

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory  
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



**Markéta Fráňová**

Význam glykolýzy a oxidativní fosforylace v metabolismu mezenchymálních kmenových  
buněk  
Importance of glycolysis and oxidative phosphorylation in the metabolism of mesenchymal  
stem cells

Bakalářská práce

Školitelka: doc. RNDr. Magdaléna Krulová, Ph.D.

Praha, 2022

## **Poděkování**

Chtěla bych poděkovat především své školitelce doc. RNDr. Magdaléně Krulové, Ph.D. za její odborné vedení při psaní závěrečné práce, velikou vstřícnost a trpělivost. Dále bych chtěla poděkovat všem z Laboratoře imunoregulací za jejich cenné rady a také své rodině, která mě během psaní práce velmi podporovala.

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 29.04.2022

Markéta Fráňová

## Abstrakt

Mezenchymální kmenové buňky (MSC) se řadí mezi multipotentní kmenové buňky. Mají schopnost diferencovat do mnoha buněčných typů, podporovat angiogenezi, zvyšovat přežití buněk v poškozené tkáni a modulovat imunitní odpověď. Těchto funkcí MSC se využívá při léčbě různých poranění a některých onemocnění. Tato práce charakterizuje MSC, zaměřuje se především na jejich energetický metabolismus, konkrétně na změny mezi glykolýzou a oxidativní fosforylací při různých stavech MSC, během kultivace a po transplantaci. Na závěr jsou uvedeny dvě modulační metody metabolismu MSC, modulační hypoxickým prostředím a převedení do klidového stavu deprivací séra, které zvyšují přežití buněk v ischemických podmínkách, do nichž se MSC po transplantaci dostávají.

**Klíčová slova:** mezenchymální kmenové buňky, metabolismus, glykolýza, oxidativní fosforylace

## Abstract

Mesenchymal stem cells (MSCs) are classified as multipotent stem cells. They possess the ability to differentiate into many cell types, promote angiogenesis, increase cell survival in damaged tissue and modulate the immune response. These functions of MSCs are used in the treatment of various injuries and some diseases. This work characterizes MSCs, with a focus on their energy metabolism, specifically on the switch in their metabolic phenotype between glycolysis and oxidative phosphorylation in different states of MSCs, during cell culture and after transplantation. Finally, two modulations of MSC metabolism are presented, including cultivation in a hypoxic environment and quiescence induced by serum deprivation, which increase cell survival under the ischemic conditions that MSCs enter after transplantation.

**Key words:** mesenchymal stem cells, metabolism, glycolysis, oxidative phosphorylation

# Obsah

## Seznam použitých zkratek

1	Úvod.....	1
2	Mezenchymální kmenové buňky.....	2
2.1	Vlastnosti mezenchymálních kmenových buněk .....	2
2.2	Výskyt mezenchymálních kmenových buněk .....	3
2.3	Funkce mezenchymálních kmenových buněk.....	4
2.3.1	Reparace poškozené tkáně.....	5
2.3.2	Imunomodulace .....	5
2.4	Využití mezenchymálních kmenových buněk.....	6
3	Metabolismus .....	7
3.1	Metabolismus mezenchymálních kmenových buněk.....	8
3.1.1	Metabolismus mezenchymálních kmenových buněk v klidovém stavu.....	8
3.1.2	Metabolismus mezenchymálních kmenových buněk při proliferaci .....	10
3.1.3	Metabolismus mezenchymálních kmenových buněk při diferenciaci.....	10
3.1.3.1	Osteogenní diferenciaci.....	10
3.1.3.2	Adipogenní diferenciaci.....	12
3.1.3.3	Chondrogenní diferenciaci.....	12
3.1.4	Metabolismus mezenchymálních kmenových buněk při kultivaci.....	13
3.1.5	Metabolismus mezenchymálních kmenových buněk po transplantaci.....	15
4	Modulace metabolismu .....	16
4.1	Modulace metabolismu hypoxickým prostředím .....	16
4.2	Modulace metabolismu deprivací séra .....	17
5	Závěr.....	18
6	Seznam použité literatury .....	20

## Seznam použitých zkratek

MSC – mezenchymální kmenové buňky

HSC – hematopoetické kmenové buňky

SDF-1 – faktor 1 odvozený od stromálních buněk

IL – interleukin

TGF- $\beta$  – transformující růstový faktor beta

PGE2 – prostaglandin E2

HGF – hepatocytární růstový faktor

IDO – indolamin 2,3-dioxygenáza

VCAM-1 – vaskulární buněčný adhezní protein 1

ICAM-1 – intercelulární adhezivní molekula 1

FasL – Fas ligand

FasR – Fas receptor

Treg – regulační T-lymfocyty

GvHD – nemoc štěpu proti hostiteli

ATP – adenosintrifosfát

NAD<sup>+</sup>, NADH – nikotinamidadenindinukleotid

Acetyl-CoA – acetylkoenzym A

ADP – adenosindifosfát

ROS – reaktivní formy kyslíku

HIF-1 – hypoxií indukovaný faktor 1

PDK1 – pyruvátdehydrogenáza kináza

PDH – pyruvátdehydrogenáza

IF1 – inhibiční faktor 1

LDH – laktát dehydrogenáza

# 1 Úvod

Mezenchymální kmenové buňky (mesenchymal stem cells – MSC) jsou buňky schopné proliferace a diferenciaci do mnoha buněčných typů, jako jsou například osteoblasty, chondrocyty a adipocyty. Dále mají schopnost indukovat regenerativní mikroprostředí. Produkují řadu cytokinů a růstových faktorů, čímž modulují imunitní odpověď, podporují angiogenezi a zvyšují míru přežití buněk v místě poškození. Díky svým vlastnostem mají značný potenciál pro využití v tkáňovém inženýrství. Úspěch léčby založené na MSC však není tak velký, jak se předpokládalo. Je to způsobeno především vysokou úmrtností kmenových buněk po transplantaci (shrnutí v: Salazar-Noratto et al. 2020).

MSC jsou standardně kultivovány při 20 % kyslíku. Po transplantaci se dostávají do ischemického prostředí, kde jsou vystaveny velkému metabolickému stresu, který je spojen s nedostatkem živin, kyslíku a hromaděním odpadních látek, což výrazně snižuje jejich přežití (Becquart et al. 2012). Bylo zjištěno, že hlavní příčinou nízké životaschopnosti transplantovaných MSC je nedostatek glukózy. Při nedostatku kyslíku přecházejí MSC na anaerobní metabolismus, jediným zdrojem energie je pro ně tedy glykolýza (Moya et al. 2018). Řada výzkumných týmů zabývajících se problematikou MSC se v poslední době zaměřila na studium jejich metabolismu. Získané poznatky by mohly pomoci ke zlepšení terapeutického potenciálu MSC (shrnutí v: Salazar-Noratto et al. 2020).

Cílem této bakalářské práce je shrnutí poznatků o metabolismu MSC v různých stavech a prostředích, konkrétně se práce zaměřuje na glykolýzu a oxidativní fosforylaci. Na závěr jsou uvedeny možné modulace metabolismu, jež vedou ke zlepšení přežití buněk v ischemickém prostředí, do něhož se MSC po transplantaci dostávají.

## 2 Mezenchymální kmenové buňky

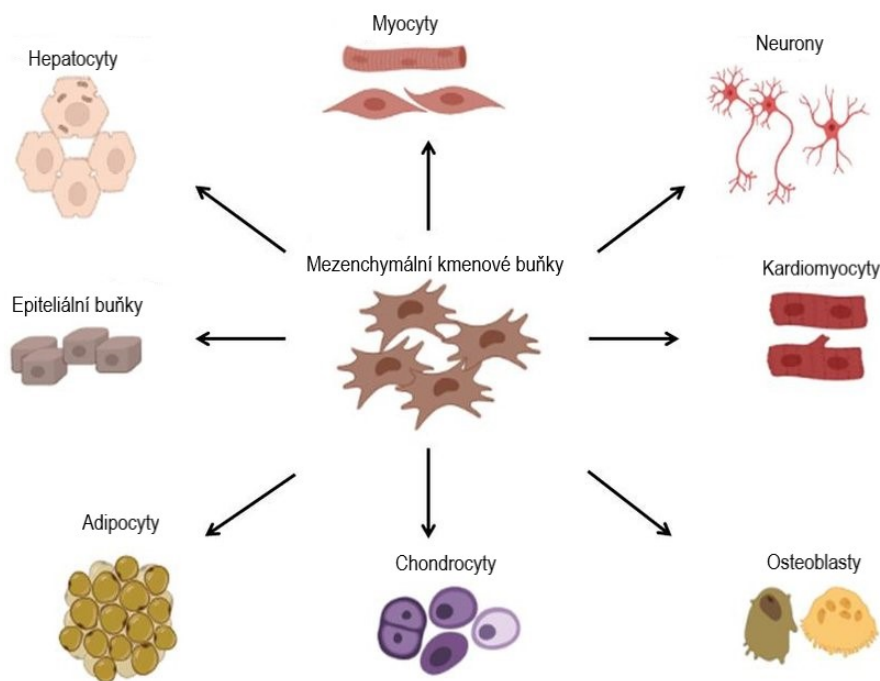
V 70. letech 20. století Alexander Friedenstein a jeho kolegové objevili v kostní dřeni MSC. Tyto buňky podobné fibroblastům byly popsány jako buňky schopné tvorby klonů a adheze na plastový povrch. Dále bylo zjištěno, že za určitých podmínek mají schopnost diferencovat do buněk kostní tkáně (Friedenstein et al. 1970). Název mezenchymální kmenové buňky získaly od Arnolda Caplana o dvacet let později (shrnuto v: Caplan 1990). Po rozpoznání jejich terapeutického potenciálu začaly být MSC intenzivněji studovány.

### 2.1 Vlastnosti mezenchymálních kmenových buněk

MSC jsou schopné sebeobnovy a diferenciací. Jsou, stejně jako hematopoetické kmenové buňky (hematopoietic stem cells – HSC), multipotentní, což znamená, že mohou dát vzniknout mnoha typům specializovaných buněk. Primárně diferencují do buněk mezodermálního původu, jako jsou osteoblasty, chondrocyty, adipocyty a myocyty (Friedenstein et al. 1970; Nakahara et al. 1990; Pittenger et al. 1999; Gawronska-Kozak et al. 2007). Za specifických podmínek, které jsou určeny přítomností určitých růstových a dalších faktorů, mohou diferencovat i na další buněčné typy, například buňky podobné hepatocytům, neuronům, epiteliálním buňkám renálních tubulů a gastrointestinálního traktu (Lee et al. 2004a; Sanchez-Ramos et al. 2000; Herrera et al. 2004; Okamoto et al. 2002). Genetické manipulace umožňují další úpravy, například lze z MSC získat buňky produkující inzulin (Karnieli et al. 2007). Diferenciační potenciál MSC je shrnut na obrázku 1.

V dosavadních studiích nebyl objeven žádný specifický povrchový znak pro MSC. Obecně lze říci, že velké procento MSC exprimuje molekuly CD90, CD73, CD105, CD44 a CD13, zatímco pouze velmi malé procento exprimuje molekuly CD34, CD45, CD31, což jsou znaky buněk hematopoetické linie (Dominici et al. 2006). Dále byly prokázány některé rozdíly v expresi povrchových znaků v závislosti na tkáni, ze které byly MSC izolovány. Expresí povrchových molekul může být ovlivněna také kultivačními podmínkami. Odlišné kultivační podmínky v jednotlivých studiích tak mohou vést k rozdílným hodnotám udávajícím míru exprese daného znaku u určitého typu MSC (Musina et al. 2005; Schmelzer et al. 2019).





Obrázek 1: Diferenciace MSC, převzato a upraveno: (Dzobo 2021)

## 2.2 Výskyt mezenchymálních kmenových buněk

MSC se nacházejí v perivaskulárních nikách kmenových buněk (Shi a Gronthos 2003). Niky kmenových buněk jsou charakterizovány mikroprostředím, které je vytvářeno molekulami extracelulární matrix, rozpustnými faktory a interakcemi s okolními buňkami s cílem udržet kmenové buňky v nediferencovaném stavu. V případě poranění dochází ke změně faktorů prostředí, která způsobí aktivaci kmenových buněk, jejich diferenciaci a následnou opravu poškozené tkáně (shrnutí v: Chacón-Martínez et al. 2018). Bylo prokázáno, že množství MSC v daném místě koreluje s hustotou krevních cév. Da Silva Meirelles a jeho kolegové porovnali dva vzorky tukové tkáně, vysoce vaskularizovaný a málo vaskularizovaný, a zjistili, že ve vysoce vaskularizovaném vzorku je větší výskyt MSC (Da Silva Meirelles et al. 2009).

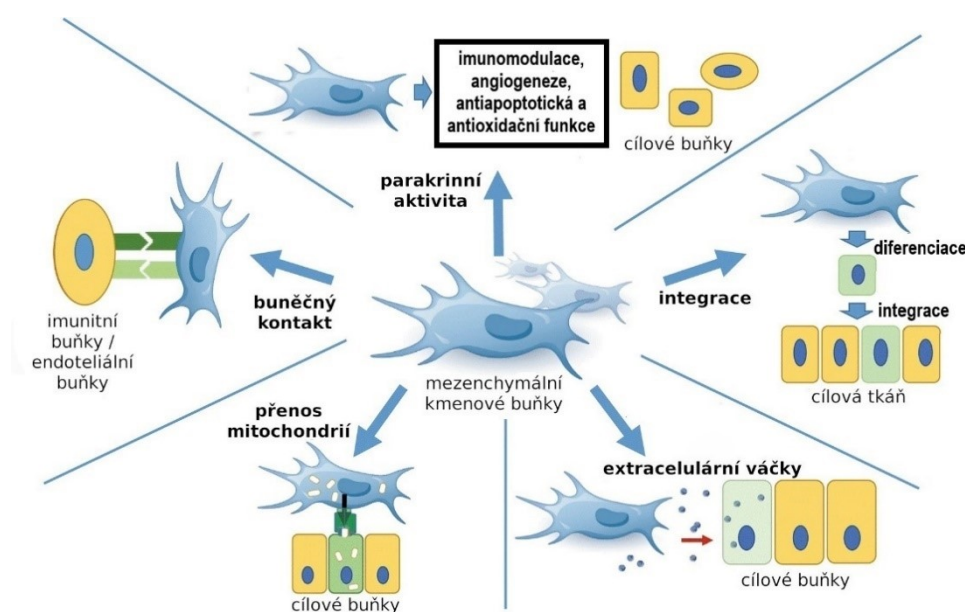
První tkání, z níž vědci izolovali lidské MSC, byla kostní dřeň, kterou osidlují kromě MSC také HSC (Pittenger et al. 1999). Později bylo zjištěno, že se MSC vyskytují téměř ve všech tkáních. MSC byly izolovány například z tukové tkáně, šlach, synoviální membrány kloubu, zubní dřeně, pupečnickové krve, plodové vody a placenty (Zuk et al. 2001; Salingcarboriboon et al. 2003; De Bari et al. 2001; Pierdomenico et al. 2005; Lee et al. 2004b; Fei et al. 2013; Miao et al. 2006). Kostní dřeň není úplně ideálním zdrojem lidských MSC, a to z důvodu poměrně malého výskytu MSC v dané tkáni a odběru, který je prováděn vpichem punkční jehly do pánevní kosti v celkové anestezii. Jako vhodnější tkáň se zdají být z hlediska dostupnosti tuková tkáň či placenta. Tyto tkáň lze označit za „lékařský odpad“,

jenž je získán v případě tukové tkáně po liposukci a v případě placenty po porodu (in't Anker et al. 2004; Zuk et al. 2001). Buňky musí splnit alespoň minimální kritéria pro to, aby byly charakterizovány jako MSC. Tato minimální kritéria zahrnují schopnost adherovat k plastu a diferencovat na osteoblasty, chondrocyty a adipocyty *in vitro*. Dále musí buňky exprimovat povrchové molekuly CD90, CD73, CD105 a pouze minimálně exprimovat CD34 a CD45 (Dominici et al. 2006). Přesto lze mezi MSC izolovanými z různých tkání nalézt rozdíly. Jak již bylo zmíněno výše, mohou se lišit expresí některých povrchových molekul nebo potenciálem diferencovat na určitý buněčný typ (Kozłowska et al. 2019).

Množství MSC v organismu klesá se zvyšujícím se věkem jedince. Dochází ke stárnutí buněk, které je doprovázeno množstvím změn v jejich vlastnostech a morfologii. MSC mladých jedinců vykazují typický fibroblastový tvar, u starších jedinců jsou buňky více zploštělé a větší. Se zvyšujícím se věkem jedince klesá kromě počtu buněk i jejich schopnost proliferovat a diferencovat (Feng et al. 2014).

## 2.3 Funkce mezenchymálních kmenových buněk

MSC vykonávají v organismu řadu funkcí. Jsou schopné nahradit buňky poraněné tkáně diferenciací do mnoha buněčných typů, podporují angiogenezi a přežití buněk, inhibují buněčnou smrt, dále se podílejí na tvorbě mikroprostředí v hematopoetické nise kmenových buněk a ovlivňují funkci buněk imunitního systému (Francois et al. 2013; Omatsu et al. 2010; Ren et al. 2010). K tomu využívají různé mechanismy, jež jsou základem řady terapií založených na MSC. Mezi dané mechanismy se řadí přímá diferenciaci, parakrinní aktivita, tvorba a uvolňování extracelulárních váčků, mitochondriální přenos či přímý kontakt mezi MSC a cílovou buňkou prostřednictvím povrchových molekul (obrázek 2) (shrnutí v: Fan et al. 2020).



Obrázek 2: Mechanismy využívané MSC, převzato a upraveno: (Fan et al. 2020)

Terapeutický potenciál MSC je přikládán především jejich reparačním a imunomodulačním schopnostem (shrnuto v: Fan et al. 2020). Tyto dvě funkce MSC jsou více popsány níže.

### 2.3.1 Reparace poškozené tkáně

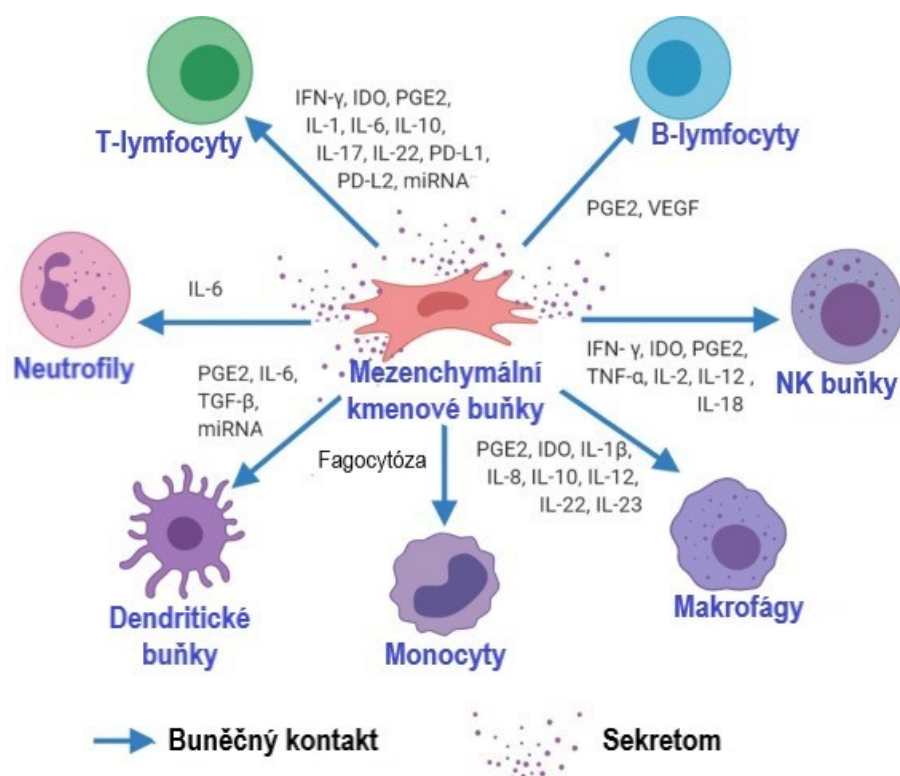
Mezi vlastnosti MSC patří produkce různých faktorů a také diferenciací do mnoha buněčných typů. Těchto vlastností využívají pro opravu poškozené tkáně.

Při poškození tkáně dochází ke změně okolního prostředí. V reakci na cytokiny a chemokiny migrují MSC do místa poranění. Bylo zjištěno, že jedním z hlavních chemokinů podílejících se na navádění MSC k poškozené tkáni je faktor 1 odvozený od stromálních buněk (stromal cell-derived factor 1 – SDF-1), který se váže na receptor CXCR4 (Oh et al. 2018). Poté, co MSC doputují k poraněné tkáni, začnou se podílet na její opravě. Diferencují na potřebné buněčné typy, aby nahradily poškozené buňky. Více než přímou diferenciací se MSC podílejí na regeneraci produkcí cytokinů, chemokinů a růstových faktorů, které podporují angiogenezi a přežití buněk v místě poškození a potlačují zánět (Francois et al. 2013).

### 2.3.2 Imunomodulace

MSC mají také schopnost imunomodulace, podílejí se na regulaci aktivity buněk vrozené i adaptivní imunity. Produkují množství rozpustných faktorů, které mají vliv na funkce buněk imunitního systému, například interleukin (IL)-6, IL-10, transformující růstový faktor beta (transforming growth factor beta – TGF- $\beta$ ), prostaglandin E2 (PGE2), hepatocytární růstový faktor (hepatocyte growth factor – HGF) a indolamin 2,3-dioxygenáza (indolamine 2,3-dioxygenase – IDO) (Bouffi et al. 2010; Németh et al. 2009; Nicola et al. 2002; Meisel et al. 2004). Produkce rozpustných faktorů není jediný způsob používaný MSC při imunomodulaci. MSC využívají i přímého kontaktu s imunitní buňkou prostřednictvím povrchových molekul. Příkladem jsou adhezivní molekuly vaskulární buněčný adhezivní protein 1 (vascular cell adhesion molecule 1 – VCAM-1) a intercelulární adhezivní molekula 1 (intercellular adhesion molecule 1 – ICAM-1), jejichž exprese se u MSC v zánětlivém prostředí zvyšuje, to vede k vyšší adhezi MSC k T-lymfocytům, a tedy podporuje jejich imunosupresivní působení (Ren et al. 2010). Jako další je možno uvést interakci mezi Fas ligandem (FasL) na povrchu MSC a Fas receptorem (FasR) na povrchu T-lymfocytů. Tato interakce indukuje apoptózu T-lymfocytů (Akiyama et al. 2012).

Obecně působí MSC na buňky imunitního systému supresivně, potlačují proliferaci T-lymfocytů a B-lymfocytů, diferenciací B-lymfocytů na plazmatické buňky, podporují tvorbu regulačních T-lymfocytů (Treg) a produkci protizánětlivých cytokinů (Asari et al. 2009; Augello et al. 2007; Gao et al. 2014). Shrnutí imunomodulačních funkcí MSC je zobrazeno na obrázku 3.



Obrázek 3: Imunomodulační funkce MSC; zkratky:  $IFN-\gamma$  (interferon gamma),  $IDO$  (indolamin 2,3-dioxygenáza),  $PGE2$  (prostaglandin E2),  $IL$  (interleukin),  $PD-L1$  (ligand receptoru programované buněčné smrti 1),  $PD-L2$  (ligand receptoru programované buněčné smrti 2),  $miRNA$  (mikroRNA),  $TGF-\beta$  (transformující růstový faktor beta),  $TNF-\alpha$  (tumor nekrotizující faktor alfa); převzato a upraveno: (Song et al. 2020)

## 2.4 Využití mezenchymálních kmenových buněk

Potenciál MSC pro využití v medicíně je velký. Pro své vlastnosti jsou testovány k použití v léčbě různých typů poranění a řady onemocnění. Vzhledem k jejich schopnosti regenerovat poškozené tkáně je možné je využít k léčbě zranění, jako jsou popáleniny, zlomeniny, poranění kosterních svalů a míchy (Oh et al. 2018; Mousaei Ghasroldasht et al. 2019; Merritt et al. 2010; Yang et al. 2018), či některých onemocnění – infarkt myokardu, cévní mozková příhoda (Miyahara et al. 2006; Ikegame et al. 2011). Imunomodulační funkce MSC má význam při léčbě nemoci štěpu proti hostiteli (graft versus host disease – GvHD) a autoimunitních onemocnění (Weng et al. 2010; Llufríu et al. 2014; Cai et al. 2016).

K 18.04.2022 bylo registrováno 1 317 klinických studií testujících využití MSC v léčbě řady onemocnění a poranění, z toho je 382 studií fáze I, 424 studií fáze I/II, 249 studií fáze II, 31 studií fáze II/III, 54 studií fáze III a 8 studií fáze IV. Zbýlých 169 studií není zařazeno do žádné fáze. 404 klinických studií již bylo dokončeno, 346 studií je ve fázi nábory účastníků nebo aktuálně probíhá. První klinická studie využívající MSC byla zahájena roku 1995 a týkala se léčby dědičného onemocnění osteogenesis imperfecta. V období od 01.01.2022 do 18.04.2022 bylo zahájeno 34 klinických studií, převážně studie

fáze I a fáze II. Jako příklad lze uvést studie testující aplikaci MSC pro léčbu osteoporózy, diabetu, roztroušené sklerózy, amyotrofické laterální sklerózy, lupusu, zánětlivých střevních onemocnění, revmatoidní artritidy, poranění mozku, poranění míchy a cévní mozkové příhody ([zdroj: mesenchymal stem cells - List Results - ClinicalTrials.gov](#)).

### 3 Metabolismus

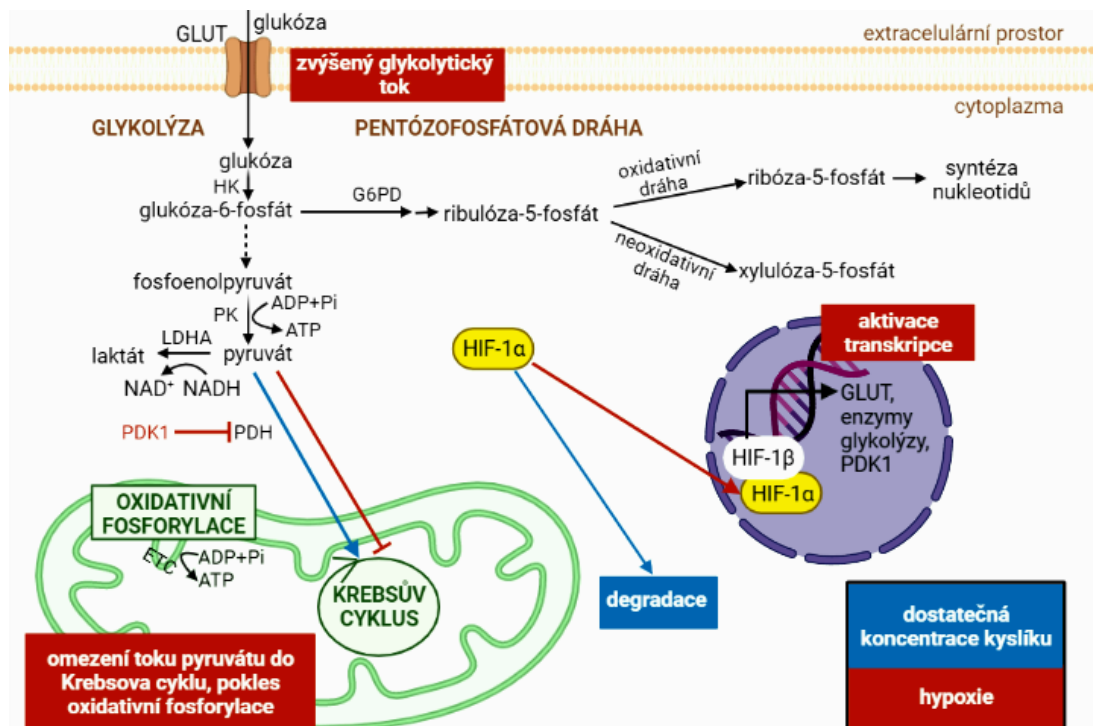
Každá buňka má v organismu určitou funkci. Proto, aby mohla přežít a danou funkci vykonávat potřebuje energii. Každá funkce má jiné energetické nároky a vyžaduje syntézu jiných molekul. Soubor enzymatických reakcí, jimiž si buňky potřebné molekuly vyrábí, se nazývá buněčný metabolismus. Metabolické dráhy se dělí na katabolické a anabolické. Katabolismus je soubor rozkladných procesů, při kterých dochází k rozkladu složitějších molekul na jednodušší a tvoří se energie. Opakem je anabolismus, do něhož řadíme všechny děje, při kterých se složitější molekuly za spotřeby energie syntetizují. Tato práce se zaměřuje na katabolické dráhy, konkrétně na glykolýzu a oxidativní fosforylaci (obrázek 4) a změny mezi nimi u MSC v různých stavech a prostředích.

Pojmem glykolýza je označován soubor deseti enzymatických reakcí probíhajících v cytoplazmě, při kterých dochází k přeměně glukózy na dvě molekuly pyruvátu. Během glykolýzy dochází ke vzniku čtyř molekul adenosintrifosfátu (adenosine triphosphate – ATP), jenž je využíván jako zdroj energie v mnoha buněčných procesech, a dvou molekul redukováného koenzymu nikotinamidadeninukleotidu (nicotinamide adenine dinucleotide – NAD<sup>+</sup>, v redukované formě NADH). Dvě molekuly ATP jsou v reakcích spotřebovány. Celkový energetický zisk je tedy dvě molekuly ATP na jednu molekulu glukózy. Následná přeměna pyruvátu závisí na podmínkách, v anaerobních podmínkách je přeměněn za spotřeby redukováného koenzymu na laktát, zatímco za aerobních podmínek dochází k oxidativní dekarboxylaci na acetylkoenzym A (acetylkoenzyme A – acetyl-CoA), jenž vstupuje do Krebsova cyklu.

Krebsův cyklus je lokalizován v mitochondriální matrix. Jedná se o metabolický děj začínající přenesením acetylové skupiny z acetyl-CoA na oxalacetát za vzniku citrátu a končící regenerací oxalacetátu. V mezikrocích dochází mimo jiné ke dvěma dekarboxylačním reakcím, při nichž vzniká oxid uhličitý, a k oxidacím substrátu, jež dávají vznik redukovaným koenzymům. Ziskem jednoho cyklu jsou dvě molekuly oxidu uhličitého, čtyři molekuly redukovaných koenzymů a jedna molekula ATP.

Redukované koenzymy vzniklé v předchozích metabolických drahách jsou oxidovány během oxidativní fosforylace. Transmembránové proteinové komplexy přijímají elektrony od redukovaných koenzymů a transportují je přes další přenašeče až na kyslík, který reaguje s protony za vzniku vody. Kromě přenosu elektronů dochází také k přepumpování protonů přes vnitřní mitochondriální membránu

do mezimembránového prostoru, čímž se vytváří protonový gradient. Vzniklý elektrochemický gradient pohání syntézu ATP z adenosindifosfátu (adenosine diphosphate – ADP) a anorganického fosfátu, která je katalyzovaná mitochondriální ATP syntázou (shrnuje v: Dashty 2013). Celkový energetický zisk při aerobní respiraci je přibližně 32 molekul ATP na molekulu glukózy (Mookerjee et al. 2017).



Obrázek 4: Schematické znázornění metabolismu glukózy při různé koncentraci kyslíku; zkratky: ADP (adenosindifosfát), ATP (adenosintrifosfát), Pi (anorganický fosfát),  $NAD^+$ , NADH (nikotinamidadenin dinukleotid), GLUT (přenašeč glukózy), HIF-1 (hypoxií indukovaný faktor 1), HK (hexokináza), LDHA (laktát dehydrogenáza A), PDK1 (pyruvátdehydrogenáza kináza), PDH (pyruvátdehydrogenáza), PK (pyruvát kináza), G6PD (glukóza-6-fosfát dehydrogenáza), ETC (elektronový transportní řetězec); vlastní tvorba, cílem bylo vytvořit obrázek, který shrnuje základní metabolické dráhy popisované v této práci a změny mezi nimi při různých koncentracích kyslíku (vytvořeno v: BioRender.com)

## 3.1 Metabolismus mezenchymálních kmenových buněk

### 3.1.1 Metabolismus mezenchymálních kmenových buněk v klidovém stavu

Jak již bylo zmíněno v kapitole o výskytu mezenchymálních kmenových buněk, MSC se v organismu nacházejí v perivaskulárních nikách kmenových buněk (Shi a Gronthos 2003). Vyskytují se zde v klidovém stavu, tedy v G0 fázi buněčného cyklu, což jim umožňuje udržet si dlouhodobě schopnost sebeobnovy. V případě poškození tkáně reagují na změnu okolních faktorů, obnovují buněčný cyklus, prolifерují a diferencují, čímž zajišťují reparaci poškozené tkáně (shrnuje v: Chacón-Martínez et al. 2018).

Prostředí v perivaskulární nice kmenových buněk je hypoxické (Spencer et al. 2014). MSC v daném prostředí upřednostňují glykolýzu nad oxidativní fosforylací. Nediferencované MSC vykazují ve srovnání s MSC diferencovanými na osteoblasty zvýšenou expresi glykolytických enzymů, a naopak sníženou expresi enzymů uplatňujících se při oxidativní fosforylaci. Také u nich byla zjištěna vyšší produkce laktátu (Chen et al. 2008) a odlišná struktura mitochondrií. U nediferencovaných MSC se mitochondrie vyskytovaly jako jednotlivé organely, zatímco u diferencovaných MSC tvořily síť. Fúze mitochondrií a tvorba sítě souvisí s aktivací mitochondrií a zvýšením oxidativní fosforylace (Shum et al. 2016). Zvýšená oxidativní fosforylace vede k zvýšené produkci reaktivních forem kyslíku (reactive oxygen species – ROS), a tedy i k vyššímu oxidativnímu poškození buněk. Nízká aktivita oxidativního metabolismu u nediferencovaných MSC tudíž omezuje poškození buněk zprostředkované ROS a to má za následek delší životnost MSC (Estrada et al. 2012).

Na regulaci metabolismu se podílí hypoxií indukovaný faktor 1 (hypoxia inducible factor 1 – HIF-1). Jedná se o transkripční faktor, který je tvořen dvěma podjednotkami HIF-1 $\alpha$  a HIF-1 $\beta$ . Podjednotka  $\alpha$  je při dostatečné koncentraci kyslíku polyubikvitinována a degradována v proteazomu. V hypoxických podmínkách HIF-1 $\alpha$  degradaci uniká a translokuje do jádra, kde dimerizuje s  $\beta$  podjednotkou. Vzniklý heterodimer aktivuje transkripci mnoha genů, jako jsou například geny pro některé enzymy glykolýzy a transportéry glukózy (Palomäki et al. 2013; Lavrentieva et al. 2010). HIF-1 tedy podporuje glykolýzu a inhibuje oxidativní fosforylací. Jedním z efektorových enzymů, na jehož transkripci má vliv transkripční faktor HIF-1, je pyruvátdehydrogenáza kináza (pyruvate dehydrogenase kinase – PDK1). Tento enzym je v MSC v hypoxických podmínkách vysoce exprimován (Lavrentieva et al. 2010). PDK1 fosforyluje a inhibuje pyruvátdehydrogenázu (pyruvate dehydrogenase – PDH) – enzym katalyzující přeměnu pyruvátu na acetyl-CoA. Inhibice PDH omezuje tok pyruvátu do Krebsova cyklu a celkově snižuje mitochondriální dýchání (Papandreou et al. 2006). Regulace HIF-1 a metabolismu při různých koncentracích kyslíku je shrnuta na obrázku 4. Nediferencované MSC vykazují vysokou expresi HIF-1, která odpovídá glykolytickému metabolismu těchto buněk a pravděpodobně se podílí na udržování multipotence. Palomäki a kolegové porovnali tři typy MSC (MSC z dospělé kostní dřeně, MSC z dětské kostní dřeně a MSC z pupečnickové krve) a zjistili, že všechny typy vykazují vysokou expresi HIF-1, a to i v normoxických podmínkách. Pouze však MSC izolované z dětské kostní dřeně a pupečnickové krve byly schopné stabilizace HIF-1 v normoxii. U MSC izolovaných z dospělé tkáně byl výskyt mRNA pro HIF-1 nižší ve srovnání s dalšími dvěma typy MSC, což zřejmě nestačilo na stabilizaci HIF-1 v normoxii (Palomäki et al. 2013).

Dalším faktorem, který se podílí na regulaci metabolismu MSC, je inhibiční faktor 1 (ATPase inhibitory factor – IF1). IF1 inhibuje funkci mitochondriální ATP syntázy a tím zabraňuje oxidativní fosforylaci, jedná se tedy o jeden z hlavních regulátorů aktivity mitochondrií. Exprese IF1 byla potvrzena u nediferencovaných MSC, ne však u MSC diferencovaných na osteoblasty. To odpovídá

udržování glykolytického metabolismu u nediferencovaných MSC a následnému zvýšení oxidativní fosforylace během diferenciaci (Sánchez-Aragó et al. 2013).

### **3.1.2 Metabolismus mezenchymálních kmenových buněk při proliferaci**

Proliferace MSC je nezbytná pro jejich sebeobnovu. Proliferující MSC preferují glykolýzu (Dos Santos et al. 2010), a to i přes to, že je tato metabolická dráha ve srovnání s oxidativní fosforylací méně účinná, co se zisku energie týče. Nízká energetická účinnost je však problém pouze při nedostatku energetického substrátu. Při dostatku živin je produkce ATP glykolýzou dostatečná pro udržení proliferativního stavu MSC (Liu et al. 2015). Dalším důvodem preference glykolytické dráhy jsou požadavky dělících se buněk na syntézu makromolekul. Při mitóze dochází ke zdvojení veškerého buněčného obsahu, a tudíž k velké potřebě nukleotidů, aminokyselin a lipidů (shrnuto v: Heiden et al. 2009). Příkladem metabolické dráhy, která využívá jako substrát meziprodukt glykolýzy, je pentózofosfátová dráha. Během této metabolické dráhy dochází k přeměně glukózy-6-fosfátu na ribózu-5-fosfát, jež je nezbytná pro syntézu nukleotidů a koenzymů (obrázek 4). Inhibice enzymu glukóza-6-fosfát dehydrogenázy, který katalyzuje první reakci pentózofosfátové dráhy, vede ke snížení proliferace MSC, což potvrzuje, že odklon části glukózy-6-fosfátu z glykolýzy do pentózofosfátové dráhy je pro dělící se MSC nezbytný (Liu et al. 2015). Přeměna glukózy na oxid uhličitý prostřednictvím oxidativní fosforylace by sice vedla k vyššímu zisku ATP, ale nebyl by k dispozici dostatek NADH a uhlíkatých látek pro syntézu makromolekul, které jsou během proliferace vyžadovány. Preference glykolýzy také chrání MSC před zvýšenou produkcí ROS, která je příčinou vyšší buněčné senescence (Liu et al. 2015). Bylo však zjištěno, že přidání antioxidantů brání přechodu z G1 fáze do S fáze buněčného cyklu. Přechodné zvýšení ROS je tedy nezbytné pro zahájení proliferace MSC (Lyublinskaya et al. 2015).

MSC pacientů s jaterní cirhózou vykazovaly ve srovnání s MSC zdravých jedinců sníženou schopnost přijímat glukózu, nižší glykolytické rezervy a celkově pokles glykolýzy, a to i přes zvýšenou expresi některých glykolytických enzymů. Také u nich byla pozorována nižší schopnost proliferace. To potvrzuje, že glykolytický metabolismus je nezbytný pro udržení sebeobnovy MSC (Kumar et al. 2022).

### **3.1.3 Metabolismus mezenchymálních kmenových buněk při diferenciaci**

#### **3.1.3.1 Osteogenní diferenciaci**

Během osteogenní diferenciaci dochází ke zvýšení mitochondriální aktivity, která je mimo jiné spojena s tvorbou mitochondriální sítě (Shum et al. 2016). MSC diferencující na osteoblasty přeměňují větší množství pyruvátu na acetyl-CoA, který vstupuje do Krebsova cyklu. Tato reakce je katalyzována PDH, jejíž exprese je během osteogenní diferenciaci zvýšena. Ve srovnání s nediferencovanými MSC



produkují diferencující MSC méně laktátu, zatímco spotřeba kyslíku se u nich zvyšuje. Všechny tyto poznatky odpovídají přechodu z glykolýzy na oxidativní fosforylaci (Chen et al. 2008). Informace týkající se změny v počtu mitochondrií jsou nejednotné. Morganti a kolegové udávají, že v průběhu osteogenní diferenciaci dochází ke zvýšení počtu a objemu mitochondrií, avšak v pozdní fázi diferenciaci počet mitochondrií opět klesá, což je spojeno se zvýšenou mitofagií (Morganti et al. 2020). Zvýšení počtu mitochondrií při diferenciaci pozorovali ve své práci také Pietilä a kolegové (Pietilä et al. 2012). Oproti tomu jiné studie nepopisují žádnou výraznou změnu v počtu mitochondrií během osteogenní diferenciaci (Shum et al. 2016; Sánchez-Aragó et al. 2013).

Bylo prokázáno, že osteogenní diferenciaci je negativně ovlivněna dysfunkcí mitochondrií. U myši s mutací v mitochondriální DNA polymeráze byl pozorován nižší počet osteoblastů. Mutace v mitochondriální DNA se hromadí s věkem, to je spojeno s nižším diferenciacním potenciálem MSC do osteogenních buněčných linií a s úbytkem kostní hmoty u starších jedinců (Dobson et al. 2020; Pietilä et al. 2012). S věkem se také zvyšuje množství intracelulárních ROS, u nichž byl zjištěn inhibiční vliv na osteogenní diferenciaci (Chen et al. 2008). Na rozdíl od toho ROS nesnižují schopnost MSC diferencovat na adipocyty (Higuchi et al. 2013). U jedinců s osteoporózou, onemocněním převažujícím ve vyšším věku, byl pozorován vyšší obsah adipocytů v kostní dřeni a snížená schopnost tvořit osteoblasty, což odpovídá výše zmíněným poznatkům (Liao et al. 2013). Zvyšující se mitochondriální aktivita je spojena s vyšší tvorbou ROS, avšak během osteogenní diferenciaci, kdy MSC přecházejí na oxidativní fosforylaci, nebyl zaznamenán nárůst ROS v buňce. Příčinou toho je zvýšená aktivita antioxidantních enzymů katalázy a superoxiddismutázy v průběhu vzniku osteoblastů (Chen et al. 2008).

Expresí faktorů HIF-1 a IF1, které se podílejí na udržování glykolytického metabolismu u MSC, je při osteogenní diferenciaci snížena a odpovídá tedy preferenci oxidativní fosforylace u osteogenně diferencujících MSC. Omezení oxidativní fosforylace zvýšením exprese HIF-1 vede k potlačení diferenciaci MSC na osteoblasty (Shum et al. 2016; Sánchez-Aragó et al. 2013). Na regulaci diferenciaci MSC se podílejí také meziprodukty metabolismu, v případě osteogenní diferenciaci je regulačním meziproduktem citrát. Citrát vzniká v mitochondriální matrix v průběhu Krebsova cyklu. Následně je buď metabolizován v Krebsově cyklu, nebo může být transportován do cytosolu, kde je přeměněn na acetyl-CoA či  $\alpha$ -ketoglutarát, které se podílejí na regulaci stavu acetylace a metylace histonů. Blokace mitochondriálního transportního proteinu pro citrát inhibovala osteogenní diferenciaci MSC, ale nijak neovlivnila diferenciaci na adipocyty, což je důkazem toho, že transport citrátu do cytosolu, jeho přeměna na acetyl-CoA či  $\alpha$ -ketoglutarát a následná modifikace histonů vedoucí ke změnám v genové expresi jsou nezbytné pro osteogenní diferenciaci (Morganti et al. 2020).

### 3.1.3.2 Adipogenní diferenciaci

Změny v metabolismu, ke kterým dochází během adipogenní diferenciaci MSC, jsou velmi podobné změnám doprovázejícím osteogenní diferenciaci. Zvýšená exprese enzymu PDH u MSC diferencujících na adipocyty umožňuje vstup pyruvátu do Krebsova cyklu. Následuje oxidativní fosforylace, která je u adipogenně diferencujících MSC také výrazně zvýšena. Zapojení oxidativního metabolismu je spojeno s vyšší spotřebou kyslíku a nižší produkcí laktátu. Adipogenní diferenciaci je doprovázena poklesem intracelulárního ATP, což pravděpodobně souvisí s velkou spotřebou ATP na syntézu mastných kyselin nebo s vyšší aktivitou odpráhuječních proteinů (Zhang et al. 2013). Stejně jako u MSC diferencujících na osteoblasty dochází u MSC diferencujících na adipocyty ke zvýšení počtu a objemu mitochondrií, ve srovnání s osteogenní diferenciací však nedochází u adipogenní diferenciaci k poklesu mitochondrií v pozdní fázi diferenciaci (Morganti et al. 2020).

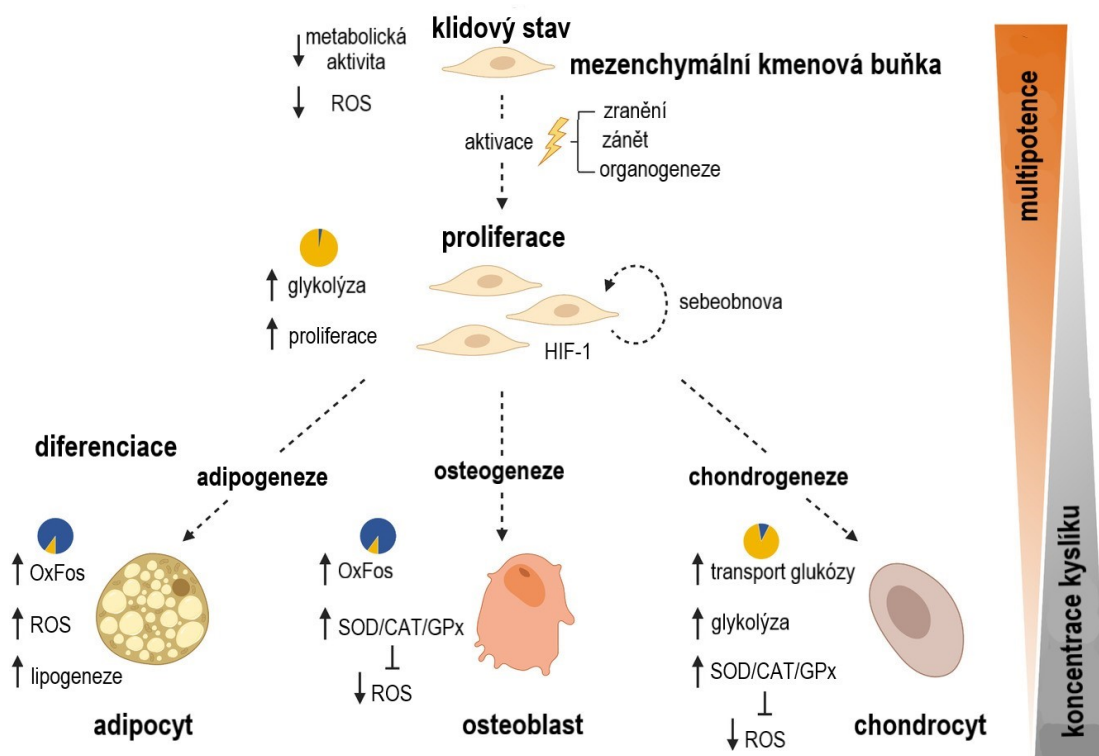
Pro indukci adipogenní diferenciaci jsou nezbytné ROS, což bylo potvrzeno přidáním antioxidantů, které vedlo k omezení adipogenní diferenciaci. Přesto byla u MSC diferencujících na adipocyty prokázána zvýšená exprese antioxidantních enzymů katalázy, superoxiddismutázy 2 a glutathion peroxidázy, jež slouží k zabránění oxidativního poškození buňky a případné buněčné smrti (Higuchi et al. 2013).

Stejně jako u osteogenní diferenciaci způsobuje vystavení hypoxickým podmínkám spojené se stabilizací HIF-1 inhibici adipogenní diferenciaci (Zhang et al. 2013).

### 3.1.3.3 Chondrogenní diferenciaci

Osteogenní a adipogenní diferenciaci jsou charakterizovány zvýšenou oxidativní fosforylací, zatímco během chondrogenní diferenciaci jsou MSC závislé převážně na glykolýze (Meleshina et al. 2017). Hlavní metabolickou drahou využívanou k produkci ATP u chondrocytů je také glykolýza. Anaerobní metabolismus u chondrocytů a jejich prekurzorů je upřednostňován z důvodu jejich výskytu v avaskulární tkáni s nízkým obsahem kyslíku (Nishida et al. 2013).

Během chondrogenní diferenciaci nebyla pozorována zvýšená spotřeba kyslíku. Vystavení MSC diferencujících na chondrocyty hypoxickým podmínkám nemělo na diferenciaci žádný negativní vliv (Pattappa et al. 2011), ba naopak, ve srovnání s kultivací v normoxických podmínkách vykazovaly MSC v hypoxii vyšší chondrogenní potenciál (Silva et al. 2020).



Obrázek 5: Schéma zobrazující energetický metabolismus v různých stavech MSC; zkratky: ROS (reaktivní formy kyslíku), HIF-1 (hypoxií indukovaný faktor 1), OxFos (oxidativní fosforylace), SOD (superoxiddismutáza), CAT (kataláza), GPx (glutathion peroxidáza); převzato a upraveno: (Pouikli a Tessarz 2021)

### 3.1.4 Metabolismus mezenchymálních kmenových buněk při kultivaci

Na léčbu založenou na MSC je potřeba několik desítek až stovek milionů MSC (Park et al. 2018; Hare et al. 2012). Koncentrace MSC v tkáních je poměrně nízká (Faustini et al. 2010; Tsagias et al. 2011), a proto nelze izolovat potřebné množství MSC od dárce pro každou terapii. Aby bylo daného množství dosaženo, je potřeba zvýšit počet MSC kultivací *in vitro*. Standardně jsou MSC kultivovány v normoxických podmínkách (20–21 % kyslíku), kde je koncentrace kyslíku ve srovnání s fyziologickými podmínkami několikanásobně vyšší, což vede ke zvýšenému oxidačnímu stresu a genetické nestabilitě (Estrada et al. 2012). Bylo pozorováno, že dlouhodobá kultivace za normoxie způsobuje změny v morfologii MSC, snižuje jejich proliferaci a negativně ovlivňuje multipotenci (Wagner et al. 2008). Laflaquière a kolegové zjistili, že s přibývajícím počtem pasáží klesá také imunomodulační schopnost MSC (Laflaquière et al. 2018).

MSC jsou izolovány z hypoxického prostředí, kde si udržují glykolytický metabolismus, a to především prostřednictvím transkripčního faktoru HIF-1 (Palomäki et al. 2013). Při kultivaci se dostávají do normoxických podmínek. I přes vyšší koncentraci kyslíku využívají MSC na počátku kultivace glykolýzu jako hlavní metabolickou dráhu pro získání ATP. Při dlouhodobé kultivaci přechází

MSC na oxidativní metabolismus, což je spojeno se snižující se aktivitou HIF-1 (Laflaquière et al. 2018). Větší podíl Krebsova cyklu a oxidativní fosforylace na energetickém metabolismu MSC z pozdních pasáží vede k vyšší produkci ROS, jejímž následkem je oxidativní poškození buněk (Estrada et al. 2012). Proto je v pozdních pasážích výrazně vyšší procento senescentních MSC, které vykazují nižší proliferační rychlost (Laflaquière et al. 2018). Metabolismus MSC je ovlivněn také hustotou buněk v kultuře. V kulturách s nízkou hustotou MSC byla naměřena vyšší produkce laktátu, ale nižší hladina intracelulárního ATP a ROS ve srovnání s kulturami s vysokou hustotou buněk. Tyto informace vypovídají o vyšším podílu glykolýzy na tvorbě ATP při nižší hustotě MSC, zatímco při vyšší hustotě MSC převládá oxidativní fosforylace. V kulturách s nižší hustotou MSC bylo menší množství senescentních buněk, na čemž má podíl glykolytický metabolismus a také zvýšená exprese antioxidantních enzymů, které snižují negativní účinky ROS. Přidání peroxidu vodíku nebo aktivace PDH u MSC v takovéto kultuře zvýšily buněčnou senescenci, což naznačuje, že oxidativní fosforylace a ROS mají významný podíl na buněčné senescenci během expanze v kultuře (Liu et al. 2015).

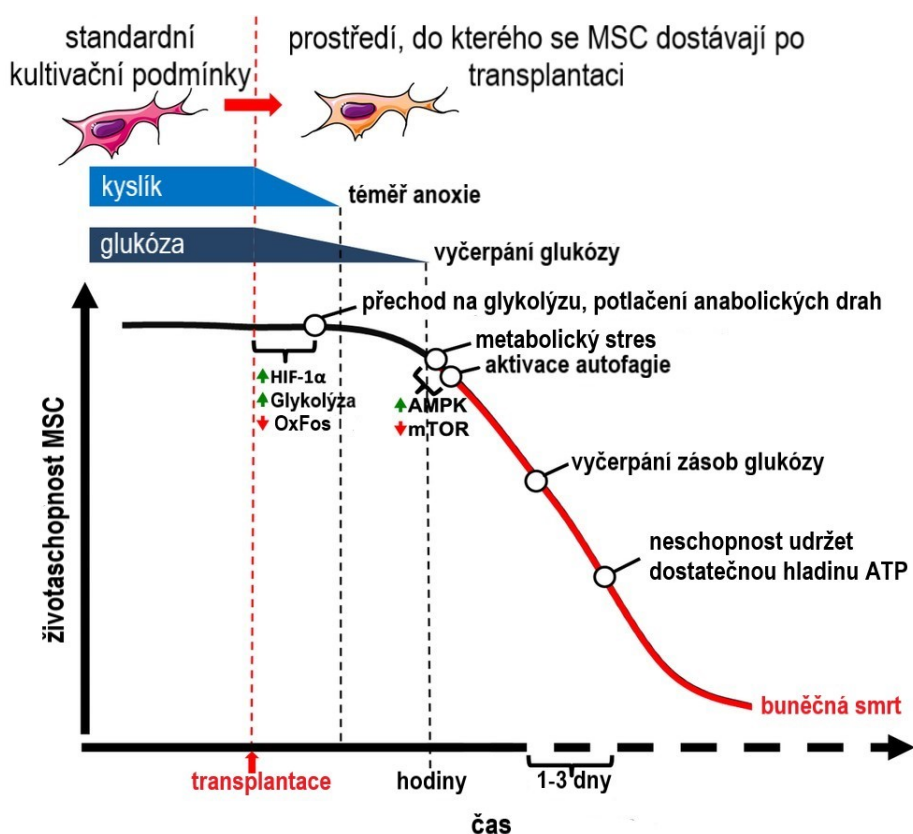
Vědci mají snahu vylepšit kultivační podmínky MSC tak, aby se co nejvíce podobaly fyziologickému prostředí, ve kterém se MSC v organismu nacházejí. To by mělo zabránit změnám, k nimž během kultivace MSC za standardních podmínek dochází. Jedna z možných modifikací kultivačních podmínek je snížení koncentrace kyslíku. Během kultivace v hypoxii si MSC udržují glykolytický metabolismus spojený s vysokou expresí a aktivitou HIF-1. Zvýšená exprese byla pozorována také u enzymu PDK1, který brání přeměně pyruvátu na acetyl-CoA (Feng et al. 2021). Bylo publikováno několik studií, které porovnávají kultivaci MSC při různých koncentracích kyslíku. Výsledky ukazují, že MSC kultivované v hypoxii vykazují delší životnost a vyšší rychlost proliferace (Estrada et al. 2012; Feng et al. 2021). Existují ale i studie s odlišnými výsledky, například Pezzi a kolegové nepozorovali žádný výrazný rozdíl v kultivaci MSC za hypoxických (1–4 % kyslíku) a normoxických (21 % kyslíku) podmínek, což mohlo být způsobeno krátkou dobou kultivace, kdy MSC v normoxii ještě nezvýšily aktivitu oxidativní fosforylace (Pezzi et al. 2017). MSC kultivované v hypoxii vykazují také vyšší produkci některých cytokinů, chemokinů a růstových faktorů, která je pravděpodobně spojena se zvýšenou expresí HIF-1 a vede ke zvýšení imunosupresivního a angiogenního potenciálu takto kultivovaných MSC. Jako příklad lze uvést zvýšenou produkci IDO, jež vede k vyšší schopnosti MSC indukovat vznik Treg, nebo zvýšenou produkci CCL2 a IL-6, která způsobuje nárůst migrace monocytů do místa zánětu a jejich protizánětlivé působení. Oproti tomu schopnost potlačit proliferaci CD8<sup>+</sup> a CD4<sup>+</sup> T-lymfocytů byla u MSC kultivovaných v hypoxických i normoxických podmínkách stejná (Martinez et al. 2017; Kadle et al. 2018).

### 3.1.5 Metabolismus mezenchymálních kmenových buněk po transplantaci

Transplantované MSC jsou vystaveny ischemickému prostředí, jež je charakterizované nízkou koncentrací kyslíku a nedostatkem živin. Přitom právě kyslík a živiny jsou dva hlavní faktory ovlivňující energetické metabolické dráhy. Požadavky MSC na energii pro základní procesy nezbytné pro přežití buněk převyšují energii, kterou jsou MSC schopné v ischemii vytvořit. Tato nerovnováha mezi poptávkou a nabídkou energie vede k smrti velkého procenta MSC již během prvního týdne po transplantaci (obrázek 6) (Moya et al. 2018).

Vysoká exprese HIF-1 a laktát dehydrogenázy (lactate dehydrogenase – LDH), stejně jako snížená aktivita mitochondrií jsou důkazem, že MSC v téměř anoxickém prostředí využívají k získání ATP anaerobní glykolýzu. Další důkaz preference glykolýzy jako metabolické dráhy zajišťující přežití MSC v anoxii přinesl pokus, v němž byly postupně inhibovány proteiny uplatňující se v glykolýze, Krebsově cyklu a oxidativní fosforylaci. Inhibice Krebsova cyklu a oxidativní fosforylace nijak neovlivnila životaschopnost MSC, zatímco inhibice glykolýzy výrazně zvýšila buněčnou smrt (Moya et al. 2018; Nuschke et al. 2016).

Koncentrace kyslíku má velký podíl na regulaci metabolických drah MSC, v hypoxických či anoxických podmínkách přechází MSC na anaerobní metabolismus. Analýza využití různých substrátů metabolických drah vedla k závěru, že glukóza je téměř jediným substrátem využívaným MSC v anoxii, a je tedy zásadní pro přežití MSC (Nuschke et al. 2016; Deschepper et al. 2013). Intracelulární rezervy glukózy a ATP jsou u MSC poměrně nízké – zásoby glukózy jsou vyčerpány během jednoho dne a zásoby ATP nevystačí na více než tři dny v ischemii. MSC tedy spoléhají na extracelulární glukózu. Proto jsou schopné přežít i v ischemickém prostředí v případě, že jim je glukóza dodávána (Moya et al. 2018). Pokud jim ale glukóza dodávána není, dochází u transplantovaných MSC k velkému poklesu životaschopnosti (Deschepper et al. 2013).



Obrázek 6: Graf znázorňující pokles živých MSC v čase po přechodu ze standardních kulturačních podmínek do ischemického prostředí; zkratky: HIF-1 (hypoxií indukovaný faktor), OxFos (oxidativní fosforylace), AMPK (5'adenosinmonofosfát-aktivovaná protein kináza) mTOR (mechanistický cíl rapamycinu); převzato a upraveno: (Salazar-Noratto et al. 2020)

## 4 Modulace metabolismu

Vysoká úmrtnost MSC po transplantaci je hlavní problém snižující úspěch terapií založených na MSC. Výzkumné týmy přišly s několika metodami, které by mohly zvýšit míru přežití transplantovaných MSC, například různé způsoby dodávání glukózy a kyslíku transplantovaným MSC nebo modulace metabolismu MSC podporující jejich přizpůsobení v ischemickém prostředí (shrnutí v: Salazar-Noratto et al. 2020). Více o možné modulaci metabolismu MSC je uvedeno v následujících kapitolách.

### 4.1 Modulace metabolismu hypoxickým prostředím

Jednou z možností, jak lze snížit úmrtnost transplantovaných MSC, je jejich kultivace v hypoxických podmínkách. MSC kultivované před transplantací po dobu 48 a více hodin v hypoxii vykazovaly až dvakrát vyšší míru přežití po šesti dnech v ischemii ve srovnání s MSC, které byly kultivované za standardních podmínek (Beegle et al. 2015). Jak již bylo zmíněno, hypoxické prostředí

je u MSC spojené s vysokou expresí HIF-1 a preferencí anaerobní glykolýzy (Chen et al. 2017a), jejímž substrátem je glukóza a produktem je laktát. Spotřeba glukózy, a tudíž i produkce laktátu byla u MSC, které byly kultivované 48 a více hodin v hypoxii, v ischemickém prostředí výrazně snížena, což vypovídá o zpomalení metabolismu u takto kultivovaných MSC. Pomalejší spotřeba glukózy vede k dostupnosti glukózy po delší dobu, a tedy i k delšímu přežití MSC v ischemii (Beegle et al. 2015). Kromě toho vykazovaly MSC kultivované v hypoxii vyšší intracelulární zásoby glukózy v podobě glykogenu a také vyšší expresi genů podílejících se na syntéze a regulaci rozkladu glykogenu (Chen et al. 2017a).

Vyšlo několik studií, které prokázaly zvýšení terapeutického potenciálu MSC kultivovaných před transplantací v hypoxii. Tyto studie se týkaly například léčby infarktu myokardu, cévní mozkové příhody či poranění míchy. Po transplantaci v hypoxii kultivovaných MSC myším nebo potkanům byla pozorována zvýšená životnost a migrace MSC, zlepšení angiogeneze, suprese zánětlivé reakce a pokles apoptotických buněk v poškozené tkáni (Hu et al. 2008; Chen et al. 2017b; Wang et al. 2018).

## **4.2 Modulace metabolismu deprivací séra**

Dalším způsobem, kterým lze modulovat metabolismus, je převedení MSC do klidového stavu prostřednictvím deprivace séra (Moya et al. 2017; Ferro et al. 2019). Deprivace séra po dobu 48 hodin vedla u MSC k výraznému snížení proliferace a také k omezení anabolických metabolických drah. Klidový stav MSC je spojen s glykolytickým metabolismem a sníženou mitochondriální aktivitou (Chen et al. 2008), stejný metabolismus byl pozorován i u MSC převedených do klidového stavu prostřednictvím deprivace séra. V ischemii vykazovaly MSC v klidovém stavu vyšší hladiny intracelulárního ATP ve srovnání s MSC kultivovanými za standardních podmínek. I přes to, že u MSC kultivovaných za standardních podmínek i u MSC převedených do klidového stavu docházelo k významné úmrtnosti MSC po transplantaci, byla u MSC předem převedených do klidového stavu pozorována vyšší životaschopnost (Moya et al. 2017). Na schopnosti MSC přežít v ischemii má podíl také proces autofagie, který byl zvýšený u MSC kultivovaných při deprivaci séra (Ferro et al. 2019). Dále byl u těchto MSC prokázán nárůst exprese glukoneogenních enzymů, z čehož vyplývá, že využití alespoň některých kroků glukoneogeneze je nezbytné pro přizpůsobení se nedostatku glukózy. Moya a kolegové testovali také schopnost MSC převedených do klidového stavu obnovit svoje funkce po umístění do prostředí s dostatkem živin. Zvýšení koncentrace kyslíku a glukózy, k němuž dochází například po obnovení vaskularizace poškozené tkáně, vede k obnově proliferace, diferenciaci a dalších funkcí MSC (Moya et al. 2017).

## 5 Závěr

MSC jsou schopné sebeobnovy a diferenciaci do mnoha buněčných typů, mají také imunomodulační, angiogenní a antiapoptotickou funkci. Těchto vlastností využívají k regeneraci tkání a potlačení zánětu, proto mají využití v medicíně, ať už v léčbě různých poranění či některých onemocnění, jako jsou například autoimunitní choroby. Nedostatečné přežití transplantovaných MSC však výrazně snižuje jejich terapeutický potenciál. Jednou z hlavních příčin úmrtí MSC je jejich neschopnost pokrýt v ischemickém prostředí, do kterého se po transplantaci dostávají, energetickou poptávku. Nedostatečná energetická hladina neumožňuje buňkám udržet v chodu životně důležité procesy a vede tedy k apoptóze. Pochopení metabolických drah, které v MSC probíhají, může přinést zlepšení jejich terapeutického potenciálu. Tato práce se věnovala změnám mezi glykolýzou a oxidativní fosforylací u MSC v různých stavech a prostředích.

MSC vykazují velkou metabolickou plasticitu, jsou schopné poměrně snadno přizpůsobit svůj metabolismus okolním podmínkám. Při dostatku glukózy nemají problém přežít v hypoxických či v téměř anoxických podmínkách, v takovémto prostředí využívají k tvorbě ATP anaerobní glykolýzu. V případě nedostatku glukózy ale nejsou schopné vytvořit dostatek ATP a umírají, proto je glukóza zásadní pro přežití MSC. Metabolismus MSC se také podílí na regulaci buněčného stavu. Klidový stav MSC a proliferace jsou spojeny s glykolytickým metabolismem, který je preferován jednak z důvodu nižší tvorby ROS a jednak z důvodu využití meziproductů glykolýzy pro syntézu makromolekul, jež jsou potřeba pro dělicí se MSC. Během chondrogenní diferenciaci je upřednostňována také glykolýza. To pravděpodobně souvisí s výskytem chondrocytů v tkáni s velmi nízkou koncentrací kyslíku. Osteogenní a adipogenní diferenciaci jsou na rozdíl od chondrogenní diferenciaci charakterizovány zvýšenou oxidativní fosforylací a celkově vyšší mitochondriální aktivitou, s čímž je spojena i vyšší spotřeba kyslíku u takto diferencujících buněk.

Kultivace MSC je nezbytná pro získání dostatečného počtu buněk potřebných k léčbě. Avšak dlouhodobá kultivace za standardních podmínek vede k metabolickým změnám u MSC, negativně ovlivňuje jejich proliferaci, multipotenci a imunomodulační funkci. Snaha o to, co nejvíce napodobit fyziologické prostředí a omezit změny u MSC, k nimž během standardní kultivace dochází, vedla ke vzniku kultivace za hypoxických podmínek. Tento způsob kultivace umožňuje MSC udržet si po celou dobu kultivace glykolytický metabolismus, dále je spojen s vyšší rychlostí proliferace, nižším oxidativním poškozením a delší životností MSC. MSC kultivované v hypoxii mají také schopnost lépe se přizpůsobit ischemickému prostředí, a proto vykazují nižší úmrtnost po transplantaci ve srovnání s MSC kultivovanými v normoxii. Další možností, jak prodloužit životnost transplantovaných MSC, je jejich převedení do klidového stavu deprivací kultivačního séra. Klidový stav MSC je spojen se sníženou metabolickou aktivitou a umožňuje MSC déle si udržet dostatečné množství ATP nezbytné pro přežití.



Modulace metabolismu se ukazuje jako jedna z metod vedoucí k vyššímu přežití transplantovaných MSC. Další studie zaměřující se na lepší pochopení změn v metabolismu, ke kterým během modulace dochází, by mohly vést k výraznému zvýšení účinku terapií založených na MSC a k pokroku v léčbě řady onemocnění.

## 6 Seznam použité literatury

AKIYAMA, K., C. CHEN, D. WANG, X. XU, C. QU, T. YAMAZA, T. CAI, W. CHEN, L. SUN a S. SHI, 2012. Mesenchymal-stem-cell-induced immunoregulation involves FAS-ligand-/FAS-mediated T cell apoptosis. *Cell Stem Cell*. **10**(5), 544–555. ISSN 19345909. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.03.007>

ASARI, S., S. ITAKURA, K. FERRERI, C. P. LIU, Y. KURODA, F. KANDEEL a Y. MULLEN, 2009. Mesenchymal stem cells suppress B-cell terminal differentiation. *Experimental Hematology*. **37**(5), 604–615. ISSN 0301472X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2009.01.005>

AUGELLO, A., R. TASSO, S. M. NEGRINI, R. CANCEDDA a G. PENNESI, 2007. Cell therapy using allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells prevents tissue damage in collagen-induced arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. **56**(4), 1175–1186. ISSN 00043591. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/art.22511>

BECQUART, P., A. CAMBON-BINDER, L. E. MONFOULET, M. BOURGUIGNON, K. VANDAMME, M. BENSIDHOUM, H. PETITE a D. LOGEART-AVRAMOGLU, 2012. Ischemia is the prime but not the only cause of human multipotent stromal cell death in tissue-engineered constructs in vivo. *Tissue Engineering – Part A*. **18**(19–20), 2084–2094. ISSN 1937335X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2011.0690>

BEEGLE, J., K. LAKATOS, S. KALOMOIRIS, H. STEWART, R. R. ISSEROFF, J. A. NOLTA a F. A. FIERRO, 2015. Hypoxic preconditioning of mesenchymal stromal cells induces metabolic changes, enhances survival, and promotes cell retention in vivo. *Stem Cells*. **33**(6), 1818–1828. ISSN 15494918. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/stem.1976>

BOUFFI, C., C. BONY, G. COURTIES, C. JORGENSEN a D. NOËL, 2010. IL-6-dependent PGE2 secretion by mesenchymal stem cells inhibits local inflammation in experimental arthritis. *PLoS ONE*. **5**(12), e14247. ISSN 19326203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014247>

CAI, J., Z. WU, X. XU, L. LIAO, J. CHEN, L. HUANG, W. WU, F. LUO, C. WU, A. PUGLIESE, A. PILEGGI, C. RICORDI a J. TAN, 2016. Umbilical Cord Mesenchymal Stromal Cell with Autologous Bone Marrow Cell Transplantation in Established Type 1 Diabetes: A Pilot Randomized Controlled Open-Label Clinical Study to Assess Safety and Impact on Insulin Secretion. *Diabetes Care*. **39**(1), 149–157. ISSN 19355548. Dostupné z: <https://doi.org/10.2337/dc15-0171>

\*CAPLAN, A. I., 1990. Cell delivery and tissue regeneration. *Journal of Controlled Release*. **11**(1–3), 157–165. ISSN 01683659. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(90\)90129-H](https://doi.org/10.1016/0168-3659(90)90129-H)

\*CHACÓN-MARTÍNEZ, C. A., J. KOESTER a S. A. WICKSTRÖM, 2018. Signaling in the stem cell niche: regulating cell fate, function and plasticity. *Development*. **145**(15), dev165399. ISSN 09501991. Dostupné z: <https://doi.org/10.1242/dev.165399>

CHEN, C., Q. TANG, Y. ZHANG, M. DAI, Y. JIANG, H. WANG, M. YU, W. JING a W. TIAN, 2017a. Metabolic reprogramming by HIF-1 activation enhances survivability of human adipose-derived stem cells in ischaemic microenvironments. *Cell Proliferation*. **50**(5), e12363. ISSN 13652184. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/cpr.12363>

CHEN, C. T., Y. R. V. SHIH, T. K. KUO, O. K. LEE a Y. H. WEI, 2008. Coordinated Changes of Mitochondrial Biogenesis and Antioxidant Enzymes During Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells*. **26**(4), 960–968. ISSN 1066-5099. Dostupné z: <https://doi.org/10.1634/stemcells.2007-0509>

CHEN, J., Y. YANG, L. SHEN, W. DING, X. CHEN, E. WU, K. CAI a G. WANG, 2017b. Hypoxic Preconditioning Augments the Therapeutic Efficacy of Bone Marrow Stromal Cells in a Rat Ischemic Stroke Model. *Cellular and Molecular Neurobiology*. **37**(6), 1115–1129. ISSN 15736830. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10571-016-0445-1>

\*DASHTY, M., 2013. A quick look at biochemistry: Carbohydrate metabolism. *Clinical Biochemistry*. **46**(15), 1339–1352. ISSN 00099120. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.04.027>

DA SILVA MEIRELLES, L., T. T. SAND, R. J. HARMAN, D. P. LENNON a A. I. CAPLAN, 2009. MSC frequency correlates with blood vessel density in equine adipose tissue. *Tissue Engineering – Part A*. **15**(2), 221–229. ISSN 1937335X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2008.0103>

DE BARI, C., F. DELL'ACCIO, P. TYLZANOWSKI a F. P. LUYTEN, 2001. Multipotent mesenchymal stem cells from adult human synovial membrane. *Arthritis and Rheumatism*. **44**(8), 1928–1942. ISSN 00043591. Dostupné z: [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(200108\)44:8<1928::AID-ART331>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/1529-0131(200108)44:8<1928::AID-ART331>3.0.CO;2-P)

DESCHEPPER, M., M. MANASSERO, K. OUDINA, J. PAQUET, L. E. MONFOULET, M. BENSIDHOUM, D. LOGEART-AVRAMOGLU a H. PETITE, 2013. Proangiogenic and prosurvival functions of glucose in human mesenchymal stem cells upon transplantation. *Stem Cells*. **31**(3), 526–535. ISSN 10665099. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/stem.1299>

DOBSON, P. F., E. P. DENNIS, D. HIPPS, A. REEVE, A. LAUDE, C. BRADSHAW, C. STAMP, A. SMITH, D. J. DEEHAN, D. M. TURNBULL a L. C. GREAVES, 2020. Mitochondrial dysfunction impairs osteogenesis, increases osteoclast activity, and accelerates age related bone loss. *Scientific Reports*. **10**(1), 11643. ISSN 20452322. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68566-2>

DOMINICI, M., K. LE BLANC, I. MUELLER, I. SLAPER-CORTENBACH, F. C. MARINI, D. S. KRAUSE, R. J. DEANS, A. KEATING, D. J. PROCKOP a E. M. HORWITZ, 2006. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. **8**(4), 315–317. ISSN 14653249. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>

DOS SANTOS, F., P. Z. ANDRADE, J. S. BOURA, M. M. ABECASIS, C. L. DA SILVA a J. M. S. CABRAL, 2010. Ex vivo expansion of human mesenchymal stem cells: A more effective cell proliferation kinetics and metabolism under hypoxia. *Journal of Cellular Physiology*. **223**(1), 27–35. ISSN 00219541. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jcp.21987>

\*DZOBO, K., 2021. Multipotent human mesenchymal stem/stromal cells: an updated review on historical background, recent trends and advances in their clinical applications. *Preprint*. Dostupné z: <https://doi.org/10.20944/preprints202103.0373.v1>

ESTRADA, J. C., C. ALBO, A. BENGURÍA, A. DOPAZO, P. LÓPEZ-ROMERO, L. CARRERA-QUINTANAR, E. ROCHE, E. P. CLEMENTE, J. A. ENRÍQUEZ, A. BERNAD a E. SAMPER, 2012. Culture of human mesenchymal stem cells at low oxygen tension improves growth and genetic stability by activating glycolysis. *Cell Death and Differentiation*. **19**(5), 743–755. ISSN 13509047. Dostupné z: doi:10.1038/cdd.2011.172

\*FAN, X. L., Y. ZHANG, X. LI a Q. L. FU, 2020. Mechanisms underlying the protective effects of mesenchymal stem cell-based therapy. *Cellular and Molecular Life Sciences*. **77**(14), 2771–2794. ISSN 14209071. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03454-6>

FAUSTINI, M., M. BUCCO, T. CHLAPANIDAS, G. LUCCONI, M. MARAZZI, M. C. TOSCA, P. GAETANI, M. KLINGER, S. VILLANI, V. V. FERRETTI, D. VIGO a M. L. TORRE, 2010. Nonexpanded mesenchymal stem cells for regenerative medicine: Yield in stromal vascular fraction from adipose tissues. *Tissue Engineering – Part C: Methods*. **16**(6), 1515–1521. ISSN 19373392. Dostupné z: <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2010.0214>

FEI, X., S. JIANG, S. ZHANG, Y. LI, J. GE, B. HE, S. GOLDSTEIN a G. RUIZ, 2013. Isolation, Culture, and Identification of Amniotic Fluid-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Cell Biochemistry and Biophysics*. **67**(2), 689–694. ISSN 10859195. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12013-013-9558-z>

FENG, X., J. XING, G. FENG, D. HUANG, X. LU, S. LIU, W. TAN, L. LI a Z. GU, 2014. P16<sup>INK4A</sup> mediates age-related changes in mesenchymal stem cells derived from human dental pulp through the DNA damage and stress response. *Mechanisms of Ageing and Development*. **141–142**, 46–55. ISSN 18726216. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.mad.2014.09.004>

FENG, X. D., J. Q. ZHU, J. H. ZHOU, F. Y. LIN, B. FENG, X. W. SHI, Q. L. PAN, J. YU, L. J. LI a H. C. CAO, 2021. Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ -mediated upregulation of CD99 promotes the proliferation of placental mesenchymal stem cells by regulating ERK1/2. *World Journal of Stem Cells*. **13**(4), 317–330. ISSN 19480210. Dostupné z: <https://doi.org/10.4252/wjsc.v13.i4.317>

FERRO, F., R. SPELAT, G. SHAW, N. DUFFY, M. N. ISLAM, P. M. O'SHEA, D. O'TOOLE, L. HOWARD a J. M. MURPHY, 2019. Survival/Adaptation of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells After Long-Term Starvation Through Selective Processes. *Stem Cells*. **37**(6), 813–827. ISSN 15494918. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/stem.2998>

FRANCOIS, S., M. MOUISEDDINE, B. ALLENET-LEPAGE, J. VOSWINKEL, L. DOUAY, M. BENDERITTER a A. CHAPEL, 2013. Human mesenchymal stem cells provide protection against radiation-induced liver injury by antioxidative process, vasculature protection, hepatocyte differentiation, and trophic effects. *BioMed Research International*. **2013**, 1–14. ISSN 23146133. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2013/151679>

FRIEDENSTEIN, A. J., R. K. CHAILAKHJAN a K. S. LALYKINA, 1970. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Proliferation*. **3**(4), 393–403. ISSN 13652184. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.1970.tb00347.x>

GAO, S., F. MAO, B. ZHANG, L. ZHANG, X. ZHANG, M. WANG, Y. YAN, T. YANG, J. ZHANG, W. ZHU, H. QIAN a W. XU, 2014. Mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells induce macrophage M2 polarization through the nuclear factor- $\kappa$ B and signal transducer and activator of transcription 3 pathways. *Experimental Biology and Medicine*. **239**(3), 366–375. ISSN 15353699. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/1535370213518169>

GAWRONSKA-KOZAK, B., J. A. MANUEL a V. PRPIC, 2007. Ear Mesenchymal Stem Cells (EMSC) can differentiate into spontaneously contracting muscle cells. *Journal of Cellular Biochemistry*. **102**(1), 122–135. ISSN 07302312. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jcb.21286>

HARE, J. M., J. E. FISHMAN, G. GERSTENBLITH, D. L. DIFEDE VELAZQUEZ, J. P. ZAMBRANO, V. Y. SUNCION, M. TRACY, E. GHERSIN, P. V. JOHNSTON, J. A. BRINKER, E. BRETON, J. DAVIS-SPROUL, I. H. SCHULMAN, J. BYRNES, A. M. MENDIZABAL, M. H. LOWERY, D. ROUY, P. ALTMAN, C. WONG PO FOO, P. RUIZ, A. AMADOR, J. DA SILVA, I. K. MCNIECE a A. W. HELDMAN, 2012. Comparison of allogeneic vs autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells delivered by transendocardial injection in patients with ischemic cardiomyopathy: The POSEIDON randomized trial. *Journal of the American Medical Association*. **308**(22), 2369–2379. ISSN 00987484. Dostupné z: <https://doi.org/10.1001/jama.2012.25321>

\*HEIDEN, M. G. V., L. C. CANTLEY a C. B. THOMPSON, 2009. Understanding the warburg effect: The metabolic requirements of cell proliferation. *Science*. **324**(5930), 1029–1033. ISSN 00368075. Dostupné z: <https://doi.org/10.1126/science.1160809>

HERRERA, M. B., B. BUSSOLATI, S. BRUNO, V. FONSA TO, G. M. ROMANAZZI a G. CAMUSSI, 2004. Mesenchymal stem cells contribute to the renal repair of acute tubular epithelial injury. *International journal of molecular medicine*. **14**(6), 1035–1041. ISSN 11073756. Dostupné z: <https://doi.org/10.3892/ijmm.14.6.1035>

HIGUCHI, M., G. J. DUSTING, H. PESHAVARIYA, F. JIANG, S. T. F. HSIAO, E. C. CHAN a G. S. LIU, 2013. Differentiation of human adipose-derived stem cells into fat involves reactive oxygen species and forkhead box o1 mediated upregulation of antioxidant enzymes. *Stem Cells and Development*. **22**(6), 878–888. ISSN 15473287. Dostupné z: <https://doi.org/10.1089/scd.2012.0306>

HU, X., S. P. YU, J. L. FRASER, Z. LU, M. E. OGLE, J. A. WANG a L. WEI, 2008. Transplantation of hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells improves infarcted heart function via enhanced survival of implanted cells and angiogenesis. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. **135**(4), 799–808. ISSN 00225223. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2007.07.071>

IKEGAME, Y., K. YAMASHITA, S. I. HAYASHI, H. MIZUNO, M. TAWADA, F. YOU, K. YAMADA, Y. TANAKA, Y. EGASHIRA, S. NAKASHIMA, S. I. YOSHIMURA a T. IWAMA, 2011. Comparison of mesenchymal stem cells from adipose tissue and bone marrow for ischemic stroke therapy. *Cytotherapy*. **13**(6), 675–685. ISSN 14772566. Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/14653249.2010.549122>

IN 'T ANKER, P. S., S. A. SCHERJON, C. KLEIJBURG-VAN DER KEUR, G. M. J. S. DE GROOT-SWINGS, F. H. J. CLAAS, W. E. FIBBE a H. H. H. KANHAI, 2004. Isolation of Mesenchymal Stem Cells of Fetal or Maternal Origin from Human Placenta. *Stem Cells*. **22**(7), 13381345. ISSN 1066-5099. Dostupné z: <https://doi.org/10.1634/stemcells.2004-0058>

- KADLE, R. L., S. A. ABDU, A. P. VILLARREAL-PONCE, M. A. SOARES, D. L. SULTAN, J. A. DAVID, J. MASSIE, W. J. RIFKIN, P. RABBANI a D. J. CERADINI, 2018. Microenvironmental cues enhance mesenchymal stem cell-mediated immunomodulation and regulatory T-cell expansion. *PLoS ONE*. **13**(3), e0193178. ISSN 19326203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193178>
- KARNIELI, O., Y. IZHAR-PRATO, S. BULVIK a S. EFRAT, 2007. Generation of Insulin-Producing Cells from Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells by Genetic Manipulation. *Stem Cells*. **25**(11), 2837–2844. ISSN 10665099. Dostupné z: <https://doi.org/10.1634/stemcells.2007-0164>
- KOZLOWSKA, U., A. KRAWCZENKO, K. FUTOMA, T. JUREK, M. RORAT, D. PATRZALEK a A. KLIMCZAK, 2019. Similarities and differences between mesenchymal stem/progenitor cells derived from various human tissues. *World Journal of Stem Cells*. **11**(6), 347–374. ISSN 19480210. Dostupné z: <https://doi.org/10.4252/wjsc.v11.i6.347>
- KUMAR, D., D. MAHESHWARI, N. NAUTIYAL, S. SHUBHAM, S. ROOGE, L. ANAND, A. VYAS, R. KUMARI, S. SHARMA, C. BIHARI, S. MOHANTY, R. MAIWALL, A. KUMAR a S. K. SARIN, 2022. Defects in energy metabolism are associated with functional exhaustion of bone marrow mesenchymal stem cells in cirrhosis. *Am J Stem Cells*. **11**(1), 12–27. ISSN 21604150. Dostupné z: [www.AJSC.us/](http://www.AJSC.us/)
- LAFLAQUIÈRE, B., G. LECLERCQ, C. CHOEY, J. CHEN, S. PERES, C. ITO a M. JOLICOEUR, 2018. Identifying biomarkers of Wharton’s Jelly mesenchymal stromal cells using a dynamic metabolic model: The cell passage effect. *Metabolites*. **8**(1), 18. ISSN 22181989. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/metabo8010018>
- LAVRENTIEVA, A., I. MAJORE, C. KASPER a R. HASS, 2010. Effects of hypoxic culture conditions on umbilical cord-derived human mesenchymal stem cells. *Cell Communication and Signaling*. **8**(1), 18. ISSN 1478811X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/1478-811X-8-18>
- LEE, K. D., T. K. C. KUO, J. WHANG-PENG, Y. F. CHUNG, C. T. LIN, S. H. CHOU, J. R. CHEN, Y. P. CHEN a O. K. S. LEE, 2004a. In vitro hepatic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Hepatology*. **40**(6), 1275–1284. ISSN 02709139. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/hep.20469>
- LEE, O. K., T. K. KUO, W. M. CHEN, K. D. LEE, S. L. HSIEH a T. H. CHEN, 2004b. Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood*. **103**(5), 1669–1675. ISSN 00064971. Dostupné z: <https://doi.org/10.1182/blood-2003-05-1670>
- LIAO, L., X. YANG, X. SU, C. HU, X. ZHU, N. YANG, X. CHEN, S. SHI, S. SHI a Y. JIN, 2013. Redundant miR-3077-5p and miR-705 mediate the shift of mesenchymal stem cell lineage commitment to adipocyte in osteoporosis bone marrow. *Cell Death and Disease*. **4**(4), e600. ISSN 20414889. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.130>
- LIU, Y., N. MUÑOZ, B. A. BUNNELL, T. M. LOGAN a T. MA, 2015. Density-dependent metabolic heterogeneity in human mesenchymal stem cells. *Stem Cells*. **33**(11), 3368–3381. ISSN 15494918. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/stem.2097>

LLUFRIU, S., M. SEPÚLVEDA, Y. BLANCO, P. MARÍN, B. MORENO, J. BERENGUER, I. GABILONDO, E. MARTÍNEZ-HERAS, N. SOLA-VALLS, J. A. ARNAIZ, E. J. ANDREU, B. FERNÁNDEZ, S. BULLICH, B. SÁNCHEZ-DALMAU, F. GRAUS, P. VILLOSLADA a A. SAIZ, 2014. Randomized placebo-controlled phase II trial of autologous mesenchymal stem cells in multiple sclerosis. *PLoS ONE*. **9**(12), e113936. ISSN 19326203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113936>

LYUBLINSKAYA, O. G., Y. G. BORISOV, N. A. PUGOVKINA, I. S. SMIRNOVA, J. V. OBIDINA, J. S. IVANOVA, V. V. ZENIN, A. N. SHATROVA, A. V. BORODKINA, N. D. AKSENOV, V. I. ZEMELKO, E. B. BUROVA, M. V. PUZANOV a N. N. NIKOLSKY, 2015. Reactive oxygen species are required for human mesenchymal stem cells to initiate proliferation after the quiescence exit. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. **2015**, 1–8. ISSN 19420994. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2015/502105>

MARTINEZ, V. G., I. ONTORIA-OVIEDO, C. P. RICARDO, S. E. HARDING, R. SACEDON, A. VARAS, A. ZAPATA, P. SEPULVEDA a A. VICENTE, 2017. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 alpha improves immunomodulation by dental mesenchymal stem cells. *Stem Cell Research and Therapy*. **8**(1), 208. ISSN 17576512. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s13287-017-0659-2>

MEISEL, R., A. ZIBERT, M. LARYEA, U. GÖBEL, W. DÄUBENER a D. DILLOO, 2004. Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation. *Blood*. **103**(12), 4619–4621. ISSN 00064971. Dostupné z: <https://doi.org/10.1182/blood-2003-11-3909>

MELESHINA, A. V., V. V. DUDENKOVA, A. S. BYSTROVA, D. S. KUZNETSOVA, M. V. SHIRMANOVA a E. V. ZAGAYNOVA, 2017. Two-photon FLIM of NAD(P)H and FAD in mesenchymal stem cells undergoing either osteogenic or chondrogenic differentiation. *Stem Cell Research and Therapy*. **8**(1), 15. ISSN 17576512. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s13287-017-0484-7>

MERRITT, E. K., M. V. CANNON, D. W. HAMMERS, L. N. LE, R. GOKHALE, A. SARATHY, T. J. SONG, M. T. TIERNEY, L. J. SUGGS, T. J. WALTERS a R. P. FARRAR, 2010. Repair of traumatic skeletal muscle injury with bone-marrow-derived mesenchymal stem cells seeded on extracellular matrix. *Tissue Engineering – Part A*. **16**(9), 2871–2881. ISSN 1937335X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2009.0826>

MIAO, Z., J. JIN, L. CHEN, J. ZHU, W. HUANG, J. ZHAO, H. QIAN a X. ZHANG, 2006. Isolation of mesenchymal stem cells from human placenta: Comparison with human bone marrow mesenchymal stem cells. *Cell Biology International*. **30**(9), 681–687. ISSN 10656995. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cellbi.2006.03.009>

MIYAHARA, Y., N. NAGAYA, M. KATAOKA, B. YANAGAWA, K. TANAKA, H. HAO, K. ISHINO, H. ISHIDA, T. SHIMIZU, K. KANGAWA, S. SANO, T. OKANO, S. KITAMURA a H. MORI, 2006. Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction. *Nature Medicine*. **12**(4), 459–465. ISSN 10788956. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nm1391>

- MOOKERJEE, S. A., A. A. GERENCSEK, D. G. NICHOLLS a M. D. BRAND, 2017. Quantifying intracellular rates of glycolytic and oxidative ATP production and consumption using extracellular flux measurements. *Journal of Biological Chemistry*. **292**(17), 7189–7207. ISSN 1083351X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.774471>
- MORGANTI, C., M. BONORA, S. MARCHI, L. FERRONI, C. GARDIN, M. R. WIECKOWSKI, C. GIORGI, P. PINTON a B. ZAVAN, 2020. Citrate Mediates Crosstalk between Mitochondria and the Nucleus to Promote Human Mesenchymal Stem Cell In Vitro Osteogenesis. *Cells*. **9**(4), 1034. ISSN 20734409. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cells9041034>
- MOUSAEI GHASROLDASHT, M., M. M. MATIN, H. KAZEMI MEHRJERDI, H. NADERI-MESHKIN, A. MORADI, M. RAJABIOUN, F. ALIPOUR, S. GHASEMI, M. ZARE, M. MIRAHMADI, H. R. BIDKHORI a A. R. BAHRAMI, 2019. Application of mesenchymal stem cells to enhance non-union bone fracture healing. *Journal of Biomedical Materials Research – Part A*. **107**(2), 301–311. ISSN 15524965. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36441>
- MOYA, A., N. LAROCLETTE, J. PAQUET, M. DESCHEPPER, M. BENSIDHOUM, V. IZZO, G. KROEMER, H. PETITE a D. LOGEART-AVRAMOGLOU, 2017. Quiescence Preconditioned Human Multipotent Stromal Cells Adopt a Metabolic Profile Favorable for Enhanced Survival under Ischemia. *Stem Cells*. **35**(1), 181–196. ISSN 15494918. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/stem.2493>
- MOYA, A., J. PAQUET, M. DESCHEPPER, N. LAROCLETTE, K. OUDINA, C. DENOEUDE, M. BENSIDHOUM, D. LOGEART-AVRAMOGLOU a H. PETITE, 2018. Human Mesenchymal Stem Cell Failure to Adapt to Glucose Shortage and Rapidly Use Intracellular Energy Reserves Through Glycolysis Explains Poor Cell Survival After Implantation. *Stem Cells*. **36**(3), 363–376. ISSN 15494918. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/stem.2763>
- MUSINA, R. A., E. S. BEKCHANOVA a G. T. SUKHIKH, 2005. Comparison of mesenchymal stem cells obtained from different human tissues. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. **139**(4), 504–509. ISSN 00074888. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10517-005-0331-1>
- NAKAHARA, H., S. P. BRUDER, V. M. GOLDBERG a A. I. CAPLAN, 1990. In vivo osteochondrogenic potential of cultured cells derived from the periosteum. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. **259**, 223–232. ISSN 0009921X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/00003086-199010000-00032>
- NÉMETH, K., A. LEELAHAVANICHKUL, P. S. T. YUEN, B. MAYER, A. PARMELEE, K. DOI, P. G. ROBEY, K. LEELAHAVANICHKUL, B. H. KOLLER, J. M. BROWN, X. HU, I. JELINEK, R. A. STAR a É. MEZEY, 2009. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E<sub>2</sub>-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nature Medicine*. **15**(1), 42–49. ISSN 10788956. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nm.1905>
- NICOLA, M. D., C. CARLO-STELLA, M. MAGNI, M. MILANESI, P. D. LONGONI, P. MATTEUCCI, S. GRISANTI a A. M. GIANNI, 2002. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood*. **99**(10), 3838–3843. ISSN 00064971. Dostupné z: <https://doi.org/10.1182/blood.V99.10.3838>



NISHIDA, T., S. KUBOTA, E. AOYAMA a M. TAKIGAWA, 2013. Impaired glycolytic metabolism causes chondrocyte hypertrophy-like changes via promotion of phospho-Smad1/5/8 translocation into nucleus. *Osteoarthritis and Cartilage*. **21**(5), 700–709. ISSN 10634584. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.joca.2013.01.013>

NUSCHKE, A., M. RODRIGUES, A. W. WELLS, K. SYLAKOWSKI a A. WELLS, 2016. Mesenchymal stem cells/multipotent stromal cells (MSCs) are glycolytic and thus glucose is a limiting factor of in vitro models of MSC starvation. *Stem Cell Research and Therapy*. **7**(1), 179. ISSN 17576512. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s13287-016-0436-7>

OH, E. J., H. W. LEE, S. KALIMUTHU, T. J. KIM, H. M. KIM, S. H. BAEK, L. ZHU, J. M. OH, S. H. SON, H. Y. CHUNG a B. C. AHN, 2018. In vivo migration of mesenchymal stem cells to burn injury sites and their therapeutic effects in a living mouse model. *Journal of Controlled Release*. **279**, 79–88. ISSN 18734995. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.04.020>

OKAMOTO, R., T. YAJIMA, M. YAMAZAKI, T. KANAI, M. MUKAI, Y. IKEDA, J. INAZAWA a M. WATANABE, 2002. Damaged epithelia regenerated by bone marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract. *Nature Medicine*. **8**(9), 1011–1017. ISSN 10788956. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nm755>

OMATSU, Y., T. SUGIYAMA, H. KOHARA, G. KONDOH, N. FUJII, K. KOHNO a T. NAGASAWA, 2010. The Essential Functions of Adipo-osteogenic Progenitors as the Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Niche. *Immunity*. **33**(3), 387–399. ISSN 10747613. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.08.017>

PALOMÄKI, S., M. PIETILÄ, S. LAITINEN, J. PESÄLÄ, R. SORMUNEN, P. LEHENKARI a P. KOIVUNEN, 2013. HIF-1 $\alpha$  is upregulated in human mesenchymal stem cells. *Stem Cells*. **31**(9), 1902–1909. ISSN 10665099. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/stem.1435>

PAPANDREOU, I., R. A. CAIRNS, L. FONTANA, A. L. LIM a N. C. DENKO, 2006. HIF-1 mediates adaptation to hypoxia by actively downregulating mitochondrial oxygen consumption. *Cell Metabolism*. **3**(3), 187–197. ISSN 15504131. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.01.012>

PARK, E. H., H. S. LIM, S. LEE, K. ROH, K. W. SEO, K. S. KANG a K. SHIN, 2018. Intravenous Infusion of Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells in Rheumatoid Arthritis: A Phase Ia Clinical Trial. *Stem Cells Translational Medicine*. **7**(9), 636–642. ISSN 21576580. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/sctm.18-0031>

PATTAPPA, G., H. K. HEYWOOD, J. D. DE BRUIJN a D. A. LEE, 2011. The metabolism of human mesenchymal stem cells during proliferation and differentiation. *Journal of Cellular Physiology*. **226**(10), 2562–2570. ISSN 00219541. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jcp.22605>

PEZZI, A., B. AMORIN, Á. LAUREANO, V. VALIM, A. DAHMER, B. ZAMBONATO, F. SEHN, I. WILKE, L. BRUSCHI, M. A. L. DA SILVA, E. FILIPPI-CHIELA a L. SILLA, 2017. Effects Of Hypoxia in Long-Term In Vitro Expansion of Human Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cells. *Journal of Cellular Biochemistry*. **118**(10), 3072–3079. ISSN 10974644. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jcb.25953>

PIERDOMENICO, L., L. BONSI, M. CALVITTI, D. RONDELLI, M. ARPINATI, G. CHIRUMBOLO, E. BECCHETTI, C. MARCHIONNI, F. ALVIANO, V. FOSSATI, N. STAFFOLANI, M. FRANCHINA, A. GROSSI a G. P. BAGNARA, 2005. Multipotent mesenchymal stem cells with immunosuppressive activity can be easily isolated from dental pulp. *Transplantation*. **80**(6), 836–842. ISSN 00411337. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/01.tp.0000173794.72151.88>

PIETILÄ, M., S. PALOMÄKI, S. LEHTONEN, I. RITAMO, L. VALMU, J. NYSTEDT, S. LAITINEN, H. V. LESKELÄ, R. SORMUNEN, J. PESÄLÄ, K. NORDSTRÖM, A. VEPSÄLÄINEN a P. LEHENKARI, 2012. Mitochondrial function and energy metabolism in umbilical cord blood- and bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells and Development*. **21**(4), 575–588. ISSN 15473287. Dostupné z: <https://doi.org/10.1089/scd.2011.0023>

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 a D. R. MARSHAK, 1999. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. **284**(5411), 143–147. ISSN 00368075. Dostupné z: <https://doi.org/10.1126/science.284.5411.143>

\*POUIKLI, A. a P. TESSARZ, 2021. Metabolism and chromatin: A dynamic duo that regulates development and ageing. *BioEssays*. **43**(5), 2000273. ISSN 02659247. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/bies.202000273>

REN, G., X. ZHAO, L. ZHANG, J. ZHANG, A. L'HUILLIER, W. LING, A. I. ROBERTS, A. D. LE, S. SHI, C. SHAO a Y. SHI, 2010. Inflammatory Cytokine-Induced Intercellular Adhesion Molecule-1 and Vascular Cell Adhesion Molecule-1 in Mesenchymal Stem Cells Are Critical for Immunosuppression. *The Journal of Immunology*. **184**(5), 2321–2328. ISSN 0022-1767. Dostupné z: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0902023>

\*SALAZAR-NORATTO, G. E., G. LUO, C. DENOEUDE, M. PADRONA, A. MOYA, M. BENSIDHOUM, R. BIZIOS, E. POTIER, D. LOGEART-AVRAMOGLOU a H. PETITE, 2020. Understanding and leveraging cell metabolism to enhance mesenchymal stem cell transplantation survival in tissue engineering and regenerative medicine applications. *Stem Cells*. **38**(1), 22–33. ISSN 15494918. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/stem.3079>

SALINGCARNBORIBOON, R., H. YOSHITAKE, K. TSUJI, M. OBINATA, T. AMAGASA, A. NIFUJI a M. NODA, 2003. Establishment of tendon-derived cell lines exhibiting pluripotent mesenchymal stem cell-like property. *Experimental Cell Research*. **287**(2), 289–300. ISSN 00144827. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0014-4827\(03\)00107-1](https://doi.org/10.1016/S0014-4827(03)00107-1)

SÁNCHEZ-ARAGÓ, M., J. GARCÍA-BERMÚDEZ, I. MARTÍNEZ-REYES, F. SANTACATTERINA a J. M. CUEZVA, 2013. Degradation of IF1 controls energy metabolism during osteogenic differentiation of stem cells. *EMBO Reports*. **14**(7), 638–644. ISSN 1469221X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/embor.2013.72>

SANCHEZ-RAMOS, J., S. SONG, F. CARDOZO-PELAEZ, C. HAZZI, T. STEDEFORD, A. WILLING, T. B. FREEMAN, S. SAPORTA, W. JANSSEN, N. PATEL, D. R. COOPER a P. R. SANBERG, 2000. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro. *Experimental Neurology*. **164**(2), 247–256. ISSN 00144886. Dostupné z: <https://doi.org/10.1006/exnr.2000.7389>

SCHMELZER, E., D. T. MCKEEL a J. C. GERLACH, 2019. Characterization of Human Mesenchymal Stem Cells from Different Tissues and Their Membrane Encasement for Prospective Transplantation Therapies. *BioMed Research International*. **2019**, 1–13. ISSN 23146141. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2019/6376271>

SHI, S. a S. GRONTHOS, 2003. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. *Journal of Bone and Mineral Research*. **18**(4), 696–704. ISSN 08840431. Dostupné z: <https://doi.org/10.1359/jbmr.2003.18.4.696>

SHUM, L. C., N. S. WHITE, B. N. MILLS, K. L. DE MESY BENTLEY a R. A. ELISEEV, 2016. Energy Metabolism in Mesenchymal Stem Cells during Osteogenic Differentiation. *Stem Cells and Development*. **25**(2), 114–122. ISSN 15578534. Dostupné z: <https://doi.org/10.1089/scd.2015.0193>

SILVA, J. C., X. HAN, T. P. SILVA, K. XIA, P. E. MIKAEL, J. M. S. CABRAL, F. C. FERREIRA a R. J. LINHARDT, 2020. Glycosaminoglycan remodeling during chondrogenic differentiation of human bone marrow–synovial-derived mesenchymal stem/stromal cells under normoxia and hypoxia. *Glycoconjugate Journal*. **37**(3), 345–360. ISSN 15734986. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10719-020-09911-5>

\*SONG, N., M. SCHOLTEMEIJER a K. SHAH, 2020. Mesenchymal Stem Cell Immunomodulation: Mechanisms and Therapeutic Potential. *Trends in Pharmacological Sciences*. **41**(9), 653–664. ISSN 18733735. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2020.06.009>

SPENCER, J. A., F. FERRARO, E. ROUSSAKIS, A. KLEIN, J. WU, J. M. RUNNELS, W. ZAHER, L. J. MORTENSEN, C. ALT, R. TURCOTTE, R. YUSUF, D. CÔTÉ, S. A. VINOGRADOV, D. T. SCADDEN a C. P. LIN, 2014. Direct measurement of local oxygen concentration in the bone marrow of live animals. *Nature*. **508**(7495), 269–273. ISSN 14764687. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nature13034>

TSAGIAS, N., I. KOLIAKOS, V. KARAGIANNIS, M. ELEFThERiADOU a G. G. KOLIAKOS, 2011. Isolation of mesenchymal stem cells using the total length of umbilical cord for transplantation purposes. *Transfusion Medicine*. **21**(4), 253–261. ISSN 09587578. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3148.2011.01076.x>

WAGNER, W., P. HORN, M. CASTOLDI, A. DIEHLMANN, S. BORK, R. SAFFRICH, V. BENES, J. BLAKE, S. PFISTER, V. ECKSTEIN a A. D. HO, 2008. Replicative senescence of mesenchymal stem cells: A continuous and organized process. *PLoS ONE*. **3**(5), e2213. ISSN 19326203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002213>

WANG, W., X. HUANG, W. LIN, Y. QIU, Y. HE, J. YU, Y. XI a X. YE, 2018. Hypoxic preconditioned bone mesenchymal stem cells ameliorate spinal cord injury in rats via improved survival and migration. *International Journal of Molecular Medicine*. **42**(5), 2538–2550. ISSN 1791244X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3810>

WENG, J. Y., X. DU, S. X. GENG, Y. W. PENG, Z. WANG, Z. S. LU, S. J. WU, C. W. LUO, R. GUO, W. LING, C. X. DENG, P. J. LIAO a A. P. XIANG, 2010. Mesenchymal stem cell as salvage treatment for refractory chronic GVHD. *Bone Marrow Transplantation*. **45**(12), 1732–1740. ISSN 02683369. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/bmt.2010.195>

YANG, C., G. WANG, F. MA, B. YU, F. CHEN, J. YANG, J. FENG a Q. WANG, 2018. Repeated injections of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells significantly promotes functional recovery in rabbits with spinal cord injury of two noncontinuous segments. *Stem Cell Research and Therapy*. **9**(1), 136. ISSN 17576512. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0879-0>

ZHANG, Y., G. MARSBOOM, P. T. TOTH a J. REHMAN, 2013. Mitochondrial Respiration Regulates Adipogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. *PLoS ONE*. **8**(10), e77077. ISSN 19326203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077077>

ZUK, P. A., M. ZHU, H. MIZUNO, J. HUANG, J. W. FUTRELL, A. J. KATZ, P. BENHAIM, H. P. LORENZ a M. H. HEDRICK, 2001. Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies. *Tissue Engineering*. **7**(2), 211–228. ISSN 10763279. Dostupné z: <https://doi.org/10.1089/107632701300062859>

**\*review jsou označeny hvězdičkou**

#### **Další použité zdroje:**

[https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=mesenchymal+stem+cells&type=&rslt=&age\\_v=&gndr=&intr=&titles=&outc=&spons=&lead=&id=&cntry=&state=&city=&dist=&locn=&rsub=&strd\\_s=&strd\\_e=&pred\\_s=&pred\\_e=&sfpd\\_s=&sfpd\\_e=&rfpd\\_s=&rfpd\\_e=&lupd\\_s=&lupd\\_e=&sort=](https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=mesenchymal+stem+cells&type=&rslt=&age_v=&gndr=&intr=&titles=&outc=&spons=&lead=&id=&cntry=&state=&city=&dist=&locn=&rsub=&strd_s=&strd_e=&pred_s=&pred_e=&sfpd_s=&sfpd_e=&rfpd_s=&rfpd_e=&lupd_s=&lupd_e=&sort=)