

Stammzellen, Stammzelltherapie – Begriffsklärung, Zusammenhänge und mögliche klinische Anwendungen

Walter Brehm

Pferdekl. der Vetsuisse-Fakultät, Universität Bern

Zusammenfassung

Die Anwendung von Stammzellen in regenerativen und reparativen Therapieformen gewinnt in Chirurgie und Innerer Medizin an Bedeutung und wird daher in der Fachpresse wie in der Laienpresse viel diskutiert. In der Welt der Pferdemedizin, aber nicht nur hier, sind jedoch häufig Vermengungen grundlegender Begriffe zu beobachten, die zu Missverständnissen führen. Dies zumal in Bezug auf die landläufige Gleichsetzung der in der Pferdepraxis mittlerweile häufig angewandten Übertragung autologen Knochenmarkes mit einer eigentlichen Stammzelltherapie. Für den Tierarzt gilt es daher heute, ein Grundverständnis der Biologie der Stammzellen zu erwerben. So sollen in diesem Beitrag Definitionen für embryonale und adulte Stammzellen, sowie mesenchymale und hämatopoetische Stammzellen gegeben werden. Darüber hinaus wird eine Übersicht über die derzeit in Forschung und Klinik untersuchten bzw. angewandten Stammzelltherapien gegeben.

Schlüsselwörter: Stammzelle, Stammzelltherapie, embryonal, mesenchymal, Differenzierung

Stem cells, stem cell therapy – Terminology, context and potential clinical applications

The use of stem cells in regenerative and reparative therapeutical strategies is gaining more and more attention both in research and clinical application. It is therefore, frequently discussed in lay publications as well as in scientific journals. However, in the field of equine medicine, the term stem cell therapy has often been used in an inappropriate manner, especially when it is used for the transplantation of autologous bone marrow. Thus, equine veterinarians need to have a basic understanding of stem cell biology. This article is intended to give definitions for embryonic and adult stem cells, mesenchymal and haematopoietic stem cells. Furthermore, an overview of the current stem cell therapies both in research and clinical practice is provided.

Keywords: Stem cell, stem cell therapy, embryonic, mesenchymal, differentiation

Einleitung

Die Anwendung von Stammzellen in regenerativen Therapieformen gewinnt in Chirurgie und Innerer Medizin an Bedeutung und wird daher in der Fachpresse wie in der Laienpresse viel diskutiert. So ergibt eine Online-Recherche in PubMed mehr als 33 000 Veröffentlichungen zum Thema Stammzelltherapie. Allein im Jahr 2005 werden mehr als 3000 Fachveröffentlichungen hierzu gezählt, und im Januar 2006 sind bereits über 200 weitere dazugekommen. Es ist daher nicht verwunderlich, dass die Stammzelltherapie auch in der Veterinärmedizin Einzug hält. Das Thema ist jedoch komplex, weshalb verschiedene Formen der Zelltherapie miteinander vermengt und verwechselt werden, was schließlich zu Missverständnissen führen kann. Im Bereich der Pferdemedizin seien hier nur die Stichworte Acell™, VetCell™, VetStem™, Knochenmarkübertragung und Orthokin®-Therapie genannt. In diesem Beitrag sollen daher die wichtigsten Begriffe rund um die Stammzelltherapie erläutert werden.

Stammzellen

Stammzellen sind per Definition undifferenzierte Zellen, die sowohl zur Selbsterneuerung durch Replikation als auch zur

Differenzierung in verschiedene Gewebetypen in der Lage sind (Abb.1). Die Fähigkeit zur Differenzierung ist jedoch unterschiedlich ausgeprägt, und so werden totipotente Stammzellen von pluripotenten und multipotenten Stammzellen unterschieden.

Aus totipotenten Stammzellen kann ein kompletter Organismus entstehen. Diese Eigenschaft wird embryonalen Zellen bis zum 8-Zell-Stadium der Morula zugesprochen (Wobus und Boheler 2005). Pluripotente Stammzellen sind immer noch in der Lage, sich in alle drei embryonalen Keimblätter Endoderm, Mesoderm und Ektoderm zu differenzieren. Multipotente Stammzellen dagegen sind in ihren Differenzierungsmöglichkeiten stärker eingeschränkt, wie dies weiter unten am Beispiel der mesenchymalen Stammzellen noch erläutert werden wird.

Stammzellen können von Embryonen stammen und werden dann auch als embryonale Stammzellen bezeichnet. Stammen die Zellen jedoch von Organismen, die das Embryonalstadium hinter sich gelassen haben, so bezeichnet man sie als adulte Stammzellen, selbst wenn sie pränatalen Organismen zugehören.

Embryonale Stammzellen

Embryonale Stammzellen stammen von der Blastozyste, die wiederum aus einer äußeren Zellschicht, dem Trophektoderm, einer flüssigkeitsgefüllten Höhle, der Blastocoele, und einem Zellhaufen im Inneren („inner cell mass“, ICM) besteht. Die Blastozysten selbst sind Embryonen vor der Implantation, d.h. etwa 1 Woche alt, je nach Spezies (Talbot et al. 1995, Odorico et al. 2001, Cowan et al. 2004, Sjogren et al. 2004). Die ICM enthält die pluripotenten Embryonalen Stammzellen, die sich zum jeweiligen Organismus entwickeln, während die umgebenden Trophekten-Zellen zum Chorion der Plazenta beitragen. Nach ihrer Definition als Stammzellen haben embryonale Stammzellen die Fähigkeit, sich selbst zu erneuern, und sich in alle Zelllinien zu differenzieren, was sich auch darin äußert, dass sie bis zu 2 Jahre lang in Kultur gehalten werden können und sich dabei alle 24-36 Stunden teilen (Thomson et al. 1998, Odorico et al. 2001, Rosler et al. 2004). Diese besondere Fähigkeit der embryonalen Stammzellen würde die Existenz großer Pools undifferenzierter Zellen für therapeutische Anwendungen und zu Forschungszwecken unterstützen.

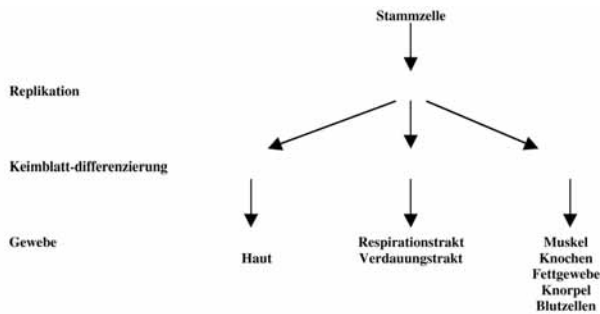


Abb 1 Stammzellen sind definiert durch ihre Replikationsfähigkeit und die Differenzierung in gewebespezifische Zelllinien (nach Fortier 2005).

Stem cells are defined by their capacity for self-renewal through replication and through their ability to differentiate into tissue-specific cell lineages (adopted from Fortier 2005).

Im Gegensatz dazu haben somatische Zellen oder auch mesenchymale Stammzellen *in vitro* endliche replikative Lebensspannen, nach denen sie nicht länger in der Lage sind, sich zu teilen, was als replikative Seneszenz bezeichnet wird (Pittenger et al. 1999). Die genaue proliferative Lebensspanne der Zellen ist abhängig vom Zelltyp, der Spezies und dem Alter des Spenderorganismus, wobei die Grenzen bei etwa 10 bis 50 Zellteilungen liegen (Bruder et al. 1997, D'Ippolito et al. 1999, Campisi 2001, Rubin 2002, Wright und Shay 2002). Es wird angenommen, dass die genaue proliferative Lebensspanne direkt von der Telomeraseaktivität abhängt (Brook und Gardner 1997, Thomson et al. 1998, Rosler et al. 2004). Die Telomerase fügt telomere Wiederholungen an die Chromosomenenden an, wodurch die Länge der Chromosomen erhalten wird, was wiederum die Zellteilung unterstützt (Wright und Shay 2002). Die Telomeraseaktivität ist typischerweise hoch in embryonalen Stammzellen, mäßig hoch in hämatopoetischen Stammzellen, und schwach oder gar nicht vorhanden in somatischen Zellen.

Embryonale Stammzellen sind schwierig zu gewinnen und in Kultur zu halten. Die ICM, welche die embryonalen Stamm-

zellen enthält, muss zunächst vom umgebenden Trophekten isoliert werden. Die Präparation kann einerseits physikalisch, also mikrochirurgisch, erfolgen, oder auch mittels komplement-vermittelter Immunodissektion, bei der die außen liegenden Trophektenzellen lysiert werden, während die ICM erhalten bleibt. Aus einer Untergruppe der ICM-Zellen werden dann in Zellkultur die embryonalen Stammzellen isoliert, wobei sie auf einer Ammenzellschicht aus primären Fibroblasten gehalten werden. Die Ammenzellen werden meist aus Mäuseembryonen gewonnen und vor Gebrauch bestrahlt oder chemisch behandelt, so dass sie selbst keine Zellteilung durchführen können, jedoch in der Lage sind, Proteine und andere, unbekannte Faktoren zu produzieren, die das Überleben der embryonalen Stammzellen unterstützen und sie in pluripotentem Zustand erhalten (Thomson et al. 1998, Lim und Bodnar 2002, Sjogren et al. 2004). Diese Methode der Kultur embryonaler Stammzellen bedingt einen kontinuierlichen Nachschub an Ammenzellen.

Trotz intensiver Bemühungen verschiedener Forschungsgruppen gelang die Gewinnung und Kultur embryonaler Stammzellen nicht bei allen Spezies. So konnten embryonale Stammzellen aus Blastozysten des Menschen, anderer Primaten und von Mäusen gewonnen werden (Thomson et al. 1995, Brook und Gardner 1997, Thomson et al. 1998, Amit et al. 2000). Embryonale Stammzellen vom Rind konnten in Primärkultur gezüchtet werden (Talbot et al. 1995), und es gibt Berichte über ähnliche Zelltypen von Nerz (Sukoyan et al. 1993), Ratte (Vassilieva et al. 2000), Kaninchen (Graves und Moreadith 1993), Huhn (Park und Han 2000), Schwein (Li et al. 2004) und Pferd (Saito et al. 2002).

Adulte Stammzellen

Im Gegensatz zu embryonalen Stammzellen werden adulte Stammzellen aus Geweben endodermalen, mesodermalen oder ektodermalen Ursprunges gewonnen.

Hämatopoetische Stammzellen sind gut charakterisierte Zellen mesodermalen Ursprunges, die die Grundlage für Knochenmarktransplantationen darstellen (Huss 2000, Bellantuo- no 2004). Sie sind hauptsächlich im Knochenmark zu finden und haben nach traditioneller Auffassung die Funktion, alle blutbildenden Zelltypen generieren zu können (neutrophile Granulozyten, Monozyten, Makrophagen, Basophile, Eosinophile, Erythrozyten, Thrombozyten, Mastzellen, dendritische Zellen, B- und T-Lymphozyten). Neuere Studien haben jedoch gezeigt, dass hämatopoetische Stammzellen über bemerkenswerte Plastizität verfügen und scheinbar in der Lage sind, auch nicht hämatopoetische Gewebearten hervorzubringen.

Stromazellen aus verschiedenen mesodermalen Geweben wie Knochenmark (Fortier et al. 1998, Pittenger et al. 1999), Muskulatur (Deasy et al. 2004), Fettgewebe (Zuk et al. 2001), Synovialgewebe (De Bari et al. 2001) und Periost (Zarnett und Salter 1989) verhalten sich wie Stammzellen. Aber auch aus endodermalen Geweben wie dem Intestinum, und aus ektodermalen Geweben wie Oberhaut (Blanpain et al. 2004) und Nervengewebe (Baksh et al. 2004) konnten Stammzellen isoliert werden. Schließlich können derartige Zellen zirkulieren und daher auch im peripheren Blut nach-

gewiesen werden (Zvaifler et al. 2000, Körner et al. 2005) (Abb. 2).

Mesenchymale Stammzellen (MSC) aus dem Knochenmark (Fortier et al. 1998; Pittenger et al. 1999) können sich in verschiedene Zelltypen differenzieren. Unter diesen befinden sich Muskel (Wakitani et al. 1995), Fett (Pittenger et al. 1999), Knochen (Rickard et al. 1996; Bruder et al. 1997), Knorpel (Fortier et al. 1998), Leber (Alison et al. 2000), Lunge (Ortiz et al. 2003) und Nerven (Pittenger et al. 1999; Brazelton et al. 2000; Baksh et al. 2004) (Abb. 3). Mehrere dieser Studien zeigen die Differenzierung der MSC in verschiedene Gewebetypen *in vitro* und die Ansiedelung dieser Zellen in geschädigten Organen *in vivo*. Es gibt darüber hinaus Studien, die die Transdifferenzierung beschreiben, d.h. die Fähigkeit aus einer bestimmten Gewebeart stammenden adulten Stammzellen, spezialisierte Zelltypen einer anderen Gewebeart zu bilden. Allerdings sollten diese Berichte mit Vorsicht genossen werden, zeigen doch sehr wenige dieser Studien die Funktionalität der ausdifferenzierten Zellen.

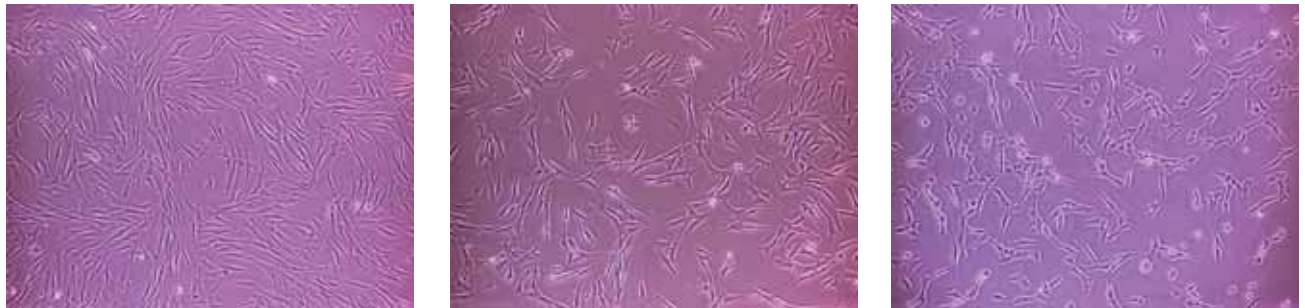


Abb 2 Struktur equiner Stammzellen *in vitro*. Die Stammzellen wurden aus verschiedenen Geweben isoliert: Knochenmark (links), Peripheres Blut (Mitte), Fettgewebe (rechts). Charakteristisch ist die langgezogene, fibroblastenähnliche Gestalt der Zellen. Die hier abgebildeten Zellen stammen aus der ersten Passage (p1). Sie wurden in der Kulturfalsche fotografiert (Vergrößerung x20).
Structure of equine stem cells *in vitro*. Stem cells were isolated from different tissues: bone marrow (left), peripheral blood (middle), adipose tissue (right). The lengthy, fibroblast like appearance is characteristic for this cell type. The cells depicted in this figure are passage 1 (p1), photographed in the culture flask (magnification x20).

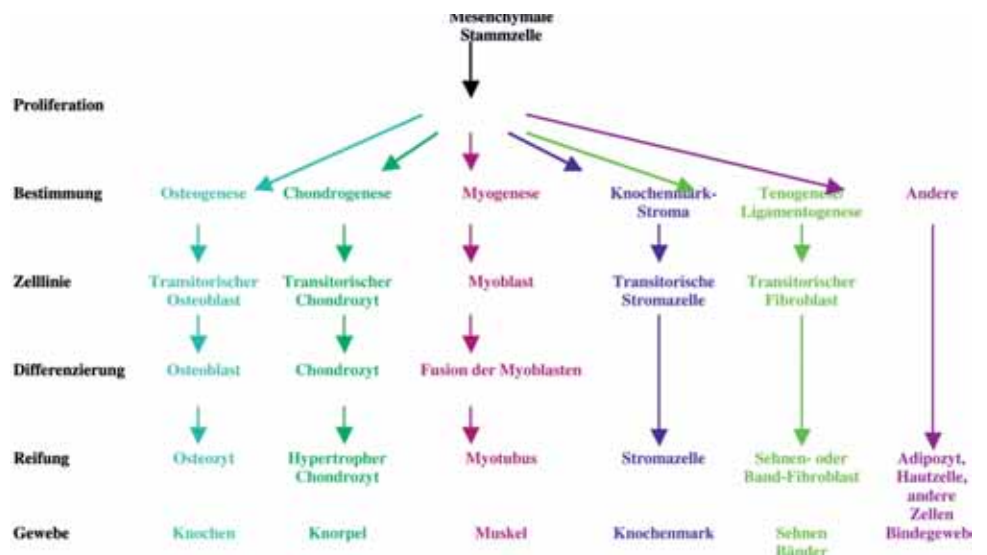


Abb 3 Der mesengenische Prozess. Mesenchymale Stammzellen sind in der Lage, sich in verschiedene Gewebe zu differenzieren (nach Caplan 2001).
The mesengenic process. Mesenchymal stem cells are able to differentiate into various tissues (adopted from Caplan 2001).

Die Isolierung der adulten Stammzellen kann prinzipiell auf zwei Wegen erfolgen. Einerseits können die infrage kommenden Zellen mittels typischer Oberflächenmarker identifiziert und anschließend durch positive Selektion oder negative Selektion isoliert werden. Dieses Verfahren wird gerade bei hämatopoetischen Stammzellen angewandt. Negative Selektion

bedeutet hier, dass als ausdifferenzierte hämatopoetische Zellen erkannte Exemplare aussortiert werden (Rickard et al. 1996, Huss 2000). Positive Selektion, dass die Stammzellen markiert und aus der Gesamtpopulation der Zellen isoliert werden (Bruder et al. 1997, Pittenger et al. 1999). Zur Anwendung kommen meist FACS (fluorescence activated cell sorting) oder MACS (magnetic activated cell sorting). Jede dieser Technologien setzt jedoch die Kenntnis der entsprechenden Oberflächenmarker voraus. Bei der Isolierung mesenchymaler Stammzellen aus Geweben kann genauso vorgegangen werden. Allerdings macht man sich bisher bei der Isolierung mesenchymaler Stammzellen eher die Eigenschaft dieser Zellen zu nutze, sich an Plastikoberflächen anzuhängen (Plastikadhärenz), nachdem nicht eindeutig bestimmt ist, welche Oberflächenmarker eine derartige Stammzelle definieren. Aus Geweben werden die Zellen also zunächst herausgelöst, indem mittels Proteasen die umgebende Gewebematrix aufgelöst wird. Anschließend werden die hierdurch gewonnenen Zellen in Kultur genommen, wobei schließlich diejenigen übrigbleiben, die sich an den Boden der Kulturfalsche anheften.

Die Ausbeute an Stammzellen ist allerdings gering, und zwar sowohl bei der Isolation aus der mononukleären Zellpopulation des Knochenmarkes (Pittenger et al. 1999) als auch bei der Isolation aus Stromazellen verschiedener Gewebe. So wird ihr Anteil an den mononukleären Zellen des Knochenmarkes, gewonnen durch Ficoll-Gradientenzentrifugation,

auf etwa 0.001-0.01 % geschätzt (Pittenger et al. 1999, Martin et al. 2002). Für das Knochenmark des Pferdes existieren keine genauen Schätzungen, doch berichtet Fortier (2005), dass nach unpublizierten Labordaten etwa $1-2 \times 10^5$ plastikadhärente Zellen aus einem Ausgangsvolumen von 10 ml Knochenmark gewonnen werden. Diese geringen Zahlen an Ausgangsmaterial müssen berücksichtigt werden, wenn biologisches Material für eine als „Stammzelltherapie“ angepriesene Therapieform zur klinischen Anwendung kommen soll.

Bleibt zu erklären, wie überprüft werden kann, ob eine auf die eine oder andere Art und Weise isolierte Zelle tatsächlich Stammzellcharakter hat. Ein Goldstandard hierfür existiert derzeit nicht (Blau et al. 2001, Mayhall et al. 2004). Sowohl für embryonale als auch für adulte Stammzellen wurden verschiedene Zellmarker beschrieben, die teils jedoch, wie etwa die Alkalische Phosphatase, sehr unspezifisch sind (Thomson et al. 1998, Pittenger et al. 1999, Baharvand et al. 2004, Baksh et al. 2004, Barry und Murphy 2004). Weiterhin bestehen klare Unterschiede zwischen Stammzellen verschiedener Spezies in Bezug auf die Expression dieser Marker. Und schließlich fehlen bisher Marker, die Zellen als völlig undifferenzierte Stammzellen oder als Vorläuferzellen bestimmter Zelllinien kennzeichnen würden (zur Nieden et al. 2001, Ginis et al. 2004). Daher bleibt bisher nur der Weg über die funktionelle Charakterisierung der Zellen.

Im Falle der hämatopoetischen Stammzellen besteht der definierende Test darin, dass die Fähigkeit der Zellen, sämtliche lymphoiden und myeloerythroiden Zelllinien zu erzeugen in einem, mit letaler Dosis bestrahlten, Wirtsorganismus überprüft wird (Bellantuono 2004).

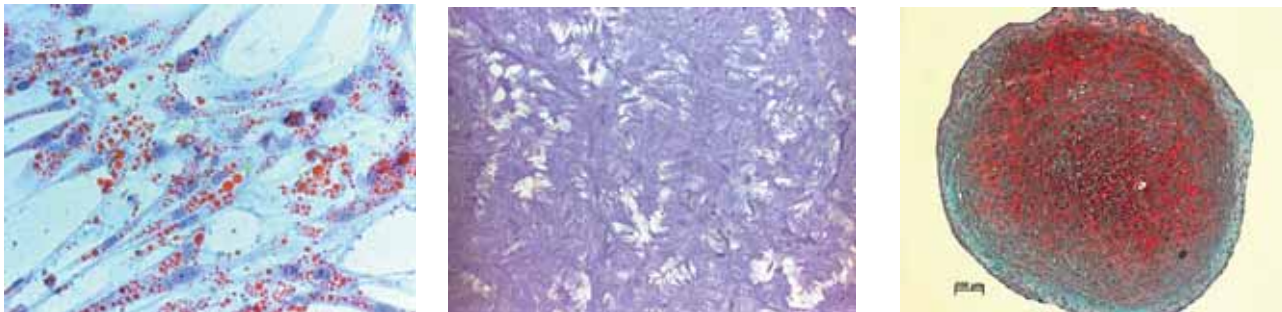


Abb 4 Funktionale Charakterisierung equiner mesenchymaler Stammzellen. Aus dem Knochenmark isolierte Stammzellen wurden unter Einfluss spezifischer Differenzierungsmedien dazu gebracht, charakteristische Eigenschaften verschiedener Gewebe zu entwickeln. **Links:** Adipogene Differenzierung: Die Differenzierung in Richtung Fettgewebe ist charakterisiert durch die rot dargestellten intrazellulären Lipidtröpfchen (Färbung Oil-Red-O, Fixierung auf Zellkulturplatte, Vergrößerung x40). **Mitte:** Osteogene Differenzierung: Die Entwicklung in Richtung Knochengewebe wird durch die Produktion von Alkalischer Phosphatase angezeigt (Färbung AP, Fixierung auf Zellkulturplatte, Vergrößerung x10). **Rechts:** Chondrogene Differenzierung: Die Produktion der polysulfatierten Glykosaminoglykane, die für die Knorpelmatrix charakteristisch sind, wird durch die Braunfärbung deutlich (Färbung Safranin-O/Fast Green, Paraffinschnitt eines in 3-dimensionaler Kultur gebildeten Knorpelpellets, Vergrößerung x10).

*Functional characterisation of equine mesenchymal stem cells. Bone marrow derived stem cells were directed towards different tissue lineages under the influence of specific differentiation media. **Left:** Adipogenic differentiation: the development of adipose tissue is characterised by the development of lipid droplets (stain oil-red-O, fixation on culture plate, magnification x40). **Middle:** Osteogenic differentiation: the osteoblast character is shown by the production of alkaline phosphatase (stain AP, fixation on culture plate, magnification x10). **Right:** Chondrogenic differentiation: polysulfated glycosaminoglycans are characteristic for cartilage matrix. In this section, these molecules are visualised through the brown stain (stain safranin-O/fast green, paraffin section of a pellet culture, magnification x10).*

Embryonale Stammzellen werden durch die subkutane Injektion der fraglichen Zellen in eine SCID (severe combined immunodeficient) Maus getestet. Hier sollte sich ein Teratom entwickeln, welches Gewebe aller drei Keimblätter beinhaltet (Thomson et al. 1998, Odorico et al. 2001, Baharvand et al.

2004). Aber auch die Fähigkeit der embryonalen Stammzellen, eine Keimlinie des Empfängers zu besiedeln, wird zur Bestätigung der Eigenschaften derartiger Zellen benutzt (Brook und Gardner 1997). Hierbei werden die fraglichen Zellen in Empfänger-Blastozysten übertragen. Entstehende Chimären werden mit einem Tier derselben Spezies gepaart, das einen Genotyp aufweist, der z.B. vermittelt der Fellfarbe eine Unterscheidung zwischen Spender und Empfänger zulässt (Brook und Gardner 1997).

Die Multipotenz mesenchymaler Stammzellen wird ebenfalls meist funktionell durch ihre Fähigkeit, sich in verschiedene Gewebe zu differenzieren, überprüft. Ein Standard für Stützgewebe ist z.B. die adipogene, osteogene und chondrogene Differenzierung *in vitro*, also die Entstehung von Fettgewebe, Knochen und Knorpel (Körner et al. 2005) (Abb. 4).

Unabhängig von den derzeit angewandten Tests besteht aber Unsicherheit bezüglich der Frage, ob nicht auch eine heterogene Mischung aus völlig unbestimmten Zellen, Vorläuferzellen bestimmter Zelllinien und ausdifferenzierten Zellen in derselben Kolonie von Stammzellen vorliegen könnte, wobei bei entsprechendem Stimulus jeweils eine entsprechende Subpopulation aktiviert würde (Pittenger et al. 1999, Barry und Murphy 2004). Die Pluripotenz oder Multipotenz wäre in diesem Szenario nur scheinbar vorhanden.

Weiterhin besteht Unsicherheit bezüglich der Frage, ob die Orientierung der Stammzellen in Richtung einer bestimmten Zelllinie und ihre Differenzierung bis hin zum Gewebe unidirektional und irreversibel ist, wie früher angenommen. Die Beobachtung von Plastizität, oder Zelllinienkonversion, bei adulten Stammzellen gibt hierzu Anlass (Blau et al. 2001,

Baksh et al. 2004, Wagers und Weissman 2004). Mögliche Mechanismen, die Plastizität erlaubten, sind z.B. die Transdifferenzierung, die Zellfusion, die Existenz einer Vielzahl von Stammzellpopulationen innerhalb eines gemeinsamen Stammzell-Pools und die De-Differenzierung in eine primitive-

re, weniger spezialisierte Zelllinie, die anschließend in eine andere Zelllinie re-differenziert (Wagers und Weissman 2004). Doch obwohl die Aussicht auf „formbare“ Stammzellen erhebliche Phantasie für ihren klinischen Einsatz freisetzt, bedarf es noch erheblicher wissenschaftlicher Anstrengungen, um die postulierte Plastizität zu beweisen und anschließend gezielt nutzbar zu machen.

Stammzelltherapie

Gerade aufgrund der Berichte über die Transdifferenzierung hämatopoetischer Stammzellen in neuronale Zellen (Brazelton et al. 2000), neuronaler Zellen in hämatopoetische Zellen (Bjornson et al. 1999) und embryonaler Stammzellen in lymphohämatopoetische Zellen (Vodyanik et al. 2005) erscheint der klinische Einsatz hämatopoetischer Stammzellen, mesenchymaler Stammzellen und embryonaler Stammzellen geradezu grenzenlos.

Von der Regeneration von Haarfollikeln über die Wiederherstellung sämtlicher inneren Organe bis hin zur Erneuerung der Funktion des Nervensystems erscheint nichts mehr unmöglich, und so können hier nicht annähernd alle potentiellen Einsatzgebiete beschrieben werden.

Tatsächlich umsetzbare Therapieformen sind im Gegensatz hierzu bisher noch selten. Der Einsatz hämatopoetischer Stammzellen zur Behandlung der blutbildenden Organe ist derzeit die am weitesten verbreitete Stammzelltherapie (Tyn dall und Daikeler 2005, Woodard et al. 2005, Yang et al. 2005, Tsuji et al. 2006). Der Einsatz embryonaler Stammzellen in utero zur Behebung eines letalen fetalen Herzfehlers eröffnet das weite Gebiet der pränatalen Therapie (Fraidenraich et al. 2004), und auch die Funktion von Nerven konnte mit Hilfe embryonaler Stammzellen wiederhergestellt werden (Chiba et al. 2004, McKay 2004). Bereits wurde auch über die Wiederherstellung der Funktion von Nerven (Cuevas et al. 2002) und Hepatozyten (Lagasse et al. 2000, Zhao et al. 2005, Quintana-Bustamante et al. 2006) nach der Transplantation mesenchymaler Stammzellen berichtet.

Muskuloskeletale Gewebe wie Knochen, Knorpel, Bänder und Sehnen und Muskulatur liegen eher im Interessenbereich des Pferdetierarztes, und glücklicherweise auch im Fokus der Stammzellforschung (Caplan 2005). Einige Tenozyten-Zelllinien besitzen Eigenschaften mesenchymaler Stammzellen. Dies unterstützt die Annahme, dass im Sehnengewebe selbst mesenchymale Stammzellen vorliegen (Salingcarnboriboon et al. 2003). Daneben wird der Einsatz pluripotenter Zellen in einer Kollagenmatrix zur Verbesserung der Sehnenreparatur als vielversprechender Ansatz angesehen (Butler und Awad 1999). Weiterhin können mesenchymale Stammzellen in transfektierter Form zur Produktion von Wachstumsfaktoren angeregt und zur Verbesserung des Heilungsprozesses bei Band- und Sehnen-schäden eingesetzt werden (Woo et al. 1999). Andere Autoren berichten, dass Sehnengewebe, welches unter Zuhilfenahme mesenchymaler Stammzellen entstand, signifikant verbesserte mechanische Eigenschaften aufwies. Aber auch histologische Parameter zeigten Verbesserungen, wie eine erhöhte Anzahl an Tenozyten und Kollagenfaserbündel, die sowohl größer waren als auch einen reiferen Eindruck machten. Die Anwesenheit

einer großen Zahl mesenchymaler Stammzellen in einem Wundgebiet kann also bereits nach 4 Wochen zu einer signifikanten Verbesserung der biomechanischen Eigenschaften der Sehnenheilung führen (Awad et al. 1999). Einer weiteren Studie dieser Autoren zufolge waren die jeweiligen Parameter im stammzell-behandelten Gewebe meist doppelt so groß wie im Kontrollgewebe. Belastungsassoziierte Parameter des behandelten Gewebes stiegen ebenfalls signifikant an. Die behandelten Gewebe besaßen einen signifikant größeren Querschnitt, und ihre Kollagenfasern schienen besser ausgerichtet zu sein als die der Kontrollen. Somit konnten in diesem Fall mit mesenchymalen Stammzellen besiedelte, organisierte Kollagenimplantate die Heilung großer Sehnendefekte signifikant verbessern, und zwar sowohl die Biomechanik, als auch die Struktur und möglicherweise die Funktion der Sehne nach Verletzung (Young et al. 1998). Beim Pferd wurde der therapeutische Einsatz mesenchymaler Stammzellen zuerst für die Behandlung von Läsionen der oberflächlichen Beugesehne erwogen (Smith et al. 2003). Mittlerweile konnten an einer größeren Anzahl behandelter Fälle beeindruckende Ergebnisse beobachtet werden (Smith 2004), die der Autor aufgrund eigener Erfahrungen mit bis dato 80 behandelten Pferden bestätigt (Brehm 2005, unpublizierte Daten).

Die Regeneration beschädigter Knorpeloberflächen in Gelenken wird ebenfalls intensiv beforscht (Caplan 2005, Magne et al. 2005). Bei degenerativen Gelenkerkrankungen, wie der Osteoarthritis, sind Stammzellen im Mangel und haben außerdem eine reduzierte proliferative Kapazität und verminderte Differenzierungsfähigkeit. So konnte gezeigt werden, dass die Bereitstellung mesenchymaler Stammzellen aus dem Knochenmark für die Behandlung erkrankter Kniegelenke das Potential hat, die Knorpelregeneration zu stimulieren und die fortschreitende Zerstörung des Gelenkes zu bremsen (Barry 2003). Das therapeutische Prinzip der Bereitstellung von mesenchymalen Stammzellen und Wachstumsfaktoren aus dem Knochenmark wird bei der Therapie von Knorpeldefekten derzeit dadurch nutzbar gemacht, dass sie nach dem Anbohren des subchondralen Knochens (Micro-Picking, Micro-Facturing) aus dem Knochenmark bereitgestellt werden (Nixon und Fortier 2001, Fortier 2002). Im tierexperimentellen Ansatz am Pferdmodell konnte nachgewiesen werden, dass der Einsatz mesenchymaler Stammzellen die Knorpelheilung verbessert (Nixon et al. 2000).

Ungelöste Fragen im Zusammenhang mit dem therapeutischen Einsatz von Stammzellen dürfen jedoch nicht außer Acht gelassen werden. Immunologische Interaktionen zwischen übertragenen Stammzellen und Empfängerorganismus etwa werden vermieden, wenn Spender und Empfänger identisch sind, was z.B. beim Einsatz aus dem Knochenmark des Patienten gewonnener, autologer mesenchymaler Stammzellen der Fall ist. Nun wäre es an sich wünschenswert, auf heterologes Material zugreifen zu können. Einerseits könnte unverzüglich therapiert werden, und andererseits könnten sehr hohe Anzahlen an Zellen eingesetzt werden, jedoch mit dem Risiko der Abstoßung (abgesehen vom Risiko der Übertragung bakterieller oder viraler Krankheiten). Mesenchymale Stammzellen scheinen jedoch die Proliferation und Maturation von T-Zellen zu unterdrücken, sei es durch direkte Zell-zu-Zell-Effekte oder durch die Sekretion bisher unbekannter löslicher Faktoren (Di Nicola et al. 2002, Barry und Murphy 2004, Pittenger und Martin

2004), und so ist es nicht unmöglich, dass dereinst vorgefertigte Therapeutika auf der Basis mesenchymaler Stammzellen zur Verfügung stehen werden. Sind nun die Stammzellen appliziert, so ist die Frage, wie sie sich im Wirtsorganismus verhalten. Tatsächlich scheinen sich intravenös applizierte Stammzellen bevorzugt in beschädigten Geweben anzusiedeln, die dadurch funktionelle Besserung erfahren (Lagasse et al. 2000, Cuevas et al. 2002, Chiba et al. 2004, Fraidon et al. 2004). Unklar ist jedoch, ob dieser Effekt durch die mechanische Funktion der eingewanderten Stammzellen oder durch von diesen Zellen synthetisierte und sezernierte Wachstumsfaktoren hervorgerufen wird.

Stammzelltherapie und Knochenmarkübertragung

Die Knochenmarkübertragung wird in der Pferdeorthopädie mittlerweile häufig eingesetzt, speziell zur Behandlung von Erkrankungen des Fesselträgerursprunges, aber auch bei Sehnenverletzungen. Das Konzept geht auf Herthel zurück (Herthel 2001, 2003), der über gute klinische Ergebnisse berichtet, die in einer neueren klinischen Studie bestätigt wurden (Rosenbrock et al. 2004). Herthel spekuliert bei der Diskussion seiner Befunde über den möglichen Effekt der im Knochenmark vorhandenen Stammzellen.

Möglicherweise hierdurch ausgelöst, fällt im Zusammenhang mit dieser Therapieform oft der Begriff der Stammzelltherapie, häufig werden Stammzelltherapie und Knochenmarkübertragung sogar synonym gebraucht. Während jedoch für die Stammzelltherapie embryonale oder adulte Stammzellen eingesetzt werden, die im Labor isoliert und vermehrt wurden (siehe oben), wird bei der Übertragung von Knochenmark eine Vielzahl verschiedener Zelltypen und löslicher Moleküle intraläsional appliziert. Dazu gehören neben sehr wenigen mesenchymalen Stammzellen sämtliche Blutzelltypen, daneben aber auch Wachstumsfaktoren.

Knochenmark ist also eine Quelle unter mehreren für mesenchymale Stammzellen (siehe oben), nicht jedoch das Material für eine Stammzelltherapie. Selbst wenn die Behandlung mittels Knochenmarkübertragung von Erfolg gekrönt ist heißt das nicht, dass es sich um eine Stammzelltherapie handelt.

Diese beiden Begriffe müssen sauber voneinander getrennt werden.

Fazit

Der therapeutische Einsatz von Stammzellen in der regenerativen Medizin ist Gegenstand der aktuellen Diskussion. Tierärzte sollten daher ein Grundverständnis der Biologie der Stammzellen erwerben. Therapieformen, bei denen Stammzellen nicht die Hauptrolle spielen, dürfen nicht als Stammzelltherapie bezeichnet werden und sollten vor Anwendung sorgfältig evaluiert werden. Wenigen gesicherten Erkenntnissen zur Stammzelltherapie steht das schier unerschöpfliche Potential an möglichen neuen Therapien gegenüber. Der Einsatz mesenchymaler Stammzellen zur Therapie von Sehnen-schäden beim Pferd zeitigt ermutigende Ergebnisse, die hoffen lassen, dass das Prinzip der regenerativen Medizin auch bei weiteren Indikationen alte therapeutische Hindernisse überwinden helfen wird.

Literatur

- Alison M. R., R. Poulson, R. Jeffery, A. P. Dhillon, A. Quaglia, J. Jacob, M. Novelli, G. Prentice, J. Williamson und N. A. Wright (2000): Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature* 406, 257
- Amit M., M. K. Carpenter, M. S. Inokuma, C. P. Chiu, C. P. Harris, M. A. Waknitz, J. Itskovitz-Eldor und J. A. Thomson (2000): Clonally derived human embryonic stem cell lines maintain pluripotency and proliferative potential for prolonged periods of culture. *Dev Biol* 227, 271-278
- Awad H. A., D. L. Butler, G. P. Boivin, F. N. Smith, P. Malaviya, B. Huibregtse und A. I. Caplan (1999): Autologous mesenchymal stem cell-mediated repair of tendon. *Tissue Eng* 5, 267-277
- Baharvand H., S. K. Ashtiani, M. R. Valojerdi, A. Shahverdi, A. Taei und D. Sabour (2004): Establishment and in vitro differentiation of a new embryonic stem cell line from human blastocyst. *Differentiation* 72, 224-229
- Baksh D., L. Song und R. S. Tuan (2004): Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy. *J Cell Mol Med* 8, 301-316

- Barry F. P. (2003): Mesenchymal stem cell therapy in joint disease. *Novartis Found Symp* 249, 86-96; discussion 96-102, 170-204, 239-241
- Barry F. P. und J. M. Murphy (2004): Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization. *Int J Biochem Cell Biol* 36, 568-584
- Bellantuono I. (2004): Haemopoietic stem cells. *Int J Biochem Cell Biol* 36, 607-620
- Bjornson C. R., R. L. Rietze, B. A. Reynolds, M. C. Magli und A. L. Vescovi (1999): Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science* 283, 534-537
- Blanpain C., W. E. Lowry, A. Geoghegan, L. Polak und E. Fuchs (2004): Self-renewal, multipotency, and the existence of two cell populations within an epithelial stem cell niche. *Cell* 118, 635-648
- Blau H. M., T. R. Brazelton und J. M. Weimann (2001): The evolving concept of a stem cell: entity or function? *Cell* 105, 829-841
- Brazelton T. R., F. M. Rossi, G. I. Keshet und H. M. Blau (2000): From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science* 290, 1775-1779
- Brook F. A. und R. L. Gardner (1997): The origin and efficient derivation of embryonic stem cells in the mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 5709-5712
- Bruder S. P., N. Jaiswal und S. E. Haynesworth (1997): Growth kinetics, self-renewal, and the osteogenic potential of purified human mesenchymal stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation. *J Cell Biochem* 64, 278-294
- Butler D. L. und H. A. Awad (1999): Perspectives on cell and collagen composites for tendon repair. *Clin Orthop* 367, S324-332
- Campisi J. (2001): From cells to organisms: can we learn about aging from cells in culture? *Exp Gerontol* 36, 607-618
- Caplan A. I. (2005): Review: mesenchymal stem cells: cell-based reconstructive therapy in orthopedics. *Tissue Eng* 11, 1198-1211
- Chiba S., R. Ikeda, M. S. Kurokawa, H. Yoshikawa, M. Takeno, H. Nagafuchi, M. Tadokoro, H. Sekino, T. Hashimoto und N. Suzuki (2004): Anatomical and functional recovery by embryonic stem cell-derived neural tissue of a mouse model of brain damage. *J Neurosci* 219, 107-117
- Cowan C. A., I. Klimanskaya, J. McMahon, J. Atienza, J. Witmyer, J. P. Zucker, S. Wang, C. C. Morton, A. P. McMahon, D. Powers und D. A. Melton (2004): Derivation of embryonic stem-cell lines from human blastocysts. *N Engl J Med* 350, 1353-1356
- Cuevas P., F. Carceller, M. Dujovny, I. Garcia-Gomez, B. Cuevas, R. Gonzalez-Corrochano, D. Diaz-Gonzalez und D. Reimers (2002): Peripheral nerve regeneration by bone marrow stromal cells. *Neurol Res* 24, 634-638
- De Bari C., F. Dell'Accio, P. Tylzanowski und F. P. Luyten (2001): Multipotent mesenchymal stem cells from adult human synovial membrane. *Arthritis Rheum* 44, 1928-1942
- Deasy B. M., Y. Li und J. Huard (2004): Tissue engineering with muscle-derived stem cells. *Curr Opin Biotechnol* 15, 419-423
- Di Nicola, M., C. Carlo-Stella, M. Magni, M. Milanesi, P. D. Longoni, P. Matteucci, S. Grisanti und A. M. Gianni (2002): Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood* 99, 3838-4383
- D'Ipollito G., P. C. Schiller, C. Ricordi, B. A. Roos und G. A. Howard (1999): Age-related osteogenic potential of mesenchymal stromal stem cells from human vertebral bone marrow. *J Bone Miner Res* 14, 1115-1122
- Fortier L. A. (2002): Tendon and ligament engineering experiences with IGF-1. Proceedings of the 1st World Orthopedic Veterinary Congress, Munich, European Society of Veterinary Orthopedics and Traumatology
- Fortier L. A. (2005): Stem cells: classifications, controversies, and clinical applications. *Vet Surg* 34, 415-423
- Fortier L. A., A. J. Nixon, J. Williams und C. S. Cable (1998): Isolation and chondrocytic differentiation of equine bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Am J Vet Res* 59, 1182-1187
- Fraidenraich D., E. Stillwell, E. Romero, D. Wilkes, K. Manova, C. T. Basson und R. Benezra (2004): Rescue of cardiac defects in id knockout embryos by injection of embryonic stem cells. *Science* 306, 247-252
- Ginis I., Y. Luo, T. Miura, S. Thies, R. Brandenberger, S. Gerecht-Nir, M. Amit, A. Hoke, M. K. Carpenter, J. Itskovitz-Eldor und M. S. Rao (2004): Differences between human and mouse embryonic stem cells. *Dev Biol* 269, 360-380
- Graves K. H. und R. W. Moreadith (1993): Derivation and characterization of putative pluripotential embryonic stem cells from preimplantation rabbit embryos. *Mol Reprod Dev* 36, 424-433
- Herthel D. (2001): Enhanced Suspensory Ligament Healing in 100 Horses by Stem Cells and Other Bone Marrow Components. 47th Annual AAEP Convention Proceedings 319-321
- Herthel D. (2003): Clinical Use of Stem Cells and Marrow Components to Stimulate Suspensory Ligament Regeneration. Diagnosis and Management of Lameness in the horse. in: Ross, M. W. et al, Saunders: 673-674
- Huss R. (2000): Isolation of primary and immortalized CD34-hematopoietic and mesenchymal stem cells from various sources. *Stem Cells* 18, 1-9.
- Körner J. F., D. Nestic, J. Diaz-Romero, W. Brehm, P. Mainil-Varlet und S. P. Grogan (2005): Equine peripheral blood derived progenitors in comparison to bone marrow derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells* in press
- Lagasse E., H. Connors, M. Al-Dhalimy, M. Reitsma, M. Dohse, L. Osborne, X. Wang, M. Finegold, I. L. Weissman und M. Grompe (2000): Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med* 6, 1229-1234
- Li M., Y. H. Li, Y. Hou, X. F. Sun, Q. Sun und W. H. Wang (2004): Isolation and culture of pluripotent cells from in vitro produced porcine embryos. *Zygote* 12, 43-48
- Lim J. W. und A. Bodnar (2002): Proteome analysis of conditioned medium from mouse embryonic fibroblast feeder layers which support the growth of human embryonic stem cells. *Proteomics* 2, 1187-1203
- Magne D., C. Vinatier, M. Julien, P. Weiss und J. Guicheux (2005): Mesenchymal stem cell therapy to rebuild cartilage. *Trends Mol Med* 11, 519-526
- Martin D. R., N. R. Cox, T. L. Hathcock, G. P. Niemeyer und H. J. Baker (2002): Isolation and characterization of multipotential mesenchymal stem cells from feline marrow. *Exp Hematol* 30, 879-886
- Mayhall E. A., N. Paffett-Lugassy und L. I. Zon (2004): The clinical potential of stem cells. *Curr Opin Cell Biol* 16, 713-720
- McKay R. D. (2004): Stem cell biology and neurodegenerative disease. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 359, 851-856
- Nixon A. J., B. D. Brower-Toland, S. J. Bent, R. A. Saxer, M. J. Wilke, P. D. Robbins und C. H. Evans (2000): Insulinlike growth factor-I gene therapy applications for cartilage repair. *Clin Orthop* 379, S201-213
- Nixon A. J. und L. A. Fortier (2001): New Horizons in Articular Cartilage Repair. 47th Annual AAEP Convention Proceedings 219-226
- Odorico J. S., D. S. Kaufman und J. A. Thomson (2001): Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines. *Stem Cells* 19, 193-204
- Ortiz L. A., F. Gambelli, C. McBride, D. Gaupp, M. Baddoo, N. Kaminski und D. G. Phinney (2003): Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 8407-8411
- Park T. S. und J. Y. Han (2000): Derivation and characterization of pluripotent embryonic germ cells in chicken. *Mol Reprod Dev* 56, 475-482
- Pittenger M. F., A. M. Mackay, S. C. Beck, R. K. Jaiswal, R. Douglas, J. D. Mosca, M. A. Moorman, D. W. Simonetti, S. Craig und D. R. Marshak (1999): Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 284, 143-147

- Pittenger M. F. und B. J. Martin (2004): Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ Res* 95, 9-20
- Quintana-Bustamante O., A. Alvarez-Barrientos, A. V. Kofman, I. Fabregat, J. A. Bueren, N. D. Theise und J. C. Segovia (2006): Hematopoietic mobilization in mice increases the presence of bone marrow-derived hepatocytes via in vivo cell fusion. *Hepatology* 43, 108-116
- Rickard D. J., M. Kassem, T. E. Hefferan, G. Sarkar, T. C. Spelsberg und B. L. Riggs (1996): Isolation and characterization of osteoblast precursor cells from human bone marrow. *J Bone Miner Res* 11, 312-324
- Rosler E. S., G. J. Fisk, X. Ares, J. Irving, T. Miura, M. S. Rao und M. K. Carpenter (2004): Long-term culture of human embryonic stem cells in feeder-free conditions. *Dev Dyn* 229, 259-724
- Rubin H. (2002): The disparity between human cell senescence in vitro and lifelong replication in vivo. *Nat Biotechnol* 20, 675-681
- Saito S., H. Ugai, K. Sawai, Y. Yamamoto, A. Minamihashi, K. Kurosaka, Y. Kobayashi, T. Murata, Y. Obata und K. Yokoyama (2002): Isolation of embryonic stem-like cells from equine blastocysts and their differentiation in vitro. *FEBS Lett* 531, 389-396
- Salingcamboriboon R., H. Yoshitake, K. Tsuji, M. Obinata, T. Amagasa, A. Nifuji und M. Noda (2003): Establishment of tendon-derived cell lines exhibiting pluripotent mesenchymal stem cell-like property. *Exp Cell Res* 287, 289-300
- Sjogren A., T. Hardarson, K. Andersson, G. Caisander, M. Lundquist, M. Wikland, H. Semb und L. Hamberger (2004): Human blastocysts for the development of embryonic stem cells. *Reprod Biomed Online* 9, 326-329
- Smith R. K. (2004): Stem cells - surgical instrument or science fiction? 13th Annual Scientific Meeting of the ECVS, Prague, European College of Veterinary Surgeons, 194
- Smith R. K., M. Korda, G. W. Blunn und A. E. Goodship (2003): Isolation and implantation of autologous equine mesenchymal stem cells from bone marrow into the superficial digital flexor tendon as a potential novel treatment. *Equine Vet J* 35, 99-102
- Sukoyan M. A., S. Y. Vatolin, A. N. Golubitsa, A. I. Zhelezova, L. A. Semenova und O. L. Serov (1993): Embryonic stem cells derived from morulae, inner cell mass, and blastocysts of mink: comparisons of their pluripotencies. *Mol Reprod Dev* 36, 148-158
- Talbot N. C., A. M. Powell und C. E. Rexroad, Jr. (1995): In vitro pluripotency of epiblasts derived from bovine blastocysts. *Mol Reprod Dev* 42, 35-52
- Thomson J. A., J. Itskovitz-Eldor, S. S. Shapiro, M. A. Waknitz, J. J. Swiergiel, V. S. Marshall und J. M. Jones (1998): Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 282, 1145-1147
- Thomson J. A., J. Kalishman, T. G. Golos, M. Durning, C. P. Harris, R. A. Becker und J. P. Hearn (1995): Isolation of a primate embryonic stem cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92, 7844-7848
- Tsuji Y., K. Imai, M. Kajiwaru, Y. Aoki, T. Isoda, D. Tomizawa, M. Imai, S. Ito, H. Maeda, Y. Minegishi, H. Ohkawa, J. Yata, N. Sasaki, K. Kogawa, M. Nagasawa, T. Morio, S. Nonoyama und S. Mizutani (2006): Hematopoietic stem cell transplantation for 30 patients with primary immunodeficiency diseases: 20 years experience of a single team. *Bone Marrow Transplant* online publication Jan 23
- Tyndall A. und T. Daikeler (2005): Autologous hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases. *Acta Haematol* 114, 239-247
- Vassilieva S., K. Guan, U. Pich und A. M. Wobus (2000): Establishment of SSEA-1- and Oct-4-expressing rat embryonic stem-like cell lines and effects of cytokines of the IL-6 family on clonal growth. *Exp Cell Res* 258, 361-373
- Vodyanik M. A., J. A. Bork, J. A. Thomson und Slukvin, II (2005): Human embryonic stem cell-derived CD34+ cells: efficient production in the coculture with OP9 stromal cells and analysis of lymphohematopoietic potential. *Blood* 105, 617-626
- Wagers A. J. und I. L. Weissman (2004): Plasticity of adult stem cells. *Cell* 116, 639-648
- Wakitani S., T. Saito und A. I. Caplan (1995): Myogenic cells derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells exposed to 5-azacytidine. *Muscle Nerve* 18, 1417-1426
- Wobus A. M. und K. R. Boheler (2005): Embryonic stem cells: prospects for developmental biology and cell therapy. *Physiol Rev* 85, 635-678
- Woo S. L., K. Hildebrand, N. Watanabe, J. A. Fenwick, C. D. Pappageorgiou und J. H. Wang (1999): Tissue engineering of ligament and tendon healing. *Clin Orthop* 367, S312-323
- Woodard P., R. Barfield, G. Hale, E. Horwitz, W. Leung, R. Ribeiro, J. Rubnitz, D. K. Srivastava, X. Tong, U. Yusuf, S. Raimondi, C. H. Pui, R. Handgretinger und J. M. Cunningham (2005): Outcome of hematopoietic stem cell transplantation for pediatric patients with therapy-related acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome. *Pediatr Blood Cancer* online publication Sep 9
- Wright W. E. und J. W. Shay (2002): Historical claims and current interpretations of replicative aging. *Nat Biotechnol* 20, 682-688
- Yang, Y. L., M. Y. Lu, S. T. Jou, K. H. Lin und D. T. Lin (2005): Matched-unrelated-donor bone marrow transplantation for children with leukemia. *J Formos Med Assoc* 104, 448-451
- Young R. G., D. L. Butler, W. Weber, A. I. Caplan, S. L. Gordon und D. J. Fink (1998): Use of mesenchymal stem cells in a collagen matrix for Achilles tendon repair. *J Orthop Res* 16, 406-413
- Zarnett R. und R. B. Salter (1989): Periosteal neochondrogenesis for biologically resurfacing joints: its cellular origin. *Can J Surg* 32, 171-174
- Zhao D. C., J. X. Lei, R. Chen, W. H. Yu, X. M. Zhang, S. N. Li und P. Xiang (2005): Bone marrow-derived mesenchymal stem cells protect against experimental liver fibrosis in rats. *World J Gastroenterol* 11, 3431-3440
- Zuk P. A., M. Zhu, H. Mizuno, J. Huang, J. W. Futrell, A. J. Katz, P. Benhaim, H. P. Lorenz und M. H. Hedrick (2001): Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 7, 211-228
- zur Nieden N. I., L. J. Ruf, G. Kempka, H. Hildebrand und H. J. Ahr (2001): Molecular markers in embryonic stem cells. *Toxicol In Vitro* 15, 455-461
- Zvaifler N. J., L. Marinova-Mutafchieva, G. Adams, C. J. Edwards, J. Moss, J. A. Burger und R. N. Maini (2000): Mesenchymal precursor cells in the blood of normal individuals. *Arthritis Res* 2, 477-488

Dr. W. Brehm
 Universität Bern
 Department für Klinische Veterinärmedizin
 Chirurgische Pferdeklunik
 Länggass-Strasse 124
 3012 Bern
 Schweiz
 walter.brehm@knp.unibe.ch