

The possibility of using
mesenchymal stem cells
for veterinary research
and medicine
Part 1

Literature review

Kovács-Haász Veronika^{1*},
Dulka Bettina², Pöstényi Zita¹,
Polyák András¹, Matula Zsolt³,
Szigeti Anna³, Ana Ivanovska⁴,
Thuróczy Julianna², Uher Ferenc⁵,
Német Katalin⁶, Balogh Lajos¹

V. Kovács-Haász^{1*}, B. Dulka²,
Z. Pöstényi¹, A. Polyák¹,
Zs. Matula³, A. Szigeti³,
A. Ivanovska⁴, J. Thuróczy²,
F. Uher⁵, K. Német⁶, L. Balogh¹

1. OKK Országos Sugárbiológiai és
Sugáregészségügy Kutató
Igazgatóság
1221 Budapest, Anna u. 5.

* e-mail: haaszvera@yahoo.com

2. SZIE ÁOTK
Budapest

3. MTA TTK
Budapest

4. University of Parma
Olaszország

5. Országos Vérellátó Szolgálat
Budapest

6. Creative Cell Kft.
Budapest

A mesenchymalis őssejtek felhasználásának lehetőségei az állatorvosi kutatásokban és gyógyításban

I. rész

Irodalmi áttekintés

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők két részes cikksorozatukban irodalmi adatok és saját vizsgálataik, ill. tapasztalataik alapján az első részben bemutatják az őssejtek típusait, valamint részletesen jellemzik a mesenchymalis őssejteket, állatorvosi felhasználásuk lehetőségeit és a kutatások során kapott kísérleti eredményeket, különös tekintettel a donorok életkorára, valamint a saját vagy másik egyedből származó sejtek gyógyászati célú felhasználásának előnyére és hátrányára. A második részben fiatal és idősebb kutyákból származó zsír eredetű mesenchymalis őssejtek szaporodási képességét és a csont irányú differenciáció során kapott saját kísérleti eredményeiket ismertetik.

SUMMARY

In the first part of the two-part article series, based on the literature and their own research and experience, the authors introduce the stem cell types, detailed characteristics of mesenchymal stem cells, as well as the possibility of their veterinary uses and experimental results, particularly regarding the donor's age and the advantages and disadvantages of using allogene or autologue cell source for medical purposes. In the second part their own experimental results presented, the proliferative and the osteogenic differentiation capacity of adipose-derived mesenchymal stem cells from young and older dogs are demonstrated.

KISÁLLAT

A munkacsoportunk e kétrészes közleménysorozat első részében a mesenchymalis őssejtek orvosi, de főként állatorvosi hasznosíthatóságáról szóló ismereteket foglalja össze.

Az őssejtek korlátlan számú osztódásra és önmegújulásra képes, de meghatározott szövetirányú differenciálódásra nem elkötelezett sejtek

A zigóta mindent létrehozni képes totipotens őssejt, míg a blasztociszta belső sejtcsoportjának sejtjei pluripotens, azaz mindhárom csíravonalra jellemző sejteket kialakíthatnak

Az indukált pluripotens őssejteket testi sejtekből állítják elő, visszaprogramozzák őket

AZ ŐSSEJTEK TÍPUSAI

Az őssejtek a fejlődő embrióban, valamint a felnőtt szervezetben is megtalálható, korlátlan számú osztódásra és önmegújulásra képes, de meghatározott szövetirányú differenciálódásra nem elkötelezett sejtek. Egyik fő jellemzőjük az aszimmetrikus osztódás, amely során nemcsak saját magukhoz hasonló sejteket hoznak létre, hanem olyan utódsejteket is, amelyek képesek a szervezet – különböző funkciót ellátó – szomatikus sejtjeivé alakulni (1).

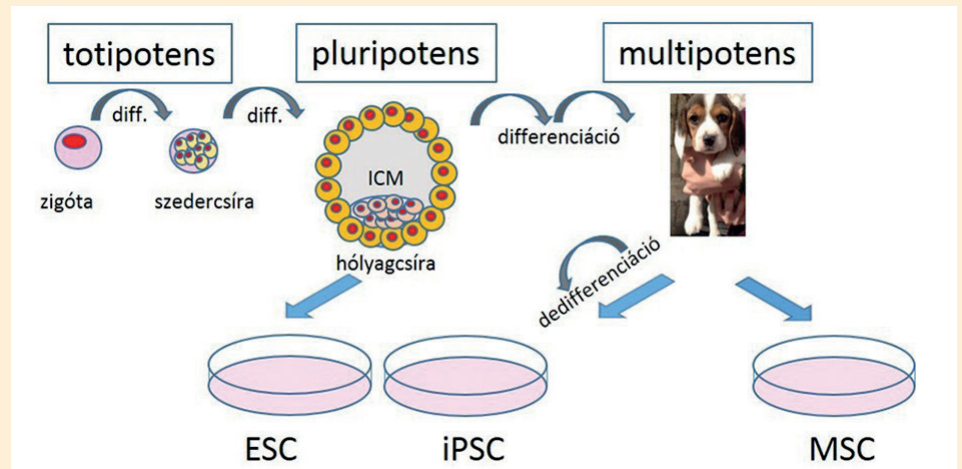
A megtermékenyítés során létrejövő zigóta a szó szoros értelmében a „legtökéletesebb” őssejt, hiszen egyetlen sejtből egy egész élőlény a maga teljességében kifejlődhet. Az embriogenezis folyamatában ez a zigóta elkezd osztódni, egy részük különböző, speciális sejt alakul át (differenciálódik). Ezek a sejtek lesznek azok, amik a szervek, szövetek specifikus, az adott szövettípusra jellemző sejtalakokat létrehozzák, míg egy másik részük megőrzi őssejtjellegét, így továbbra is képes a nem ekvivalens osztódásra, amely során újabb őssejteket és differenciálódott sejteket hoz létre (84).

Az őssejtlétnek, különböző „fokozatai” vannak: a zigóta, a mindent létrehozni tudó, azaz a totipotens őssejt, amelyből az embrió, az extraembrionális képletek, valamint gaméták is képződhetnek. A barázdálódás során a blasztociszta stádiumba kerül, ekkor egy ún. belső sejtcsoport (inner cell mass) képződik, és ebből alakul ki az embrió. Ezen sejtek *in vitro* tenyésztését hívjuk embrionális őssejteknek (ESC – Embryonal Stem Cells). Ezekből az ún. pluripotens sejtekből mindhárom csíravonalra jellemző sejtek kialakulhatnak. Embrionális őssejteket először egerekből izoláltak (17), de létrehoztak ESC-t már patkányból (28), rézusz majomból (65), humán embrióból (66), lóból (38, 55), sertésből (71) macskából (86) és kutyából (25, 56, 70) is.

A fent felsorolt őssejttípusokon kívül meg kell említenünk az iPSCs-t (induced pluripotens stem cells), vagyis az indukált pluripotens őssejteket. Ezeket a sejteket már differenciálódott, testi sejtekből állítják elő, visszaprogramozzák őket abba az ősi állapotba, mikor még nem köteleződtek el valamely differenciálódási irányba. Úgy kapunk tehát „embrionális őssejteket”, hogy nem kell feláldozni hozzá embriókat, ez pedig számos olyan etikai aggályra adhat választ, amely az ESC-k használatával kapcsolatban felmerülhet. Ezzel a technikával ESC-szerű sejtvonalak hozhatók létre olyan állatfajoknál is, amelyeknél az embrionális sejtek izolálása vagy az embrionális sejtvonalak létrehozása nehézségekbe ütközik. A módszert TAKAMASHI és YAMANAKA 2006-ban publikálta: retrovírus transzdukcióval négy transzkripciósfaktort juttattak egér magzati és felnőtt fibroblasztokba (63) vagy humán felnőtt dermális fibroblasztokba (64). A későbbiekben egyre több állatfaj differenciálódott sejtjeiből sikerült a kutatóknak iPSC-tenyészteteket létrehozni: 2008-ban rézusz majom (*Macaca mulatta*) fibroblasztokból (42), 2009-ben patkányból (*Rattus norvegicus*) (39), tibeti minisertésekből (18), sertésből (19), 2010-ben selyemmajomból (80), nyúlból (*Oryctolagus cuniculus*) (26), kutyából (43, 59), 2011-ben ló (46) és hóleopárd (*Panthera uncia*) (74) fibroblasztjaiból előállított iPSC-sejtek előállításáról számoltak be kutatócsoportok (1. ábra).

FELNŐTT SZÖVETI ŐSSEJTEK

Az embriogenezis során a sejtek egyre differenciáltabbak lesznek, és a megszülető élőlény szöveteiben és szerveiben olyan, ún. felnőtt vagy multipotens szöveti őssejteket is találunk, amelyek részlegesen elköteleződtek valamelyik



1. ÁBRA. Az embriogenezis során a sejtek osztódnak, és egyre differenciáltabbak lesznek, egy részük azonban megtartja őssejt alakját. A különböző fejlődési stádiumokban különböző őssejteket lehet szeparálni, amelyeket akár laboratóriumi körülmények között is fenntarthatóak. Pluripotens embrionális őssejteket (ESCs) a hólyagszíra állapotban lévő embrió belső sejtcsomójából lehet nyerni (ICM), indukált pluripotens sejtekhez (iPSC) a már kifejlődött élőlény testi sejtjeiből in vitro visszaprogramozással lehet jutni. Mezenhimális őssejteket pedig a kifejlett élőlény szerveiből vagy szöveteiből lehet kinyerni.

FIGURE 1. During embryogenesis, cells are dividing and become more and more differentiated, however some of them will retain their stemness. At various developmental stages different stem cells can be separated which can be maintained also under laboratory conditions. Pluripotent embryonic stem cells (ESCs) can be separated from the inner cell mass (ICM) of the blastocyst, induced pluripotent cells (iPSC) cells can be obtained from differentiated cells of the organisms by in vitro dedifferentiation. Multipotent mesenchymal stem cells can be obtained from adult organism's organs or tissues.

A multipotens szöveti őssejtekből többféle testi sejtípus alakulhat ki a differenciálódás során

szöveti differenciálódás irányába. Ezekből a sejtekből többféle testi sejtípus alakulhat ki a differenciálódás során.

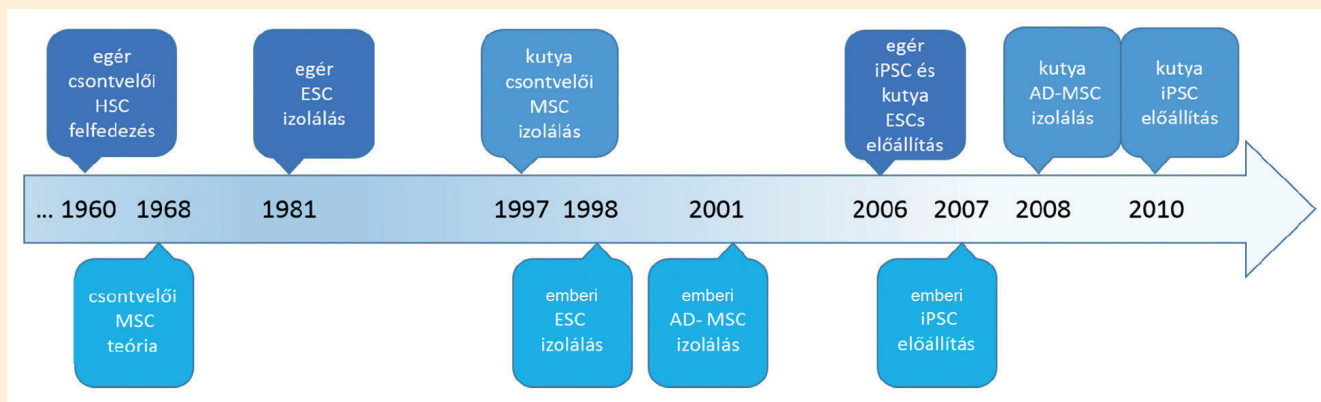
1963-ban jelent meg az a cikk, amelyben arról tudósítanak, hogy egér csontvelében önmegújulásra képes sejteket találtak (5). Ezeket az őssejteket a vérképző rendszer veleszületett (14) és szerzett betegségeinek (pl. multiplex mielóma, leukémia, limfóma) (2) gyógyításában használtak először. A biztonságos, lehető legkevesebb mellékhatással járó hemopoetikus sejttranszplantációs módszerek kidolgozásához a kutya állatmodellen végzett vizsgálatok jelentősen hozzájárultak, mindemellett lehetőséget teremtettek a kutyák körében előforduló hemopoetikus eredetű betegségek gyógyítására is (44). A későbbiekben sikeresen alkalmaztak emberi köldökzsinórvérből (10) és – az őssejt mobilizációja után – a perifériás vérből (kutya esetében is) (2) izolált hemopoetikus őssejteket (HSCs) egyes vérképzőszervi betegségek kezelésére.

1968-ban FRIEDINSTEIN és mtsai írták le, hogy azonosítottak egy olyan őssejt-csoportot, amely a csontvelő hemopoetikus őssejtjei mellett a csontvelő stroma állományában találhatóak (21). Ezeket a sejteket többfajta elnevezéssel illették az évek során, többek között mesenchymalis stromasejteként (MSC, „mesenchymal stromal cells”) vagy multipotens stromasejteként említik őket.

A csontvelői stromasejtekkel kapcsolatos kutatások a következő években nagy lendületet kaptak, mígnem 2001-ben Zuk és mtsai egy újabb szövetfeleségből, emberi zsírszövetből izoláltak először MSC-eket, és ezeket sikerült speciális indukciós faktorokkal zsír, porc, csont és izomsejt irányba differenciáltatniuk (82, 83). Ezek az eredmények újabb lendületet adtak az őssejtkutatásoknak, nem utolsósorban azért, mert zsírszövetmintákhoz sokkal egyszerűbben, általában nagyobb mennyiségben hozzá lehet jutni akár sebészeti úton, akár zsírszívással. Mindez

2. ÁBRA. Az idővonalon néhány fontosabb esemény látható az őssejtek felfedezésének, izolálásának történetéből, egér, ember és kutya vonatkozásában

FIGURE 2. The timeline shows some important events of discovery and isolation of stem cells, in respect of mouse, dog and human



Rövidítések: HSC (Haemopoetic Stem Cell), ESC (Embryonic Stem Cell), AD-MSC (Adipose-derived Mesenchymal Stem Cell), iPSC (induced Pluripotent Stem Cell)

Abbreviations: HSC (Haemopoetic Stem Cell), ESC (Embryonic Stem Cell), AD-MSC (Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cell), iPSC (induced Pluripotent Stem Cell)

a csontvelői minták korlátozott hozzáféréseivel szemben nagy előrelépést jelentett kutatási, valamint potenciális gyógyítási szempontjából (2. ábra).

MESENCHYMALIS ÖSSEJTEK ISZOLÁLÁSA ÉS JELLEMZÉSE

Az MSC elnevezés használata során fordulópontot jelentett, amikor 2006-ban a „The International Society for Cellular Therapy” társaság megfogalmazta, melyek azok a legalapvetőbb kritériumok, amelyek alapján egy sejtpopulációt MSC-nek nevezhetünk. Ezek a következők: 1. standard tenyésztési körülmények között letapadnak a tenyésztőedény aljára, 2. meghatározott felületi antigénnel rendelkeznek (CD105, CD73, CD90), ill. bizonyos felületi antigéneket nem expresszálnak (CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79a, CD19, HLA-DR), 3. különböző mezodermais eredetű sejtje, szövetté zsír-, porc- és csontirányban képesek differenciálódásra (16) (3. ábra).

**Mesenchymalis őssej-
teket számos szövetből
izoláltak kutyák és lovak
esetében is**

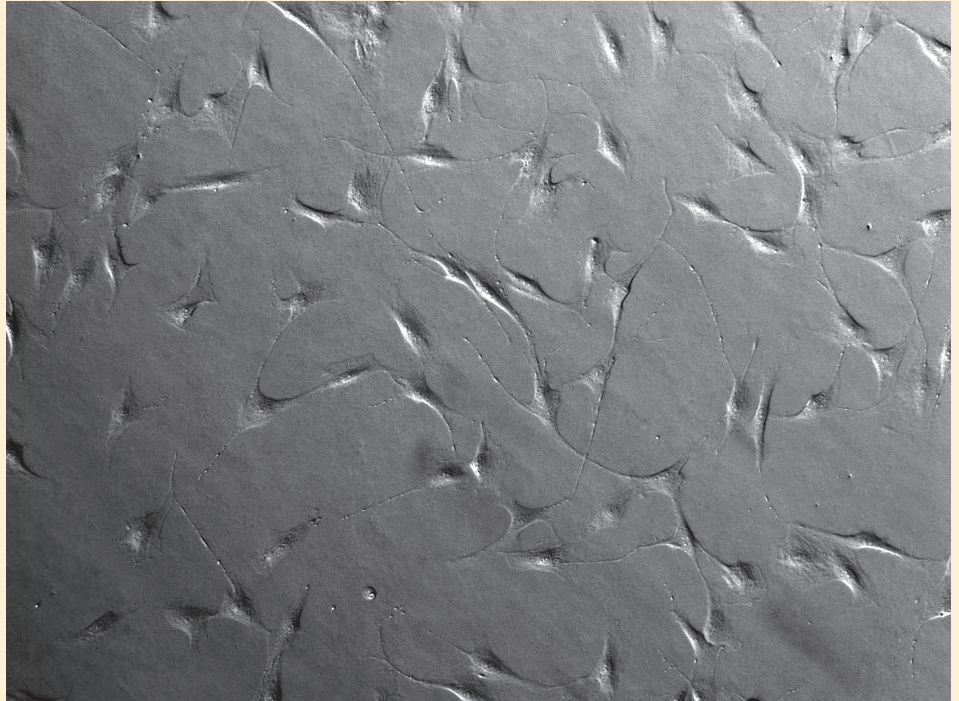
Mesenchymalis őssejteket számos szövetből izoláltak kutyák és lovak esetében is, így csontvelőből (27, 33, 35), zsírszövetből (7, 33, 48), fogbélből (15), periodontalis szalagból (68), perifériás vérből (8), köldökzsinórvérből (33,57), köldökzsinórvénából (85), köldökzsinór Wharton-kocsonyájából (33, 37), amnionmembránból (36), izomból, csonthártyából (35) és hasnyálmirigyből is (22). A zsírszövetből kinyert MSC-k *in vitro* körülmények között jobb csontirányú differenciációt mutatnak, ill. *in vitro* környezetben hasonlóan jó osteogen differenciációs képességgel rendelkeznek, mint a csontvelő eredetű, a Wharton-kocsonyából kinyert és a köldökzsinórvér eredetű MSC-k (33).

KÍSÉRLETI ÁLLATOK AZ MSC-K TERÁPIÁS ALKALMAZÁSÁNAK KUTATÁSÁBAN

Mint általában az orvosi kutatásokban, az őssejtkutatásokban is a rágcsálók a legegyszerűbben hozzáférhető kísérleti állatmodellek, azonban méretüknél fogva, eltérő genetikájuk és rövidebb élettartamuk miatt korlátozott a felhasználásuk. A kutyák sokfajta genetikai rendellenességet hordoznak, amelyek igen hasonlóak

3. ÁBRA. Kutya zsírszövetből izolált letapadó sejttenyészet a második passzálsnál (100x)

FIGURE 3. Plastic adherent cell culture from canine adipose tissue at the 2nd passage (100x)



a emberi megbetegedésekhez (67, 79), valamint hosszabb élettartamuk folytán a lehetséges utánkövetési idő is meghosszabbodhat (13). Ezeknek a megfigyeléseknek az alapján a kutya az őssejtkutatások egyik kedvelt modellállata lett. A MSC-k terápiás lehetőségének vizsgálatára számos betegség modellezésében felhasználtak kutyákat pl. periodontális sérülés helyreállítása mesterséges hordozóanyagok segítségével (68), gerincvelő-sérülésnél (54), infarktus előidézte szívizom-működési zavar helyreállításában (73). Jelentős terápiás cél még a traumás, valamint sebészeti beavatkozást követően kialakult nagyobb csonthiányos területek pótlása hordozóanyagba ültetett, csontirányú differenciálódáson keresztülment vagy osteogenesisre indukált MSC-kel (13, 24, 40, 41, 47, 87). A kutyákon kívül számos társ- és haszonállatot, lovakat, macskákat, (törpe) sertéseket, kecskéket, juhokat, nyulakat stb. használnak a humán klinikai vizsgálatok előszobájának tekinthető preklinikai vizsgálatokhoz az őssejtkutatásokban is.

Alternatív módszerként a spontán beteg állatok állatmodellként való bevonása a kutatásokba a vizsgálatok egy új, etikusabb és hitelesebb modellt nyújtó változatát is jelentik. Szemben a „csupán” kísérleti állatokként tartott állatokkal, a spontán megbetegedésű kedvencek” osztoznak gazdáik – betegséget kiváltó – környezeti, táplálkozási tényezőivel is. Betegségeik kórlefolyásának és kezelésének ennek folytán fontos humán és állatorvosi vonatkozásai vannak (23, 78).

Az OKK OSSKI-ban a kétezres évek óta használnak spontán beteg állatokat új radiofarmakonok és hatóanyag-hordozó nanorészecske-alapú gyógyszerek fejlesztéséhez és tényleges állatorvosi és összehasonlító kórtani vizsgálatokhoz, SPECT és PET képalkotó módszerek felhasználásával (3, 50, 51). Legújabbban az őssejtkutatásokban kívánjuk felhasználni a spontán beteg állatmodellt a regenerációs vagy helyreállító őssejtkezelések állatorvosi célú kifejlesztéséhez, amelyek eredményei – reményeink szerint – hasznosak lesznek a humán őssejtterápiák kidolgozásában is (24).

AZ MSC-K TERÁPIÁS ALKALMAZÁSA AZ ÁLLATGYÓGYÁSZATBAN

Ma már számos országban végeznek őssejtterápiát kis- és nagyállatokon egyaránt. Ezekben a terápiás eljárásokban az állat saját csontvelejéből vagy zsírszövetből

A spontán beteg állatok állatmodellként való bevonása a kutatásokba a vizsgálatok egy új, etikusabb és hitelesebb modellt nyújtó változatát is jelentik

A mesenchymalis őssejtek könnyen izolálhatóak, *in vitro* sejttenyészetben szaporíthatóak és többfajta szöveti irányba differenciálhatóak, parakrín hatásúak

Kutyáknál és macskáknál döntően csont- és ízületi gyulladások kezelésére használják, míg lovaknál ín-, ínszalag-, ill. ízületi sérüléseknél és csonttörések kezelésénél bizonyult eredményesnek

vetéből izolált mesenchymalis őssejteket használnak fel. Az MSC-knek számos kedvező tulajdonsága van, amelyek alkalmassá teszik terápiás alkalmazásokra: könnyen izolálhatóak, *in vitro* sejttenyészetben szaporíthatóak, többfajta szöveti irányba differenciálhatóak, parakrín hatásúak. Immunmoduláló tulajdonságaik és *in vivo* migrációs viselkedésük miatt állnak az érdeklődés középpontjában, valamint az embrionális őssejtek kinyerésével szemben kevesebb etikai aggály merülhet fel (9). A zsírszövetből történő MSC-kinyerést – szemben a csontvelővel – az orvosok általában előnyben részesítik, mivel a zsírhoz könnyebben, nagyobb mennyiségben és minimális beavatkozást igénylő műtéttel hozzá lehet jutni, mindemellett a biológiai viselkedésük, tulajdonságaik igen hasonlóak (62). A módszer lényege, hogy az állatorvos leveszi a szöveti mintát az állattól, és vagy helyben feldolgozzák, vagy elküldik egy központi laborba, ahol megtörténik a szeparáció. A kinyert sejteket injekciós fecskendőben három napon belül visszaküldik az állatorvosnak, aki elvégzi a terápiás beavatkozást. Ez a sejtkórtól nemcsak őssejteket, hanem pericytákat, immunsejteket, fibroblastokat, endothelsejteket, növekedési faktorokat stb. is tartalmazhat, amelyek szintén hozzájárulhatnak az állat gyógyulásához. Az azonnali alkalmazás mellett lehetőség van az izolált sejtek folyékony nitrogénben való tárolására is akár az állat egész élete folyamán, ez pedig lehetővé teszi a saját sejtekkel történő többszöri kezelést is, újabb szöveti mintavétel nélkül. Az állatok fiatal korában levett és folyékony nitrogénben raktározott MSC-k az idősödő, megbetegedett állatok autológ őssejtekkel való kezelésére is alkalmasak. Ezeket a beavatkozásokat többnyire kutyákon, lovakon és macskákon végzik. Kutyáknál és macskáknál döntően csont- és ízületi gyulladások kezelésére használják. Kettős vak kísérletben bebizonyították, hogy az MSC-terápia hatására statisztikailag releváns módon javultak a mozgási paraméterek valamint az állatok életminősége (6, 7). Lovaknál ín, ínszalag, ill. ízületi sérüléseknél és csonttörések kezelésénél bizonyult eredményesnek. Az MSC-terápiát a fentiekén túl gyakran nem önmagában, hanem PRP- (platelet rich plasma) kezeléssel együtt alkalmazzák. Mivel a PRP igen gazdag citokinekben és növekedési faktorokban, az állatok gyógyulási esélyei ezzel a kezeléssel kiegészítve megnövelhetőek (8, 76, 77).

Az MSC-terápia szélesebb körű állatgyógyászati alkalmazása érdekében további klinikai fázisban lévő vizsgálatok is folyamatban vannak: gyulladással járó bélbetegségek gyógyítására, allergén indukálta asztma kezelésére, kutyák krónikus májbetegségének gyógyítására, lovak sportsérülésének kezelésére, a porcok és ízületek gyógyulásának elősegítésére (12). Egy már lezárult placebokontrollált klinikai vizsgálat nem tudott kimutatni szignifikáns javulást a krónikus vesebetegségben szenvedő macskák esetében, zsír eredetű, allogén MSC-k intravénás alkalmazása után, igaz, hogy mellékhatások sem jelentkeztek, a kezelések során. A macskákat 8 hétig vizsgálták csak, ezért a kutatók hosszabb nyomonkövetési időt javasolnak az esetleges jótékony hatás kimutatása érdekében (52).

IDŐS VAGY FIATAL?

Fontos kérdésként merült fel, hogy a donorok életkora befolyásolja-e az MSC-k kinyerhetőségét, szaporíthatóságát és különböző szövetirányú differenciálhatóságát, valamint hatással van-e az *in vivo* regenerációban betöltött képességére. A kérdést megválaszolandó, patkányoknál előidézett szívinfarktust követően a szívizom sérült részének pótlására használtak fel fiatal (8–12 hetes) és idős (24–26 hónapos) állatokból származó csontvelő eredetű MSC-ket. Kimutatták, hogy *in vitro* a fiatal MSC-k jobban tolerálták az apoptotikus folyamatokat és *in vivo* is előbb alakították ki a szívizomra jellemző tubuláris szerkezetet (29).

Fiatal, 6 napos és öreg, 60 napos egerektől származó MSC-k differenciációját összehasonlítva a fiatal egerektől származó minták esetében jelentősebb

zsírsejtirányú differenciációt figyeltek meg. A csontirányú differenciációs képességben azonban nem találtak szignifikáns különbséget a két csoport között (58).

Egy másik kutatócsoport kimutatta, hogy fiatal patkányok fogpulpájából izolált MSC-k nagyobb mértékű proliferációs és gyengébb csontirányú differenciálódási képességgel rendelkeztek, mint a felnőtt egyedekből származó MSC-k (45).

Humán területen is ellentmondásos eredmények születtek: egyes kutatócsoportok nem találtak különbséget a fiatal és idős donorokból nyert csontvelő eredetű MSC-k *in vitro* és *in vivo* csontosodási potenciálja között. Egy másik kísérletben a fiatal donorokból származó MSC-k nagyobb csontosodási hajlamot mutattak (20, 34, 53). Fontos megjegyezni, hogy a különböző kísérleti eredmények abból is adódhatnak, hogy a „fiatal” és „idős” korosztály definiálása az egyes konkrét kísérletekben nem volt azonos. Ahol nem találtak eltérést a differenciációs képességben a korosztályok között, ott a fiatal donorok életkora 18–29 év közé esett, egy másik kísérleti elrendezésben pedig 18–42 év közé. Ahol különbséget találtak, ott 0–18 év, ill. 7–18 év közötti fiatal korosztályokat vizsgáltak a különböző kutatócsoportok (32, 4, 60, 61).

Egyes tanulmányok szerint az *in vitro* öregedés, azaz a testen kívül, sejtenyészetben eltöltött idő, sokkal inkább hatással van az őssejtek differenciációs és proliferatív képességére, mint a donorok életkora (34). Ezt más vizsgálatok is megerősítették, humán csontvelő és a zsír eredetű MSC-eket összehasonlítva azonban úgy tűnik, hogy a zsír eredetű MSC-k proliferációs és osteogen differenciációs potenciáljára az életkor kevésbé van hatással, így bizonyos terápiaiban előnyt élvezhetnek (11).

Az *in vitro* öregedés sokkal inkább hatással van az őssejtek differenciációs és proliferatív képességére, mint a donorok életkora

AUTOLÓG (SAJÁT) ÉS ALLOGÉN (MÁS EGYEDBŐL SZÁRMAZÓ) TRANSZPLANTÁCIÓ

Mint a fentebb hivatkozott tanulmányokból is kiderül, nem egyértelmű, hogy az idősebb egyedekből származó MSC-k minden esetben megfelelőek-e az egyes terápiás eljárásokhoz, valamint előfordulhat, hogy a beteg vagy idős állatokból egyáltalán nem is sikerül megfelelő mennyiségű és minőségű őssejthez hozzájutni. Azt is figyelembe kell venni, hogy az őssejtek szeparálása, izolálása és szaporítása hosszabb időt is igénybe vehet, ami lerövidíthető, ha előzetesen lefagyasztott és megfelelően tárolt sejteket használunk fel. Ezekben az esetekben merülhet fel egy esetleges allogén transzplantáció lehetősége, és mivel az MSC-k immunszuppresszív tulajdonságúak, így gyógyszeres immunszuppresszív terápia nélkül is alkalmasak lehetnek átültetésre (41). Az MSC-k allogén és autológ felhasználásának összehasonlítását néhány esetben kísérletesen is vizsgálták. Lovakat kezeltek csontvelő eredetű, ízületbe injektált MSC-vel. Azoknál az állatoknál, amelyek azonos faj másik egyedétől származó vagy idegen fajtól származó (xenogén) eredetű sejteket kaptak, mérsékelt gyulladást figyeltek meg, azok az állatok viszont, akik a saját sejtjeiket kapták vissza, nem tapasztaltak mellékhatást (49). Beagle kutyáknál lumbális szakaszon előidézett gerincvelő-sérülés esetén, autológ, ill. allogén csontvelő eredetű MSC-kkel kezelték az állatokat. Az autológ és allogén őssejtterápiában részesült kutyáknál is jelentős javulást találtak a kontrollcsoporthoz viszonyítva. A sérült területen sikerült kimutatni a transzplantált őssejteket is egy és négy héttel a transzplantáció után. Az allogén őssejtekkel kezelt csoportban a sérülés helyén azonban a 4. hétre jelentősen csökkent a transzplantált allogén eredetű őssejtek száma, ami azt jelzi, hogy ebben az esetben az őssejtek nem a sérült sejtek pótlásában vettek részt, hanem elsősorban kedvező környezetet teremtettek a regenerációra, immunszuppresszív, gyulladásgátló tulajdonságaik folytán, valamint az általuk termelt neurotrofikus faktorok védő, idegsejtek növekedésére, differenciációjára ható tulajdonságaik által. Autológ őssejtek esetében ezek a neurotrofikus

Allogén eredetű sejtek, szövetek felhasználása esetén különböző betegségek is átjuthatnak, ill. fennáll a kilökődés veszélye és beágyazódásbeli zavarok is előfordulhatnak

faktorok 4 héttel a beültetés után is jelentős mértékben voltak kimutathatók, míg az allogén terápia esetében csökkenő tendenciát mutattak. Az előidézett sérülésből az autológ csontvelői eredetű MSC-terápiában részesült csoport szignifikánsan nagyobb mértékben mutatott felépülést az allogén MSC-terápiában részesült csoporthoz viszonyítva. Azonban ez utóbbi csoport tagjainál se mutatnak ki mellékhatásokat, ám jelentős terápiás hatást sikerült kimutatni a kontrollcsoporthoz viszonyítva (31).

Az önmaguktól nem gyógyuló, kritikus méretű csonthiányok pótlásának egyik gyakran alkalmazott módszere a páciens saját csontjával való pótlás, ám a pótlásra alkalmas szövetek mennyisége limitált, fennáll a donorhely elfertőződésének és elhalásának esélye. Az allogén eredetű sejtek, szövetek felhasználása is jelentős kockázatokat rejthet magában, különböző betegségek átvitelét a donorról a recipiensre, fennáll a kilökődés veszélye és beágyazódásbeli zavarok is előfordulhatnak (81). Alternatív megoldást jelenthet a különböző hordozóra ültetett, csontirányú differenciációra előkezelt őssejtekkel való csontpótlás, amely napjainkban igen intenzíven kutatott téma.

Nyulak sípcsontján kialakított 5 mm-es csonthiány szignifikáns mértékben csontosodott hidroxipatit hordozóra ültetett autológ és allogén csontvelői eredetű MSC-k hatására, a kontrollcsoporthoz képest, ahol csak a hordozóanyagot ültették vissza az állatokba. Az allogén és autológ őssejtet kapott csoportok között nem sikerült jelentős különbséget kimutatni (69). Beagle kutyaon bilaterális, kritikus méretű csonthiányt korall hordozóra ültetett autológ és allogén zsírszövet eredetű, csontirányú differenciáltatáson átesett őssejtekkel kezeltek. Egy egyedbe vagy allogén és autológ eredetű MSC, vagy allogén MSC és a csupasz hordozóanyag került. 24 hét elteltével a csontosodás gyulladás és lymphocita infiltráció nélkül ugyanolyan mértékben ment végbe a saját és idegen egyedből származó sejtek esetében egyaránt, a csupasz hordozóanyag esetében azonban csak egy vékony, fibrózus szövet alakult ki. A kezelés során nem alkalmaztak immunuszuppresszív terápiát, ennek ellenére nem alakult ki szisztémás immunreakció (41). A fluoreszcensen jelölt őssejteket sikerült kimutatni mindkét esetben az újonnan formálódó csontban. A fentebb ismertetett összehasonlító vizsgálatokban nem találtak különbséget a saját, ill. idegen egyedből származó MSC-k *in vivo* csontregenerációs képessége között.

Ezen kísérleti eredményeket figyelembe véve lehetségesnek tűnik, hogy olyan esetekben, ahol a gyógyulási esély kisebb saját őssejtekkel, vagy az időkorlát szűkre szabott, ott figyelembe vegyük az allogén őssejtterápia lehetőségét is.

AZ MSC-TERÁPIÁK JÖVŐJE

Az előbbiekben ismertetett csodás kísérleti eredmények és kezelési sikertörténetek sokak számára hihetetlennek vagy hiteltelennek tűnhetnek, és gyanakodásra adhatnak okot. Természetes, hogy a kisállatok gyógyításából, őssejtekkel való kezeléséből anyagi hasznot remélő klinikák a legkedvezőbb fényben tüntetik fel a kezeléseket sikerességét. Az első amerikai cég által kínált zsír eredetű MSC-terápiák megkezdése után megjelentek az első cikkek is – az őssejtkezeléseket kínáló cég által szponzorálva –, amelyekben kettős vak kísérletben, placebokontrollt használva, több vizsgálati centrumban elvégzett vizsgálatok eredményeit közlik. A kezelésben részesülő spontán beteg kutya autológ AD-MSC (Adipose-derived; zsír-eredetű MSC) injekciót kaptak a csípőízületbe, míg a kontrollállatok placebót. Az állatokat minden esetben állatorvos vizsgálta különböző paraméterek alapján határozva meg az állat állapotát egy skálán, és szignifikáns javulást tapasztaltak a placebót kapotthoz viszonyítva (6). Autológ AD-MSC-injekció és PRP hatását vizsgálták kontrollált, vak kísérletben szintén

**Emberek kezelésére
a mai napig
egyetlen olyan
MSC-készítmény van,
amelyet engedélyeztek**

csípőízületi gyulladásban. Egy mérőműszert alkalmaztak a kezelés hatékonyságának objektívebb kiértékeléséhez és mérték a végtagok mozgási funkciójának változását. Ebben az esetben is szignifikáns javulást tapasztaltak a kontrollcsoporthoz képest (77). Úgy tűnik, hogy az MSC-terápiára megvan a megfelelő kereslet, egyre újabb cégek alakulnak, és a kezelt állatok száma is egyre növekszik. Mi a probléma mégis? A kételkedőket a szigorú ellenőrzési körülmények között lefolytatott klinikai kísérletek eredményei fogják talán meggyőzni. Az elvégzett vizsgálatok között található olyat is, amivel nem sikerült bizonyítani az adott terápia sikerességét pl. krónikus vesebetegségben szenvedő macskák kezelésében (52). Ily módon talán hitelesebbek lesznek a kezelések, és kizárhatók lesznek azok, amelyeknek nincs hatásuk az adott betegségre az adott őssejttypust vagy protokollt használva. A sokkal szigorúbban szabályozott emberi őssejtkezelések területén lassú az előrehaladás, a sok ezer futó és már elvégzett humán klinikai vizsgálat egyelőre kevés pozitív eredményt tud felmutatni. Az USA-ban az őssejtek forgalomba hozataláért – ugyanúgy, mint egyéb termékek esetében, amelyek orvosi kúrát, kezelést vagy megelőzést szolgálnak – Food and Drug Administration (FDA) szervezet jóváhagyása szükséges. A mai napig egyetlen olyan őssejtkészítmény van, amelyet engedélyeztek, egy köldökzsinór eredetű, hemo-poetikus progenitor sejteket tartalmazó készítményt, amely bizonyos vérképzőszervi megbetegedések esetén lehet hatásos. 2012-ben Kanadában engedélyezték az első emberi csontvelőből izolált MSC-ket tartalmazó sejt-készítményt csontvelőtranszplantált gyerekek, szteroidrezisztens graft-versus-host betegségének (GvHD) kezelésére. A nemzetközi, humán klinikai vizsgálatok között találunk azonban olyan lezárt vizsgálatokat, amelyek bizakodásra adhatnak okot: egy fázis 2-es lezárt vizsgálatban allogén csontvelő eredetű MSC-k hatását vizsgálták csont- és ízületi gyulladásban szenvedő betegek kezelésénél, ahol a hialuronsavval kezelt kontrollcsoporthoz képest szignifikáns javulást mutatott a térdízületi porcfelszínnek minősége (72). Hasonló eredményre jutottak autológ AD-MSC-k használatával, ahol a fázis 1-2-es klinikai vizsgálatban a térdízület funkciója javult, a porcfelszíni károsodások mértéke és a fájdalom is csökkent a kezelt betegeknél (30). Természetesen igen sok kérdés vár még megválaszolásra. Többek között, hogy mely testtájakra, mely szövetfeleségekből és donoroktól származó őssejtek felhasználása eredményezi a leghatásosabb terápiás hatást és a legkevesebb mellékhatást a különböző betegségek esetében. Bízunk benne, hogy a mind nagyobb számban és kellő alapossággal elvégzett vizsgálatok megmutatják, hogy a különböző őssejtterápiáknak – köztük az MSC-kezeléseknek – milyen minőségű és súlyosságú betegségek kezelésében lehet valódi szignifikáns hatása. Sok kutatás és vizsgálat szükséges még ahhoz, hogy a laboratóriumban működő kísérletekből kellő tudományos megalapozottsággal alátámasztott, biztonságos, valódi gyógyulást elősegítő terápiák legyenek.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A szerzők köszönetüket fejezik ki TEMESI ANDREÁNAK, hogy rendelkezésükre bocsátotta a kiskutya fényképét.

IRODALOM

1. APÁTI Á. – UHER F. – SARKADI B.: Őssejtek a kutatásban és az orvosi gyakorlatban. http://mta.hu/data/cikk/12/69/41/cikk_126941/4..Fej-IUdesbiologia,_embriologia,_Ussejt/Ussejt.pdf
2. APPELBAUM, F. R. – DEEG, H. J. et al.: Cure of malignant lymphoma in dogs with peripheral blood stem cell transplantation. *Transplantation*, 1986. 42. 19–22.
3. BALOGH, L. – THURÓCZY, J. – ANDÓCS, G. – MÁTHÉ, D. – CHAUDHARI, P. – PERGE, E. – BIKSI, I. – POLYÁK, A. – KIRÁLY, R. – JÁNOKI, G. A.: Sentinel lymph node detection in canine oncological patients. *Nucl. Med. Rev.*, 2002. 5. 139–44.
4. BAXTER, M. A. – WYNN, R. F. et al.: Study of Telomere Length Reveals Rapid Aging of Human Marrow Stromal Cells following In Vitro Expansion. *Stem Cells*, 2004. 22. 675–682.

5. BECKER, A. J. – McCULLOCH, E. A. et al.: Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells. *Nature*, 1963. 197. 452–454.
6. BLACK, L. L – GAYNOR, J. et al.: Effect of adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on lameness in dogs with chronic osteoarthritis of the coxofemoral joints: a randomized, double-blinded, multicentre, controlled trial. *Vet. Ther.*, 2007. 8. 272–284.
7. BLACK, L. L – GAYNOR, J. et al.: Effect of intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on clinical signs of chronic osteoarthritis of the elbow joint in dogs. *Vet. Ther.*, 2008. 9. 192–200.
8. BROECKX, S. – ZIMMERMAN, M. et al.: Regenerative Therapies for Equine Degenerative Joint Disease. A Preliminary Study. *PLoS One*, 2014. 9. e85917.
9. BROOKE, G. – COOK, M. et al.: Therapeutic application of mesenchymal stromal cells. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 2007. 18. 846–858.
10. BROXMEYER, H. E. – GLUCKMAN, E. et al.: Human Umbilical Cord Blood: A Clinically Useful Source Of Transplantable Hematopoietic Stem/Progenitor Cells. *Int. J. Cell Cloning*, 1990. 8. 76–89.
11. CHEN, H. T. – LEE, M. J. et al.: Proliferation And Differentiation Potential Of Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Isolated From Elderly Patients With Osteoporotic Fractures. *J. Cell. Mol. Med.*, 2012. 16. 582–593.
12. <http://csu-cvmb.colostate.edu/academics/clinsci/cirm/Pages/Stem-Cell-Therapy.aspx>
13. CUI, L. – LIU, B. et al.: Repair of cranial bone defects with adipose derived stem cells and coral scaffold in a canine model. *Biomaterials*, 2007. 5477–5486.
14. DICKE, K. A. – VAN BEKKUM, D. W. et al.: Transplantation of haemopoietic stem cell (HSC) concentrates for treatment of immune deficiency disease. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1973. 29. 337–342.
15. DISSANAYAKA, W. L. – ZHU, X. et al.: Characterization of Dental Pulp Stem Cells Isolated from Canine Premolars. *J. Endodont.*, 2011. 37. 1074–80.
16. DOMINICI, M. – LE BLANC, K. et al.: Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 2006. 8. 315–317.
17. EVANS, M. J. – KAUFMAN, M. H.: Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos. *Nature*, 1981. 292. 154–156.
18. ESTEBAN, M. A. – XU, J. et al.: Generation of induced pluripotent stem cell lines from Tibetan miniature pig. *J. Biol. Chemistry*, 2009. 284. 17634–17640.
19. EZASHI, T. – TELUGU, B. P. et al.: Derivation of induced pluripotent stem cells from pig somatic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2009. 106. 10993–8.
20. FEHRER, C. – LEPPERDINGER, G. et al.: Mesenchymal stem cell aging. *Exp. Gerontol.*, 2005. 40. 926–930.
21. FRIEDENSTEIN, A. J. – PETRAKOVA, K. V. et al.: Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues. *Transplantation*, 1968. 230–247.
22. GOPURAPPILLY, R. – BHAT, V. et al.: Pancreatic tissue resident mesenchymal stromal cell (MSC) -like cells as a source of *in vitro* islet neogenesis. *J. Cell. Biochem.*, 2013. 114. 2240–2247.
23. GRANGER, N. – BLAMIRE H. et al.: Autologous olfactory mucosal cell transplants in clinical spinal cord injury: a randomized double-blinded trial in a canine translational model. *Brain*, 2012. 135. 3227–3237.
24. HAÁSZ, V. – PÖSTÉNYI, Z. – POLYÁK, A. – SZIGETI, A. – TÁTRAI, P. – NÉMET, K. – BALOGH, L.: Osteogenic differentiation of canine adipose derived mesenchymal stem cells on chitosan scaffold. *Nuc. Med. Rev.*, 2013. 16. Suppl. A.
25. HATOYA, S. – TORII, R. et al.: Isolation and characterization of embryonic stem-like cells from canine blastocysts. *Mol. Reprod. Dev.*, 2006. 73. 298–305.
26. HONDA, A. – HIROSE, M. et al.: Generation of induced pluripotent stem cells in rabbits: potential experimental models for human regenerative medicine. *J. Biol. Chem.*, 2010. 285. 31362–31369.
27. HODGKISS-GEEREA H. M. – ARGYLEA D. J. et al.: Characterisation and differentiation potential of bone marrow derived canine mesenchymal stem cells. *Vet. J.*, 2012. 194. 361–368.
28. IANACCONE, P. M. – TABORN, G. U. et al.: Pluripotent embryonic stem cells from the rat are capable of producing chimeras. *Dev. Biol.*, 1994. 163. 288–292.
29. JIANG, S. – KH HAIDER, H. et al.: Transcriptional profiling of young and old mesenchymal stem cells in response to oxygen deprivation and reparability of the infarcted myocardium. *J. Mol. Cell Cardiol.*, 2008. 44. 582–596.
30. JO, C. H. – LEE, Y. G. et al.: Intra-articular injection of mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis of the knee: a proof-of-concept clinical trial. *Stem Cells*, 2014. 32. 1254–1266.
31. JUNG, D. I. – HA, J. et al.: A comparison of autologous and allogenic bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation in canine spinal cord injury. *J. Neurolog. Sci.*, 2009. 285. 67–77.
32. JUSTESEN, J. K. – STENDERUP, K. et al.: Maintenance of osteoblastic and adipocytic differentiation potential with age and osteoporosis in human marrow stromal cell cultures. *Calcif. Tissue Int.*, 2002. 71. 36–44.
33. KANG, B. J. – RYU, H. H. et al.: Comparing the osteogenic potential of canine mesenchymal stem cells derived from adipose tissues, bone marrow, umbilical cord blood, and Wharton's jelly for treating bone defects. *J. Vet. Sci.*, 2012. 13. 299–310.
34. KIM, M. – KIM, C. et al.: Age-related alterations in mesenchymal stem cells related to shift in differentiation from osteogenic to adipogenic potential: Implication to age-associated bone diseases and defects. *Mech. Ageing Dev.*, 2012. 133. 215–225.
35. KISIEL, A. H. – McDUFFEE, L. A. et al.: Isolation, characterization, and *in vitro* proliferation of canine mesenchymal stem cells derived from bone marrow, adipose tissue, muscle, and periosteum. *Am. J. Vet. Res.*, 2012. 73. 1305–1317.
36. LANGE-CONSIGLIO, A. – TASSAN, S. et al.: Investigating the efficacy of amnion-derived compared with bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in equine tendon and ligament injuries. *Cytotherapy*, 2013. 15. 1011–1102.
37. LEE, K. S. – NAH, J. J. et al.: Maintenance and characterization of multipotent mesenchymal stem cells isolated from canine umbilical cord matrix by collagenase digestion. *Res. Vet. Sci.*, 2013. 94. 144–151.
38. LI, X – ZHOU, S. G. et al.: Horse embryonic stem cell lines from the proliferation of inner cell mass cells. *Stem Cells Develop.*, 2006. 15. 523–531.
39. LIAO, J. – CUI, C. et al.: Generation of induced pluripotent stem cell lines from adult rat cells. *Cell Stem Cell*, 2009. 4.11–415.
40. LIAO, Y. – ZHANG, X. L. et al.: Stem cell therapy for bone repair:

a systematic review and meta-analysis of preclinical studies with large animal models. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 2014. 78. 718–726.

41. LIU, G. – ZHANG, Y. et al.: Bone regeneration in a canine cranial model using allogenic adipose derived stem cells and coral scaffold. *Biomaterials*, 2013. 34. 2655–2664.

42. LIU, H. – ZHU, F. et al.: Generation of induced pluripotent stem cells from adult rhesus monkey fibroblasts. *Cell Stem Cell*, 2008. 3. 587–590.

43. LUO, J. – SUHR, S. T. et al.: Generation of Leukemia Inhibitory Factor and Basic Fibroblast Growth Factor-Dependent Induced Pluripotent Stem Cells from Canine Adult Somatic Cells. *Stem Cells Dev.*, 2011. 20. 1669–1678.

44. LUPU, M. – STORB, R.: Five decades of progress in hematopoietic cell trans-plantation based on the preclinical canine model. *Vet. Comp. Oncol.*, 2007. 5. 14–30.

45. MA, D. – MA, Z. et al.: Effect of age and extrinsic microenvironment on the proliferation and osteogenic differentiation of rat dental pulp stem cells *in vitro*. *Basic Res. Biology*, 2009. 35. 1546–1553.

46. NAGY, K. – SUNG, H. et al.: Induced Pluripotent Stem Cell Lines Derived from Equine Fibroblasts. *Stem Cell Rev.*, 2011. 7. 693–702.

47. NASSIF, L. – JURJUS, A. et al.: Enhanced *in vivo* bone formation by bone marrow differentiated mesenchymal stem cells grown in chitosan scaffold. *J. Bioeng. Biomed. Sci.*, 2012. 2. 1–6.

48. NEUPANE, M. – CHANG, C. C. et al.: Isolation and characterization of canine adipose-derived mesenchymal stem cells. *Tissue Engin.*, 2008. 14. 1007–1015.

49. PIGOTT, J. H. – ISHIHARA, A. et al.: Inflammatory effects of autologous genetically modified autologous, allogeneic, and xenogeneic mesenchymal stem cells after intra-articular injection in horses. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.*, 2013. 26. 453–60.

50. PÖSTÉNYI, Z. – HAÁSZ, V. – POLYÁK, A. – MÁRIÁN, T. – GARAI, I. – GALUSKA L. – BALKAY, L. – TRENCSENYI, Gy. – NAGY, T. – SZABÓ, J. – JANOKI, Gy. – JANOKI, G. – TÖRÖK, R. – THURÓCZY, J. – BALOGH, L.: PET/CT imaging in dogs and cats – the feasibility and radiotoxicological aspects. *Mont XVII. Congress Nucl. Med. Rev.*, 2011. 14., Sup A. P19.

51. POLYAK, A. – HAJDU, I. – BOGNAR, M. – DABASI, G. – JOBA, P. R. – BORBELY, J. – BALOGH, L.: Folate receptor targeted self-assembled chitosan-based nanoparticles for SPECT/CT imaging: Demonstrating a preclinical proof of concept. *Int. J. Pharm.*, 2014. 474. 91–94.

52. QUIMBY J. M. – WEBB T. L. et al.: Assessment of intravenous adipose-derived allogeneic mesenchymal stem cells for the treatment of feline chronic kidney disease: a randomized, placebo-controlled clinical trial in eight cats. *J. Feline Med. Surg.*, 2016. 18. 165–171.

53. ROOBROUCK, V. D. – ULLOA-MONTOYA, F. et al.: Self-renewal and differentiation capacity of young and aged stem cells. *Exp. Cell Res.*, 2008. 314. 1937–1944.

54. RYU, H. H. – KANG, B. J. et al.: Comparison of mesenchymal stem cells derived from fat, bone marrow, Wharton's jelly, and umbilical cord blood for treating spinal cord injuries in dogs. *J. Vet. Med. Sci.*, 2012. 74. 1617–1630.

55. SAITO, S. – UGAI, H. et al.: Isolation of embryonic stem-like cells from equine blastocysts and their differentiation *in vitro*. *FEBS Letters*, 2002. 531. 389–396.

56. SCHNEIDER, M. R. – WOLF, E.: Canine embryo-derived stem cells and models for human diseases. *Hum. Mol. Genet.*, 2008. 17. R42–R47.

57. SEO, M. S. – JEONG, Y.-H. et al.: Isolation and characterization of canine umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. *J. Vet. Sci.*, 2009. 10. 181–87.

58. SHI, Y. Y. – NACAMULI, R. P. et al.: The osteogenic potential of adipose-derived mesenchymal cells is maintained with aging. *Plast. Reconstr. Surg.*, 2005. 116. 1686–96.

59. SHIMADA, H. – NAKADA, A. et al.: Generation of canine induced pluripotent stem cells by retroviral transduction and chemical inhibitors. *Mol. Reprod. Dev.*, 2010. 77. 2.

60. STENDERUP, K. – JUSTESEN, J. et al.: Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells. *Bone*, 2003. 33. 919–926.

61. STOLZING, A. – JONES, E. et al.: Age-related changes in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells: consequences for cell therapies. *Mech. Ageing Dev.*, 2008. 129. 163–173.

62. STRIOGA, M. – VISWANATHAN, S. et al.: Same or not the same? Comparison of adipose tissue-derived versus bone marrow-derived mesenchymal stem and stromal cells. *Stem Cells Dev.*, 2012. 21. 2724–2752.

63. TAKAHASHI, K. – YAMANAKA, S.: Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*, 2006. 126. 663–676.

64. TAKAHASHI, K. – TANAB, K. et al.: Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. *Cell*, 2007. 131. 861–872.

65. THOMSON, J. A. – KALISHMAN, J. et al.: Isolation of a primate embryonic stem cell line. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995. 92. 7844–7848.

66. THOMSON, J. A. – ITSKOVITZ-ELDOR, J. et al.: Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 1998. 282. 1145–1147.

67. TSAI, K. L. – CLARK, L. A. et al.: Understanding hereditary diseases using the dog and human as companion model systems. *Mamm. Genome*, 2007. 18. 444–451.

68. TSUMANUMA, Y. – IWATA, T. et al.: Comparison of different tissue-derived stem cell sheet for periodontal regeneration in a canine 1-wall defect model. *Biomaterials*, 2001. 32. 5819–5825.

69. UDEHIYA, R. K. – AMARPAL et al.: Comparison of autogenic and allogenic bone marrow derived mesenchymal stem cells for repair of segmental bone defects in rabbits. *Res. Vet. Sci.*, 2013. 94. 743–752.

70. VAAGS, A. K. – ROSIC-KABLAR S. et al.: Derivation and characterization of canine embryonic stem cell lines with *in vitro* and *in vivo* differentiation potential. *Stem Cells*, 2009. 27. 329–40.

71. VACKOVA, I. – UNGROVA, A. et al.: Putative embryonic stem cell lines from pig embryos. *J. Reprod. Dev.*, 2007. 53. 1137–1149.

72. VEGA, A. – MARTÍN-FERRERO M. A. et al.: Treatment of Knee Osteoarthritis With Allogeneic Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells: A Randomized Controlled Trial. *Transplantation*, 2015. 99. 1681–1690.

73. VELA, D. C. – SILVA, G. V. et al.: Histopathological study of healing after allogenic mesenchymal stem cell delivery in myocardial infarction in dogs. *J. Histochem. Cytochem.*, 2009. 57. 167–176.

74. VERMA, R. – HOLLAND, M. K. et al.: Inducing Pluripotency In Somatic Cells From The Snow Leopard (*Panthera Uncia*), An Endangered Felid. *Theriogenology*, 2012. 77. 220–228.

75. VIEIRA, N. M. – BRANDALISE, V. et al.: Isolation, characterization, and differentiation potential of canine adipose-derived stem cells. *Cell Transplant*, 2010. 19. 279–289.

76. VILAR, J. M. – BATISTA, M. et al.: Assessment of the effect of intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells in osteoarthritic dogs using a double blinded force platform analysis. *BMC Vet. Res.*, 2014. 10. 143.
77. VILAR, J. M. – MORALES, M. et al.: Controlled, blinded force platform analysis of the effect of intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells associated to PRGF-Endoret in osteoarthritic dogs. *BMC Vet Res*, 2013. 9. 131.
78. VOLK, S. W. – THEORET, C.: Translating stem cell therapies: the role of companion animals in regenerative medicine. *Wound Repair Regen.*, 2013. 21. 382–394.
79. WAYNE, R. K. – OSTRANDER, E. A.: Lessons learned from the dog genome. *Trends. Genet.*, 2007. 23. 557–567.
80. WU, Y. – ZHANG, Y. et al.: Generation of induced pluripotent stem cells from newborn marmoset skin fibroblasts. *Stem Cell Res.*, 2010. 4. 180–188.
81. ZOMORODIAN, E. – ESLAMINEJAD, M. B.: Mesenchymal stem cells as a potent cell source for bone regeneration. *Stem Cell Int.*, 2012. 980353.
82. ZUK, P. A. – ZHU, M. et al.: Multilineage Cells from Human Adipose Tissue: Implications for Cell-Based Therapies. *Tissue Engin.*, 2001. 7. 211–228.
83. ZUK, P. A. – ZHU, M.: Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol. Biol. Cell*, 2002. 13. 4279–4295.
84. ZUK, P. A.: The Adipose-derived Stem Cell: Looking back and looking ahead. *Mol. Biol. Cell*, 2010. 21. 1783–1787.
85. ZUCCONI, E. – VIERIA, N. M. et al.: Mesenchymal stem cells derived from canine umbilical cord vein- A novel source for cell therapy studies. *Stem Cells Dev.*, 2010. 19. 3.
86. YU, X – JIN, G. et al.: Isolation and characterization of embryonic stem-like cells derived from *in vivo*-produced cat blastocysts. *Mol. Reprod. Dev.*, 2008. 75. 1426–14432.
87. YUAN, J. – CUI, L. et al.: Repair of canine mandibular bone defects with bone marrow stromal cells and porous β -tricalcium phosphate. *Biomaterials*, 2007, 28. 1005–1013.
- Közlésre érkező: 2015. okt. 6.