ιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

3. Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

4. Κτηνιατρική Σχολή, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

5. Biohellenika Biotechnology Company, 57001 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

6. Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Corresponding author: D. Almaliotis
e-mail: almaliotis_diamantis@yahoo.gr

Γενικά

Η έρευνα στο πεδίο των βλαστοκυττάρων προέκυψε από τα ευρήματα των Ernest A. McCulloch και James E. Till στο Πανεπιστήμιο του Τορόντο το 1960^{1,2}.

Τα βλαστικά κύτταρα είναι κοινά αρχέγονα κύτταρα, σε όλους τους πολυκύτταρους οργανισμούς, που διατηρούν την ικανότητα να ανανεώνονται μέσω της κυτταροδιαίρεσης και μπορεί να διαφοροποιούνται σε ένα ευρύ φάσμα εξειδικευμένων κυτταρικών τύπων και να παράγουν περισσότερα βλαστικά κύτταρα.

Τα κύτταρα αυτά, όπως αναφέρθηκε βρίσκονται σε πολυκύτταρους οργανισμούς και έχουν τις ακόλουθες ιδιότητες: 1) του πολλαπλασιασμού, 2) της αυτοανανέωσης, 3) της ικανότητας διαφοροποίησης σε θυγατρικούς και ταυτόχρονα λειτουργικούς απογόνους 4) τη δυνατότητα αναγέννησης και διατήρησης της ομοιότητας των ιστών. Ο κλασικός ορισμός των βλαστικών κυττάρων απαιτεί ότι αυτά κατέχουν δύο ιδιότητες:

1) Την **αυτο-ανανέωση**: ήτοι την δυνατότητα να έχουν πολυάριθμους κύκλους κυτταρικών διαρρέσεων, και παράλληλα να διατηρούν την αδιαφοροποίητη κατάσταση.

2) Την **ισχύ**: ήτοι την ικανότητα να διαφοροποιούνται σε εξειδικευμένους τύπους κυττάρων. Με τη στενή έννοια, η ιδιότητα αυτή απαιτεί ότι τα βλαστικά κύτταρα είναι είτε παντοδύναμα ή πολυδύναμα και είναι σε θέση να διαφοροποιηθούν σε οποιοδήποτε ώριμο κυτταρικό τύπο.

Υπάρχουν δύο μηχανισμοί που εξασφαλίζουν τη διατήρηση του πληθυσμού των αρχέγονων κυττάρων:

1) Η **υποχρεωτική ασύμμετρη αντιγραφή**: ένα βλαστικό κύτταρο διαιρείται σε ένα μητρικό κύτταρο, το οποίο είναι πανομοιότυπο με το αρχικό βλαστικό κύτταρο, και ένα άλλο θυγατρικό που διαφοροποιείται.

2) Η **στοχευμένη διαφοροποίηση**: όταν ένα βλαστικό

κύτταρο αναπτύσσεται σε δύο διαφοροποιημένα θυγατρικά κύτταρα, ενώ ένα άλλο βλαστικό κύτταρο υφίσταται μίτωση και παράγει δύο πανομοιότυπα κύτταρα με το αρχικό.

Στα θηλαστικά, υπάρχουν δύο γενικοί τύποι βλαστικών κυττάρων: α) **τα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα**, τα οποία απομονώνονται από την εσωτερική κυτταρική μάζα του βλαστοκύστεων και β) **τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα**, τα οποία βρίσκονται σε διάφορους ιστούς. Σε ενήλικες οργανισμούς, τα βλαστοκύτταρα και προγονικά κύτταρα δρουν ως ένα σύστημα επισκευής για το σώμα, για την ανανέωση των ιστών. Σε ένα αναπτυσσόμενο έμβρυο, τα βλαστικά κύτταρα μπορούν να διαφοροποιηθούν σε όλα τα εξειδικευμένα κύτταρα- στο εκτόδερμα, μεσόδερμα και ενδόδερμα, αλλά διατηρούν το φυσιολογικό κύκλο εργασιών των αναγεννητικών οργάνων.

Υπάρχουν τρεις γνωστές προσιτές πηγές αυτόλογων ενήλικων βλαστικών κυττάρων σε ανθρώπους :

α) **ο μυελός των οστών**, β) **ο λιπώδης ιστός** (κύτταρα λιπιδίων), απορροφάται από το δότη (όπως στην αιμοδοσία), αλλά διέρχεται μέσω μιας συσκευής που εξάγει τα βλαστικά κύτταρα και επιστρέφει άλλα συστατικά του αίματος στο δότη και γ) από το **αίμα του ομφάλιου λώρου**, αμέσως μετά τη γέννηση. Εξ ορισμού, τα αυτόλογα κύτταρα λαμβάνονται από το ίδιο το σώμα και κατά συνέπεια μπορεί κανείς να έχει τη δική του τράπεζα αίματος για πιθανές μελλοντικές χειρουργικές επεμβάσεις.

Στην Ιατρική, τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα χρησιμοποιούνται συχνά σε θεραπείες, όπως **κατά την μεταμόσχευση μυελού των οστών**. Στη σημερινή τεχνολογική εποχή τα βλαστικά κύτταρα μπορεί να αναπτυχθούν τεχνητά και να διαφοροποιηθούν σε εξειδικευμένους τύπους κυττάρων με τα χαρακτηριστικά των κυττάρων των διαφόρων ιστών, όπως των μυών ή των νεύρων. Οι εμβρυϊκές κυτταρικές σειρές και τα αυτόλογα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα που παράγονται μέσω πυρηνικής μεταφοράς ή διαφοροποίησης των σωματικών κυττάρων έχουν επίσης προταθεί ως μελλοντικές θεραπείες³.

Γενεαλογία

Για την εξασφάλιση της αυτο-ανανέωσης, τα βλαστικά κύτταρα υφίστανται δύο τύπους κυτταρικής διαίρεσης. Η **συμμετρική διαίρεση** δημιουργεί δύο πανομοιότυπα θυγατρικά κύτταρα, που είναι προικισμένα με τις ιδιότητες των βλαστικών κυττάρων. Η **ασύμμετρη διαίρεση**, από την άλλη πλευρά, η οποία παράγει μόνο ένα βλαστικό κύτταρο και ένα προγονικό κύτταρο που παρουσιάζει περιορισμένες δυνατότητες αυτο-ανανέωσης. Τα προγονικά κύτταρα είναι δυνατόν να περάσουν από αρκετές φάσεις της κυτταρικής διαίρεσης, πριν τελικά διαφοροποιηθούν σε ώριμα κύτταρα. Η μοριακή διάκριση μεταξύ συμμετρικών και ασύμμετρων διαιρέσεων πιθανώς να έγκειται στον διαφοροποιητικό διαχωρισμό των πρωτεϊνών, όπως των υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης μεταξύ των θυγατρικών κυττάρων⁴.

Μια εναλλακτική θεωρία υποστηρίζει ότι τα βλαστικά κύτταρα παραμένουν αδιαφοροποίητα λόγω των περιβαλλοντικών συνθηκών που επικρατούν και διαφοροποιούνται όταν μετακινούνται από εκείνη την θέση ή δεν λαμβάνουν πλέον τα κατάλληλα σήματα^{5,6}.

Διάφορες θεραπείες με βλαστοκύτταρα

Τα βλαστικά κύτταρα χρησιμοποιούνται βασικά για τη θεραπεία ή πρόληψη μίας ασθένειας ή κατάστασης. Μεταξύ αυτών των ασθενειών και καταστάσεων περιλαμβάνονται ο διαβήτης⁷, η ρευματοειδής αρθρίτιδα⁷, η νόσος του Parkinson⁷, η νόσος του Alzheimer⁷, η οστεοαρθρίτιδα⁷, το εγκεφαλικό επεισόδιο και οι κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις⁸, οι μαθησιακές δυσκολίες που οφείλονται σε συγγενή διαταραχή⁹, επισκευή βλάβης του νωτιαίου μυελού¹⁰, έμφραγμα του μυοκαρδίου¹¹, θεραπείες κατά του καρκίνου¹², θεραπεία της ανδρικής αλωπεκίας¹³, η αντικατάσταση δοντιών που λείπουν¹⁴, αποκατάσταση της ακοής¹⁵, αποκατάσταση της όρασης¹⁶, αμνοτροφική πλάγια πλευρική σκλήρυνση¹⁷, η νόσος του Crohn¹⁸ και η επούλωση τραυμάτων¹⁹. Πρέπει να σημειωθεί ότι η μεταμόσχευση του μυελού των οστών είναι μία ευρέως διαδεδομένη θεραπεία με βλαστικά κύτταρα χωρίς προεργασία που έχει χρησιμοποιηθεί κλινικά εδώ και πολλά χρόνια.^{20,21}

Η ερευνητική προσπάθεια είναι σε εξέλιξη όσον αφορά στην εύρεση διαφόρων πηγών από βλαστικά κύτταρα, καθώς και στην εφαρμογή θεραπειών σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες όπως ο διαβήτης, η καρδιακή νόσος και άλλες περιπτώσεις²².

Η θεραπεία με βλαστικά κύτταρα μπορεί να απαιτεί

ανοσοκαταστολή επειδή το ανοσοποιητικό σύστημα του ασθενούς μπορεί να επιτεθεί στα βλαστικά κύτταρα που μεταμοσχεύονται. Για τον λόγο αυτό πρέπει να εφαρμοσθεί εξειδικευμένη ακτινοβολία πριν από την μεταμόσχευση ώστε να απομακρυνθούν τα συγκεκριμένα κύτταρα του ασθενούς. Ειδικότερα, για την αποφυγή επιθέσεων από το ανοσοποιητικό σύστημα του οργανισμού πρέπει να χρησιμοποιούνται βλαστικά κύτταρα από τον ίδιο ασθενή.

Όμως η πλειοδυναμία σε ορισμένες κατηγορίες βλαστικών κυττάρων είναι δύσκολο να οδηγήσει σε ένα συγκεκριμένο τύπο κυττάρου. Επίσης είναι δύσκολο να επιτευχθεί ο ακριβής κυτταρικός τύπος που στοχεύουμε, επειδή όλα τα κύτταρα δεν διαφοροποιούνται ομοιόμορφα²³.

Η ηπατική βλάβη που προκαλείται από ένα σημαντικό αριθμό αποτυχημένων νέων φαρμάκων προβάλλει την ανάγκη εστίασης σε συγκεκριμένους τύπους κυττάρων, όπως ηπατοκυττάρων προερχόμενων από βλαστικά κύτταρα, τα οποία είναι ικανά να ανιχνεύουν χωρίς την τοξικότητα των φαρμακευτικών ουσιών²⁴.

Κυτταρική ισχύς βλαστοκυττάρων

Τα εμβρυϊκά κύτταρα χωρίζονται σε:

Τα ολοδύναμα βλαστικά κύτταρα είναι ικανά να διαφοροποιηθούν στους εμβρυϊκούς και εξωεμβρυϊκούς τύπους κυττάρων. Τέτοια κύτταρα μπορούν να κατασκευάσουν ένα πλήρες και βιώσιμο οργανισμό²⁵. Αυτά τα κύτταρα δημιουργούνται από την σύντηξη ενός ωαρίου και σπέρματος/ωαρίου. Επιπλέον, κύτταρα που παράγονται από τις πρώτες διαιρέσεις του γονιμοποιημένου ωαρίου είναι επίσης πανίσχυρα²⁶.

Τα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα είναι οι απόγονοι των ολοδύναμων κυττάρων και είναι ικανά να διαφοροποιηθούν σχεδόν σε όλα τα κύτταρα²⁵, δηλαδή σε κύτταρα που προέρχονται από οποιαδήποτε από τις τρεις στιβάδες (εκτόδεσμα, μεσόδεσμα, ενδόδεσμα)²⁷.

Όμως, τα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα είναι ικανά να διαφοροποιηθούν σε έναν περιορισμένο αριθμό κυτταρικών τύπων, και μόνο σε εκείνους που είναι στενά συνδεδεμένοι με την οικογένεια των συγκεκριμένων κυττάρων²⁵.

Τα ενήλικα κύτταρα χωρίζονται σε:

Τα πλειοδύναμα έχουν ικανότητα διαφοροποίησης τους είναι περιορισμένη καθώς όταν διαιρείται ένα τέτοιο βλαστοκύτταρο σε δυο, το ένα παραμένει ως βλαστοκύτταρο και το άλλο διαφοροποιείται για να αναγεννήσει μέρος του ιστού που έχει καταστραφεί.

Τα ολιγοδύναμα βλαστικά κύτταρα είναι ικανά να διαφοροποιηθούν μόνο σε λίγους κυτταρικούς τύπους,

όπως στα λεμφοειδή ή μυελοειδή βλαστικά κύτταρα²⁵.

Τα **μονοδύναμα** κύτταρα μπορούν να παράγουν μόνο ένα κυτταρικό τύπο, μόνο το δικό τους, αλλά έχουν την ιδιότητα της αυτο-ανανέωσης, η οποία τα διακρίνει από τα μη βλαστικά κύτταρα (π.χ. τα προγονικά κύτταρα, μυϊκά βλαστικά κύτταρα)²⁶.

Αναγνώριση των βλαστοκυττάρων

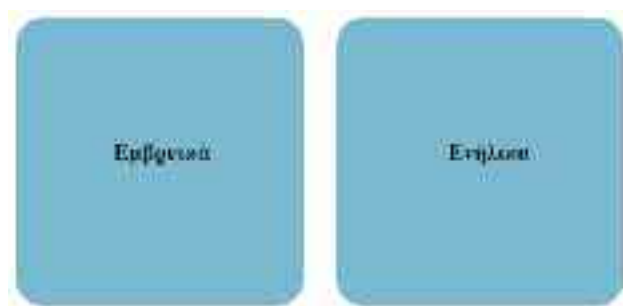
Στην πράξη, τα βλαστικά κύτταρα αναγνωρίζονται από το κατά πόσον μπορούν να αναγεννήσουν ένα ιστό. Για παράδειγμα, για το μυελό των οστών ή των αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων (HSCs) σημαντική είναι η δυνατότητα μεταμόσχευσης τους, η οποία αποδεικνύει ότι τα κύτταρα μπορούν να παράγουν νέα κύτταρα του αίματος επί μεγάλο χρονικό διάστημα. Θα πρέπει επίσης να υπάρχει η δυνατότητα να απομονωθούν από το μεταμοσχευμένο άτομο, χωρίς HSCs, αποδεικνύοντας ότι τα βλαστικά κύτταρα ήταν σε θέση να αυτο-ανανεωθούν.

Οι ιδιότητες των βλαστικών κυττάρων μπορούν να απεικονισθούν *in vitro*, χρησιμοποιώντας μεθόδους (κλωνογονικές), στις οποίους τα κύτταρα αυτά αξιολογούνται για την ικανότητά διαφοροποίησης και αυτο-ανανέωσης τους^{28,29}. Τα βλαστικά κύτταρα μπορούν επίσης να απομονωθούν από ένα ξεχωριστό σύνολο **δεικτών κυτταρικής επιφάνειας** (π.χ. **CD44 και CD73**). Ωστόσο, σε *in vitro* συνθήκες καλλιέργειας μπορεί να αλλάξει η συμπεριφορά των κυττάρων, καθιστώντας ασαφές εάν τα κύτταρα θα συμπεριφερθούν κατά παρόμοιο τρόπο σε *in vivo* συνθήκες. Εκτός τούτου τίθεται το ερώτημα κατά πόσον ορισμένοι από τους προτεινόμενους πληθυσμούς ενηλίκων κυττάρων είναι πραγματικά βλαστικά κύτταρα ή όχι.

Είδη βλαστοκυττάρων

Εμβρυϊκά

Τα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα (ES) είναι εκείνα που προέρχονται από την εσωτερική κυτταρική μάζα της βλαστοκύστης, που είναι το **έμβρυο πρώιμου σταδίου**³⁰. Τα ανθρώπινα έμβρυα φθάνουν στο στάδιο της βλαστοκύστης 4-5 ημέρες μετά τη γονιμοποίηση, και αποτελούνται από 50-150 κύτταρα. Τα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα είναι πολυδύναμα και διαφοροποιούνται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και στα 3 στρώματα: εκτόδεσμα, μεσόδεσμα και ενδόδεσμα. Με άλλα λόγια, μπορούν διαφοροποιηθούν σε πάνω από 200 είδη κυττάρων του σώματος του ενήλικα εφόσον υπάρχει η αναγκαία διέγερση για ένα συγκεκριμένο τύπο κυττάρου. Πρέπει όμως να αναφερθεί ότι τα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα δεν συμβάλλουν στη δη-



μιουργία των εξωεμβρυϊκών μεμβρανών ή του πλακούντα.

Σχεδόν σε όλες οι πραγματοποιηθείσες μέχρι σήμερα έρευνες έχουν χρησιμοποιηθεί εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα μύων (MES) ή ανθρώπων (HES). Όμως τα βλαστικά αυτά κύτταρα, που είναι διαφορετικής προέλευσης, απαιτούν πολύ διαφορετικό περιβάλλον προκειμένου να παραμείνουν αδιαφοροποίητα. Έτσι τα κύτταρα ES ποντικού καλλιεργούνται σε ένα στρώμα ζελατίνης, ως μία εξωκυτταρική μήτρα (για υποστήριξη) και απαιτούν την παρουσία του ανασταλτικού παράγοντα λευχαιμίας (LIF). Από την άλλη πλευρά τα ανθρώπινα κύτταρα ES καλλιεργούνται σε τροφοδοτικό στρώμα εμβρυϊκών ινοβλαστών ποντικού (MEFs) και απαιτούν την παρουσία του βασικού αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών (bFGF ή FGF-2)³¹. Πρέπει να υπογραμμισθεί ότι τα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα διαφοροποιούνται γρήγορα και μάλιστα χωρίς να επηρεάζονται οι βέλτιστες συνθήκες καλλιέργειας ή να δεχθούν κάποιο γενετικό χειρισμό³².

Τα ανθρώπινα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα επηρεάζονται από την έκφραση αρκετών παραγόντων μεταγραφής καθώς και από τις πρωτεΐνες της κυτταρικής επιφάνειας. Οι OCT-4, Nanog και Sox2 αποτελούν τον πυρήνα ρυθμιστικού δικτύου που εξασφαλίζει την καταστολή των γονιδίων που ρυθμίζουν τη διαφοροποίηση και τη συντήρηση των πλειοδυναμίας³³. Τα **αντιγόνα κυτταρικής επιφάνειας** που χρησιμοποιούνται πιο συχνά για την ταυτοποίηση κυττάρων HES είναι τα γλυκολιπιδικά ειδικά εμβρυϊκά αντιγόνα 3 και 4 και τα αντιγόνα θειϊκή κερατίνη θειικό Tra-1-60 και Tra-1-81. Ο μοριακός καθορισμός των βλαστικών κυττάρων περιλαμβάνει περισσότερες πρωτεΐνες και είναι ένα θέμα υπό διερεύνηση³⁴.

Δεν υπάρχουν εγκεκριμένες θεραπείες με τη χρήση εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων. Η πρώτη μελέτη σε ανθρώπους εγκρίθηκε από την αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων τον Ιανουάριο του 2009³⁵. Ωστόσο, η δοκιμή σε ανθρώπους δεν είχε ξεκινήσει μέχρι 13 Οκτωβρίου του 2010 στην Ατλάντα και αφορούσε θύματα τραυματισμών της σπονδυλικής στήλης. Στις 14 Νοεμβρίου 2011, η εταιρεία ανακοίνωσε ότι θα

διακόψει την περαιτέρω ανάπτυξη των προγραμμάτων των βλαστικών κυττάρων³⁶. Τα ES κύτταρα, είναι πολυδύναμα κύτταρα, τα οποία απαιτούν **ειδικά σήματα** για τη σωστή διαφοροποίηση σε περίπτωση όμως που η ένεση με βλαστικά κύτταρα γίνει απευθείας σε ένα άλλο σώμα, τα ES κύτταρα διαφοροποιούνται σε πολλούς διαφορετικούς τύπους κυττάρων, προκαλώντας τερατογένεση. Η διαφοροποίηση των ES κυττάρων σε χρήσιμα κύτταρα, συντελεί ώστε να αποφευχθεί η απόρριψη του μοσχεύματος σε διαφορετική περίπτωση προκαλείται απόρριψη του μοσχεύματος και αυτό είναι από τα σοβαρά εμπόδια που εξακολουθούν να αντιμετωπίζουν οι ερευνητές με τα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα³⁷. Πολλά κράτη την περίοδο αυτή έχουν αναστείλει τη διεξαγωγή ερευνών με κύτταρα ES ή και την παραγωγή νέων σειρών ES κυττάρων. Λόγω της συνδυαστικής ικανότητας τους και της απειρίστης επέκτασης και πλειοδυναμίας, τα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα παραμένουν θεωρητικά ως πιθανή πηγή στην αναγεννητική ιατρική καθώς και στην αντικατάσταση ιστών μετά από τραυματισμό ή ασθένεια.

Τα αρχέγονα βλαστικά κύτταρα βρίσκονται στα όργανα των εμβρύων που αναφέρονται ως εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα³⁸. Υπάρχουν δύο τύποι εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων:

α) Τα **βλαστικά κύτταρα του εμβρύου** που προέρχονται από τον εμβρυϊκό ιστό, και λαμβάνονται μετά από μια έκτρωση. Αυτά τα βλαστικά κύτταρα έχουν υψηλή ικανότητα διαίρεσης και είναι πολυδύναμα.

β) Τα **εξωεμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα** προέρχονται από εξωεμβρυϊκές μεμβράνες, τα οποία σε γενικές γραμμές δεν πρέπει να διαχωρίζονται από τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα. Αυτά τα βλαστικά κύτταρα που λαμβάνονται μετά τη γέννηση έχουν επίσης υψηλή ικανότητα κυτταρικής διαίρεσης και είναι πολυδύναμα³⁹.

Ενήλικα βλαστικά κύτταρα

Τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα, που ονομάζονται επίσης και **σωματικά βλαστικά κύτταρα** είναι αρχέγονα κύτταρα τα οποία διατηρούν και επουλώνουν τον ιστό στον οποίο βρίσκονται⁴⁰ και απαντώνται τόσο στα παιδιά, όσο και στους ενήλικες⁴¹.

Τα πολυδύναμα ενήλικα βλαστικά κύτταρα είναι σπάνια και σε μικρό αριθμό, και μπορεί να εντοπισθούν στο αίμα του ομφάλιου λώρου και σε άλλους ιστούς, όπως στο μυελό των οστών⁴² που είναι μια πλούσια πηγή ενήλικων βλαστικών κυττάρων⁴³. Τα **βλαστικά κύτταρα του μυελού των οστών** έχουν χρησιμοποιηθεί σε αρκετές περιπτώσεις για τη θεραπεία σε τραυματισμούς του νωτιαίου μυελού⁴⁴, στην κίρρωση του ήπατος⁴⁵, στη χρόνια ισχαιμία των άκρων⁴⁶, και στην

καρδιακή ανεπάρκεια τελικού σταδίου⁴⁷. Η ποσότητα των βλαστικών κυττάρων του μυελού των οστών μειώνεται με την ηλικία κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ηλικίας και είναι μεγαλύτερη στους άνδρες από ότι στις γυναίκες⁴⁸. Τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα χαρακτηρίζονται από την δραστικότητα και την ικανότητα αυτο-ανανέωσης⁴⁹. Η βλάβη του DNA επιδεινώνεται με την ηλικία, τόσο στα βλαστικά κύτταρα καθώς και στα κύτταρα που αποτελούν το περιβάλλον των βλαστικών κυττάρων. Αυτή η επιδείνωση της βλάβης του DNA θεωρείται ότι είναι υπεύθυνη, τουλάχιστον εν μέρει, για την αύξηση της δυσλειτουργίας των βλαστικών κυττάρων με την πρόοδο της γήρανσης⁵⁰.

Τα περισσότερα ενήλικα βλαστικά κύτταρα είναι πολυδύναμα και αναφέρονται σύμφωνα με την προέλευση του ιστού από όπου λαμβάνονται (μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα που προέρχονται από το λιπώδη ιστό βλαστικών κυττάρων, ενδοθηλιακά βλαστικά κύτταρα, βλαστικά κύτταρα οδοντικού πολφού, κλπ.)^{51,52}.

Τα βλαστικά κύτταρα ενηλίκων έχουν μεταμοσχευθεί εδώ και πολλά χρόνια με επιτυχία από μυελό των οστών για τη θεραπεία της λευχαιμίας και άλλων καρκίνων που εμφανίζονται στα οστά και στο αίμα. Επίσης, βλαστικά κύτταρα ενηλίκων χρησιμοποιούνται και στην κτηνιατρική για τη θεραπεία τραυματισμών που συμβαίνουν στους τένοντες και στους συνδέσμους των αλόγων^{53,54}.

Η χρήση ενηλίκων βλαστικών κυττάρων στην έρευνα

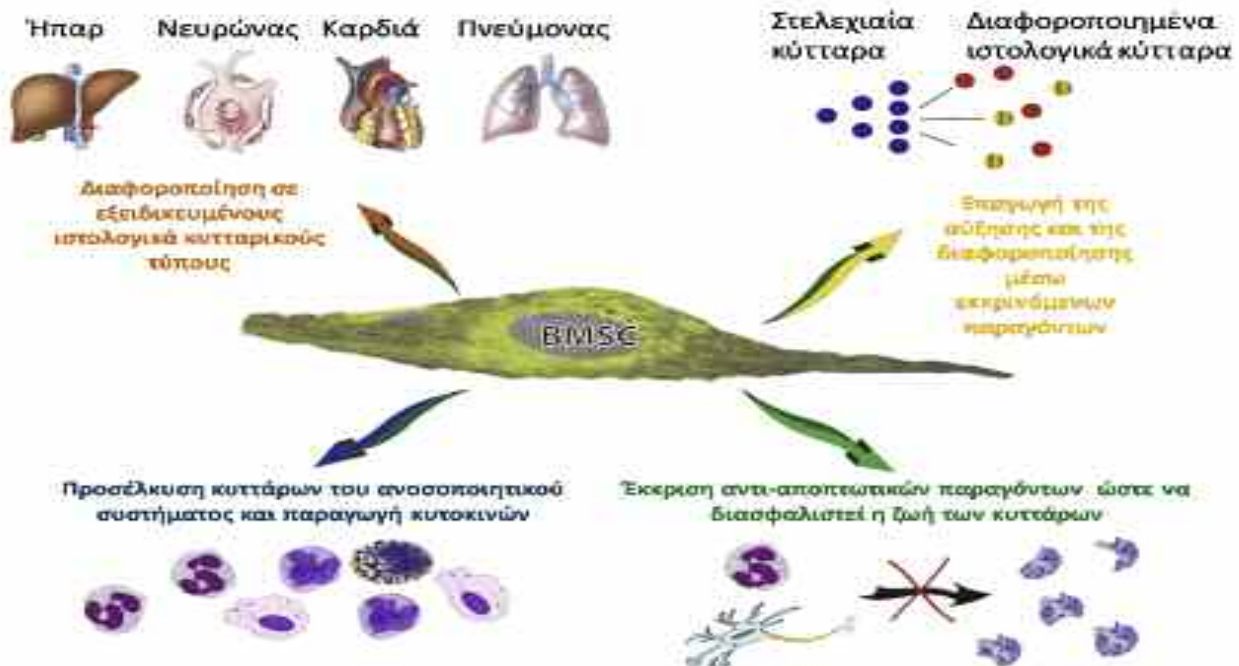
και στη θεραπεία δεν δημιουργεί ηθικά προβλήματα, όπως η χρήση των εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων, επειδή η παραγωγή τους δεν προϋποθέτει τη θανάτωση ενός εμβρύου. Επιπλέον, όταν τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα λαμβάνονται από τον ίδιο τον δέκτη (αυτομόσχευμα), ο κίνδυνος απόρριψης είναι ουσιαστικά ανύπαρκτος. Κατά συνέπεια, όσον αφορά τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα προβλέπεται μεγαλύτερη χρηματοδότηση για σχετική έρευνα στο συγκεκριμένο πεδίο⁵⁵.

Αμνιακά βλαστικά κύτταρα

Πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα εντοπίζονται επίσης και στο αμνιακό υγρό και είναι υπό διερεύνηση. Αυτά τα βλαστικά κύτταρα είναι πολύ δραστήρια, πολλαπλασιάζονται σε μεγάλο βαθμό και δεν δημιουργούν όγκους. Τα αμνιακά βλαστοκύτταρα είναι πολυδύναμα και μπορούν να διαφοροποιηθούν σε κύτταρα αδιπογονικά, οστεογονικά, μυογενή, ενδοθηλιακά, ηπατικά και νευρωνικών γραμμών⁵⁶.

Η χρήση των βλαστικών κυττάρων από το αμνιακό υγρό υπερπηδά τις ηθικές αντιρρήσεις για τη χρήση ανθρώπινων εμβρύων ως πηγής τέτοιων κυττάρων. Είναι σημαντικό να τονισθεί ότι η ρωμαιοκαθολική διδασκαλία απαγορεύει τη χρήση εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων για πειραματικούς σκοπούς. Αντίθετα, η εφημερίδα του Βατικανού «Osservatore Romano» ονομάζει τα αμνιακά βλαστικά κύτταρα ως "το μέλλον της ιατρικής"⁵⁷.

Έτσι, τα τελευταία χρόνια επιτεύχθηκε η λήψη βλα-



στικών κυττάρων από το αμνιακό υγρό δοτών και για αυτόλογη χρήση. Εδώ πρέπει να αναφερθεί ότι η πρώτη **αμερικανική τράπεζα βλαστικών κυττάρων** από αμνιακό υγρό^{58,59} άνοιξε το 2009 στο Medford, MA, από το Biocell Center Corporation⁶⁰⁻⁶² και συνεργάζεται με διάφορα νοσοκομεία και πανεπιστήμια από όλο τον κόσμο⁶³.

Τα επαγόμενα πολυδύναμα

Αυτά δεν είναι **απλά ενήλικα βλαστικά κύτταρα**, αλλά μάλλον ενήλικα βλαστικά κύτταρα (π.χ. επιθηλιακά κύτταρα) που έχουν **επαναπρογραμματιστεί** σε κύτταρα με πολυδύναμες δυνατότητες. Χρησιμοποιώντας το γενετικό επαναπρογραμματισμό με παράγοντες μεταγραφής της πρωτεΐνης, πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα, τα οποία έχουν προέλθει από ανθρώπινο ιστό του δέρματος ενηλίκων, ισοδυναμούν με εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα⁶⁴⁻⁶⁶. Οι Shinya Yamanaka και συνεργάτες του στο Πανεπιστήμιο του Κιότο χρησιμοποίησαν στα πειράματά τους τους παρακάτω παράγοντες μεταγραφής Oct3 / 4, Sox2, c-Myc, και Klf4⁶⁴ σε κύτταρα από ανθρώπινα πρόσωπα, ενώ οι Junying Yu, James Thomson, και συνεργάτες στο Πανεπιστήμιο του Wisconsin-Madison χρησιμοποίησαν ένα διαφορετικό σύνολο των παραγόντων Oct4, Sox2, Nanog και Lin28⁶⁴. Ο Ian Wilmut, ο οποίος συντέλεσε στη δημιουργία του πρώτου κλωνοποιημένου ζώου (το πρόβατο Dolly), είχε ανακοινώσει ότι θα εγκατέλειπε την πυρηνική μεταφορά σωματικών κυττάρων⁶⁷.

Αξίζει επίσης να αναφερθεί ότι ακόμη και κατεψυγμένα δείγματα αίματος⁶⁸ μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως πηγή των επαγόμενων πολυδύναμων βλαστοκυττάρων.

Χρησιμότητα στην Ιατρική

Σημαντική πρόοδος έχει σημειωθεί στην επιστήμη της ιατρικής και ειδικότερα της οφθαλμολογίας όσον αφορά τις θεραπείες με βλαστικά κύτταρα. Τα κύτταρα αυτά έχουν την ικανότητα αναπαραγωγής in vitro, όπως και της διαφοροποίησης προς πολλαπλές ή προς όλες τις κυτταρικές σειρές. Σημειώνεται ότι βλαστικά κύτταρα εντοπίζονται και στον μυελό των οστών, τα οποία έχουν την ιδιότητα να μεταναστεύουν σε άλλους ιστούς και συνεπώς να συμβάλλουν ουσιαστικά στην αναγέννηση τους. Τα βλαστοκύτταρα του **μυελού των οστών** διακρίνονται: α) Στα **αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα** με ικανότητα διαφοροποίησης σε άλλα είδη κυττάρων πέραν των αιμοποιητικών (όπως ενδοθηλιακά και μυοκαρδιακά κύτταρα). Υποκατηγορία των αιμοποιητικών κυττάρων είναι τα ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα, τα οποία διαφοροποιούνται προς

ενδοθηλιακά κύτταρα. β) Στα **μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα**. Η μεταμόσχευση αυτών των κυττάρων στον κερατοειδή αναπτύσσει εμφανίζει αντιφλεγμονώδη και αντιο-αγγειογενετική δράση και επιδρά σημαντικά στην υποχώρηση της νεοαγγείωσης και θόλωσης, ενώ παράλληλα συμβάλλει στην επούλωση και αποκατάσταση του. Σχετικές έρευνες σε πειραματόζωα (επίμυες) έδειξαν ότι ύστερα από πρόκληση χημικού εγκαύματος η μεταμόσχευση μεσεγγυματικών κυττάρων στον κερατοειδή μείωσε σημαντικά την **φλεγμονή** και την νεοαγγείωση και του μυελού των οστών συνέβαλε στην **αποκατάσταση** του. Στον τομέα αυτό στοχεύει να συμβάλλει και η παρούσα έρευνα. Η αντιφλεγμονώδης και η αντιοαγγειογενετική δράση των μεσεγγυματικών κυττάρων επιτυγχάνεται σε μεγάλο βαθμό με την παρακρινή κινητοποίηση ορισμένων ουσιών (IL-10, TGF-β1, IL-6 και TSP-1)⁶⁹

STEM CELLS THERAPY

D. Almaliotis¹, G. Koliakos^{2,5}, E. Papakonstantinou³, A. Komnenou⁴, A. Thomas⁴, Spiros Petrakis⁵, I. Nakos¹, E. Gounari⁶, V. Karamatakis

- Laboratory of Experimental Ophthalmology, School of Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece*
- Department of Biological Chemistry, School of Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece*
- Department of Pharmacology, School of Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece*
- School of Veterinary Medicine, Faculty of health sciences, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece*
- Biohellenika Biotechnology Company, 57001 Thessaloniki, Greece*
- Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece*

Abstract

The term stem cells (stem cells or progenitor cells, stem cells commonly) there is described a particular type of cell, but a variety of cell types. The most common classification of stem cells is that which separates them into embryonic and adult stem cells. Embryonic stem cells come from em-

bryos and olodynamia, that can give all cell types while having unlimited ability to proliferate in vitro. The adult stem cells from the other are multipotent, meaning they can only give range of cell types of the tissue from which they originate (hematopoietic, liver, muscle, etc.). Drawbacks such as the potential induction of tumor and immune incompatibility with the host in conjunction with the ethical issues that arise in the collection and use of embryonic stem cells, hinder the clinical use of these cells. So the investigations are now turning to adult stem cells in order to identify the different populations in the adult organism and is used directly for restructuring-regeneration of damaged tissues.

Key words: Stem cells, mesenchymatic, embryonic stem cells, adult stem cells.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Becker AJ, McCulloch EA, Till JE. "Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells". *Nature* 197 1963; (4866):452–454. doi:10.1038/197452a0. PMID 13970094.
2. Siminovitch L, McCulloch EA, Till JE. "The distribution of colony-forming cells among spleen colonies". *Journal of Cellular and Comparative Physiology* 1963; 62(3):327–336. doi:10.1002/jcp.1030620313. PMID 14086156.
3. Tuch BE. "Stem cells—a clinical update". *Australian Family Physician* 2006; 35(9):719–721.
4. Beckmann J, Scheitza S, Wernet P, Fischer JC, Giebel B. "Asymmetric cell division within the human hematopoietic stem and progenitor cell compartment: identification of asymmetrically segregating proteins". *Blood* 2007; 109(12):5494–5501. doi:10.1182/blood-2006-11-055921. PMID 17332245.
5. Xie T, Spradling AC. "decapentaplegic is essential for the maintenance and division of germline stem cells in the *Drosophila* ovary". *Cell* 1998; 94(2):251–260. doi:10.1016/S0092-8674(00)81424-5. PMID 9695953.
6. Song X, Zhu CH, Doan C, Xie T. "Germline stem cells anchored by adherens junctions in the *Drosophila* ovary niches". *Science* 2002; 296(5574):1855–1857. doi:10.1126/science.1069871. PMID 12052957.
7. Stem Cell Basics: What are the potential uses of human stem cells and the obstacles that must be overcome before these potential uses will be realized?. In *Stem Cell Information World Wide Web site*. Bethesda, MD: National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services, 2009.
8. Steinberg, Douglas. Stem Cells Tapped to Replenish Organs http://www.thescientist.com/yr2000/nov/research_001127.ht ml, 2000.
9. ISRAEL21c: Israeli scientists reverse brain birth defects using stem cells December. <http://www.israel21c.org/israeli-scientists-reverse-brain-birth-defects-using-stem-cells/>, 2008.
10. Kang KS, Kim SW, Oh YH, Yu JW, Kim KY, Park HK, et al. "A 37-year-old spinal cord-injured female patient, transplanted of multipotent stem cells from human UC blood, with improved sensory perception and mobility, both functionally and morphologically: a case study". *Cytherapy* 2005; 7(4):368–373. doi:10.1080/14653240500238160. PMID 16162459.
11. Strauer BE, Schannwell CM, Brehm M. "Therapeutic potentials of stem cells in cardiac diseases". *Minerva Cardioangiologica* 2009; 57(2):249–267. PMID 19274033.
12. Steinberg Douglas. Stem Cells Tapped to Replenish Organs [the-scientist.com](http://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/13127/title/Stem-Cells-Tapped-to-Replenish-Organs/), <http://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/13127/title/Stem-Cells-Tapped-to-Replenish-Organs/> Nov 2000.
13. DeNoon J. Daniel Hair Cloning Nears Reality as Baldness Cure Web MD. <http://www.webmd.com/skin-problems-and-treatments/hair-loss/news/20041104/hair-cloning-nears-reality-as-baldness-cure>, 2004
14. Yen AH, Sharpe PT. "Stem cells and tooth tissue engineering". *Cell Tissue Res*. 2008; 331(1):359–372. doi:10.1007/s00441-007-0467-6. PMID 17938970.
15. Coghlan Andy "Gene therapy is first deafness 'cure'". *New Scientist*, 2005. *Nature Medicine* (DOI: 10.1038/nm1193).
16. "BBC NEWS - UK - England - Southern Counties - Stem cells used to restore vision" http://news.bbc.co.uk/2/hi/uk_news/england/southern_counties/4495419.stm, 2005.
17. Vastag B (). "Stem Cells Step Closer to the Clinic: Paralysis Partially Reversed in Rats with ALS-like Disease". *JAMA: the Journal of the American Medical Association* 2001; 285(13):1691–1693. doi:10.1001/jama.285.13.1691. PMID 11277806.
18. Anderson, Querida. "Osiris Trumpets Its Adult Stem Cell Product". *Genetic Engineering & Biotechnology News* (Mary Ann Liebert, Inc.). 2008:13.
19. Gurtner GC, Callaghan MJ, Longaker MT. "Progress and potential for regenerative medicine". *Annu. Rev. Med.* 2007;58:299–312. doi:10.1146/annurev.med.58.082405.095329. PMID 17076602.
20. Murnaghan Ian. Stem cells controversy. 2015 <http://www.explorestemcells.co.uk/stemcellcontroversy.html>
21. Bone Marrow Transplantation and Peripheral Blood Stem Cell Transplantation In National Cancer Institute Fact Sheet web site. Bethesda, MD: National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services, 2010. <https://searchworks.stanford.edu/view/8431526>

22. Bubela T, Li MD, Hafez M, Bieber M, Atkins H. "Is belief larger than fact: Expectations, optimism and reality for translational stem cell research". *BMC Med* 2012; 10:133. doi:10.1186/1741-7015-10-133. PMC 3520764. PMID 23131007.
23. Moore, Keith L., T.V.N. Persaud, and Mark G. Torchia. *Before We Are Born: Essentials of Embryology and Birth Defects*. Philadelphia, PA: Saunders, Elsevier. 2013.
24. Greenhough S, Hay DC. "Stem Cell-Based Toxicity Screening: Recent Advances in Hepatocyte Generation". *Pharm Med* 2012; 26(2):85–89. doi:10.1007/BF03256896.
25. Schöler, Hans R. The potential of stem cells: An inventory. In: Knoepffler N, Schipanski D, Sorgner SL, editors. *Human biotechnology as Social Challenge*. England: Ashgate Publishing, Ltd; 2007: 28.
26. Mitalipov S, Wolf D. "Totipotency, pluripotency and nuclear reprogramming". *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology* 2009; 114:185–199.
27. Ulloa-Montoya F, Verfaillie CM, Hu WS. "Culture systems for pluripotent stem cells". *J Biosci Bioeng*. 2005; 100(1):12–27. doi:10.1263/jbb.100.12. PMID 16233846.
28. Friedenstein AJ, Deriglasova UF, Kulagina NN, Panasuk AF, Rudakova SF, Luriá EA, Ruadkow IA. "Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method". *Experimental Hematology* 1974; 2(2):83–92. ISSN 0301-472X. PMID 4455512.
29. Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN. "Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs". *Experimental Hematology* 1976; 4(5):267–274. PMID 976387.
30. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM (). "Blastocysts Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human". *Science* 1998; 282(5391):1145–1147. Bibcode:1998 Sci...282.1145T. doi:10.1126/science.282.5391.1145. PMID 9804556.
31. "Culture of Human Embryonic Stem Cells (hESC)". National Institutes of Health. 2010.
32. Chambers I, Colby D, Robertson M, Nichols J, Lee S, Tweedie S, Smith A. "Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells". *Cell* 2003; 113(5):643–655. doi:10.1016/S0092-8674(03)00392-1. PMID 12787505.
33. Boyer LA, Lee TI, Cole MF, Johnstone SE, Levine SS, Zucker JP, Guenther MG, Kumar RM, Murray HL, Jenner RG, Gifford DK, Melton DA, Jaenisch R, Young RA. "Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells". *Cell* 2005; 122 (6):947–956. doi:10.1016/j.cell.2005.08.020. PMC 3006442. PMID 16153702.
34. Adewumi O, Aflatoonian B, Ahrlund-Richter L, Amit M, Andrews PW, Beighton G, et al. "Characterization of human embryonic stem cell lines by the International Stem Cell Initiative". *Nat. Biotechnol* 2007; 25(7):803–816. doi:10.1038/nbt1318. PMID 17572666.
35. Ron Winslow. "First Embryonic Stem-Cell Trial Gets Approval from the FDA". *The Wall Street Journal*. January 2009.
36. "Embryonic Stem Cell Therapy At Risk? Geron Ends Clinical Trial". *ScienceDebate.com*. 2011.
37. Wu DC, Boyd AS, Wood KJ. "Embryonic stem cell transplantation: potential applicability in cell replacement therapy and regenerative medicine". *Front Biosci* 12 2007; (8–12): 4525–4535. doi:10.2741/2407. PMID 17485394.
38. Ariff Bongso; Eng Hin Lee, ed. (2005). "Stem cells: their definition, classification and sources". *Stem Cells: From Benchtop to Bedside*. World Scientific. 2005:5.
39. Moore, K.L., T.V.N. Persaud, and A.G. Torchia. *Before We Are Born: Essentials of Embryology and Birth Defects*. Philadelphia, PA: Saunders, Elsevier. 8th edition, 2013.
40. "Stem Cells" Mayo Clinic. Mayo foundation for medical education and research n.d Web, 2013. <http://www.mayoclinic.org/tests-procedures/stem-cell-transplant/in-depth/stem-cells/art-20048117>
41. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, et al. "Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow". *Nature* 2002; 418(6893):41–49. doi:10.1038/nature00870. PMID 12077603.
42. Ratajczak MZ, Machalinski B, Wojakowski W, Ratajczak J, Kucia M. "A hypothesis for an embryonic origin of pluripotent Oct-4(+) stem cells in adult bone marrow and other tissues". *Leukemia* 2007; 21(5):860–867. doi:10.1038/sj.leu.2404630. PMID 17344915.
43. Narasipura SD, Wojciechowski JC, Charles N, Liesveld JL, King MR. "P-Selectin coated microtube for enrichment of CD34+ hematopoietic stem and progenitor cells from human bone marrow". *Clin Chem* 2008; 54(1):77–85. doi:10.1373/clinchem.2007.089896. PMID 18024531.
44. William JB, Prabakaran R, Ayyappan S, Puskhinraj H, Rao D, Manjunath SR, et al. "Functional Recovery of Spinal Cord Injury Following Application of Intralesional Bone Marrow Mononuclear Cells Embedded in Polymer Scaffold – Two Year Follow-up in a Canine". *Journal of Stem Cell Research & Therapy* 2011; 1(3).doi:10. 4172/2157-7633.1000110.
45. Terai S, Ishikawa T, Omori K, Aoyama K, Marumoto Y, Urata Y, et al. Improved liver function in patients with liver cirrhosis after autologous bone marrow cell infusion therapy". *Stem Cells* 2006; 24(10):2292–2298. doi:10.1634/stemcells.2005-0542. PMID 16778155.
46. Subramaniyan R, Amalorpavanathan J, Shankar R et al.. "Application of autologous bone marrow mononuclear

cells in six patients with advanced chronic critical limb ischemia as a result of diabetes: our experience". *Cytotherapy* 2011; 13(8):993–999. doi:10.3109/14653249.2011.579961. PMID 21671823.

47. Madhusankar N, Karthik Vaidyanathan, Rajesh V, Prasad GN, Kirtivasan V, Naveen AT, et al. "Use of Bone Marrow derived Stem Cells in Patients with Cardiovascular Disorders". *Journal of Stem Cells and Regenerative Medicine*. 2007;3(1). <http://www.pubstemcell.com/monthly/003010700010.htm>

48. Dedeepiya VD, Rao YY, Jayakrishnan GA, Parthiban JK, Baskar S, Manjunath SR, Senthikumar R, Abraham SJ. "Index of CD34+ Cells and Mononuclear Cells in the Bone Marrow of Spinal Cord Injury Patients of Different Age Groups: A Comparative Analysis". *Bone Marrow Res* 2012; 787414. doi:10.1155/2012/787414. PMC 3398573. PMID 22830032.

49. Gardner RL. "Stem cells: potency, plasticity and public perception". *Journal of Anatomy* 2002; 200(3):277–282. doi:10.1046/j.1469-7580.2002.00029.x. PMC 1570679. PMID 12033732.

50. Behrens A, van Deursen JM, Rudolph KL, Schumacher B. "Impact of genomic damage and ageing on stem cell function". *Nat. Cell Biol.* 2014; 16(3):201–207. doi:10.1038/ncb2928. PMC 4214082. PMID 24576896.

51. Barrilleaux B, Phinney DG, Prockop DJ, O'Connor KC. "Review: ex vivo engineering of living tissues with adult stem cells". *Tissue Eng* 2006; 12(11):3007–3019. doi:10.1089/ten.2006.12.3007. PMID 17518617.

52. Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. "Adipose-derived stem cells for regenerative medicine". *Circ Res* 2007; 100(9):1249–1260. doi:10.1161/01.RES.0000265074.83288.09. PMID 17495232.

53. Yi-Bin Chen "Bone Marrow Transplant". 2015 <https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003009.htm>.

54. Kane, Ed. "Stem-cell therapy shows promise for horse soft-tissue injury, disease". *DVM Newsmagazine*. 2008. <http://veterinarynews.dvm360.com/stem-cell-therapy-shows-promise-horse-soft-tissue-injury-disease?rel=canonical>

55. "Stem Cell FAQ". US Department of Health and Human Services. 2009.

56. De Coppi P, Bartsch G, Siddiqui MM, Xu T, Santos CC, Perin L, et al. "Isolation of amniotic stem cell lines with

potential for therapy". *Nature Biotechnology* 2007; 25(5): 100–106. doi:10.1038/nbt1274. PMID 17206138.

57. "Vatican newspaper calls new stem cell source 'future of medicine'. Catholic News Agency (CNA)". 2010. http://www.catholicnewsagency.com/news/vatican_newspaper_calls_new_stem_cell_source_future_of_medicine/

58. "European Biotech Company Biocell Center Opens First U.S. Facility for Preservation of Amniotic Stem Cells in Medford, Massachusetts". Retrieved 2010. <http://www.prnewswire.com/news-releases/european-biotech-company-biocell-center-opens-first-us-facility-for-preservation-o>

59. "Europe's Biocell Center opens Medford office – Daily Business Update". *The Boston Globe*. 2010.

60. "The Ticker". *BostonHerald.com*. 2009.

61. "Biocell Center opens amniotic stem cell bank in Medford". *Mass High Tech Business News*. 2009.

62. "News" World's First Amniotic Stem Cell Bank Opens In Medford". *wbur.org*. 2010.

63. "Biocell Center Corporation Partners with New England's Largest Community-Based Hospital Network to Offer a Unique... – MEDFORD, Mass., March 8 /PRNewswire/". Massachusetts: *Prnewswire.com*. 2010.

64. "Making human embryonic stem cells". *The Economist*. 2007.

65. Brand, Madeleine, Palca, Joe and Cohen, Alex. "Skin Cells Can Become Embryonic Stem Cells". *National Public Radio*. 2007.

66. "Breakthrough Set to Radically Change Stem Cell Debate". *News Hour with Jim Lehrer*. 2007.

67. "His inspiration comes from the research by Prof Shinya Yamanaka at Kyoto University, which suggests a way to create human embryo stem cells without the need for human eggs, which are in extremely short supply, and without the need to create and destroy human cloned embryos, which is bitterly opposed by the pro life movement." *Highfield, Roger*. 2007.

68. Frozen blood a source of stem cells, study finds. *news-daily.com*. 2010.

69. Oh JY, Kim MK, Shin MS, Lee HJ, Ko JH, Wee WR, et al. The anti-inflammatory and anti-angiogenic role of mesenchymal stem cells in corneal wound healing following chemical injury. *Stem Cells* 2008; 26:1047–1055.