



MVDr. Miroslav Trunda,
praktický veterinární lékař se zaměřením na choroby koní, vedoucí laboratoře ČGB

Kmenové buňky a jejich využití ve veterinární medicíně

M.TRUNDA, K. PAVELCOVÁ, R. KLUBAL

Česká genetická banka spol. s r. o.

SOUHRN

Trunda M., Pavelcová K., Klubal R. **Kmenové buňky a jejich využití ve veterinární medicíně.** Veterinářství 2014;64:124-130.

Článek je věnován problematice kmenových buněk. Diskutovány jsou různé typy kmenových buněk, jejich zdroj, zpracování a následné terapeutické použití. Klinická část je zaměřena na využití mezenchymálních kmenových buněk v oblasti tendinopatií u koní.

SUMMARY

Trunda M., Pavelcová K., Klubal R. **Stem cells and their use in veterinary medicine.** Veterinářství 2014;64:124-130.

The article is devoted to the issue of stem cells. There are also discussed different types of stem cells, source of stem cells, processing and therapeutic use for veterinary medicine. Case report is focused on the use of mesenchymal stem cells in tendinopathy in horses.

Úvod

V posledních dvaceti letech došlo k výrazným změnám ve veterinární praxi. Skot a další hospodářská zvířata byly vytlačeny z centra pozornosti veterinární medicíny zvířaty chovanými v zájmovém chovu, jako jsou psi, kočky a různé druhy exotických zvířat. Se stále se zvětšující koňskou populací souvisí také velký rozvoj hipiatrické medicíny.

V souvislosti s prodlužující se délkou života zájmových zvířat přibývá geriatrických pacientů, častěji se objevují případy koní zraněných při sportu a zvyšuje se počet diagnostikovaných chorob souvisejících s poruchou imunity. Regenerační medicína využívající kmenové buňky představuje možnost nové terapie u řady chorob a zranění. Důležitým předpokladem pro úspěšnost terapie kmenovými buňkami je pochopení patofyziologie nemoci, regeneračního procesu a základních informací o rozdělení a diferenciačních vlastnostech jednotlivých druhů kmenových buněk.^{1,2,3}

Základní klasifikace kmenových buněk

Existuje pět velkých skupin kmenových buněk: **Embryonální kmenové buňky (ESC)**, které jsou přítomny ve vnitřní buněčné mase zárodku

a mohou se diferencovat v základní zárodečné listy (endoderm, mezoderm a ektoderm), **hematopoetické (krvetvorné) kmenové buňky (HPSC)** a **dospělé (somatické) kmenové buňky (ASC)**, které jsou zodpovědné za udržování normální struktury tkáně. Dále existují **nádorové kmenové buňky (CSC)** a **indukované pluripotentní kmenové buňky (iPSC)**.^{4,5,6}

Klasifikace kmenových buněk na základě diferenciačního potenciálu

Schopnost diferenciace je jednou z hlavních charakteristik kmenových buněk. Diferenciační vlastnosti kmenových buněk závisí hlavně na původu kmenových buněk. Všechny kmenové buňky lze rozdělit podle jejich diferenciačního potenciálu do pěti skupin: totipotentní nebo omnipotentní, pluripotentní, multipotentní, oligopotentní a unipotentní.⁷

Totipotentní kmenové nebo **omnipotentní** kmenové buňky jsou nediferencované buňky a jsou uvedeny na začátku vývoje. Oplodněný oocyt a buňky prvních dvou dělení jsou totipotentní buňky. Prvně se tyto buňky diferencují do embryonální a extraembryonální tkáně, čímž se vytvoří embryo a placenta.

Tab. 1 – Rozdělení kmenových buněk dle schopnosti diferenciaci

Kmenová buňka	Schopnost diferenciaci	Příklad
Totipotentní	jákýkoli typ buňky	oplozený oocyt
Pluripotentní	jákýkoli typ buňky kromě tvorby trofoblastu	embryonální kmenové buňky
Multipotentní	více buněčných typů	mezenchymální kmenové buňky
Oligopotentní	dva nebo více buněčných typů	krvetočné kmenové buňky
Unipotentní	jeden buněčný typ	spermatogonie

Pluripotentní kmenové buňky jsou schopné se diferencovat do buněk, které vznikají ze tří zárodečných listů (ektodermu, endodermu nebo mezodermu), z nichž se vyvíjí všechny tkáně a orgány.

Multipotentní kmenové buňky se nacházejí ve většině tkání a diferencují se do buněk z jedné zárodečné vrstvy. Mezenchymální kmenové buňky (MSCs) jsou nejznámější multipotentní kmenové buňky, které vznikají z mezodermu.

Oligopotentní kmenové buňky mají schopnost sebeobnovy a tvorby dvou nebo více linií v rámci specifické tkáně. Krvetočné kmenové buňky jsou typickým příkladem oligopotentních kmenových buněk.

Unipotentní kmenové buňky se mohou také samy obnovovat, ale diferencovat se mohou pouze do jednoho určitého typu buněk, které tvoří jednu linii.

Mezenchymální kmenové buňky (MSCs)

Mezenchymální kmenové buňky (MSCs) jsou multipotentní kmenové buňky, které jsou schopny sebeobnovy a nacházejí se hlavně v kostní dřeni. Dalšími zdroji jsou např. tuková tkáň nebo periferní krev.^{8,9} Předpokládá se, že MSCs jsou zbytky embryonálních kmenových buněk (ESC), které takto přetrvávají u dospělých jedinců během života. Jako ESC mají markery X-4, Rex-1, nanog, GATA-4, SSEA-1 a SSEA-2.¹⁰

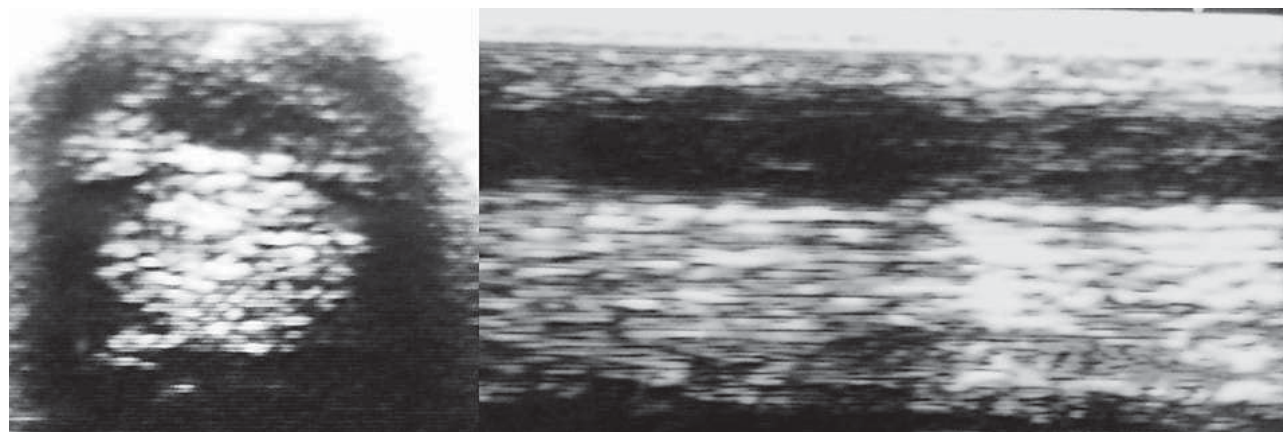
Existují studie, které dokazují, že MSCs jsou distribuovány prostřednictvím krve do jiných orgánů nebo tkání. MSCs udržují homeostázu v mikroprostředí či mobilizují chemokinové signály a tím spouštějí regenerační proces

v poškozených orgánech.¹¹ Při poškození tkání se uvolňují cytokiny, růstové faktory, dojde k expresi P-selektinu nebo intercelulární adhezivní molekuly 1 (ICAM-1) v cévách a tím se vytvoří adhezivní chemotaktický gradient pro MSCs.¹²

Předpokládá se, že MSCs mohou vylučovat velké množství bioaktivních molekul, které přispívají k imunomodulační funkci a restrukturalizaci na vhodné mikroprostředí pro přípravu nové regenerace tkání nebo tkáňových náhrad. Imunomodulační aktivita může chránit místo poranění od přehnané imunitní reakce tím, že koriguje aktivaci a proliferaci T-buněk. Také tlumí chronickou zánětlivou reakci organismu. MSCs mohou také redukovat apoptózu vzniklou ischemií, dále inhibují tvorbu fibroblastů a tím snižují tvorbu patologické jizvovité tkáně. Bioaktivní molekuly také podněcují mitózu. Diferenciaci lokálních progenitorových kmenových buněk podporuje regeneraci poškozené tkáně. Přítomností MSCs v cévních stěnách dochází ke stimulaci a stabilizaci angiogeneze cév. MSCs mohou také pomoci diferenciaci nebo fúzi buněk vygenerovat nové tkáně. Tato schopnost migrovat do míst poškozených tkání dělá z MSCs vhodné kandidáty pro použití v regenerační terapii.

Využití kmenových buněk

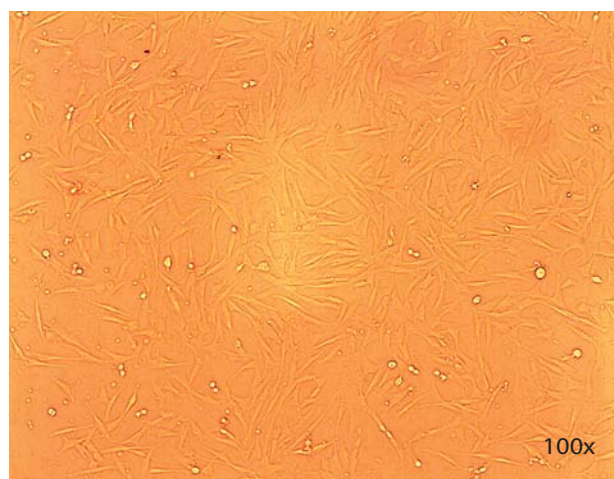
Kmenové buňky mají ve veterinární medicíně mimořádný význam hlavně pro své široké využití.^{13,14} Kmenové buňky mají schopnost regenerace poškozené tkáně. V této oblasti medicíny se nejvíce využívají mezenchymální kmenové buňky. Tyto



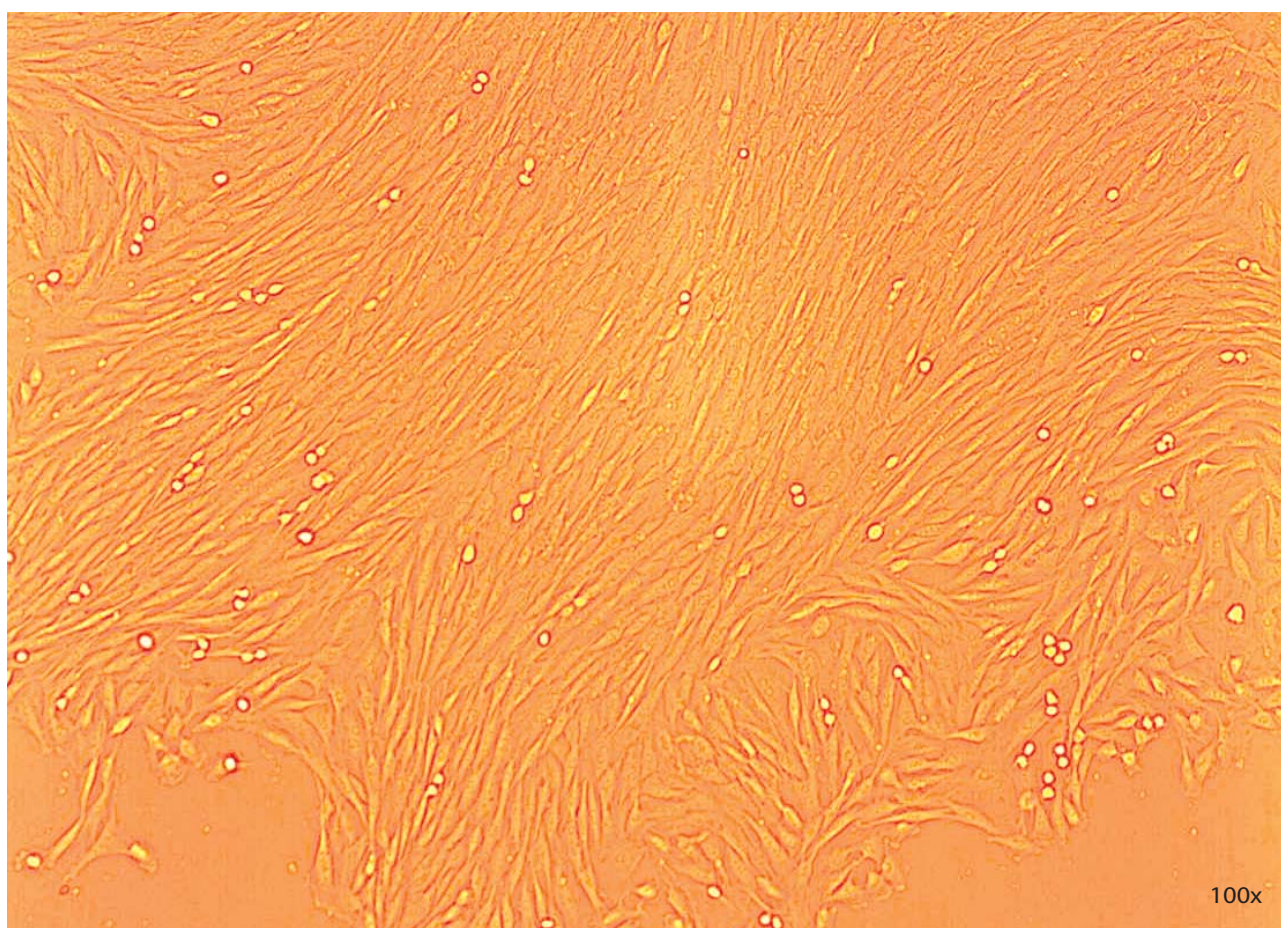
Obr. 1 – Ultrasonografické vyšetření s patrnou lézí ve šlaše povrchového ohybače prstu (SDFT) cca dva týdny po zranění



Obr. 2 – Kolonie MSCs: 5 dní kultivace



Obr. 3 – Kolonie MSCs: 10 dní kultivace



Obr. 4 – Kolonie MSCs: 14 dní kultivace

buňky se mohou diferencovat do tkání, které vznikají z mezodermu (kostí, chrupavek, vazů, svalů, tukové tkáně).

Regenerace (regenerační procesy)

Regenerace šlach:

Po aplikaci do zraněné šlachy se mezenchymální kmenové buňky diferencují na tenocyty (základní

stavební buňky šlachy) a vznikají kolagenní vlákna typu I, která navrací šlaše původní elasticitu.¹⁵ To znamená, že terapie s využitím MSCs navrací původní složení tkáně a snižuje riziko sekundárního zranění šlachy. Několik studií dokázalo, že nejenom kvalita, ale i rychlost hojení jsou přednosti, které vyzdvihují buněčnou terapii na vrchol všech doposud využívaných terapií v léčbě tohoto nepříjemného a často i kariéru ohrožujícího onemocnění sportovních koní.^{16,17,18,19}

Chondrogenní regenerace:

K poškození chrupavky může dojít několika různými způsoby (vrozené onemocnění, juvenilní růstové poruchy, trauma, degenerativní onemocnění). Vzhledem k nedostatečnému prokrvení a tím nedostatečnému impulzu k regeneraci chondrocytů vznikají v chrupavce léze, které způsobují klinické, často velmi bolestivé problémy. Jelikož žádné poranění není většinou stejné etiologie ani stejného rozsahu, je možné použít terapii, která je nejvhodnější k danému poškození chrupavky.

Osteochondrodystrofie (OCD), je onemocnění které postihuje velké množství plemen psů a koní. Po artroskopickém ošetření kloubu je vhodné aplikovat chondrogeně diferencované MSCs. Tyto chondrogeně diferencované MSCs vyplní defekt na povrchu chrupavky.

Osteogenní regenerace:

Komplikované, dislované fraktury kostí jsou velkým problémem při hojení. Mezenchymální kmenové buňky, které mají osteogenní diferenciační vlastnost, tak mohou nahradit a vyplnit šterbinu v kosti a snížit riziko pseudoartrózy (pakloubu). MSCs využívané v kostní chirurgii se většinou nechají narůst na různý druh skafoldu (nosič), který se vloží do místa fraktury kosti. Nosiče jsou většinou biokompatibilní, biodegradabilní, složené z chitosanových nanovláken, mikrovláken a kolagenu.^{20,21,22}

Imunoterapie (imunomodulační procesy)

Slibné výsledky preklinických a klinických studií již byly popsány v léčbě několika onemocnění, jako je equinní

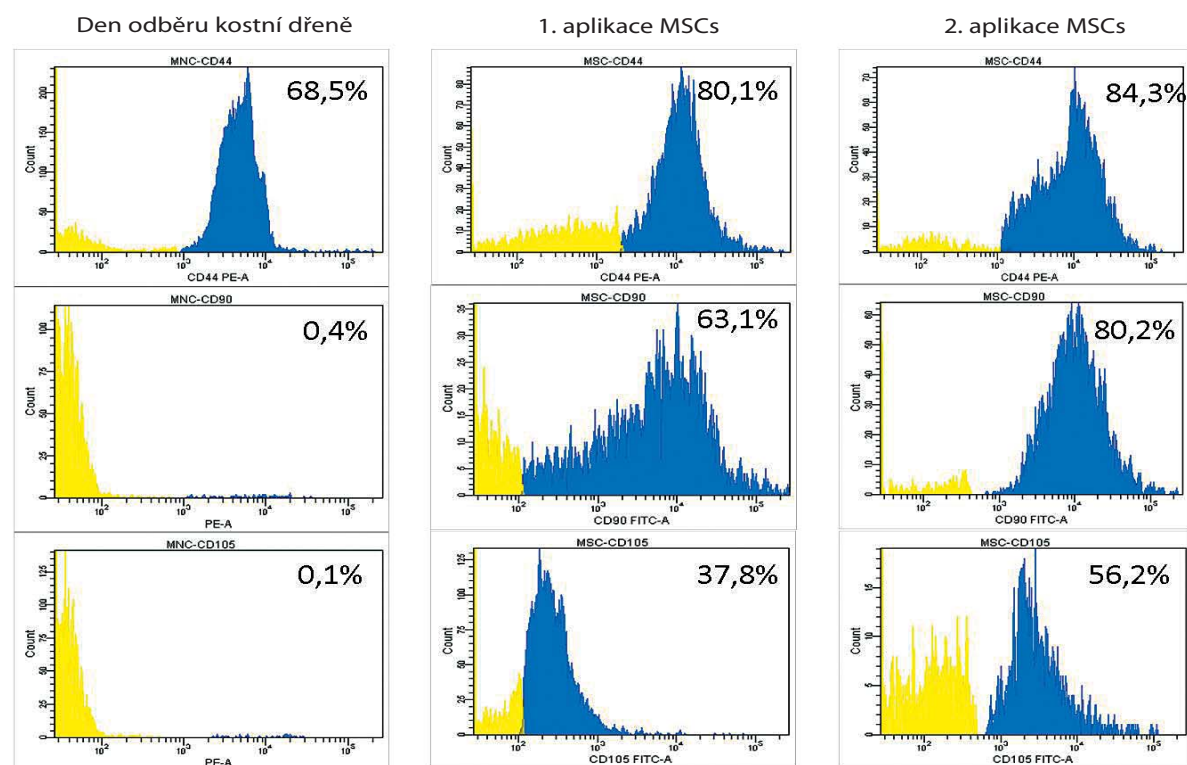
rekurentní uveitida, diabetes mellitus, chronická myeloidní leukémie, cirhóza, plicní fibróza, Crohnova nemoc, srdeční selhání a poruchy nervového systému.^{23,24,25,26}

Hematopoetické využití

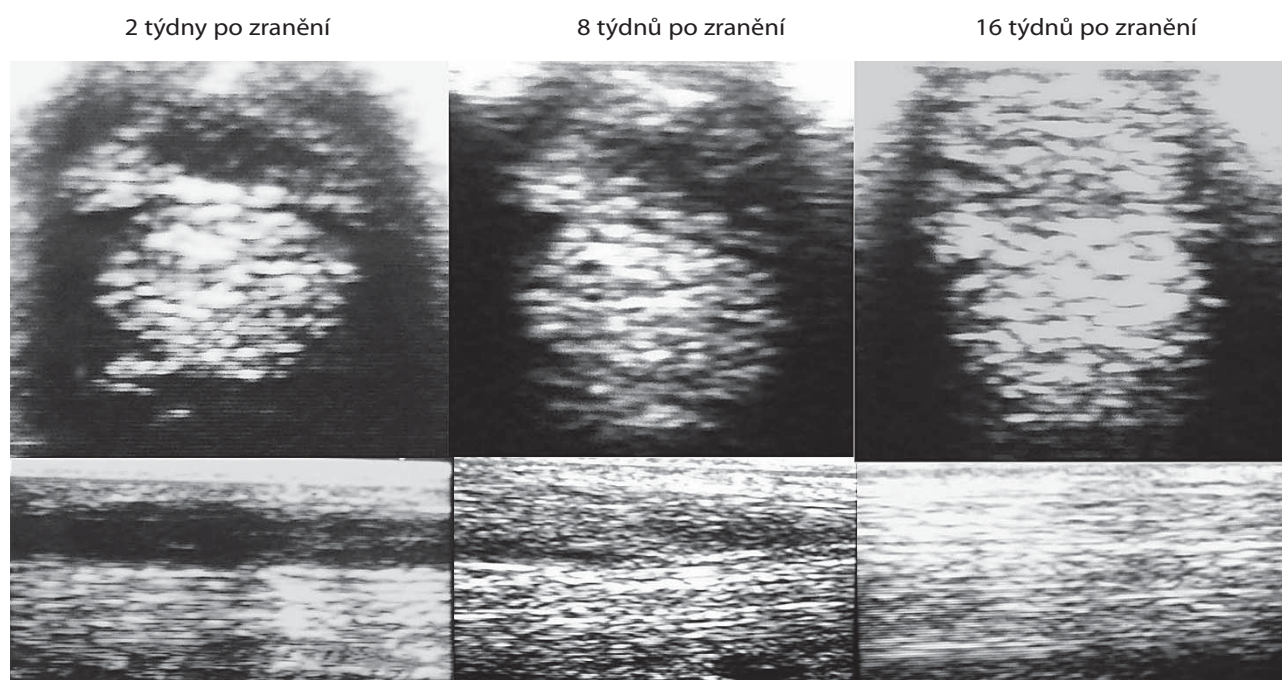
Transplantace krvetvorných kmenových buněk je nejstarší terapie s využitím kmenových buněk. Tento zdroj kmenových buněk je nejlépe dostupný. Alogenní transplantace kmenových buněk je nyní využívána hlavně v humánní medicíně pro léčbu poruch kostní dřeně, jako jsou např. leukémie. Dárcovské kmenové buňky slouží k rekonstrukci imunitního systému u těchto pacientů po ozařování a/nebo chemoterapii.^{27,28}

Klinický případ terapie centrální léze v povrchovém ohybači prstu – SDFT – u koně pomocí dvou aplikací mezenchymálních kmenových buněk

Valach, plemene belgický teplokrevník, věk osm let. Druhý den po závoděch všestrannosti byl patrný otok, temperace a bolestivost levé hrudní končetiny v oblasti metakarpu. Ihned byly nasazeny nesteroidní antiflogistika (1,1 mg/kg *flunixin meglumine*) po dobu šesti dnů. Asi za dva týdny bylo provedeno ultrasonografické vyšetření, které potvrdilo centrální lézi v povrchovém ohybači prstu (SDFT). Léze zaujímal zhruba 70 % zdravé tkáně v délce přibližně 9 cm. Tentýž den byla na sedovaném koni (*detomidine hydrochloride* (0,02 mg/kg) *butorphanol* (0,025 mg/kg)) odebrána kostní dřeň z *tuber coxae* (biopická jehla 14G; 2,1 mm; 55 mm). Aspirační biopsií bylo odebráno asi 20 ml kostní dřeně.



Obr. 5 – Expres povrchových markerů CD44, CD90 a CD105 na izolovaných mononukleárních buňkách (MNCs) z kostní dřeně v den odběru a na kultivovaných mezenchymálních kmenových buňkách (MSCs) během kultivací



Obr. 6 – Srovnání ultrasonografického vyšetření šlachy povrchového ohybače prstu (SDFT) během léčby

Mononukleární buňky (MNCs) z kostní dřeně byly izolovány na základě hustotního gradientu pomocí roztoku Histopaque. Dále byly promyty pomocí PBS (*phosphate buffered saline*) a nasazeny do kultivačních lahví s kulturačním roztokem (89 % A-MEM, 10 % fetální bovinní sérum, 1 % Penstrep). Kultivační lahve byly vloženy do inkubátoru se standardními kulturačními podmínkami. Počet, viabilita a povrchová exprese markerů byly měřeny na průtokovém cytometru (FACS). Povrchové markery charakterizující pouze mezenchymální kmenové buňky (CD90, CD105) byly negativní. Povrchový marker charakterizující lymfocytární řadu a MSCs (CD44) byl pozitivní. Kultivace trvala přibližně dva týdny. Po kultivaci byly buňky opět analyzovány na FACS. Exprese povrchových markerů charakterizujících pouze MSCs (CD90, CD105) byla pozitivní. MSCs byly resuspendovány ve fyziologic-

kém roztoku. Tato buněčná suspenze byla rozdělena do dvou injekčních stříkaček po 1 ml. Celkový počet MSCs byl 10×10^6 . Část buněk byla dále kultivována.

MSCs byly aplikovány do dvou míst ve dvou různých směrech (palmarodorzálně a lateromediálně) do léze v SDFT. Po aplikaci byl na končetinu přiložen krycí obvaz. Pacient byl po aplikaci tři dny v boxu. Následně byl prováděn na ruce do další aplikace.

Druhá aplikace byla provedena asi za tři týdny po první aplikaci. Analýza, příprava, počet buněk a aplikace byly shodné s první aplikací.

Správné pohybové manažování pacienta je v případě zranění šlach velmi důležitým faktorem. V tomto případě pacient začal klusat týden po druhé aplikaci (2 min/den), po každých zhruba deseti dnech se přidávaly dvě minuty klusu denně na kvalitním zpevněném povrchu. Začátkem pátého měsíce po zranění byl pacient zařazen do tréninku. Osmý měsíc po zranění startoval na mezinárodních závodech v polské Strzegomi na stejné úrovni, na jaké se zranil (CIC*). Dva roky po zranění má splněnou kvalifikaci na CIC*** a nemá žádné klinické problémy.²⁹

Diskuse

Regenerační terapie s využitím MSCs patří mezi relativně nové terapie. Účinnost této metody závisí na řadě faktorů, některé jsme schopni ovlivnit, jiné nikoliv. Mezi ovlivnitelné faktory patří výběr vhodného pacienta, využití správného typu buněk a v neposlední řadě šetrné zacházení s MSCs. Znalost a zkušenost práce s buňkami jsou esenciálními faktory. Starší studie popisují terapii tendinopatií pomocí mononukleárních buněk (aplikace MNCs do poškozené tkáně prováděna ve stejný den jako odběr), která nemůže zajistit stejnou kvali-



Obr. 7 – Odběr kostní dřeně z tuber coxae

Zásady vyšetření kulhání u koní – dvoudenní praktický kurz

Vážený pane/vážená paní,

VetPD v partnerství s Elanco Animal Health Vás srdečně zvou na dvoudenní praktický kurz **Zásady vyšetření kulhání u koní**, který se bude konat **16. a 17. května 2014** na **Veterinární klinice Heřmanův Městec, blízko Pardubic, Česká republika**.

Přednášející:

Andy Fiske-Jackson – BVSc, MVetMed, Dipl. ECVS, MRCVS; evropský specialista na chirurgii koní, Velká Británie

Emmanuel Engeli – DVM, Dipl.ECVS, Dipl.ACVS, MRCVS; evropský, americký a RCVS specialista na chirurgii a ortopedii koní, Švýcarsko, Velká Británie

Luis Pardon Lamas – DVM, CertES(Orth), Dipl.ECVS, MRCVS, evropský specialista na chirurgii koní, Portugalsko, Velká Británie

Při této příležitosti Vám Elanco nabízí jedinečnou možnost získat **slevu až 100%, určenou právě pro Vás!**

Pro více informací a registraci zavolejte

Beata Zelinkova na telefonní číslo +420 737 268 648 právě teď!

Nabídka platí do 30. dubna 2014 nebo dokud se kurz nenaplní.

Počet míst: 30

Počet hodin akreditovaných CPD : 15 hodin

Jazyk kurzu: angličtina s překladem do češtiny/ moderování v němčině



DUVAXYN®

tu jako aplikace kultivovaných MSCs, protože ze všech MNCs v kostní dřeni je pouze 0,001– 0,01 % prekurzorů MSCs.³⁰ Pokud by chtěl veterinární lékař aplikovat potřebné množství MSCs musel by navýšit množství všech MNCs a to by rozhodně přínosem pro regenerační proces nebylo. MNCs své uplatnění jistě mají, ale na úrovni imunomodulačního procesu, protože obsahují populaci T regulačních lymfocytů (CD4⁺, CD25⁺, Foxp3⁺), které mají imunosupresivní charakter.³¹ Tyto buňky mohou mít uplatnění např. v terapii equinní rekurentní uveitidy.

V regenerační medicíně je stále velká řada neznámých faktorů, které ovlivňují terapii (individualita regeneračního procesu, vhodná doba pro aplikaci, vhodné množství aplikovaných buněk, použití vhodného nosiče pro buňky). V současné době se snažíme zjistit, zda je vhodnějším nosičem pro MSCs aplikované do šlach a kloubů autologní plazma, fyziologický roztok, kyselina hyaluronová nebo kombinační terapie s ACP/PRP. Zajímavý bude výsledek studie zaměřující se na korelaci fyzické zátěže a množství MSCs v periferní krvi. Je třeba neustále pracovat na vývoji nevhodnějších terapeutických postupů, které vedou ke správnému použití kmenových buněk a tím k vyléčení pacienta.

Literatura:

- Rippon, H.J., Bishop, A.E. Embryonic stem cells. *Cell Prolif* 2004;37:23-34.
- Gattegno-Ho, D., Argyle, S.-A., Argyle, D. J. Stem cells and veterinary medicine: tools to understand diseases and enable tissue regeneration and drug discovery. *The Veterinary Journal* 2012;191:19-27.
- Kolios, G., Moodley, Y. Introduction to stem cells and regenerative medicine. *Respiration* 2013;85:3-10.
- Pardal, R., Clarke, M.F., Morrison, S.J. Applying the principles of stem cell biology to cancer. *Nat Rev Cancer* 2003;3:895-902.
- Reya, T., Morrison, S.J., Clarke, M.F., Weissman, I.L. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001;414:105-111.
- Kingham, E., Oreffo, R. O. C. Embryonic and induced pluripotent stem cells: understanding, creating, and exploiting the nano-niche for regenerative medicine. *ACS Nano* 2013;7(3):1867-1881.
- Hodgkiss-Geere, H. M., Argyle, D. J., Corcoran, B. M. et al. Characterisation and differentiation potential of bone marrow derived canine mesenchymal stem cells. *The Veterinary Journal* 2012;194(3):361-368.
- Delling, U., Lindner, K., Ribitsch, I., Jülke, H., Brehm, W. Comparison of bone marrow aspiration at the sternum and the tuber coxae in middle-aged horses. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 2012;76:52-56.
- Ryu, H.-H., Kang, B.-J., Park, S.-S. 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. *Journal of Veterinary Medical Science* 2012;74(12):1617-1630.
- BD Stem Cell Resource: Markers of Self-Renewal and Differentiation. Dickinson and Company, 2010. Dostupné z: http://www.bdbiosciences.com/documents/BD_Stem_Cell_Resource_poster.pdf.
- Sensebé, L., Gadelorge, M., Fleury-Cappellesso, S. Production of mesenchymal stromal/stem cells according to good manufacturing practices: a review. *Stem Cell Research & Therapy* 2013;4(3):1-6.
- Baghaban Eslaminejad, M. R., Taghiyar, L., Dehghan, M. M., Falahi, F., Kazemi Mehrjerdi, H. Equine marrow-derived mesenchymal stem cells: isolation, differentiation and culture optimization. *Iranian Journal of Veterinary Research* 2009;10(1):1-11.
- Droujinine, I.A., Eckert, M.A., Zhao, W. To grab the stroma by the horns: from biology to cancer therapy with mesenchymal stem cells. *Oncotarget* 2013;4(5):651-664.
- Schnabel, L. V., Fortier, L. A., McIlwraith, C. W., Nobert, K. M. Therapeutic use of stem cells in horses: which type, how, and when? *The Veterinary Journal* 2013;197(3):570-577.
- Brydges, N. M., Argyle, D. J., Mosley, J. R., Duncan, J. C., Fleetwood-Walker, S., Clements, D. N. Clinical assessments of increased sensory sensitivity in dogs with cranial cruciate ligament rupture. *The Veterinary Journal* 2012;193:545-550.
- Filomeno, P., Dayan V., Touriño C. Stem cell research and clinical development in tendon repair. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal* 2012;2(3):204-211.
- Chaudhury, S. Mesenchymal stem cell applications to tendon healing. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal* 2012;2(3):222-229.
- Lange-Consiglio, A., Rossi, D., Tassan, S., Perego, R., Cremonesi, F., Parolini, O. Conditioned medium from horse amniotic membrane-derived multipotent progenitor cells: immunomodulatory activity in vitro and first clinical application in tendon and ligament injuries in vivo. *Stem Cells and Development* 2013;22(12):1-37.
- Ruzzuni, L., Longo, U. G., Rizzello, G., Denaro, V. Stem cells and tendinopathy: state of the art from the basic science to clinic application. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal* 2012;2(3):235-238.
- Willerth, S. M., Sakiyama-Elbert, E. Combining stem cells and biomaterial scaffolds for constructing tissues and cell delivery. In: Bhatia, S., Polak, J. (eds). *Stem book* [online]. Cambridge (MA); Harvard Stem Cell Institute, 2008. Dostupné z: <http://www.stembook.org>.
- Calderon, L., Collin, E., Velasco-Bayon, D., Murphy, M., O'Halloran, D., Pandit, A. Type II collagen-hyaluronan hydrogel: a step towards a scaffold for intervertebral disc tissue engineering. *Eur Cell Mater* 2010;20:134-148.
- Logan, N., Brett, P. The control of mesenchymal stromal cell osteogenic differentiation through modified surfaces. *Stem Cells International* 2013;2013:10p.
- Egusa, H., Schweizer, F. E., Wang, Ch.-Ch., Matsuka, Y., Nishimura, I. Neuronal differentiation of bone marrow-derived stromal stem cells involves suppression of discordant phenotypes through gene silencing. *The Journal of Biological Chemistry* 2005;280(25):23691-23697.
- El-Badri, N., Ghoneim, M. A. Mesenchymal stem cell therapy in diabetes mellitus: progress and challenges. *Journal of Nucleid Acids* 2013;2013:7p.
- Ménard, C., Tarte, K. Immunoregulatory properties of clinical grade mesenchymal stromal cells: evidence, uncertainties, and clinical application. *Stem Cell Research & Therapy* 2013;4(3):1-7.
- Wislet-Gendebien, S., Laudet, E., Neirinckx, V., Rogister, B. Adult bone marrow: which stem cells for cellular therapy protocols in neurodegenerative disorders?. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2012;2012:10p.
- Tjonnfjord, G.E., Steen, R., Evensen, S.A., Thorsby, E., Egeland, T. Characterization of CD34+ peripheral blood cells from healthy adults mobilized by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1994;84:2795-2801.
- Frenette, P. S., Pinho, S., Lucas, D., Scheiermann, Ch. Mesenchymal stem cell: keystone of the hematopoietic stem cell niche and a stepping-stone for regenerative medicine. *Annu. Rev. Immunol.* 2013;31:285-316.
- Trunda, M., Vosahlikova, S., Prajzlerova, K., Stepankova, M., Bodor, J., Klubal, R. The Use of two Mesenchymal Stem Cell Doses as a Treatment for a Horse with Superficial Digital Flexor Tendinopathy. *International Journal of Veterinary Medicine: Research & Reports*; 2013
- Abdi, R., Fiorina, P., Adra, C., Atkinson, M., Sayegh, M. Immunomodulation by Mesenchymal Stem Cells. *Diabetes*. 2008;57:1759-1767
- H Hori, S., Nomura, T., Sakaguchi, S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2001; 299:1057-1061.

Adresa autora:

MVDr. Miroslav Trunda

Česká genetická banka spol. s r. o.

Mezi Vodami 205/29

143 00 Praha 4

miroslav.trunda@genetickabanka.cz