

UNIVERZITA KARLOVA
LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI

Od mesenchymální kmenové buňky k adipocytu

From Mesenchymal Stem Cell to Adipocyte



Habilitační práce

MUDr. Miroslava Čedíková, Ph.D.

Plzeň 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou habilitační práci s názvem „Od mesenchymální kmenové buňky k adipocytu“ vypracovala samostatně a je jedinečným textem sloužícím jako komentář k souboru původních a přehledových prací publikovaných v impaktovaných a recenzovaných časopisech. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi Univerzity Karlovy.

V Plzni, dne 7. 1. 2023

MUDr. Miroslava Čedíková, Ph.D.

Poděkování

Tato práce vznikla na Ústavu fyziologie a v Laboratoři nádorové biologie a imunoterapie Lékařské fakulty v Plzni Univerzity Karlovy.

Ráda bych poděkovala zejména své rodině a přátelům za to, že mi byli oporou a umožnili mi dostat se až k možnosti sepsání této práce. Dále bych ráda poděkovala čtyřem ženám, které mě podporovaly a motivovaly při vědecké práci, jmenovitě prof. MUDr. Zdence Ulčové-Gallové, DrSc, prof. MUDr. Mileně Králíčkové, Ph.D., prof. MUDr. Jitce Kuncové, Ph.D. a Mgr. Monice Holubové, Ph.D..

Miroslava Čedíková

Obsah

1	TEORETICKÝ ÚVOD.....	11
1.1	Kmenové buňky	11
1.2	Mesenchymální kmenové buňky	13
1.2.1	Charakterizace mesenchymálních kmenových buněk.....	13
1.2.2	Diferenciační a imunomodulační potenciál mesenchymálních kmenových buněk.....	15
1.2.3	Zdroje mesenchymálních kmenových buněk	20
1.2.4	Využití mesenchymálních kmenových buněk.....	28
1.3	Adipocyt a jeho diferenciacce	31
1.3.1	Typy adipocytů.....	31
1.3.2	Úloha mitochondrie v adipocytu	35
1.3.3	Adipogeneze a lipogeneze.....	38
1.3.4	Perzistentní organické polutanty a jejich vliv na metabolismus tukové tkáně..	40
2	SOUBOR KOMENTOVANÝCH PRACÍ.....	42
2.1	Parakrinní a imunomodulační potenciál mesenchymálních kmenových buněk... 42	
2.1.1	Beneficial Effects of Mesenchymal Stem Cells on Adult Porcine Cardiomyocytes in Non-Contact Co-Culture.....	42
2.1.2	Comparison of the immunomodulatory effect of single MSC batches versus pooled MSC products	45
2.2	Využití mesenchymálních kmenových buněk jako modelu pro studium adipogeneze a její modulace	48
2.2.1	Multiple Roles of Mitochondria in Aging Processes	48
2.2.2	Mitochondria in White, Brown, and Beige Adipocytes	49

2.2.3	The origin and development of fat droplet and its role in health and illness	50
2.2.4	Vliv perzistentních organických polutantů na mitochondriální funkce a vznik metabolického syndromu	51
2.2.5	Mitochondrial Respiration of Adipocytes Differentiating From Human Mesenchymal Stem Cells Derived From Adipose Tissue	52
2.2.6	Chronic DDE Exposure Modifies Mitochondrial Respiration during Differentiation of Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells into Mature Adipocytes.....	55
2.2.7	Trends in gene expression changes during adipogenesis in human adipose derived mesenchymal stem cells under dichlorodiphenyldichloroethylene exposure	59
2.2.8	DDE downregulates PLIN2 expression during differentiation of mesenchymal stem cells into adipocytes in lipid-enriched medium.....	62
2.2.9	Polychlorinated Biphenyl 153 in Lipid Medium Modulates Differentiation of Human Adipocytes	65
3	ZÁVĚR	68
4	POUŽITÁ LITERATURA.....	71
5	PŘÍLOHY	94
5.1	Seznam prací autorky mimo téma habilitační práce	94
5.1.1	Původní a přehledové články	94
5.1.2	Kapitola v knize	98

Seznam použitých zkratk

ACAT1	acyl-CoA:cholesterol acyltransferáza 1
ACAT2	acyl-CoA:cholesterol acyltransferáza 2
ACLY	ATP citrát lyáza
ADP	adenosindifosfát
AD-MSC	mesenchymální kmenové buňky izolované z tukové tkáně
AKT2	AKT serin/threonin kináza 2
ASCs	kmenové buňky odvozené z tukové tkáně
ATP	adenosintrifosfát
B7-H4	inhibitor aktivace T-buněk obsahující doménu V-set 1
bFGF	základní růstový faktor fibroblastů
BM-MSC	mesenchymální kmenové buňky izolované z kostní dřevě
CCR7	C-C chemokinový receptor typu 7
CD	jednotné označení antigenů molekul na povrchu buněk (cluster of differentiation)
CD11b	integrin α M
CD11c	integrin α X
CD14	lipopolysacharidový receptor
CD34	antigen hematopoetických progenitorových buněk 1
CD36	destičkový glykoprotein 4
CD40	člen superrodiny receptoru tumor nekrotizujícího faktoru 5
CD45	společný antigen leukocytů, protein tyrozin fosfatáza
CD73	ekto-5'-nukleotidáza
CD79a	proteinový alfa řetězec spojený s komplexem antigenního receptoru B-buněk; membránový glykoprotein MB-1

CD80	aktivační antigen T-lymfocytů CD80
CD83	aktivační protein B-lymfocytů
CD86	aktivační antigen T-lymfocytů CD86
CD90	diferenční antigen thymocytů 1; Thy-1
CD105	endoglin
CD140b/PDGFR-β	receptor růstového faktoru odvozeného z krevních destiček
CD146	adhezní molekula melanomových buněk
CD163	receptor zachycující hemoglobin
CD204	makrofágový scavenger receptor
CD206	makrofágový manózoový receptor
CD273	ligand programované smrti 2
CD274	ligand programované smrti 1
CEBPα	CCAAT enhancer binding protein α
c-Kit	tyrosin-proteináza Kit; CD117
c-Myc	proonkogen Myc
Col1	zinc finger protein CONSTANS-LIKE 1
CXCL12	faktor 1 odvozený ze stromálních buněk; chemokinový ligand 12
CXCL13	chemoatraktant B lymfocytů; chemokinový ligand 13
CXCR4	C-X-C chemokinový receptor typu 4; fusin
CXCR5	C-X-C chemokinový receptor typu 5
DDE	dichlordifenylchloroethylen
DDT	dichlordifenyltrichlorethan
DGAT1	acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferáza 1
DGAT2	acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferáza 2
EGF	epidermální růstový faktor

ESC	embryonální kmenové buňky
EV	extracelulární vezikuly
FABP4	protein vázající mastné kyseliny 4
FADH₂	flavinadenindinukleotid
FASN	syntáza mastných kyselin
GGF	gliální růstový faktor
GvHD	reakce štěpu vůči hostiteli
HGF	hepatocytový růstový faktor
HLA I	lidský leukocytární antigen I
HLA II	lidský leukocytární antigen II
IL-6	interleukin 6
IL-10	interleukin 10
IL-17	interleukin 17
IL-22	interleukin 22
INF-γ	interferon gamma
INSR	insulinový receptor
iPSC	indukované pluripotentní kmenové buňky
LIPE	hormon senzitivní lipáza
MNC	mononukleární buňky
mRNA	messenger RNA
MSC	mesenchymální kmenové buňky
NADH	nikotinamidadenindinukleotid
NKG2D	aktivační receptor natural killer group 2D
NANOG	homeobox protein NANOG
NKp30	přirozený receptor cytotoxicity 3; CD337

NKp44	přirozený receptor cytotoxicity 2
OCT4	oktamer vázající transkripční faktor 4
PAT proteiny	perilipin/adipose differentiation-related protein/tall-interacting protein of 47 kD proteiny
PCB	polychlorované bifenyly
PCR	polymerázová řetězová reakce
PDGF	růstový faktor derivovaný z krevních destiček
PLIN1	perilipin1
PLIN2	perilipin 2
POP	perzistentní organické polutanty
PPAR-γ	receptor γ aktivovaný proliferací peroxisomů
PPARGC1B	peroxisome proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1 beta
SOX-2	SRY-Box transkripční faktor 2
SSEA-4	stádium specifický embryonální antigen 4
SREBP1	sterol regulatory element-binding protein
STRO-1	povrchový antigen stromálních prekurzorových buněk
SVF	stromální vaskulární frakce
TGF-α	transformující růstový faktor α
TGF-β1	transformující růstový faktor β 1
TGF-βIII	transformující růstový faktor beta typu III
TNF-α	tumor nekrotizující faktor alfa
UC-MSC	mesenchymální kmenové buňky izolované z pupečníku
UCP1	rozpojovací protein 1
UCP3	rozpojovací protein 3
UDSC	mesenchymální kmenové buňky získané z moči

VEGF	vaskulární endoteliální růstový faktor
Wnt	Wnt signální dráha
Wnt10b	protein Wnt-10b

1 TEORETICKÝ ÚVOD

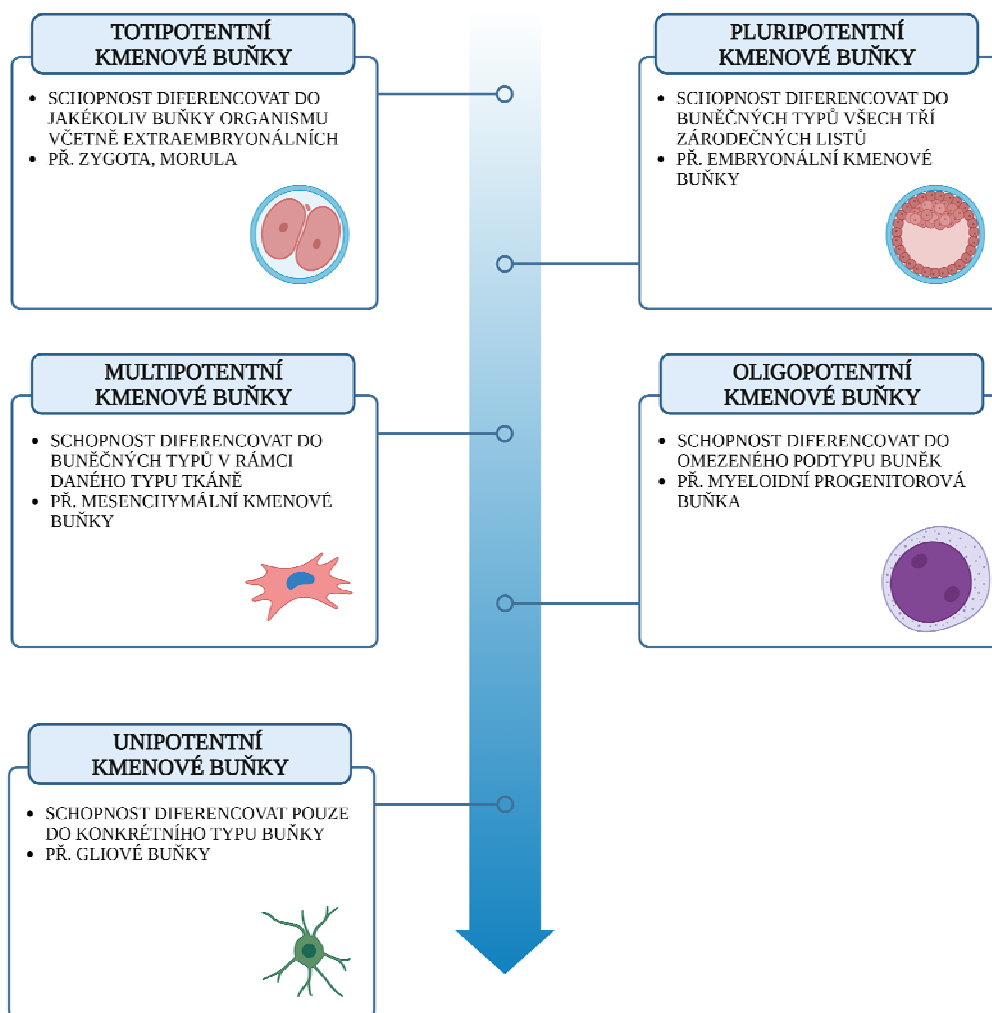
1.1 Kmenové buňky

Lidské tělo je tvořeno z mnoha typů buněk, které formují jednotlivé tkáně a orgány. Většina těchto buněk je diferencována, má omezený životní cyklus a není schopna sebeobnovy. Malá skupina buněk se ale vyznačuje přetrvávající schopností sebeobnovy a diferenciací do rozdílných buněčných typů. Tyto buňky jsou označovány jako adultní somatické kmenové buňky a jsou lokalizovány v celé řadě našich tkání a orgánů (1).

Většina adultních somatických buněk je multipotentní, tj. jedná se o buňky s omezeným spektrem diferenciací, a to pouze v rámci daného typu tkáně. Typickým zástupcem této skupiny jsou mesenchymální kmenové buňky (MSC). Mezi další typy adultních somatických kmenových buněk patří oligopotentní či unipotentní buňky. Oligopotentní buňky mají kromě schopnosti sebeobnovy i možnost diferencovat do několika typů buněk, ale toto spektrum je již velice úzké. Typickým zástupcem této skupiny kmenových buněk je např. myeloidní progenitorová buňka. Unipotentní buňky jsou charakterizovány již nejužší diferenciací schopností, a to jen do konkrétního typu buněk.

Kromě těchto podtypů kmenových buněk existují ještě totipotentní a pluripotentní varianty. Zde se již ale nejedná o adultní buňky. Mezi buňky s totipotentním diferenciací potenciálem patří zygota či morula, kdy každá z jejich buněk může dát vzniknout celému jedinci i extraembryonálním tkáním. Zástupcem pluripotentních buněk jsou pak např. embryonální kmenové buňky (ESC) či indukované pluripotentní kmenové buňky (iPSC), které mají schopnost diferencovat do buněčných typů všech tří zárodečných listů (ektoderm, endoderm a mesoderm) a umožňují tak vznik všem typům tkání a orgánů

mimo extraembryonální. Obázek 1 shrnuje dělení kmenových buněk podle jejich diferenciační schopnosti.



Obrázek 1 Dělení kmenových buněk dle jejich diferenciačního potenciálu.

Vytvořeno pomocí www.biorender.com.

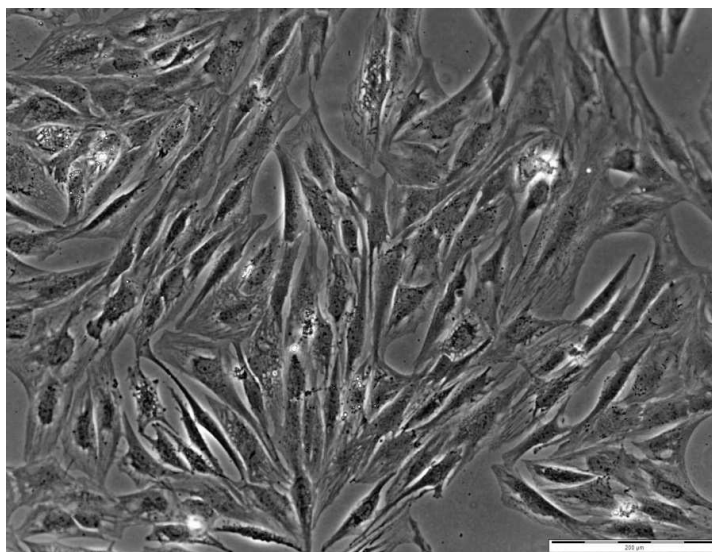
1.2 Mesenchymální kmenové buňky

Objevení mesenchymálních kmenových buněk je připisováno sovětskému vědci A. Friedensteinovi a jeho spolupracovníkům. Ti v 60. letech 20. století jako první popsali přítomnost a izolaci buněk z kostní dřeně hlodavců. Tyto buňky se vyznačovaly schopností adherence k plastu, formací kolonií *in vitro*, schopností osteogenní diferenciace a jejich vzhled připomínal fibroblasty (vřetenovitý tvar) (2–4). Při subkutánní transplantaci byly tyto buňky schopné tvořit kost a rekonstruovat hematopoetické mikroprostředí (5). Schopnost chondrogenní a adipogenní diferenciace u těchto buněk byla prokázána až v navazujících studiích v průběhu 80. let 20. století (6,7).

Oficiální termín „mesenchymální kmenové buňky“ použil až v roce 1991 A. Caplan (8), který se také se svými spolupracovníky podílel na identifikaci prvních povrchových antigenů této populace buněk (CD73 a CD105) (9,10) a zároveň jim předpovídal velký terapeutický potenciál (11,12).

1.2.1 Charakterizace mesenchymálních kmenových buněk

Mesenchymální kmenové buňky jsou heterogenní populací buněk typického vřetenovitého tvaru, s přítomným protáhlým jádrem obsahujícím 2 až 3 jadérka (Obrázek 2), které byly prvně izolovány z kostní dřeně. Od té doby byla jejich přítomnost prokázána v celé řadě dalších tkání a orgánů – např. v kůži (13), tukové tkáni (14), zubní dřeni (15), synoviu a synoviální tekutině (16), endometriu a menstruační krvi (17,18), moči (19), ale také v pupečníku (20), amniové tekutině či v placentě (21,22).



Obrázek 2 Mikrofotografie mesenchymálních kmenových buněk (objektiv10x)

Dle výboru Mezinárodní společnosti pro buněčnou terapii musí buňky, aby mohly být označeny za lidské MSC, splňovat tři minimální kritéria (23):

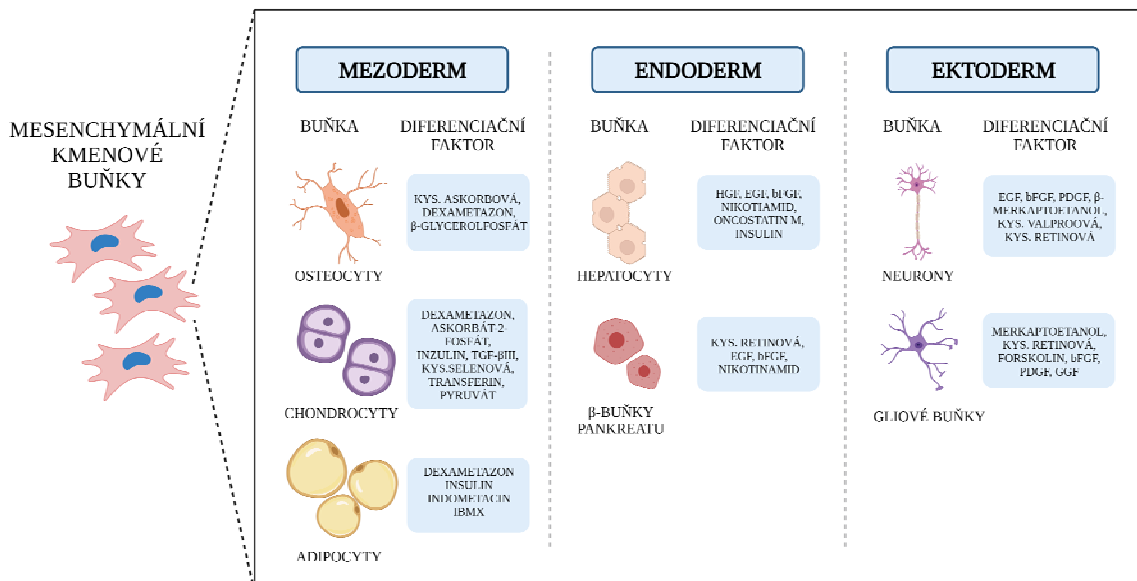
1. buňky musí adherovat k plastiku při splnění standardních kultivačních podmínek
2. většina buněk v kultuře (více než 95 %) musí exprimovat na svém povrchu markery CD105, CD90 a CD73, a naopak být negativní pro markery CD45, CD34, CD14, CD79a, CD11b a HLA II
3. v podmínkách *in vitro* musí být buňky schopny diferencovat do osteoblastů, chondrocytů a adipocytů

K těmto minimálním kritériím bylo výborem v roce 2019 doporučeno doplnění zkratky „MSC“ o identifikaci původu buněk (např. BM-MSC pro buňky izolované z kostní dřeně, AD-MSC pro buňky získané z tukové tkáně a UC-MSC pro buňky původem z pupečníku) a podrobněji charakterizovat buňky z pohledu imunomodulačních schopností či sekrece trofických faktorů (24).

1.2.2 Diferenciační a imunomodulační potenciál mesenchymálních kmenových buněk

Jak již bylo uvedeno dříve, MSC mají schopnost *in vivo* a ve vhodném prostředí za přítomnosti specifických faktorů i *in vitro* diferencovat v adipocyty, chondrocyty a osteoblasty. Pro adipogenezi je zásadní přítomnost insulinu, indometacinu, dexametazonu a isobutylmetylxantinu (25), pro osteogenezi je zásadní kyselina askorbová, β -glycerolfosfát, dexametazon a pro chondrogenezi např. askorbát-2-fosfát, kyselina selenová, inzulin, dexametazon, transferin, pyruvát a transformující růstový faktor β III (TGF- β III) (26,27). Po indukci procesu adipogeneze dochází během 7 až 14 dní k vzniku a postupnému růstu tukových kapének uvnitř buněk. Buňky vykazují expresi specifických markerů jako je např. PPAR- γ (receptor γ aktivovaný proliferací peroxisomů), leptin, lipoproteinová lipáza, adiponektin, proteiny vázající mastné kyseliny apod. (28). Nejjednodušší možností průkazu adipocytů je užití barvení olejovou červení, která ozřejmí tukové vakuoly uvnitř buněk. Při osteogenezi dochází po 2 až 3 týdnech k vzniku kalciových extracelulárních deposit, která mohou být prokázána alizarinovou červení. Vznik proteoglykanů u chondrogeneze je možné stanovit pomocí alciánové modři.

Kromě těchto základních tří typů buněk, mohou být MSC v přítomnosti konkrétních faktorů zdrojem i jiných typů buněk. Jedná se např. o myoblasty a kardiomyocyty, pro jejichž diferenciaci je stěžejní přítomnost 5-azacytidinu (29), dále hepatocyty (30), beta buňky pankreatu (31,32) nebo neurony a neuroglie (33,34). Diferenciační potenciál mesenchymálních kmenových buněk a potřebné diferenciacní faktory shrnuje Obrázek 3.



Obrázek 3 Diferenciační potenciál mesenchymálních kmenových buněk a růstové faktory potřebné k diferenciaci do daného směru. Vytvořeno pomocí www.biorender.com.

Další významnou vlastností MSC je jejich schopnost imunomodulace. Jsou považovány za hypoimmunogenní buňky, a to v důsledku nízké exprese HLA I, nepřítomnosti HLA II a kostimulačních molekul CD40, CD80 a CD86 (35). Svými imunomodulačními účinky ovlivňují jak vrozenou, tak adaptivní část imunity. Mechanismus imunomodulace je zprostředkován jednak přímým kontaktem mezi jednotlivými buňkami, ale i skrze parakrinní působení celé řady sekretovaných imunomodulačních faktorů (např. cytokiny, chemokiny, růstové faktory, prostaglandin E2, oxid dusnatý, indolamin 2,3-dioxygenáza) (36–41) či extracelulárních vezikul (EV) (42).

Extracelulární vezikuly (EV) jsou částice přirozeně uvolňované buňkami, ohraničené fosfolipidovou dvojvrstvou a bez schopnosti replikace (43). V literatuře se můžeme setkat s celou řadou jejich jednotlivých podtypů, jako jsou např. ektozomy, exozomy nebo mikrovezikuly, ale jednotný postoj k jejich názvosloví a k jednotlivým detekčním markerům stále chybí. Z tohoto důvodu je v současnosti asi nejvyužívanější

dělení dle jejich velikosti, a to na malé (< 200 nm) a střední/velké (> 200 nm) extracelulární vezikuly (43). Vezikuly obsahují celou řadu bioaktivních molekul, jako je např. jednovláknová či dvouvláknová DNA, různé typy RNA (mikroRNA a další krátké RNA, dlouhá nekódující RNA či mRNA), cytosolové proteiny nebo povrchové receptory (44–47). Jsou intenzivně zkoumány jako potenciální diagnostický i terapeutický nástroj. U extracelulárních vezikulů odvozených z MSC jsou největší naděje vkládány do jejich imunomodulačního účinku, který byl prokázán jak *in vitro*, tak *in vivo* (48–51). Konkrétní mechanismus jejich působení ale není stále znám.

Efekt mesenchymálních kmenových buněk na složky vrozené a získané imunity

MSC inhibují aktivaci komplementu, a to skrze produkci faktoru H, což je jeho primární inhibitor (52). Jedná se o plazmatický glykoprotein, který je produkován zejména játry, ale v malé míře i některými dalšími typy buněk, jako např. buňkami sítnice, endotelem, trombocyty nebo právě mesenchymálními kmenovými buňkami (53–55). Jeho produkce může být posílena zánětlivými cytokiny, jako je interferon gamma (INF- γ) či tumor nekrotizující faktor alfa (TNF- α) nebo naopak potlačena působením inhibitoru syntézy prostaglandinu E2, indometacinem, a inhibitoru indolamin 2,3-dioxygenázy, 1-methyl-d-tryptofanem (55). Defekt nebo snížená funkce faktoru H bývá sdružena s výskytem celé řady onemocnění, a to včetně atypického hemolyticko-uremického syndromu, membranoproliferativní glomerulonefritidy a celé řady autoimunit (52,56–58).

Další nezastupitelnou složkou nespecifické imunity jsou makrofágy. Ukazuje se, že MSC podporují jejich polarizaci z prozánětlivého typu M1 směrem k protizánětlivému typu M2, kdy navíc tento podtyp inhibuje proliferaci T-lymfocytů produkcí interleukinu 10 (59). Aburmaree a kol. prokázali, že přechod z M1 na M2 makrofágy je navíc charakterizován nejen morfologickými změnami buněk, ale i změnami v expresi

povrchových markerů CD14, CD36, CD163, CD204, CD206, B7-H4 a CD11b. Zároveň došlo i ke snížení exprese kostimulačních molekul (CD40, CD80, CD86) a naopak ze zvýšení exprese molekul koinhibičních (CD273, CD274 a B7-H4) a HLA II (60).

Neutrofilů jsou nejpočetnější skupinou z leukocytů s až 70% zastoupením v periferní krvi. Jakožto součást nespecifické imunity tvoří první linii obrany našeho organismu, a to konkrétně skrze mechanismy fagocytózy, degranulace a tvorbou extracelulárních pastí (61). Zapojují se ale i do modulace adaptivní imunity (62). MSC inhibují apoptózu neutrofilů, zachovávají jejich životaschopnost, tlumí mobilizaci a produkci oxidu dusnatého (63,64), nemají ale vliv na jejich schopnost fagocytózy či na expresi adhezivních molekul (63).

U žírných buněk dochází vlivem působení MSC k inhibici jejich degranulace, chemotaxe a ke snížení sekrece prozánětlivých cytokinů. Tato suprese je výraznější, pokud jsou MSC v přímém kontaktu s žírnými buňkami. Mechanismus imunosuprese je závislý na up-regulaci cyklooxygenázy typu 2 u MSC a je podpořen aktivací receptorů pro prostaglandin E2 podtypu EP4 (65).

Přirození zabíječi neboli NK (natural killer) buňky tvoří menší podskupinu lymfocytů iniciující vrozené imunitní reakce proti celé řadě cílových buněk – např. proti buňkám infikovaným virem nebo nádorově změněným. Mesenchymální kmenové buňky inhibují proliferaci NK buněk, snižují jejich cytotoxicitu a expresi aktivačních molekul NKp30, NKp44, NKG2D a produkci INF- γ (66–68). Klíčovými molekulami pro inhibici NK buněk MSC buňkami se jeví prostaglandin E2 a indolamin 2,3-dioxygenáza (68).

Dendritické buňky jsou hlavními antigen prezentujícími buňkami našeho imunitního systému a tvoří spojující článek mezi nespecifickou a specifickou imunitou. MSC inhibují diferenciaci hematopoetických kmenových buněk a monocytů v dendritické buňky a vedou u nich ke snížení exprese HLA II, CD11c, CD83 a kostimulačních molekul.

Tato zástava diferenciace je nejspíše způsobena zablokováním vstupu monocytů do G1 fáze buněčného cyklu (69). Při kokultivaci MSC s dendritickými buňkami byla pozorována snížená produkce TNF- α konvenčními dendritickými buňkami typu I a naopak zvýšená sekrece IL-10 u typu II (70). Tyto imunomodulační účinky na dendritické buňky jsou výraznější u MSC derivovaných z tukové tkáně než u buněk původem z kostní dřeně (71).

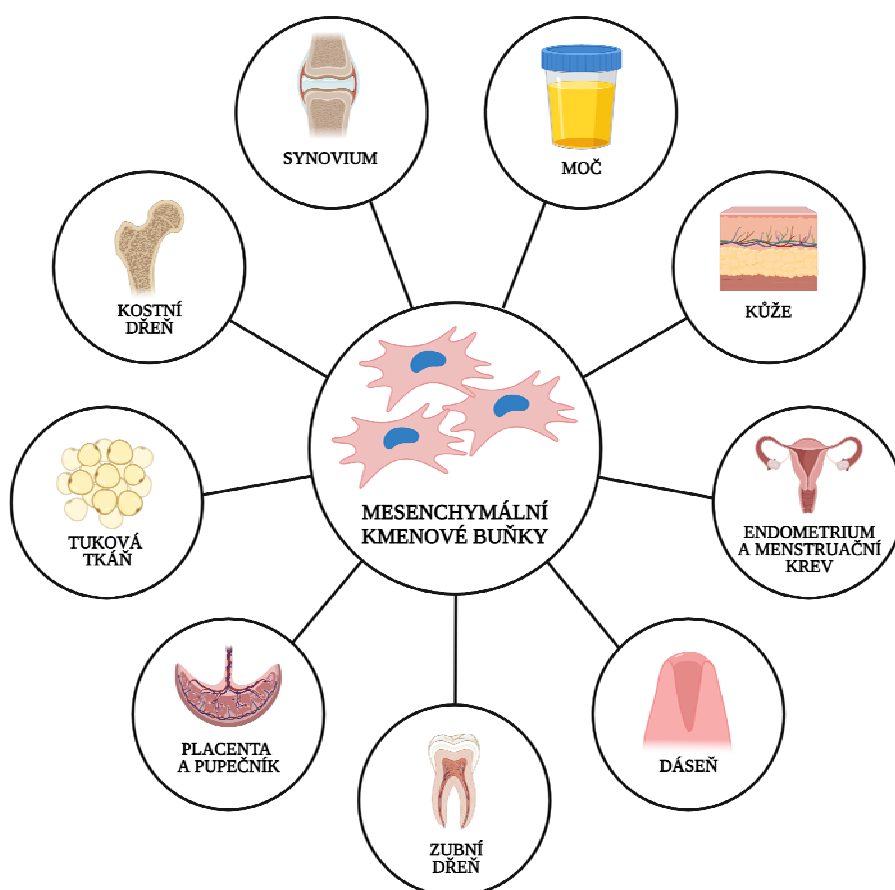
B-lymfocyty jsou zodpovědné za specifickou imunitní odpověď zprostředkovanou protilátkami. MSC inhibují proliferaci B-lymfocytů, a to skrze zastavení buněčného cyklu ve fázi G0/G1 (72). Dále byl prokázán účinek i na chemotaktické vlastnosti buněk, kdy vlivem MSC došlo ke snížení exprese CXCR4, CXCR5, CCR7, CXCL 12 a 13 a k narušení migrace do místa zánětu (73). Významně byla ovlivněna i diferenciace buněk do plazmocytů a produkce protilátek, naopak produkce cytokinů a exprese kostimulačních molekul modifikovány nebyly (72).

T-lymfocyty jsou zodpovědné za specifickou buněčnou imunitu, přijímají informace od složek nespecifické imunity, s kterými následně spolupracují, regulují diferenciaci B-lymfocytů a zajišťují specifickou cytotoxickou reaktivitu. Za nejvýznamnější účinek MSC na T-lymfocyty je považována inhibice jejich proliferace. Tento účinek je zároveň považován za vůbec nejvýznamnější účinek MSC na imunitní buňky (74). K supresi proliferace v prostředí *in vitro* dochází nezávisle na indukujícím faktoru – aloantigen, mitogen (35,75,76) nebo skrze CD3⁺/CD28⁺ protilátky (77,78). V prostředí s MSC dochází u T-lymfocytů k zástavě buněčného cyklu ve fázi G1 (79). Tento efekt byl pozorován jak u naivních, tak paměťových T-lymfocytů, a stejně tak u CD4⁺ i CD8⁺ typů (75,79). U naivních CD4⁺ T-lymfocytů byl v prostředí s MSC pozorován pokles jejich diferenciace směrem k Th17 buňkám a u diferencovaných Th17 buněk byla přítomna snížená produkce IL-17, IL-22, INF- γ a TNF- α (38). Přesný mechanismus imunosuprese u T-lymfocytů stále není znám, ale předpokládá se, že hraje

důležitou roli transformující růstový faktor $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), hepatocytový růstový faktor (HGF), prostaglandin E2 a indolamin 2,3-dioxygenáza (70,80,81).

1.2.3 Zdroje mesenchymálních kmenových buněk

MSC byly identifikovány a izolovány z mnoha tkání a orgánů lidského těla a to např. kostní dřeň, tukové tkáně, periferní krve, pupečníku, amniové tekutiny, zubní dřeň, kůže, endometria či z moči (82). Buňky z těchto rozdílných lokalit ale nedisponují shodnými vlastnostmi, a to včetně jejich difenciační schopnosti, vítěznosti izolace či potenciálu klinického využití (83,84). Přehled hlavních zdrojů mesenchymálních kmenových buněk v lidském organismu shrnuje Obrázek 4.



Obrázek 4 Hlavní zdroje mesenchymálních kmenových buněk. Vytvořeno pomocí

www.biorender.com.

Kostní dřev

Kostní dřev byla identifikována jako první lokalita obsahující MSC (85,86) a stala se tak hlavním zdrojem multipotentních kmenových buněk. Kromě MSC kostní dřev obsahuje ještě hematopoetické kmenové buňky, které dávají vzniknout myeloidním a lymfoidním progenitorům.

Postup odběru MSC z kostní dřev je poměrně jednoduchý, jedná se nejčastěji o aspiraci kostní dřev z lopaty kosti kyčelní (odběr je možný i z kosti hrudní, zde je ale výtěžnost zisku buněk relativně malá). Pro pacienta je to ale zákrok vysoce invazivní a bolestivý s nutností podstoupení celkové anestézie a následné hospitalizace. Navíc výtěžnost aspirátu kostní dřev a zisk MSC je extrémě malý a představuje přibližně 0,001 až 0,01 % mononukleárních buněk kostní dřev (87,88). Další nevýhodou tohoto zdroje MSC je, že množství izolovaných buněk je závislé na věku dárce, přičemž s jeho přibývajícím věkem počet buněk klesá (89). Dále se s přibývajícím věkem prodlužuje i zdvojovací čas buněk a je omezen jejich diferenciační potenciál (89). Kromě věku je významným ovlivňujícím parametrem i pohlaví jedince. Buňky původem od dárce ženského pohlaví jsou menší velikosti, ale mají např. vyšší proliferační schopnost oproti buňkám od mužského dárce (90).

Kromě schopnosti diferenciace do mesodermální linie, a tedy do osteocytů, chondrocytů, adipocytů a myocytů, mají tyto buňky potenciál diferencovat *in vitro* i do linie entodermální (hepatocyty, β -buňky pankreatu) či ektodermální (neurony) (91,92).

Tuková tkáň

Tuková tkáň je dalším významným zdrojem mesenchymálních kmenových buněk. Jako první popsala zisk těchto buněk z tukové tkáně v roce 2001 americká profesorka Patricia Zuk se svými spolupracovníky (93). Pro tyto buňky existovala nejprve celá řada

označení, jako např. preadipocyty, stromální buňky odvozené z tukové tkáně, mesenchymální kmenové buňky odvozené z tukové tkáně, lipoaspirační získané buňky atd. Až nakonec v roce 2004 bylo ustanoveno jejich označení jako kmenové buňky odvozené z tukové tkáně (adipose-derived stem cells, ASCs). Oproti kostní dřeni má získání kmenových buněk z tukové tkáně výhodu v méně invazivním postupu při získávání buněk. Tuková tkáň je získávána lipoaspirační podkožního tuku, a to nejčastěji z břišní lokality, stehen nebo paží. Tento postup nemá na pozdější funkci buněk žádný vliv (94). Následuje enzymatické natrávení získané tkáně pomocí kolagenázy typu II a jejich centrifugace, jejímž výsledkem je peleta heterogenní populace buněk označovaná jako stromální vaskulární frakce (SVF) (93). SVF obsahuje kromě kmenových buněk odvozených z tukové tkáně i další typy buněk, jako např. endotelové buňky, fibroblasty, leukocyty, erytrocyty, pericyty či buňky hladké svaloviny (95). Pro získání samotných ASCs je nutná následná kultivace buněk SVF, přičemž jsou z kultury odstraněny neadherentní buňky k laboratornímu plastiku a neproliferující adherentní buňky jsou postupně vytlačeny proliferujícími ASC buňkami (93,96). Od roku 2001, kdy byl tento postup prvně popsán, byly vyvinuty i alternativní metody izolace ASC buněk, jako je např. izolace pomocí magnetických kuliček, která má výhodu v rychlosti získání buněk, a to již během několika hodin, oproti standardní metodě, která trvá dny až týdny (97).

Z jednoho gramu tukové tkáně je možné získat až 1×10^6 ASCs, což je mnohem více, než je možné získat izolací MSC z kostní dřeni, kde se počet získaných buněk pohybuje max. do 5×10^4 buněk z jednoho gramu aspirátu kostní dřeni (98). Výťažnost ASC buněk, stejně jako jejich proliferační potenciál, je vyšší z tukové tkáně mladších jedinců než od starších (99).

Morfologie buněk získaných z kostní dřeni a tukové tkáně je shodná, v obou případech se jedná o buňky vřetenovitého tvaru. Stejně tak mají velice podobný fenotyp

(100). Odlišnost ale můžeme najít ve znacích CD34 a CD105, tedy ve znacích definujících mesenchymální kmenové buňky, které mají být podle výboru Mezinárodní společnosti pro buněčnou terapii negativní ve znaku CD34 a naopak pozitivní v CD105. U ASC buněk ve SVF bez selekce pomocí adheze je ale znak CD34⁺ a CD105^{low} (101). Až po adhezi buněk dochází k postupné ztrátě exprese znaku CD34 a naopak k nárůstu přítomnosti CD105 (101).

Stejně jako tomu je u mesenchymálních kmenových buněk kostní dřeně, tak i ASC buňky mají velký diferenciační potenciál a při dodržení specifických diferenciačních podmínek, mohou diferencovat jak do adipocytů, chondrocytů či osteoblastů (102,103), tak do buněk entodermálního (104,105) a ektodermálního původu (106–109). Oproti BM- MSC mají buňky ASC lepší schopnost adipogeneze, a naopak nižší kapacitu tvorby osteoblastů (110).

Placenta, pupečník a amniová tekutina

Mezi další zdroje mesenchymálních buněk patří i gestační tkáň jako je placenta, pupečník a amniová tekutina. Jedná se o struktury, které jsou odpadním materiálem při porodu.

Placenrární mesenchymální kmenové buňky jsou odvozeny z extraembryonálního mesodermu. Stejně jako adultní mesenchymální kmenové buňky mají vřetenovitý tvar, schopnost adherovat k plastiku a vykazují přítomnost/absenci typických znaků pro MSC (111). Kromě toho je u nich přítomna i exprese některých markerů typických pro embryonální kmenové buňky, jakými je např. OCT-4, SSEA-4 a c-Kit (112). Diferenciační potenciál je široký a možný opět do buněk všech tří zárodečných listů (113). V porovnání s adultními mesenchymálními kmenovými buňkami ale vynikají rychlejší schopností expanze *in vitro* a také vyšší imunopresivní aktivitou (22,88,114). Další výhodou tohoto

typu buněk je, že lidská placenta je odpadním produktem při porodu, a buňky z ní tedy mohou být získány bez jakéhokoliv diskomfortu a etických obav.

Mesenchymální kmenové buňky je možné získat i z různých částí pupečníku, a to jednak z Whartonova rosolu, z obalu pupečníku, ale i z jeho perivaskulární oblasti (115). Jako první byla popsána izolace těchto buněk v roce 1991, a to konkrétně z tkáně Whartonova rosolu (116). Jedná se o typ buněk typického vřetenovitého tvaru, ale vyznačující se vysokou proliferační schopností (3 až 4x vyšší v porovnání s BM-MSC a ASC) (117,118). Stejně jako u MSC z jiných zdrojů nevykazuje tento typ buněk expresi hematopoetických markerů (CD14, CD34, CD45) a zároveň je u nich detekována přítomnost CD73, CD90 a CD105. Nicméně intenzita exprese je u CD90 a CD105 v porovnání s BM-MSC a ASC signifikantně nižší (88). Pupečnickové MSC mají opět schopnost diferenciaci do adipocytů, chondrocytů a osteocytů. Oproti BM-MSC ale vzniklé adipocyty obsahují pouze malé tukové kapénky (119), schopnost osteogenní diferenciaci je u nich také nižší (120) a pouze u chondrogenese byla naopak zjištěna vyšší míra produkce kolagenu v porovnání s BM-MSC (121). Kromě těchto tří základních typů buněk u nich byla prokázána např. i schopnost geneze hepatocytů (122–124), neuronů (125,126), Schwannových buněk (20) a oligodendrocytů (127).

MSC buňky získané z amniové tekutiny se stejně jako buňky placentární a pupečnickové vyznačují vysokou proliferační aktivitou. Z 2 mililitrů amniové tekutiny je možné získat až 20 000 buněk s viabilitou přesahující 80 % (128). Stejně jako mesenchymální buňky z jiných lokalit se i tyto vyznačují typickým vřetenovitým tvarem a mesenchymálním imunofenotypem (CD90, CD44, CD73, CD166, CD105, CD29) (129). Kromě toho exprimují i markery typické pro embryonální kmenové buňky, jako je SSEA-4, STRO-1, OCT4, SOX-2 a c-Myc, mají široký diferenciací potenciál (129,130) a výrazné imunopresivní účinky (131–133).

Zubní dřeň

Zubní dřeň je pojivová tkáň ekto-mesenchymálního původu s bohatou vaskularizací a nervovou inervací. První izolace a charakterizace mesenchymálních buněk z této lokality provedl Gronthos et al. v roce 2000 (15). Buňky se vyznačují stejnými morfologickými a imunofenotypovými vlastnostmi jako mesenchymální buňky z jiných lokalit (134,135). Za jejich nevýhodu lze považovat menší zisk buněk při izolaci, což je dáno malým prostorem dřeňové dutiny zubu, ze které se tkáň získává. Tuto skutečnost ale kompenzuje jejich vysoký proliferační potenciál, který je vyšší v porovnání s BM-MSC a ASC (136) a také jejich možnost dlouhodobé kultivace bez ztráty klíčových kmenových vlastností (137). Byla potvrzena jejich schopnost diferenciaci v buňky jak mesodermálního, tak i ektodermálního původu (138,139).

Dáseň

Mezi další vhodnou a jednoduše přístupnou zdrojovou tkáň pro izolaci mesenchymálních kmenových buněk patří dáseň. Populaci MSC buněk z této lokality prvně popsal a charakterizoval Zhang et al. (140). I tyto buňky se vyznačují vřetenovitým tvarem, schopností adheze k plastiku, typickým mesenchymálním imunofenotypem a multidiferenčním potenciálem (140,141). Gingivální mesenchymální kmenové buňky vykazují vyšší proliferační aktivitu než MSC izolované ze zubní dřene, stejně tak je vyšší i jejich angiogenní a migrační kapacita a také schopnost tvořit kolonie (142).

Endometrium a menstruační krev

Endometrium je tkáň s vysokou schopností dynamické remodelace, kdy v průběhu jednoho měsíce dochází k jejímu růstu, diferenciaci i k zániku a závěrečnému odplavení z těla pryč. Tyto cyklické děje ve sliznici dělohy jsou označovány jako děložní cyklus

a v průběhu fertilní části života (od menarché po menopauzu) jich žena absolvuje kolem 400 (143). Přítomnost endometriálních kmenových buněk byla poprvé popsána v roce 2004, kdy byly buňky izolovány z tkáně dělohy po hysterektomii (144). Původně se předpokládalo, že endometriální kmenové buňky jsou přítomny pouze v bazální vrstvě endometria, nakonec se ale ukázalo, že tomu tak není a tyto buňky mají schopnost migrovat během menstruační fáze děložního cyklu i do funkční zóny, aby mohlo dojít k jejímu obnovení (145,146). Aby k této pravidelné regeneraci endometriální tkáně mohlo docházet, jsou v endometriu přítomny tři subpopulace kmenových buněk – epiteliální kmenové buňky, endoteliální kmenové buňky a mesenchymální kmenové buňky (147). Skupina MSC buněk je typická expresí CD146 a CD140b/PDGFR- β a také lokalizací v blízkosti malých cév (148). Nevýhodou těchto buněk je nutnost invazivního způsobu jejich získání, a to biopsií endometria. Tato nevýhoda je ale eliminována při izolaci endometriálních mesenchymálních kmenových buněk z menstruační krve. Menstruační krev byla jako zdroj MSC identifikována v roce 2007 (149) a kromě neinvazivního způsobu získání je výhodou tohoto zdroje i snadná dostupnost a etická bezproblémovost. Tyto buňky navíc vykazují vysokou rychlost proliferace, kdy jejich zdvojovací čas se pohybuje kolem 20 hodin, což je dvojnásobně rychleji než u BM-MS (17,150).

Oba typy buněk, jak endometriální mesenchymální kmenové buňky, tak buňky získané izolací z menstruační krve, vykazují typický mesenchymální imunofenotyp jako je přítomnost CD44, CD73, CD90, CD105 a absence CD45, navíc u nich lze detekovat i pozitivitu na markery embryonálních kmenových buněk, jakými jsou SSEA-4 a OCT-4 (17). Diferenční potenciál zahrnuje jak buňky mesodermálního směru, jakými jsou adipocyty, chondrocyty i osteoblasty (150–153), tak i endodermálního (154,155) a ektodermálního (156). Díky svým imunomodulačním schopnostem a snadnému přístupu

zisku se jedná o skupinu buněk s velkým potenciálem v regenerativní i transplantační medicíně (157).

Kůže

Kůže je tvořena ze tří vrstev, a to z epidermis (pokožka), dermis (škára) a hypodermis (podkoží), které podléhají neustálé sebeobnově a obsahují tak několik populací kmenových buněk, jako např. epidermální kmenové buňky, dermální mesenchymální kmenové buňky či melanocytové kmenové buňky (158). K izolaci kožních mesenchymálních kmenových buněk bývá nejčastěji využívána tkáň z předkožky nebo z kožní biopsie.

Dermální mesenchymální kmenové buňky, stejně jako mesenchymální kmenové buňky z jiných lokalit, mají vřetenovitý tvar a typický imunofenotyp (CD44⁺, CD73⁺, CD90⁺, CD105⁺, CD34⁻, CD45⁻) (159). Diferenciace u tohoto typu buněk je možná do buněk všech tří zárodečných listů (160–163).

Moč

Lidská moč reprezentuje další vynikající zdroj mesenchymálních kmenových buněk, a to díky její snadné dostupnosti, neinvazivitě při zisku a etické bezproblémovosti.

Zhang et al. identifikovali v moči čtyři různé populace buněk v závislosti na jejich morfologii a fenotypu, a to včetně buněk s kmenovým charakterem. Tyto buňky byly označeny jako kmenové buňky získané z moči (UDSC, urine-derived stem cells) (19). Počet těchto buněk v moči se pohybuje kolem 1 až 2 na 100 ml čerstvé moči (19). Buňky se stejnými vlastnostmi lze získat i z moči z horních pasáží močového traktu (ledvinná pánvička, močovod, močový měchýř), kdy je výtěžnost buněk sice vyšší, ale tato skutečnost je negativně kompenzována invazivním přístupem při jejich zisku (164,165).

UDSC jsou buňky s vysokým proliferačním potenciálem, jejich zdvojovací čas se pohybuje mezi 20 až 29 hodinami při izolaci z čerstvé moči po 28 až 32 hodin u buněk z moči, která byla skladována po 24 hodin při 4°C (19,164,166). Fenotypově buňky vykazují expresi markerů CD44, CD73, CD90, CD105, ale i Vimentinu a Col1, naopak na hematopoetické markery jsou negativní (167). Diferenční kapacita je široká a zahrnuje jednak adipocyty, chondrocyty a osteoblasty (168,169), ale i uroteliální buňky (166,168), buňky hladké a kosterní svaloviny (168), endoteliální buňky (170), buňky produkující insulin (171), hepatocyty (172) nebo neuron-like buňky (173).

Ostatní zdroje

Kromě výše zmíněných hlavních zdrojů MSC, je možná jejich izolace i např. z periferní krve, synoviální membrány a tekutiny či kosterního svalu (174–176). Vítěžnost těchto zdrojů je ale malá a postup pro získání buněk je invazivní, z toho důvodu jsou vhodnější jiné zdroje (viz výše), kde je pozitivum buď ve vysoké vítěznosti nebo v neinvazivním způsobu získání.

1.2.4 Využití mesenchymálních kmenových buněk

Regenerativní medicína je rychle se vyvíjející interdisciplinární obor, jehož cílem je zvýšení přirozené schopnosti těla opravit či nahradit poškozenou tkáň. Mesenchymální kmenové buňky se zdají být v této oblasti medicíny klíčové, což dokazuje i narůstající počet klinických studií s jejich zapojením. Kromě jejich schopnosti diferenciací do různých typů buněk, a tedy možnosti náhrady poškozených či chybějících buněk, MSC podporují i životaschopnost a funkčnost zdravých buněk, dále stimulují angiogenezi, inhibují buněčnou apoptózu, regulují remodelaci extracelulární matrix a velice významný

je také jejich imunomodulační potenciál (177). Tyto jejich pozitivní účinky jsou zprostředkovány zejména parakrinní sekrecí celé řady cytokinů, chemokinů, růstových faktorů, ale i extracelulárních vezikulů apod. (178). Mezi další klíčový mechanismus pro umožnění regenerace poškozené tkáně by mohl patřit i přenos mitochondrií mezi MSC a poškozenými buňkami (179).

Skupinou, která by mohla významně těžit z terapeutického využití MSC, jsou kardiovaskulární nemoci. Kromě schopnosti MSC buněk diferencovat v kardiomyocyty se uplatňuje i jejich imunomodulační potenciál, podpora neovaskularizace a antifibrotická aktivita (180–182).

Velký potenciál by mohla mít terapie mesenchymálními kmenovými buňkami u autoimunitních onemocnění a také v transplantační medicíně při reakci štěpu vůči hostiteli (GvHD). Z autoimunitních onemocnění se jedná zejména o roztroušenou sklerózu (183), revmatoidní artritidu (184), systémový lupus erythematoses (185), diabetes mellitus I. typu (186) nebo o Crohnovu chorobu (187). Connick a kol. podali deseti pacientům s progresivní formou roztroušené sklerózy intravenózně dávku autologních BM-MS (1,6 miliónu buněk na kilogram váhy). Po deseti měsících došlo u pacientů k zlepšení jejich zrakové ostrosti (188). U pacientů s revmatoidní artritidou došlo po aplikaci MSC (konkrétně UC-MS) k signifikantnímu poklesu markerů TGF- α a IL-6 a naopak v nárůstu počtu regulujících T-lymfocytů (189). V případě Crohnovy choroby byla pacientům podána infúze autologních mesenchymálních kmenových buněk a u tří pacientů bylo po 6 týdnech pozorováno výrazné zlepšení stavu onemocnění. Zároveň ale u 3 pacientů došlo k zhoršení jejich stavu, který vyžadoval akutní chirurgické řešení (190). V roce 2004 byly MSC prvně úspěšně podány u pacienta s kortikorefrakterní akutní GvHD (191). Ve studii Ringdén et al. neprokázali vznik žádných projevů akutní toxicity a u 6 z jejich 8 pacientů došlo k úplnému vymizení symptomů akutní GvHD (192). Využití MSC u léčby

kortikorefrakterní GvHD je součástí klinické praxe v celé řadě zemí, kdy pacienti těží z efektu buněk na útlum proliferace a cytotoxicity T-lymfocytů a zároveň i z nárůstu počtu regulačních T-lymfocytů (193).

Onemocněním, jehož léčba by mohla také významně těžit z imunomodulačních vlastností MSC je i COVID-19, a to zejména při jeho těžkém průběhu, při kterém u pacientů dochází k rozvoji syndromu akutní dechové tísně (194–196)

Kromě výše zmíněných příkladů využití MSC jsou tyto buňky zkoumány i z pohledu využití při regeneraci poškozené chrupavky (197,198), kosti (199) nebo neurologických onemocnění, a to včetně cévní mozkové příhody (200), Parkinsonovy choroby (201), poranění míchy (202,203) či periferních nervů (204). Obrovský potenciál tyto buňky slibují i v oblasti léčby chronických ran (205) či při regeneraci jater (206).

1.3 Adipocyt a jeho diferenciace

1.3.1 Typy adipocytů

Dlouhou dobu bylo na tukovou tkáň nahlíženo pouze jako na naši termoizolační vrstvu, mechanickou ochranu proti nárazům a pasivní zásobárnu energie. Názory na ni byly přehodnoceny až na konci 20. století, kdy byly objeveny hormony produkované tukovou tkání, a z tukové tkáně se tak stal náš největší endokrinní orgán, podílející se na regulaci metabolismu nejen lipidů, ale i sacharidů a na celém našem energetickém metabolismu (207). Kromě toho se dá tuková tkáň označit i za významný imunitní orgán, který plní důležitou roli při zánětu, antimikrobiální obraně či při hojení ran (208,209). Adipocyty jsou silnými producenty adipokinů, jako je adiponektin, adipsin, leptin a visfatin, ale i cytokinů včetně interleukinu (IL)-6, tumor nekrotizujícího faktoru (TNF)- α a IL-10 (210,211).

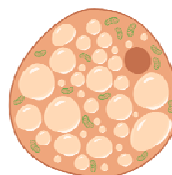
Tuková tkáň je podtypem vaziva, které obsahuje kromě jednotlivých vývojových fází adipocytů (preadipocyty, maturované adipocyty) i vaskulární endotelové buňky, pericyty, fibroblasty a fibrocyty, makrofágy, leukocyty, kmenové buňky a extracelulární matrix (212).

U savců, tedy i u člověka, jsou popisovány dva typy tukových buněk a tedy i dva typy tukové tkáně, a to bílá a hnědá. Bílá tuková buňka má sférický tvar, kdy většinu jejího objemu vyplňuje jedna velká tuková kapénka, v jejím okolí se nachází jen tenký proužek cytoplazmy s periferně umístěným oploštělým jádrem a malým počtem zbylých buněčných organel. Oproti tomu, hnědý adipocyt je obvykle menší velikosti, jeho tvar je více eliptický nebo polygonální, obsahuje velké množství malých lipidových kapének a mitochondrií. Jádro má kulatý tvar a je umístěno více centrálně (213). Hlavní morfologické rozdíly bílého a hnědého adipocytu shrnuje Obrázek 5.

BÍLÝ ADIPOCYT



HNĚDÝ ADIPOCYT

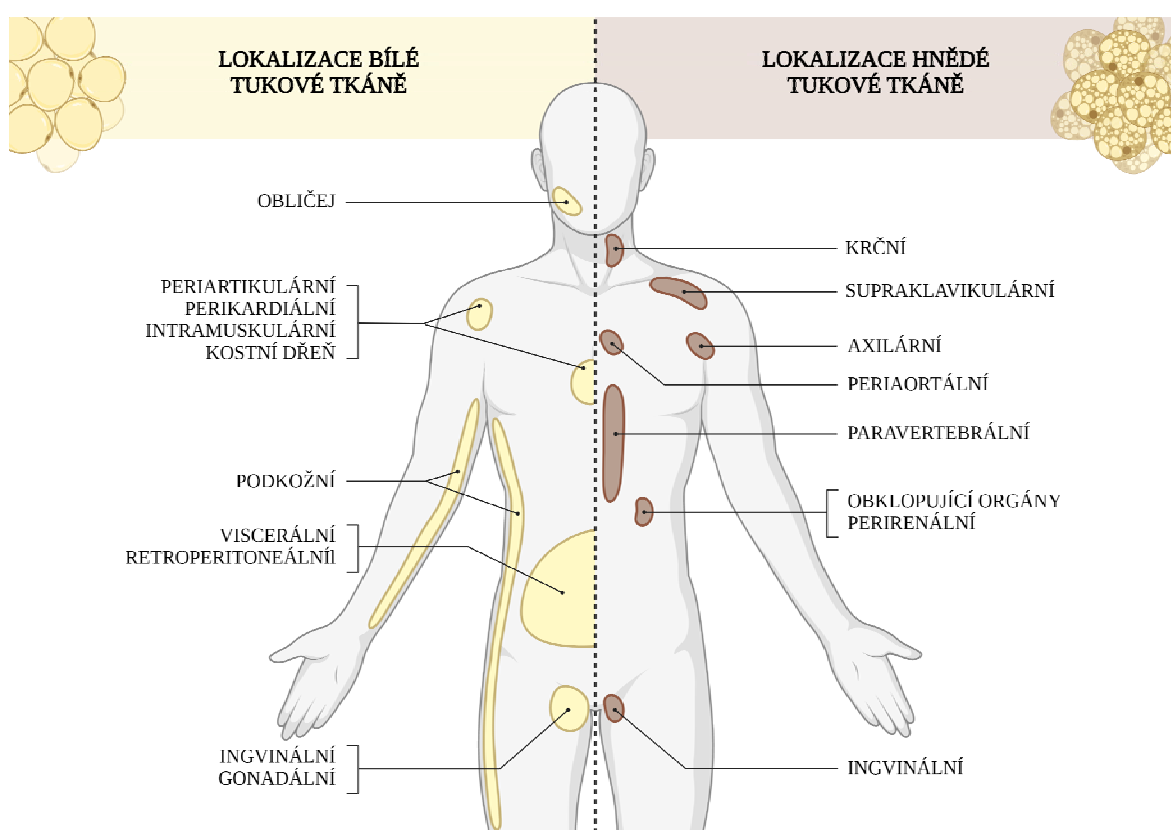


Obrázek 5 Schématické znázornění morfologických rozdílů bílého a hnědého adipocytu. Vytvořeno pomocí www.biorender.com.

Bílá tuková tkáň tvoří u dospělého člověka přibližně 20 % jeho tělesné hmotnosti, v případě obézních lidí se ale může jednat až o 50 %. Z metabolického hlediska rozlišujeme u tohoto typu tkáně dva podtypy, a to podkožní a viscerální. Tyto dva typy se liší nejen genovou expresí, lokalizací na těle, ale i zapojením do patofyziologie celé řady onemocnění (214). Podkožní tuk je distribuován prakticky po celém těle, ale jeho větší depozita lze nalézt zejména v gluteální oblasti, na zádech a přední straně břicha. Oproti tomu viscerální tuk je umístěn intraabdominálně a v okolí vnitřních orgánů. Dále je tento podtyp i metabolicky aktivnější, a to jak svou lipolytickou aktivitou, tak endokrinní činností a reakcí na inzulín i další hormony, jako jsou např. katecholaminy, glukokortikoidy a pohlavní hormony (215). Zvýšené množství viscerálního tuku v těle je spojováno se zvýšeným rizikem vzniku zejména kardiovaskulárních a metabolických onemocnění (216).

Hnědá tuková tkáň je u člověka důležitá zejména v intrauterinním, novorozeneckém a kojeneckém období života, kdy představuje termogenní orgán zodpovědný za netřesovou termogenezi. Tato skutečnost je umožněna vysokou expresí rozpojovacího proteinu 1 (UCP1, uncoupling protein 1), který umožňuje

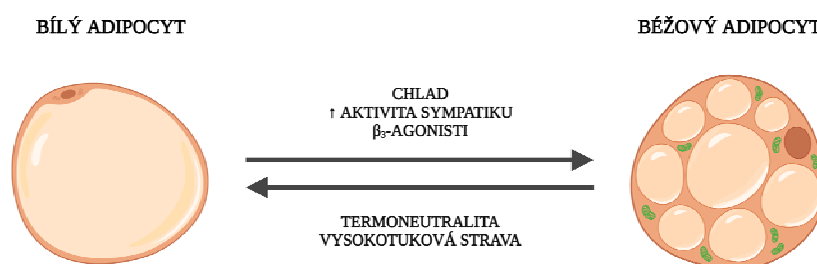
v mitochondriích hnědého adipocytu rozpojení převodu energie mezi elektronovým transportním řetězcem a syntézou ATP, čímž dojde ke stimulaci uvolňování energie ve formě tepla (217). U dospělého jedince je možné nalézt už jen omezené množství hnědé tukové tkáně, a to především v oblasti supraklavikulární, paravertebrální, axilární a periaortální (218). Podrobnější rozložení bílé a hnědé tukové tkáně u dospělého člověka zobrazuje Obrázek 6.



Obrázek 6 Distribuce bílé a hnědé tukové tkáně u dospělého člověka. Vytvořeno pomocí www.biorender.com.

Dalším typem adipocytu, který lze nalézt v lidském těle, je béžový adipocyt. Tento typ tukové buňky může vzniknout během procesu tzv. hnědnutí bílé tukové tkáně. Jedná se o děj, kdy pod vlivem celé řady faktorů, mezi které patří např. vystavení chladu (219),

cvičení (220,221), stimulace β 3-adrenergními agonisty (222) či některými přírodními látkami (např. kurkumin, kapsaicin apod.) (223–225), dojde k transdiferenciaci bílého adipocytu v béžový, který se liší od bílého přítomností velkého počtu mitochondrií, menších tukových kapének a vysokou expresí UCP1 (226). Tyto nové vlastnosti mění jeho funkci z prosté zásobárny energie, na buňku schopnou energii naopak vydávat ve formě tepla. Tato skutečnost by mohla významně napomoci při léčbě obezity a dalších metabolických onemocnění (227). Schématické znázornění hnědnutí bílé tukové tkáně zobrazuje Obrázek 7.



Obrázek 7 Transdiferenciace bílého adipocytu v béžový. Vytvořeno pomocí www.biorender.com.

Dalším minoritním podtypem tukových buněk jsou růžové adipocyty, které odpovídají alveolárním buňkám mléčné žlázy. Vznikají z bílých adipocytů v podkoží prsů během těhotenství a laktace (228). V post-laktačním období jsou opět přeměněny na bílé adipocyty (229,230).

Posledním typem jsou modré adipocyty, které lze nalézt v játrech. Jedná se o Itovy buňky a název modré adipocyty získaly díky barvě, kterou jejich tukové vakuoly vykazují

díky autofluorescenci (231). Tyto buňky plní zásadní roli v homeostáze retinoidů a při remodelaci extracelulární matrix.

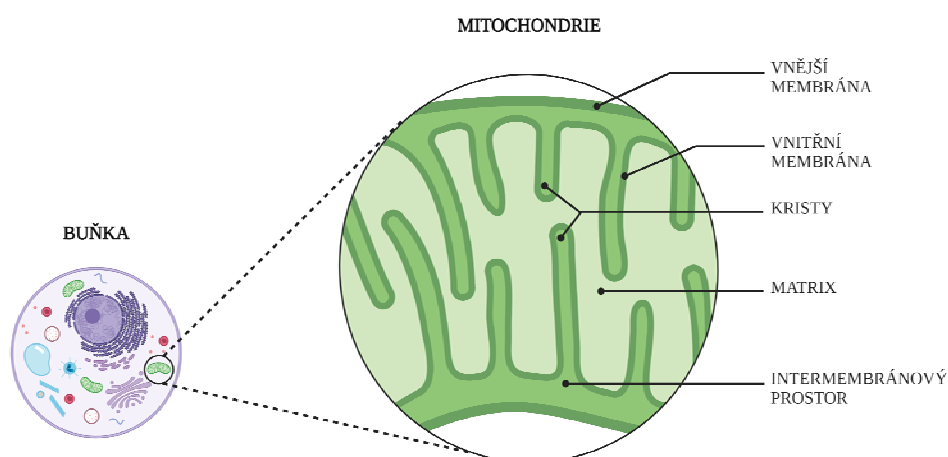
1.3.2 Úloha mitochondrie v adipocyty

Mitochondrie jsou subcelulárními, semiautonomními a pleomorfními organelami, které obsahují vlastní mitochondriální DNA a vlastní genom (232). Nacházejí se ve všech buňkách lidského těla kromě zralých erytrocytů.

Od okolního prostředí je mitochondrie oddělena 2 fosfolipidovými membránami – vnější a vnitřní, mezi nimiž se nachází intermembránový prostor a uvnitř mitochondrie je přítomna matrix (233). Vnější membrána odděluje mitochondrii od zbytku buňky, není ale nepropustná a umožňuje průchod různých molekul až do velikosti 6 kDa (234). Pod vnější membránou umístěný intermembránový prostor je složením podobný okolnímu cytosolu buňky. Díky vysokému obsahu cytochromu c, jehož vylití do cytosolu aktivuje kaspázy, hraje intermembránový prostor důležitou roli i při apoptóze (235,236). Vnitřní mitochondriální membrána je oproti té vnější velmi málo propustná a tato její minimální propustnost je navíc striktně regulována specifickými přenašeči. Její povrch je zvětšen přítomností krist vybíhajících do mitochondriální matrix. V matrix se nachází jednak ribozomy, mitochondriální DNA, ale i celá řada enzymů zapojujících se do různých metabolických procesů (237). Schéma uspořádání mitochondrie zobrazuje Obrázek 8.

Primární funkcí mitochondrií je produkce energie ve formě adenosintrifosfátu (ATP) a to skrze proces oxidativní fosforylace odehrávající se na dýchacím řetězci na vnitřní mitochondriální membráně. Dýchací řetězec je tvořen čtyřmi respiračními komplexy (komplex I – NADH-koenzym Q oxidoreduktáza, komplex II – sukcinát-koenzym Q oxidoreduktáza, komplex III – koenzym Q-cytochrom c-oxidoreduktáza

a komplex IV – cytochrom c-oxidáza), dvěma elektronovými přenašeči (koenzym Q a cytochrom c) a ATP syntázou (někdy označována jako komplex V). Na komplexech I a II jsou oxidovány redukované koenzymy – nikotinamidadenin dinukleotid (NADH) na komplexu I a flavinadenin dinukleotid (FADH₂) na komplexu II, které vznikají během metabolických procesů a to zejména v průběhu glykolýzy a Krebsova cyklu. Elektrony uvolněné oxidací redukovaných koenzymů jsou přenášeny přes jednotlivé komplexy až na molekulární kyslík. Zároveň s přenosem elektronů dochází skrze komplexy I, III a IV k pumpování protonů (H⁺) do intermembránového prostoru. Vzniklý protonový gradient mezi intermembránovým prostorem a mitochondriální matrix je následně využit ATP syntázou k tvorbě ATP z ADP a P_i (238,239).



Obrázek 8 Schéma uspořádání mitochondrie. Vytvořeno pomocí www.biorender.com.

Mezi další funkce mitochondrie patří produkce volných kyslíkových radikálů, podílí se na regulaci vápníkové homeostázy, buněčného cyklu, apoptózy, zastává

významnou úlohu v metabolismu lipidů a aminových kyselin a také je stěžejní při zajištění tvorby tepla v hnědé tukové tkáni při netřesové termogenezi (240).

Podrobnější informace o stavbě a funkci mitochondrie jsou sepsány v přehledovém článku „Multiple Roles of Mitochondria in Aging Processes“ (241), který je součástí souboru komentovaných publikací k této práci ([publikace 2.2.1](#)).

V adipocytech plní mitochondrie důležitou úlohu zejména v průběhu jejich diferenciaci z mesenchymálních kmenových buněk v maturované adipocyty, ale i při procesu lipogeneze a lipolýzy. V průběhu diferenciaci byla zjištěna mitochondriální biogeneze s kvalitativními změnami v mitochondriálním složení a s nárůstem bazální spotřeby kyslíku (242–244). Při lipogenezi hrají mitochondrie klíčovou roli při zajištění dodávky potřebných meziproduktů při syntéze triacylglycerolů, navíc mitochondriální matrix je jediným místem, kde dochází k aktivaci mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem a vnější mitochondriální membrána je místem syntézy fosfolipidů (245,246). Neméně důležitou roli zastává mitochondrie i při regulaci lipolýzy (247,248).

Příčin vzniku mitochondriální dysfunkce může být celá řada, od snížení jejich počtu, narušení biogeneze, až k poklesu aktivity oxidačních proteinů. Nejvíce zasaženými tkáněmi jsou ty s vysokou energetickou náročností, kam patří např. mozek, srdce, svaly apod. (249). Narušení jejich funkce v adipocytech je spojováno např. s rozvojem obezity, vznikem inzulinové rezistence či diabetu mellitu (250).

Podrobnější informace o úloze mitochondrie v adipocyty popisuje přehledový článek „Mitochondria in White, Brown, and Beige Adipocytes“ (251) který je součástí souboru komentovaných publikací k této práci ([publikace 2.2.2](#)).

1.3.3 Adipogeneze a lipogeneze

Vývoj tukové tkáně začíná během druhého trimestru embryonálního vývoje a přítomnost adipocytů lze zaznamenat již od 14. až 16. týdne gestace (252). Proces adipogeneze je členěn do dvou fází – determinační a terminální diferenciační fáze.

V průběhu determinační fáze dochází k vývoji preadipocytu z mesenchymální kmenové buňky. Morfologicky je preadipocyt shodný se svou prekurzorovou buňkou, postrádá již ale schopnost diferenciaci do jiných buněčných typů (253). Pro tuto fázi diferenciaci je stěžejní Wnt signální dráha. Její název je odvozen od pojmenování dvou genů a to *wg* (Wingless) a *int-1* (Integration 1) (254,255). První studie dokumentující roli kanonické Wnt signalizace v adipogenezi byla publikována v roce 2000 (256). Wnt10b udržuje adipocyty v nediferencovaném stavu, a to skrze inhibici proadipogenních transkripčních faktorů CEBP α a PPAR γ (256). Mezi další regulační faktory této fáze adipogeneze patří i Zfp423 a TGF- β (257,258).

V průběhu druhé fáze diferenciaci dochází k přeměně preadipocytu ve zralý adipocyt. Buňka získává schopnost syntézy a transportu lipidů, formují se tukové kapénky, získává citlivost k inzulínu a objevuje se také sekrece pro adipocyty typických faktorů (253). Klíčovým transkripčním faktorem pro tuto fázi diferenciaci je PPAR γ (259).

Tukové kapénky vznikající v buňkách byly původně považovány jen za rezervoár přebytečné energie ve formě lipidů. Dnes se již ví, že se jedná o heterogenní a dynamické struktury, které jsou schopné přizpůsobit se svým počtem i velikostí potřebě buňky a také to, že hrají důležitou úlohu v celé řadě fyziologických i patofyziologických procesů (260).

Tuková kapénka je útvaru kulovitého tvaru o velikosti od 0,1 do 5 μm v netukových buňkách, až po rozměry přesahující 100 μm v bílých adipocytech (261). Její povrch je kryt monomolekulární vrstvou fosfolipidů obalující hydrofobní jádro z neutrálních lipidů. K jejímu povrchu může být dále přichyceno velké množství dalších

specifických proteinů (262). Uvnitř kapénky dochází ke stádání triglyceridů a esterů cholesterolu, a to u různých typů buněk v rozdílném poměru, např. v bílých adipocytech výrazně převládají triglyceridy nad estery cholesterolu (263). Kromě lipidů se uvnitř kapénky nachází i proteiny, a to např. ze skupiny perilipinů, u nichž se předpokládá, že mají svou nezastupitelnou úlohu v lipidovém metabolismu (264,265). Například u perilipinu 2 (PLIN2) bylo zjištěno, že plní úlohu při stabilizaci lipidových kapének a akumulaci lipidů (266).

Pro vznik tukových kapének existují dvě možnosti, buď k jejich vzniku dochází *de novo*, anebo mohou být odvozeny od již existujících kapének (260). Upřednostňován je proces vzniku *de novo*, který probíhá ve třech fázích – i) syntéza neutrálních lipidů, ii) akumulace lipidů a vznik čočkovité formace, iii) odškrcení tukové kapénky z endoplazmatického retikula. V první fázi dochází k syntéze lipidů izoformami enzymů, které jsou vázány v membráně endoplazmatického retikula a to konkrétně acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferázami (DGAT1, DGAT2) a acyl-CoA:cholesterol acyltransferázami (ACAT1, ACAT2) (262). Vzniklé lipidy akumulují v endoplazmatickém retikulu, dochází k formaci tukových čoček, které se vyklenují směrem do cytosolu, stávají se nestabilními a mechanismem podobným odškrcení dochází k jejich finálnímu uvolnění a k vzniku tukové kapénky. Následné zvětšování kapének je zajištěno buď jejich vzájemným fúzováním, nebo postupným přidáváním polárních lipidů na jejich periferii a neutrálních lipidů do hydrofobního centra (267).

Hlavní úlohou tukových kapének je skladování lipidů a tvorba energetických zásob. Kromě toho v nich ale dochází i k uskladnění vitamínů rozpustných v tucích a jsou i rezervoárem pro některé z transkripčních faktorů a komponent chromatinu (268). Dále jsou místem syntézy eikosanoidů, čímž se zapojují i do imunitních procesů organismu (269–271).

Nedostatek či naopak nadbytek tukových kapének v buňkách bývá spojen s celou řadou onemocnění, jako je např. obezita, metabolický syndrom, diabetes mellitus 2. typu, steatóza jater, ale i kachexie, lipodystrofie, nádorová či kardiovaskulární onemocnění (272,273).

Podrobný popis struktury tukové kapénky, mechanismu jejího vzniku a zániku a její úlohu ve fyziologických a pafyziologických procesech shrnuje přehledový článek „Vznik a vývoj tukové kapénky a její role ve zdraví a nemoci“ (274), který je součástí souboru komentovaných publikací k této práci ([publikace 2.2.3](#)).

1.3.4 Perzistentní organické polutanty a jejich vliv na metabolismus tukové tkáně

Podíl na narušení funkce tukových kapének vedoucí k vzniku různých metabolických onemocnění by mohly mít i lipofilní látky, které se uvnitř kapének uskladňují. Mezi látky s touto schopností patří např. perzistentní organické polutanty. Jedná se o skupinu látek, kam jsou řazeny např. polychlorované pesticidy, polychlorované bifenyly, polychlorované dioxiny a dibenzofurany, bromované zhášeče hoření a další (275).

Hlavní cestou příjmu perzistentních organických polutantů do lidského organismu je skrze kontaminovanou potravu – maso a uzeniny, mléko a mléčné výrobky, vejce, nemytá zelenina a ovoce (276). Je ale možný vstup i dermální cestou, inhalací nebo transplacentárním přenosem (277,278).

Jedná se o skupinu bioakumulativních látek, které jsou pro organismy toxické (279), hromadí se v tukové tkáni a narušují její správné fungování. Předpokládá se, že působí jako tzv. obezogeny a endokrinní disruptory a podílí se tak na rozvoji nejen obezity, ale i celé řady jejích komorbidit, jako je inzulinová rezistence nebo diabetes mellitus 2. typu (278). Nejvyšší hladiny v tukové tkáni byly zaznamenány u skupiny organochlorovaných

pesticidů a polychlorovaných bifenyly (280–282). Kromě tukové tkáně byla vyšší míra akumulace těchto látek prokázána např. i v mozku, játrech, nadledvinách nebo v mateřském mléce (283).

Mechanismus působení perzistentních organických polutantů *in vivo* není ještě stále přesně znám a situace je navíc komplikována skutečností, že lidský organismus nebývá vystaven jen jedné látce, ale současnému působení hned několika, které se mohou v účincích podněcovat nebo naopak působit protichůdně (284). Perzistentní organické polutanty mohou v tukových buňkách interagovat např. s jadernými transkripčními faktory (285–287), mitochondriemi (288), steroidními receptory (289) apod., což vede ke změnám v adipogenezi, lipogenezi či lipolýze (275,290). Podrobný popis vlivu perzistentních organických polutantů na mitochondriální funkce shrnuje přehledový článek „Vliv perzistentních organických polutantů na mitochondriální funkce a vznik metabolického syndromu“ (291), který je součástí souboru komentovaných publikací k této práci ([publikace 2.2.4](#)).

Akumulace těchto látek v organismu a jejich chronický vliv na buňky může vést kromě již výše zmíněného narušení metabolických funkcí, rozvoji inzulínové rezistence, diabetu mellitu i k narušení reprodukčních či imunitních funkcí organismu nebo k rozvoji nádorových onemocnění (292,293).

V roce 2001 vešla v platnost Stockholmská úmluva o perzistentních organických polutantech, jejímž cílem je: „chránit lidské zdraví a životní prostředí před perzistentními organickými polutanty, zastavit produkci a používání těchto látek“ (294).

2 SOUBOR KOMENTOVANÝCH PRACÍ

2.1 Parakrinní a imunomodulační potenciál mesenchymálních kmenových buněk

2.1.1 Beneficial Effects of Mesenchymal Stem Cells on Adult Porcine Cardiomyocytes in Non-Contact Co-Culture

Miklíková M, Jarkovská D, Čedíková M, Švíglerová J, Kuncová J, Nalos L, Kubíková T, Liška V, Holubová M, Lysák D, Králíčková M, Vištejnová L, Štengl M. *Physiol Res.* 2018 Dec 31;67(Suppl 4):S619-S631. doi: 10.33549/physiolres.934051. PMID: 30607969.

Nemoci kardiovaskulárního systému jsou celosvětově hlavní příčinou morbidit a mortality, a to bez ohledu na obrovské pokroky v léčbě a prevenci. Zdokonalení jejich léčby je tedy stále aktuální medicínskou výzvou. Velký potenciál je spatřován v buněčné terapii, a to konkrétně ve využití mesenchymálních kmenových buněk. Důvodem není ani tak jejich schopnost diferenciaci do kardiomyocytů, a tedy možnost nahradit poškozené buňky, ale spíše jejich parakrinní a imunomodulační efekt, a tedy potenciál v podpoře viability, funkčnosti a regenerace poškozených buněk. Mezi působky, které MSC sekretují, patří např. růstový faktor fibroblastů (FGF), hepatocytový růstový faktor (HGF), insulin-like růstový faktor 1 (IGF-1), transformující růstový faktor beta (TGF- β), růstový faktor derivovaný z krevních destiček (PDGF), vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF) apod. Jedná se tedy o faktory s celou řadou možných efektů na buňky včetně antiapoptotického, protizánětlivého či stimujícího angiogenezi.

Cílem naší práce bylo zhodnocení efektu parakrinního působení prasečích mesenchymálních kmenových buněk z kostní dřeně (BM-MSK) na kardiomyocyty získané ze srdce dospělého prasete. Prase domácí bylo zvoleno jako zvířecí model z důvodu, že studie prováděné na velkých zvířatech mají vyšší klinickou relevantnost k humánní

medicíně. U kardiomyocytů byla sledována jejich viabilita a míra přežití, tak i funkční a mitochondriální parametry.

Prasečí MSC byly izolovány z kostní dřevě (n = 12). U buněk byla ověřena jejich schopnost adherence k plastiku, dále i imunofenotyp a diferenciační potenciál do adipocytů, chondrocytů a osteoblastů. Prasečí kardiomyocyty (n = 12) byly získány z levé srdeční komory za užití kolagenázy A. Vzhled a charakter izolovaných buněk byl posouzen morfologicky.

Buňky (MSC a kardiomyocyty) byly kokultivovány po dobu 3 dnů ve speciálních kokultivačních nádobkách, díky nimž bylo zajištěno, že se buňky nedostaly do přímého kontaktu a MSC mohly kardiomyocyty ovlivňovat pouze nepřímo skrze jimi sekretovanými působky. V první a třetí den kokultivace byl hodnocen morfologický vzhled kardiomyocytů, jejich viabilita, funkčnost mitochondrií (respirometrická analýza), kontraktilita a vápníkové přechody.

Kardiomyocyty kokultivované s MSC vykazovaly signifikantně vyšší míru viability než kardiomyocyty kultivované samostatně. Toto zjištění bylo patrné jak při morfologické analýze buněk, tak i při kvantitativním měření jejich viability a metabolické aktivity pomocí alamarBlue™ Cell Viability Reagent (ThermoFisher Scientific, USA). Stejný efekt ale nebyl bohužel pozorován u zbylých sledovaných parametrů. U analýzy mitochondriální respirace pomocí vysokoúčinné respirometrie nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly mezi kardiomyocyty z kokultury a kardiomyocyty kultivovanými samostatně. Stejně tak nebyl efekt parakrinního působení MSC na kardiomyocyty patrný u měření jejich kontraktility a vápníkových přechodů.

Mesenchymální kmenové buňky prokazatelně produkují působky mající protektivní účinky na okolní buňky a tkáně, dokáží tedy zvýšit míru schopnosti regenerace poškozených tkání. U námi analyzovaných buněk ale bohužel nebyl prokázán protektivní

vliv parakrinního působení MSC na všechny sledované parametry, a to konkrétně na ty funkční. Důvodem možná mohla být prvotní selekce kardiomyocytů pro provádění analýzy. Jednalo se totiž pouze o buňky dle morfologie v dobré kondici, na nichž se možná vliv MSC nemohl plně projevit.

I přes tuto skutečnost je ale potenciál využití MSC v regenerativní medicíně obrovský, a to nejen v oblasti kardiovaskulárních onemocnění.

2.1.2 Comparison of the immunomodulatory effect of single MSC batches versus pooled MSC products

Hejretová L, Čedíková M, Dolejšová M, Vlas T, Jindra P, Lysák D, Holubová M. Cell Tissue Bank. 2020 Mar;21(1):119-129. doi: 10.1007/s10561-019-09805-3. Epub 2019 Dec 20. PMID: 31863261.

Potenciál využití mesenchymálních kmenových buněk v oblasti hematonekologie je dán zejména jejich schopností parakrinního působení na okolní tkáň a imunomodulačním efektem. Mají vliv na složky jak nespecifické, tak i specifické imunity, kdy např. modulují produkci cytokinů, či tlumí proliferaci T-lymfocytů apod. Navíc je u nich přítomna nízká exprese HLA I molekul a HLA II vůbec neexprimují, to jim dává možnost využití i v transplantační medicíně. Podrobněji je toto téma sepsáno v [kapitole 1.2.2](#). Velmi slibných výsledků dosahují i při léčbě reakce štěpu proti hostiteli (GvHD).

Reakce štěpů proti hostiteli představuje závažnou potransplantační komplikaci, jejíž příčina spočívá zejména v inkompatibilitě v HLA systému mezi dárce a příjemcem kostní dřeně. Imunokompetentní buňky dárce poškozují tkáň příjemce, což může vést při těžkém poškození až k ohrožení jeho života. Přibližně 50 % pacientů s těžkou GvHD nereaguje na klasickou imunosupresivní terapii a využití MSC tak představuje významnou alternativu. Jejich nevýhodou je ale interindividuální variabilita jednotlivých šarží (MSC od různých dárců), což může mít efekt na výsledný terapeutický účinek.

V naší práci byl porovnáván imunomodulační efekt vzorků MSC od jednotlivých dárců s vzorky poolovanými, tedy vzniklými smícháním buněk od několika jednotlivců. Byl sledován efekt těchto různých variant vzorků MSC buněk na výslednou proliferaci T-lymfocytů, na expresi jejich aktivačních markerů, buněčný růst a metabolickou aktivitu.

MSC byly získány aspirací kostní dřeně z lopaty kosti kyčelní od pěti zdravých dárců a izolovány byly pomocí hustotního gradientu. Za MSC byly označeny jen ty buňky, které vykazovaly schopnost adherence k plastiku a klasické imunofenotypové znaky (CD90⁺, CD105⁺, CD45⁻). Takto získané vzorky byly označeny MSC 1 až 5 a jednalo se o vzorky individuální. Část objemu z těchto vzorků (MSC 1 až 5) byla smíchána za vzniku poolovaných vzorků MSC 6 a MSC 7. Všechny tyto vzorky MSC (MSC 1 až 7) byly přidány k vzorkům aktivovaných mononukleárních buněk (MNC), což jsou zejména T-lymfocyty (n = 10). Nespecifická aktivace T-lymfocytů byla provedena pomocí fytohemaglutininu. Oba typy buněk (MSC a MNC) byly kokultivovány po dobu 4 dnů, následně byl analyzován efekt působení MSC na MNC a případná rozdílnost efektu mezi individuálními a poolovanými vzorky.

U všech vzorků MNC byl vlivem kokultivace s MSC pozorován statisticky významný pokles exprese aktivačního markeru T-lymfocytů (CD25), a to o více než 40 %. K tomuto poklesu došlo bez rozdílu, zda byly MNC vystaveny individuálnímu vzorku MSC či poolovanému. Stejně tak proliferace T-lymfocytů v prostředí s MSC významně poklesla, a to o více než 30 %, rovněž zde nebyl pozorován rozdíl mezi individuálními a poolovanými vzorky MSC. Shodné výsledky byly pozorovány i u ostatních metod – statisticky významný rozdíl v působení MSC vzorků nebyl pozorován na buněčný růst ani metabolickou aktivitu MNC buněk.

Výsledný imunomodulační efekt MSC buněk tedy není ovlivněn tím, jestli byl použit individuální vzorek nebo poolovaný.

Rozdílnost imunomodulačního působení MSC buněk u jednotlivých pacientů léčených např. z důvodu přítomnosti těžké reakce štěpu proti hostiteli je tedy způsobena jinou příčinou, a to např. zdrojem použitých buněk, věkem dárce nebo velikostí podané dávky.

I když přesný mechanismus působení MSC je stále neznámý, jejich imunomodulační efekt je nesporný a potenciál v buněčné terapii obrovský.

2.2 Využití mesenchymálních kmenových buněk jako modelu pro studium adipogeneze a její modulace

2.2.1 Multiple Roles of Mitochondria in Aging Processes

Cedikova M, Pitule P, Kripnerova M, Markova M, Kuncova J. *Physiol Res.* 2016 Dec 22;65(Suppl 5):S519-S531. doi: 10.33549/physiolres.933538. PMID: 28006935.

Jedná se o souhrnnou práci publikovanou v impaktovaném časopise „Physiological Research“. Článek podává informace o stavbě a funkci mitochondrie. Podrobněji se věnuje procesu oxidativní fosforylace, stavbě dýchacího řetězce a mitochondriální DNA. Následně jsou zde uvedeny změny, ke kterým u mitochondrií dochází vlivem procesu stárnutí organismu, a to zejména s důrazem na rozvoj mutací v mitochondriální DNA, zvýšenou produkcí reaktivních forem kyslíku, ale i na strukturální a funkční odchylky.

2.2.2 Mitochondria in White, Brown, and Beige Adipocytes

Cedikova M, Kripnerová M, Dvorakova J, Pitule P, Grundmanova M, Babuska V, Mullerova D, Kuncova J. *Stem Cells Int.* 2016;2016:6067349. doi: 10.1155/2016/6067349. Epub 2016 Mar 17. PMID: 27073398; PMCID: PMC4814709.

Jedná se o přehledovou práci publikovanou v impaktovaném časopise „Stem Cells International“. Článek podrobně shrnuje informace o jednotlivých podtypech tukových buněk. Konkrétně jsou zde uvedeny hlavní morfologické a funkční odlišnosti mezi bílým, hnědým a béžovým adipocytem. Detailněji se publikace věnuje zejména úloze mitochondrií v těchto podtypech tukových buněk za fyziologických okolností, kdy hraje mitochondrie důležitou úlohu v průběhu nejen adipogeneze, ale i lipogeneze a lipolýzy, tak i vlivu její případné dysfunkce na rozvoj celé řady onemocnění.

2.2.3 The origin and development of fat droplet and its role in health and illness

Dvořáková J, Čedíková M, Malečková A, Kulda V, Tonar Z, Müllerová D. Cas Lek Cesk. 2018 Fall;157(5):254-262. PMID: 30441938.

Jedná se o přehledovou práci publikovanou v recenzovaném časopise „Časopis lékařů českých“. Článek shrnuje dostupné informace o struktuře tukové kapénky, její biogenezi a růstu, ale zároveň i o mechanismu jejího rozpadu a zániku. Podrobně je zde rozepsána fyziologická úloha tukových kapének v organismu, ale také patologické stavy, které jsou spojeny s jejich nedostatkem či naopak nadbytkem – lipodystrofie, kachexie, Chanarinův-Dorfmanův syndrom a myopatie, obezita, metabolický syndrom, diabetes melitus 2. typu atd.

2.2.4 Vliv perzistentních organických polutantů na mitochondriální funkce a vznik metabolického syndromu

Dvořáková J; Kripnerová M; Čedíková M; Babuška V; Kulda V; Pešta M; Králíčková M; Müllerová D. Chem. Listy 2015, 109, 418-423.

Jedná se o přehledovou práci publikovanou v impaktovaném časopise „Chemické listy“. Článek shrnuje základní informace o perzistentních organických polutantech, jejich dělení, vlastnostech, mechanismu příjmu do lidského těla a nacházených koncentracích v tukové tkáni člověka. Podrobně je zde popsána jejich funkce jako tzv. endokrinních a metabolických disruptorů, tj. látek podílejících se na vzniku obezity a jejích komorbidit, a to zejména s důrazem na rozvoji inzulinové rezistence a diabetu mellitu 2. typu.

2.2.5 Mitochondrial Respiration of Adipocytes Differentiating From Human Mesenchymal Stem Cells Derived From Adipose Tissue

Kladnická I, Čedíková M, Kripnerová M, Dvořáková J, Kohoutová M, Tůma Z, Müllerová D, Kuncová J. *Physiol Res.* 2019 Dec 20;68(Suppl 3):S287-S296. doi: 10.33549/physiolres.934353. PMID: 31928046.

Diferenciace adipocytů představuje složitý proces, při kterém dochází k přeměně mesenchymální kmenové buňky v buňku tukovou. V průběhu tohoto procesu dochází nejprve k mitotické klonální expanzi buněk, následně se začínají objevovat první tukové vakuoly, které se postupně spojují v jednu velkou tukovou kapénku za vzniku maturovaného adipocytu. Celý tento proces je doprovázen nejen řadou morfologických změn, kdy se z buňky vřetenovitého tvaru s centrálně uloženým velkým jádrem stává buňka sférická s oploštělým jádrem uloženým na periferii, ale v buňce také startují nejrůznější metabolické děje včetně lipogeneze. Veškeré tyto změny jsou pro buňku energeticky velmi náročné, a aby byl jejich průběh bezchybný, musí být zajištěn dostatečný přísun energie. Klíčovými organelami k jejímu zajištění jsou mitochondrie, které tedy plní nezastupitelnou roli pro správný průběh jak diferenciace adipocytů, tak ale i při dalších procesech jako je lipogeneze a lipolýza.

Cílem naší práce byla dokumentace diferenciace adipocytů, a to zejména s důrazem na změny v mitochondriální fyziologii. Jako buněčný model byly zvoleny mesenchymální kmenové buňky získané z tukové tkáně. Adipogeneze byla nastartována speciálním kultivačním médiem StemPro® Adipogenesis Differentiation Basal Medium doplněným o suplement StemPro® Adipogenesis Supplement (obojí Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA). Buňky byly charakterizovány v 0., 4., 10. a 21. den diferenciace a to z pohledu

jejich morfologie, proliferace, viability, lipogeneze (morfologické sledování a kvantifikace tukových kapének), mitochondriální biogeneze a změn buněčného dýchání.

V průběhu diferenciaci byla patrná změna morfologie buněk od typického tvaru mesenchymální kmenové buňky k velké buňce s přítomnými tukovými vakuolami. Skutečnost, že se jedná o maturované adipocyty, byla ověřena přítomností nosného proteinu pro mastné kyseliny - FABP4 (fatty acids binding protein 4).

Nárůst počtu buněk byl patrný ihned v počátku diferenciaci, čemuž odpovídají i statisticky významné rozdíly v počtu buněk mezi dny 0 a 10 ($p = 0,006$) a 0 a 21 ($p < 0,0001$), v pozdější fázi diferenciaci již počet buněk tolik nenarůstal (den 10 a 21, $p > 0,05$). Tato skutečnost odpovídá tomu, že po indukci diferenciaci buněk startuje nejprve jejich mitotická klonální expanze, kdežto v pozdější fázi diferenciaci jsou pro buňky stěžejní jiné pochody, a to konkrétně lipogeneze. Tuto skutečnost potvrzují i výsledky naší práce, kdy jsme mezi dny 10 a 21 pozorovali nárůst počtu a velikosti tukových kapének, což potvrdila i kvantifikační metoda, jejímž principem byla spektrofotometrická detekce obsahu olejové červeně uvnitř buněk, konkrétně uvnitř tukových kapének.

Z pohledu mitochondrií byl pozorován nárůst v jejich počtu, což korespondovalo i s výsledky kvantifikace aktivity citrát syntázy. Z morfologického pohledu došlo nejen k přírůstku počtu mitochondrií, ale i k přeskupení jejich lokalizace v buňce. U mesenchymálních kmenových buněk byly mitochondrie lokalizovány zejména v okolí jádra, kdežto u adipocytů spíše obklopovaly tukové kapénky.

Důležitost mitochondrií a zajištění dostatečné energie pro proces diferenciaci adipocytů potvrzují i výsledky respirometrické analýzy, kdy v průběhu 21denní diferenciaci došlo k nárůstu buněčné spotřeby kyslíku. Nejvyšší skokový rozdíl ve spotřebě kyslíku byl pozorován hned v počátku diferenciaci, tedy v prvních čtyřech dnech, což naznačuje, že přechod od zejména glykolytického metabolismu mesenchymálních

kmenových buněk k efektivnějšímu oxidativnímu metabolismu je velmi rychlý a reflektuje nastartovaný energeticky náročný diferenciační proces buněk. Tato zjištění korespondují i s výsledky analýzy mitochondriálního membránového potenciálu

Adipogeneze je složitý a několika stupňovitý proces, pro nějž je klíčová správná funkce mitochondrií. Mitochondriální dysfunkce tak je nejspíše s velkou pravděpodobností zodpovědná za narušení průběhu tohoto procesu, což může vést k rozvoji nefunkčních adipocytů, obezity a s ní spojených onemocnění.

2.2.6 Chronic DDE Exposure Modifies Mitochondrial Respiration during Differentiation of Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells into Mature Adipocytes

Kladnicka I, Cedikova M, Jedlicka J, Kohoutova M, Muller L, Plavinova I, Kripnerova M, Bludovska M, Kuncova J, Mullerova D. *Biomolecules*. 2021 Jul 21;11(8):1068. doi: 10.3390/biom11081068. PMID: 34439734; PMCID: PMC8393889.

Obezita představuje v současnosti celosvětový problém. Její prevalence v posledních čtyřiceti letech roste tak prudce, že se dá hovořit o pandemii, která zasahuje nejen vyspělé státy, ale i ty rozvojové. Uvádí se, že vyšší podíl tuku je přítomen až u 2/3 světové populace (1/3 obezita, 1/3 nadváha). Navíc její přítomnost je přidružena k celé řadě dalších onemocnění, jako je vysoký krevní tlak, ateroskleróza, diabetes mellitus 2. typu, neplodnost, nádorová onemocnění apod.

Co přesně stojí za tak prudkým nárůstem v incidenci obezity, není stále známo. Pravděpodobně jsou to dramatické změny v našem životním stylu, které se odehrály z evolučního hlediska v příliš krátké době a náš organismus se jim zatím nedokázal přizpůsobit. Rozvoj obezity tedy bude souviset s dysregulací biologických, behaviorálních, sociálních, ale i environmentálních faktorů.

Mezi environmentální faktory jsou řazeny i látky, tzv. obezogeny či endogenní disruptory. Jedná se xenobiotika, která jsou schopná interagovat s endogenními ligandy jaderných i nejaderných transkripčních faktorů, modulovat jejich účinek a narušovat tak fyziologický průběh dějů, a to včetně adipogeneze a metabolismu tukových buněk. Dále vzrůstá i počet důkazů, že tyto látky dokáží narušit i mitochondriální funkce a s tím energetickou rovnováhu, což by mohlo opět souviset s rozvojem dysfunkčních adipocytů

a vývojem obezity. Mezi látky s těmito účinky patří celá řada léků (např. kortikosteroidy, některá antidiabetika, tricyklická antidepresiva, antiepileptika atd.), některá potravinová aditiva, ale také látky užívané v průmyslu a zemědělství (např. perzistentní organické polutanty).

Perzistentní organické polutanty jsou látky lipofilní povahy, které se hojně vyskytují v našem životním prostředí a zejména skrze kontaminovanou potravu se dostávají do našeho těla, kde akumulují v tukové tkáni. Mezi látky s nejvyšší nacházenou hladinou u člověka patří organochlorované pesticidy, kam jsou řazeny např. dichlordifenyltrichlorethan (DDT) a jeho metabolit dichlordifenyl-dichlorethylen (DDE).

V průběhu fyziologické adipogeneze dochází k postupnému zvyšování mitochondriální spotřeby kyslíku. Tuto skutečnost jsme prokázali v naší předchozí práci ([publikace 2.2.5](#)). Důvodem je, že počátek diferenciačního procesu je spojen s klonální expanzí buněk, u kterých navíc dochází k přechodu od glykolytického metabolismu, který je typický pro mesenchymální kmenové buňky, k oxidativnímu. V pozdější fázi diferenciacce je zvýšený příjem energie nutný z důvodu startujícího procesu lipogeneze a formování zralého adipocytu. Cílem naší práce bylo zjistit, zda vlivem chronické expozice DDE v průběhu celé adipogeneze dojde u buněk ke změnám v mitochondriálním metabolismu, které by mohly vést k narušení celkové energetické homeostázy buňky.

Jako buněčný model byly opět použity mesenchymální kmenové buňky získané z tukové tkáně. Adipogeneze byla iniciována speciálním kultivačním médiem StemPro® Adipogenesis Differentiation Basal Medium v kombinaci se suplementem StemPro® Adipogenesis Supplement (obojí Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, USA). Látka DDE byla rozpuštěna v dimethylsulfoxidu (DMSO) a byla přidána do kultivačního média. Její finální koncentrace v médiu byla 1 μ M a 10 μ M. Celkem byla tedy diferenciacce buněk sledována ve čtyřech variantách kultivačního média: i) pouze v diferenciačním médiu; ii)

v diferenciačním médiu s DMSO; iii) v diferenciačním médiu s DMSO a DDE 1 μM a iv) v diferenciačním médiu s DMSO a DDE 10 μM . Buňky byly charakterizovány ve 4., 10. a 21. den diferenciace. Sledovány byly mitochondriální parametry - vizualizace mitochondrií pomocí fluorescenční próby MitoTrackerTM CMXRos (Molecular Probes, Eugene, USA), dále byla měřena spotřeba kyslíku v oxygrafu Oroboros (Oroboros Instruments, Innsbruck, Rakousko), aktivita citrát syntázy (spektrofotometrická analýza) a mitochondriální membránový potenciál (pomocí JC-1 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit, Abcam, Velká Británie). Změny v morfologii buněk byly sledovány pomocí světelné mikroskopie, akumulace lipidů za užití barvení olejovou červení. Ověření, že se opravdu jedná o zralé adipocyty bylo provedeno průkazem přítomnosti proteinu vázajícího mastné kyseliny 4 (FABP4).

V průběhu diferenciace byl u buněk nevystaveným účinkům DDE pozorován nárůst spotřeby kyslíku, a to zejména hned v počátku diferenciace. Zároveň docházelo k poklesu mitochondriálního membránového potenciálu. Tato naše zjištění se shodují s výsledky předchozího článku ([publikace 2.2.5](#)). Vlivem DDE došlo ale k odchýlení od tohoto trendu. U buněk vystaveným DDE o nižší koncentraci (tj. 1 μM) byl sice pozorován postupný nárůst oxidativního metabolismu, ale u diferencovaných buněk (21. den diferenciace) byly hodnoty bazální spotřeby energie a spotřeby kyslíku vázané na ATP mnohem vyšší než u buněk procházejících neovlivněnou diferenciací. Naproti tomu u vyšší koncentrace DDE (DDE 10 μM) byl pozorován jiný efekt. Zde byl sice také patrný postupný nárůst spotřeby kyslíku diferencujícími buňkami, ale tento nárůst byl pomalejší, než ve všech ostatních případech – tedy pomalejší, než tomu bylo u DDE 1 μM i v kontrolních médiích.

Výsledný efekt DDE na mitochondriální parametry, a tím i na celý proces diferenciace adipocytů, bude nejspíše záviset na jeho přítomné hladině, kdy nižší koncentrace by mohly působit směrem ke stimulaci mitochondriálního metabolismu, což

by mohlo vést k narušení schopnosti buněk udržovat energetickou homeostázu a vyšší koncentrace by naopak mohly zpomalovat diferenciační proces skrze nedostatečnou dodávku energie pro zajištění všech potřebných dějů.

Ať už nízké nebo vysoké hladiny DDE modifikují funkčnost mitochondrií v adipocytech, což může vést k narušení procesu adipogeneze a schopnosti buněk hospodařit s energií. Tyto skutečnosti by následně mohly vést k vzniku dysfunkčních adipocytů a k rozvoji obezity.

2.2.7 Trends in gene expression changes during adipogenesis in human adipose derived mesenchymal stem cells under dichlorodiphenyldichloroethylene exposure

Pesta M, Cedikova M, Dvorak P, Dvorakova J, Kulda V, Srbecka K, Muller L, Bouchalova V, Kralickova M, Babuska V, Kuncova J, Mullerova D. *Mol. Cell. Toxicol.* 2018; 14: 369–379. doi: 10.1007/s13273-018-0041-1.

Diferenciace adipocytů je složitým procesem nejen z mitochondriálního pohledu, ale i genové exprese, kdy je tento děj kontrolován řadou transkripčních faktorů. Některé látky mají schopnost modulovat či narušit průběh adipogeneze, a to např. efektem na endogenní ligandy jaderných transkripčních faktorů zapojených do diferenciace. Mezi látky s touto schopností patří i polychlorované perzistentní organické polutanty, což je skupina látek lipofilní povahy působící jako tzv. endokrinní disruptory. V lidském těle jsou schopny narušit fyziologické funkce tukové tkáně, a to skrze účinky na pohlavní hormony, glukokortikoidy nebo hormony štítné žlázy.

V naší práci jsme se věnovali účinku zástupce skupiny organochlorovaných pesticidů, a to konkrétně metabolitu dichlordifenyiltrichlorethanu (DDT) dichlordifenyldichlorethylenu (DDE). Zástupce této skupiny látek jsme vybrali z důvodu, že se jedná o skupinu látek s nejvyšší nalézanou hladinou v tukové tkáni člověka.

Jako buněčný model byly zvoleny mesenchymální kmenové buňky získané z tukové tkáně. Tyto buňky byly diferencovány za standardizovaných podmínek (teplota 37°C, 5 % CO₂) po dobu 28 dní. Po celou dobu diferenciace bylo klasické diferenciační médium (StemPro® Adipogenesis Differentiation Basal Medium doplněné o suplement StemPro® Adipogenesis Supplement, obojí Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA)

obohaceno o DDE, a to v koncentracích 0,1 μM , 1 μM a 10 μM . Tyto koncentrace byly zvoleny na základě literární rešerše, přičemž zvolené koncentrace reflektují naměřené hladiny této látky v séru či v tukové tkáni. DDE bylo rozpuštěno v lipidovém vehikulu NuTRIflex® Lipid peri (B. Braun, Melsungen, Německo).

Sledovány byly jednak geny zapojené do procesu diferenciaci adipocytů, ale také geny podílející se na jejich metabolismu a jeho regulaci. Vzorky byly odebrány ve dny 0, 4, 10, 21 a 28 a stanovení bylo prováděno metodou RT real-time PCR a Western Blot.

Vybranými geny pro monitorování diferenciaci byly jak markery kmenovosti buněk, a to konkrétně OCT4, NANOG a SOX2, geny ovlivňující mitochondriální metabolismus - peroxisome proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1 beta (PPARGC1B) a uncoupling protein 3 (UCP3), ale také gen klíčového transkripčního faktoru diferenciaci a maturace adipocytů PPAR γ . Další sledovanou skupinou byly geny zapojené do dráhy inzulínového receptoru a metabolismu lipidů – konkrétně geny INSR (insulinový receptor), AKT2 (AKT serin/threonin kináza 2), SREBP1 (sterol regulatory element-binding protein), ACLY (ATP citrát lyáza), LIPE (hormon senzitivní lipáza) a FASN (syntáza mastných kyselin).

Expze genů OCT4 a SOX2 se statisticky významně zvýšila u buněk pod vlivem DDE. Došlo tedy k modifikaci programu diferenciaci buněk, a to k prodloužení doby jejich kmenovosti, což může vést k prodloužení intervalu buněčné proliferace. Na druhou stranu ale vlivem expze DDE došlo i k vzrůstu expze PPAR γ , hlavního regulátoru adipogeneze a lipidového metabolismu, což by nasvědčovalo tomu, že DDE diferenciaci urychluje. Tuto skutečnost potvrzuje i nárůst expze SREBP1, ACLY, FASN a LIPE, tedy genů zapojených do metabolismu lipidů a jeho regulace. Změny byly pozorovány i u genů zapojených do metabolismu mitochondrií, i zde byla patrná jejich zvýšená expze u buněk vystavených DDE. Současně došlo i k nárůstu expze genu pro inzulínový receptor.

Expozice DDE může tedy zasahovat do procesu diferenciaci adipocytů, ovlivňovat její rychlost i proces lipogeneze; tyto skutečnosti mohou mít svůj podíl na dysfunkci těchto buněk s možností rozvoje obezity, inzulinové rezistence nebo diabetu mellitu 2. typu.

2.2.8 DDE downregulates PLIN2 expression during differentiation of mesenchymal stem cells into adipocytes in lipid-enriched medium

Müllerová D, Pešta M, Čedíková M, Dvořáková J, Kulda V, Srbecká K, Müller L, Dvořák P, Kripnerová M, Králíčková M, Babuška V, Kuncová J. *Journal of Applied Biomedicine* [online]. 14., vol. 14, no. 2, pp. 113–117. ISSN 1214-021X. Retrieved z: doi:10.1016/j.jab.2016.01.002

Organochlorované pesticidy, jejichž zástupcem je např. dichlordifenyiltrichlorethan (DDT) a jeho metabolit dichlordifenyldichlorethylen (DDE), patří mezi perzistentní organické polutanty, jejichž zvýšené množství se stále vyskytuje v našem životním prostředí, ale i uvnitř nás samotných. Jedná se totiž o lipofilní látky, které se hromadí uvnitř našich tukových kapének a jejich nejvyšší hladiny jsou tak nacházeny v tukových buňkách. Nejedná se ale o látky, které by zde byly jen pasivně uloženy, naopak mají schopnost zasahovat do procesu diferenciaci i metabolismu buněk skrze vliv na genovou expresi či funkčnost mitochondrií (viz předchozí [publikace 2.2.6](#) a [2.2.7](#)). Mohou tedy vést ke vzniku dysfunkčních buněk, jejichž přítomnost může souviset s rozvojem obezity a k ní přidružených komorbidit.

Perilipin 2 (PLIN2), jinak známý jako adipofilin, patří do skupiny tzv. PAT proteinů (perilipin/ADRP/TIP47 proteiny). Jedná se o proteiny zapojené do procesu formování a stabilizace tukových kapének. Pravděpodobně ale i regulují rozhraní mezi tukovou kapénkou a cytosolem a řídí přístup lipáz k lipidům v jádru kapének. Kromě adipocytů jsou nacházeny i v buňkách jiných orgánů (např. játra, β buňky pankreatu, svaly). Změny v expresi PAT proteinů bývají spojovány s výskytem celé řady onemocnění, jako je nealkoholová steatóza jater, inzulinová rezistence a diabetes mellitus 2. typu,

ateroskleróza, sarkopenie apod., což naznačuje, že tyto proteiny hrají velice důležitou roli v patofyziologii těchto onemocnění.

Cílem naší práce bylo sledovat změny exprese PLIN2 v průběhu adipogeneze u buněk, které byly vystaveny chronické expozici DDE.

Jako buněčný model byly zvoleny mesenchymální kmenové buňky získané z tukové tkáně. Tyto buňky byly diferencovány za standardizovaných podmínek (teplota 37°C, 5 % CO₂) po dobu 28 dní. Po celou dobu diferenciaci bylo diferenciacní médium (StemPro® Adipogenesis Differentiation Basal Medium se suplementem StemPro® Adipogenesis Supplement, obojí Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA) obohaceno o DDE v koncentracích 0,1 µM, 1 µM a 10 µM. DDE bylo rozpuštěno v lipidovém vehikulu NuTRIflex® Lipid peri (B. Braun, Melsungen, Německo) o výsledné koncentraci 0,2 % (v/v). Kvantifikace mRNA PLIN2 byla prováděna ve dny 0, 4, 10, 21 a 28 diferenciaci, a to pomocí metody RT real-time PCR.

V průběhu diferenciaci došlo k nárůstu exprese PLIN2 u buněk kultivovaných ve všech typech médií: i) pouze v diferenciacním médiu; ii) v diferenciacním médiu obohaceném o lipidové vehikulum; iii) v diferenciacním médiu obohaceném o lipidové vehikulum s 0,1 µM DDE; iv) v diferenciacním médiu obohaceném o lipidové vehikulum s 1 µM DDE a v) v diferenciacním médiu obohaceném o lipidové vehikulum s 10 µM DDE. Zajímavým zjištěním ale bylo, že vlivem expozice DDE došlo k downregulaci PLIN2 v porovnání se situací v diferenciacním médiu s obsahem pouze lipidového vehikula. Předpokládali jsme, že jeho exprese bude naopak v prostředí s DDE stoupat, protože jeho zvýšená exprese např. v hepatocytech vede k vzniku nealkoholové steatózy a v endotelových buňkách k usnadnění rozvoje aterosklerózy. PLIN2 se ale nachází na povrchu zejména malých tukových kapének a na povrchu velkých kapének je nahrazen perilipinem 1 (PLIN1). Je tedy možné, že vlivem DDE došlo k urychlení fúze malých

tukových kapének za vzniku velkých, což mělo za následek pokles exprese PLIN2. Tuto skutečnost by potvrzovala i naše zjištění v jiné práci, která byla zaměřena na změny genové exprese vybraných genů zapojených do adipogeneze a metabolismu lipidů v průběhu diferenciaci pod vlivem DDE. Zde jsme zjistili, že vlivem DDE dochází k nárůstu exprese těchto genů ([publikace 2.2.7](#)).

I když je přesný mechanismus zapojení PLIN2 do diferenciaci adipocytů a do procesu formování tukových kapének stále nejasný, je možné, že změny jeho exprese ovlivňují průběh lipogeneze, což může vést k rozvoji dysfunkčních adipocytů, obezity a jejích komorbidit.

2.2.9 Polychlorinated Biphenyl 153 in Lipid Medium Modulates Differentiation of Human Adipocytes

Mullerova D, Pesta M, Dvorakova J, Cedikova M, Kulda V, Dvorak P, Bouchalová V, Kralickova M, Babuska V, Kuncova J, Langmajerova J, Muller L. *Physiol Res.* 2017 Sep 22;66(4):653-662. doi: 10.33549/physiolres.933280. Epub 2017 Apr 12. PMID: 28406693.

Stejně jako organochlorované pesticidy, tak i polychlorované bifenyly (PCB) patří k hojně zastoupeným perzistentním organickým polutantům v životním prostředí, ale i v našem těle. Jedná se o skupinu látek značně využívanou v průmyslu, a to zejména v období 60. až 80. let 20. století, než bylo jejich používání zakázáno. Bohužel jejich biodegradace je velmi pomalá, a přestože za posledních 30 let došlo v promořenosti životního prostředí k velkému zlepšení, tak Česká republika stále patří v rámci Evropy k zemím s jejich nejvyšším výskytem.

Jedná se o lipofilní látky, které se do našeho těla dostávají zejména kontaminovanou potravou a následně jsou akumulovány v tukových kapénkách, a to zejména tukových buněk. Nejvyšší koncentrace v tukové tkáni a v séru jsou nacházeny u PCB153. Stejně jako tomu bylo u DDE, ani u PCB153 se nepředpokládá, že by byl jen pasivní součástí tukových kapének, ale že dokáže interagovat s procesy v adipocyty a ovlivnit tak průběh jeho diferenciaci a stav metabolismu.

Cílem naší práce bylo sledování efektu PCB153 na průběh diferenciaci adipocytů, a to konkrétně na změny exprese genů do ní zapojených. Dále byly sledovány i změny v expresi genů zapojených do metabolismu lipidů a do jeho regulace.

Vybranými geny pro monitorování diferenciace byly stejně jako v publikaci zaměřené na efekt DDE ([publikace 2.2.7](#)) jak markery kmenovosti buněk (OCT4, NANOG a SOX2), tak geny zapojené do procesu diferenciace (PLIN2, PPARGC1B a PPAR γ) a dráhy inzulinového receptoru a metabolismu lipidů – INSR (insulinový receptor), AKT2 (AKT serin/threonin kináza 2), SREBP1 (sterol regulatory element-binding protein), ACLY (ATP citrát lyáza), LIPE (hormon senzitivní lipáza) a FASN (syntáza mastných kyselin).

Jako buněčný model byly opět zvoleny mesenchymální kmenové buňky získané z tukové tkáně. Diferenciace probíhala za standardizovaných podmínek (teplota 37°C, 5 % CO₂) po dobu 28 dní. Jako diferenciační médium bylo použito StemPro® Adipogenesis Differentiation Basal Medium doplněné o suplement StemPro® Adipogenesis Supplement (obojí Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA). Toto diferenciační médium bylo obohaceno o PCB153, a to v koncentracích 0,1 μ M, 1 μ M a 10 μ M. PCB153 bylo rozpuštěno jednak v lipidovém vehikulu NuTRIflex® Lipid peri (B. Braun, Melsungen, Německo) a druhou zvolenou variantou byl dimethylsulfoxid (DMSO). Vzorky byly odebírány ve dny 0, 4, 10, 21 a 28 diferenciace a stanovení bylo prováděno metodou RT real-time PCR a Western Blot.

Vlivem chronické expozice PCB153 došlo u buněk ke změnám exprese vybraných genů, tyto změny byly ale patrné pouze u buněk kultivovaných v médiích s lipidovým vehikulem, a ne s DMSO. PCB153 vedlo u buněk k poklesu exprese jak genů kmenovosti (konkrétně NANOG a OCT4), tak i genů zapojených do diferenciačního procesu (konkrétně PPAR γ , PLIN2 a PPARGC1B). Z genů zapojených do dráhy inzulinového receptoru byl přítomen rozdíl v genové expresi pouze u SREBP1, což je ale zároveň spojovací molekula řídící expresi i PPAR γ . Mechanismus působení PCB153 bude tedy nejspíše spjatý s průběhem diferenciace adipocytů, a to konkrétně s jejím počátkem,

protože statisticky významné rozdíly byly patrné hned v prvních dnech po indukci diferenciaci buněk. PCB153, jehož chemická struktura umožňuje interakci s jadernými receptory, tak možná moduluje již samotnou indukci adipogeneze. Výsledkem pak může být vznik dysfunkčních a dysregulovaných adipocytů, což může vést opět k rozvoji obezity či dalších přidružených onemocnění.

3 ZÁVĚR

Mesenchymální kmenové buňky patří mezi adultní multipotentní kmenové buňky, které jsou nalézány v mnoha tkáních a orgánech lidského těla. Mezi jejich hlavní zdroje patří zejména kostní dřeň, tuková tkáň, placenta a pupečník, zubní dřeň, dásně, endometrium a menstruační krev, kůže, ale i např. moč.

Buněčná terapie je směr medicíny s obrovským klinickým potenciálem a budoucností a mesenchymální kmenové buňky se zdají být v této oblasti medicíny klíčové, což dokazuje i narůstající počet klinických studií s jejich zapojením. Jedná se totiž o buňky, z jejichž vlastností by mohly těžit skoro všechny lékařské obory. Své uplatnění najdou např. při léčbě kardiovaskulárních onemocnění, infekčních onemocnění, poruch imunity, při léčbě chronických ran, při regeneraci jater, ale i v transplantační medicíně, ortopedii, neurologii, neurochirurgii apod. Zároveň jsou i nenahraditelným zdrojem informací pro základní výzkum, přičemž je např. možné podrobně studovat jejich diferenciaci do různých buněčných typů, ale také mechanismy tento proces modulující, což může vést k zodpovězení otázek týkajících se patofyziologie celé řady onemocnění.

Použití těchto buněk má hned několik benefitů. Jedním z nich je možnost náhrady poškozených buněk, a to díky jejich širokému diferenciačnímu potenciálu. Navíc, proces diferenciace může probíhat v podmínkách *in vitro*, což umožňuje nejen kontinuální dohled, ale i úpravu buněk do požadovaného fenotypu, čímž by mohlo dojít k následnému urychlení a zefektivnění regenerace poškozené tkáně.

Další nenahraditelnou a možná i nejdůležitější vlastností těchto buněk je jejich schopnost sekrece celé řady chemokinů, cytokinů, růstových faktorů, ale i extracelulárních vezikulů. Jedná se o působky, které mohou protektivně působit na poškozené buňky, podporovat jejich životaschopnost, inhibovat apoptózu, stimulovat angiogenezi či působit

imunomodulačně. Na tuto jejich klíčovou vlastnost byly zaměřeny i některé naše práce. Studovali jsme efekt mesenchymálních kmenových buněk na izolované kardiomyocyty, a to se zaměřením na jejich viabilitu, míru přežití, mitochondriální i funkční parametry (kontraktilita, vápníkové přechody). Prokázali jsme, že kardiomyocyty kokultivované s mesenchymálními kmenovými buňkami vykazovaly vyšší míru viability a přežití oproti těm, které byly kultivovány bez přítomnosti mesenchymálních kmenových buněk. Stejný pozitivní efekt ale nebyl bohužel prokázán u ostatních sledovaných parametrů. Důvodem tohoto zjištění mohla být nevhodná prvotní selekce kardiomyocytů, jednalo se totiž pouze o buňky dle morfologie v dobré kondici, na nichž se možná vliv MSC nemohl plně projevit.

V další práci byly porovnávány imunomodulační účinky mezi různě připravenými vzorky mesenchymálních kmenových buněk, a to vzorky buněk od jednotlivých dárců se vzorky smíšenými, tzv. poolovanými. Prokázali jsme, že postup přípravy vzorků nemá vliv na jejich výsledný imunomodulační potenciál a případná rozdílnost v působení MSC buněk je tedy nejspíše způsobena jinou příčinou, a to např. zdrojem použitých buněk, věkem dárce nebo velikostí podané dávky.

Kromě již výše zmiňovaných benefitů mají mesenchymální kmenové buňky potenciál i při studiu fyziologického ale i patologického průběhu procesu diferenciaci do širokého spektra buněk a tkání, což by mohlo pomoci k pochopení důvodu vzniku celé řady onemocnění. V našich pracích, které byly zaměřeny na studium adipogeneze, jsme prokázali, že v jejím průběhu dochází k přírůstku počtu mitochondrií, k přeskupení jejich lokalizace v buňce, ale hlavně k úpravě metabolismu studovaných buněk, kdy v počátku diferenciaci došlo ke skokovému přírůstku spotřeby kyslíku, což nejspíše reflektuje nastartovaný energeticky náročný diferenciační proces.

Dále jsme prokázali, že některé toxické látky, v našem případě se jednalo o látky ze skupiny perzistentních organických polutantů, mají schopnost proces adipogeneze výrazně ovlivnit, a to jednak skrze změny na úrovni genové exprese, konkrétně u genů zapojených nejen do procesu diferenciaci, ale i dráhy inzulinového receptoru a metabolismu lipidů, ale k modifikacím dochází i u metabolismu buněk. Výsledný efekt působení DDE na mitochondrie navíc nejspíše závisí i na jeho přítomné hladině, kdy nižší koncentrace by mohly působit směrem ke stimulaci mitochondriálního metabolismu a vyšší koncentrace by naopak mohly zpomalovat diferenciací proces skrze nedostatečnou dodávku energie pro zajištění všech potřebných dějů.

Tato práce shrnuje základní poznatky o mesenchymálních kmenových buňkách, jejich charakterizaci, zdrojích izolace, diferenciací potenciálu se zaměřením na adipogenezi a možnostech klinického uplatnění. Z přehledu vyplývá, že se jedná o buňky s příslibem velké budoucnosti na poli medicíny, nicméně práce také poukazuje na nutnost jejich dalšího studia, aby mohl být jejich potenciál využit co nejefektivněji.

V Laboratoři nádorové biologie a imunoterapie se budeme výzkumu těchto buněk věnovat i nadále, a to s důrazem na jejich aplikační potenciál v rutinní klinické praxi. Velké naděje vkládáme zejména do studia extracelulárních vezikulů, které je ale potřeba nejprve detailněji poznat, což je naší současnou výzvou.

4 POUŽITÁ LITERATURA

1. Young HE, Black Jr. AC. Adult stem cells. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol.* 2004;276A(1):75–102.
2. Friedenstein AJ, Piatetzky-Shapiro II, Petrakova KV. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. *J Embryol Exp Morphol.* prosinec 1966;16(3):381–90.
3. Friedenstein AJ, Petrakova KV, Kurolesova AI, Frolova GP. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues. *Transplantation.* březen 1968;6(2):230–47.
4. Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Tissue Kinet.* říjen 1970;3(4):393–403.
5. Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Latsinik NV, Panasyuk AF, Keiliss-Borok IV. Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues. Cloning in vitro and retransplantation in vivo. *Transplantation.* duben 1974;17(4):331–40.
6. Owen M. Marrow stromal stem cells. *J Cell Sci Suppl.* 1988;10:63–76.
7. Owen M, Friedenstein AJ. Stromal stem cells: marrow-derived osteogenic precursors. *Ciba Found Symp.* 1988;136:42–60.
8. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res Off Publ Orthop Res Soc.* září 1991;9(5):641–50.
9. Haynesworth SE, Baber MA, Caplan AI. Cell surface antigens on human marrow-derived mesenchymal cells are detected by monoclonal antibodies. *Bone.* 1992;13(1):69–80.
10. Haynesworth SE, Goshima J, Goldberg VM, Caplan AI. Characterization of cells with osteogenic potential from human marrow. *Bone.* 1992;13(1):81–8.
11. Bruder SP, Fink DJ, Caplan AI. Mesenchymal stem cells in bone development, bone repair, and skeletal regeneration therapy. *J Cell Biochem.* listopad 1994;56(3):283–94.
12. Wakitani S, Goto T, Pineda SJ, Young RG, Mansour JM, Caplan AI, et al. Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am.* duben 1994;76(4):579–92.
13. Bartsch G, Yoo JJ, De Coppi P, Siddiqui MM, Schuch G, Pohl HG, et al. Propagation, expansion, and multilineage differentiation of human somatic stem cells from dermal progenitors. *Stem Cells Dev.* červen 2005;14(3):337–48.

14. Vieira NM, Brandalise V, Zucconi E, Secco M, Strauss BE, Zatz M. Isolation, Characterization, and Differentiation Potential of Canine Adipose-Derived Stem Cells. *Cell Transplant.* 1. března 2010;19(3):279–89.
15. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 5. prosince 2000;97(25):13625–30.
16. Morito T, Muneta T, Hara K, Ju YJ, Mochizuki T, Makino H, et al. Synovial fluid-derived mesenchymal stem cells increase after intra-articular ligament injury in humans. *Rheumatol Oxf Engl.* srpen 2008;47(8):1137–43.
17. Allickson JG, Sanchez A, Yefimenko N, Borlongan CV, Sanberg PR. Recent Studies Assessing the Proliferative Capability of a Novel Adult Stem Cell Identified in Menstrual Blood. *Open Stem Cell J.* 2011;3(2011):4–10.
18. Schüring AN, Schulte N, Kelsch R, Röpke A, Kiesel L, Götte M. Characterization of endometrial mesenchymal stem-like cells obtained by endometrial biopsy during routine diagnostics. *Fertil Steril.* leden 2011;95(1):423–6.
19. Zhang Y, McNeill E, Tian H, Soker S, Andersson KE, Yoo JJ, et al. Urine derived cells are a potential source for urological tissue reconstruction. *J Urol.* listopad 2008;180(5):2226–33.
20. Wang HS, Hung SC, Peng ST, Huang CC, Wei HM, Guo YJ, et al. Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord. *Stem Cells Dayt Ohio.* 2004;22(7):1330–7.
21. Antoniadou E, David AL. Placental stem cells. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 1. února 2016;31:13–29.
22. Murphy SV, Atala A. Amniotic Fluid and Placental Membranes: Unexpected Sources of Highly Multipotent Cells. *Semin Reprod Med.* leden 2013;31(1):62–8.
23. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy.* 2006;8(4):315–7.
24. Viswanathan S, Shi Y, Galipeau J, Krampera M, Leblanc K, Martin I, et al. Mesenchymal stem versus stromal cells: International Society for Cell & Gene Therapy (ISCT®) Mesenchymal Stromal Cell committee position statement on nomenclature. *Cytotherapy.* 1. říjen 2019;21(10):1019–24.
25. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage Potential of Adult Human Mesenchymal Stem Cells. *Science.* 2. duben 1999;284(5411):143–7.
26. Afflerbach AK, Kiri MD, Detinis T, Maoz BM. Mesenchymal Stem Cells as a Promising Cell Source for Integration in Novel In Vitro Models. *Biomolecules.* září 2020;10(9):1306.

27. Solchaga LA, Penick KJ, Welter JF. Chondrogenic Differentiation of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells: Tips and Tricks. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2011;698:253–78.
28. Ong WK, Chakraborty S, Sugii S. Adipose Tissue: Understanding the Heterogeneity of Stem Cells for Regenerative Medicine. *Biomolecules*. 22. červen 2021;11(7):918.
29. Xu W, Zhang X, Qian H, Zhu W, Sun X, Hu J, et al. Mesenchymal stem cells from adult human bone marrow differentiate into a cardiomyocyte phenotype in vitro. *Exp Biol Med Maywood NJ*. červenec 2004;229(7):623–31.
30. Wu XB, Tao R. Hepatocyte differentiation of mesenchymal stem cells. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 15. srpen 2012;11(4):360–71.
31. Aydin S, Sağraç D, Şahin F. Differentiation Potential of Mesenchymal Stem Cells into Pancreatic β -Cells. *Adv Exp Med Biol*. 2020;1247:135–56.
32. Mo Y, Wang Z, Gao J, Yan Y, Ren H, Zhang F, et al. Comparative study of three types of mesenchymal stem cell to differentiate into pancreatic β -like cells *in vitro*. *Exp Ther Med*. 1. září 2021;22(3):1–11.
33. George S, Hamblin MR, Abrahamse H. Differentiation of Mesenchymal Stem Cells to Neuroglia: in the Context of Cell Signalling. *Stem Cell Rev Rep*. 1. prosinec 2019;15(6):814–26.
34. Mahay D, Terenghi G, Shawcross SG. Growth factors in mesenchymal stem cells following glial-cell differentiation. *Biotechnol Appl Biochem*. 2008;51(4):167–76.
35. Le Blanc K, Tammik L, Sundberg B, Haynesworth SE, Ringdén O. Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex. *Scand J Immunol*. leden 2003;57(1):11–20.
36. Ryan JM, Barry F, Murphy JM, Mahon BP. Interferon-gamma does not break, but promotes the immunosuppressive capacity of adult human mesenchymal stem cells. *Clin Exp Immunol*. srpen 2007;149(2):353–63.
37. Ren G, Zhang L, Zhao X, Xu G, Zhang Y, Roberts AI, et al. Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide. *Cell Stem Cell*. 7. únor 2008;2(2):141–50.
38. Ghannam S, Pène J, Moquet-Torcy G, Torcy-Moquet G, Jorgensen C, Yssel H. Mesenchymal stem cells inhibit human Th17 cell differentiation and function and induce a T regulatory cell phenotype. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1. červenec 2010;185(1):302–12.
39. Wu Y, Hoogduijn MJ, Baan CC, Korevaar SS, de Kuiper R, Yan L, et al. Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Have a Heterogenic Cytokine Secretion Profile. *Stem Cells Int*. 2017;2017:4960831.

40. de Witte SFH, Luk F, Sierra Parraga JM, Gargasha M, Merino A, Korevaar SS, et al. Immunomodulation By Therapeutic Mesenchymal Stromal Cells (MSC) Is Triggered Through Phagocytosis of MSC By Monocytic Cells. *Stem Cells Dayt Ohio*. duben 2018;36(4):602–15.
41. Weiss ARR, Dahlke MH. Immunomodulation by Mesenchymal Stem Cells (MSCs): Mechanisms of Action of Living, Apoptotic, and Dead MSCs. *Front Immunol*. 4. červen 2019;10:1191.
42. Zhou Y, Yamamoto Y, Xiao Z, Ochiya T. The Immunomodulatory Functions of Mesenchymal Stromal/Stem Cells Mediated via Paracrine Activity. *J Clin Med*. 12. červenec 2019;8(7):1025.
43. Théry C, Witwer KW, Aikawa E, Alcaraz MJ, Anderson JD, Andriantsitohaina R, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*. 2018;7(1):1535750.
44. van der Pol E, Böing AN, Harrison P, Sturk A, Nieuwland R. Classification, functions, and clinical relevance of extracellular vesicles. *Pharmacol Rev*. červenec 2012;64(3):676–705.
45. Enderle D, Spiel A, Coticchia CM, Berghoff E, Mueller R, Schlumpberger M, et al. Characterization of RNA from Exosomes and Other Extracellular Vesicles Isolated by a Novel Spin Column-Based Method. *PLOS ONE*. 8 2015;10(8):e0136133.
46. Thakur BK, Zhang H, Becker A, Matei I, Huang Y, Costa-Silva B, et al. Double-stranded DNA in exosomes: a novel biomarker in cancer detection. *Cell Res*. červen 2014;24(6):766–9.
47. Abreu SC, Lopes-Pacheco M, Weiss DJ, Rocco PRM. Mesenchymal Stromal Cell-Derived Extracellular Vesicles in Lung Diseases: Current Status and Perspectives. *Front Cell Dev Biol*. 15. únor 2021;9:600711.
48. Zhang B, Yin Y, Lai RC, Tan SS, Choo ABH, Lim SK. Mesenchymal stem cells secrete immunologically active exosomes. *Stem Cells Dev*. 1. červen 2014;23(11):1233–44.
49. Del Fattore A, Luciano R, Pascucci L, Goffredo BM, Giorda E, Scapatucci M, et al. Immunoregulatory Effects of Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles on T Lymphocytes. *Cell Transplant*. 2015;24(12):2615–27.
50. Kordelas L, Rebmann V, Ludwig AK, Radtke S, Ruesing J, Doeppner TR, et al. MSC-derived exosomes: a novel tool to treat therapy-refractory graft-versus-host disease. *Leukemia*. duben 2014;28(4):970–3.
51. Giebel B, Kordelas L, Börger V. Clinical potential of mesenchymal stem/stromal cell-derived extracellular vesicles. *Stem Cell Investig*. 2017;4:84.
52. Cortes C, Desler C, Mazzoli A, Chen JY, Ferreira VP. Chapter One - The role of properdin and Factor H in disease. In: Alt FW, Murphy KM, editoři. *Advances in*

- Immunology [Internet]. Academic Press; 2022 [citován 5. listopad 2022]. s. 1–90. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065277621000559>
53. Chen M, Forrester JV, Xu H. Synthesis of complement factor H by retinal pigment epithelial cells is down-regulated by oxidized photoreceptor outer segments. *Exp Eye Res.* duben 2007;84(4):635–45.
 54. Licht C, Pluthero FG, Li L, Christensen H, Habbig S, Hoppe B, et al. Platelet-associated complement factor H in healthy persons and patients with atypical HUS. *Blood.* 12. listopad 2009;114(20):4538–45.
 55. Tu Z, Li Q, Bu H, Lin F. Mesenchymal Stem Cells Inhibit Complement Activation by Secreting Factor H. *Stem Cells Dev.* listopad 2010;19(11):1803–9.
 56. Ying L, Katz Y, Schlesinger M, Carmi R, Shalev H, Haider N, et al. Complement factor H gene mutation associated with autosomal recessive atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Hum Genet.* prosinec 1999;65(6):1538–46.
 57. Dragon-Durey MA, Frémeaux-Bacchi V, Loirat C, Blouin J, Niaudet P, Deschenes G, et al. Heterozygous and homozygous factor h deficiencies associated with hemolytic uremic syndrome or membranoproliferative glomerulonephritis: report and genetic analysis of 16 cases. *J Am Soc Nephrol JASN.* březen 2004;15(3):787–95.
 58. Abrera-Abeleda MA, Nishimura C, Smith JLH, Sethi S, McRae JL, Murphy BF, et al. Variations in the complement regulatory genes factor H (CFH) and factor H related 5 (CFHR5) are associated with membranoproliferative glomerulonephritis type II (dense deposit disease). *J Med Genet.* červenec 2006;43(7):582–9.
 59. Andrzejewska A, Lukomska B, Janowski M. Concise Review: Mesenchymal Stem Cells: From Roots to Boost. *STEM CELLS.* 2019;37(7):855–64.
 60. Abumaree MH, Al Jumah MA, Kalionis B, Jawdat D, Al Khaldi A, Abomaray FM, et al. Human placental mesenchymal stem cells (pMSCs) play a role as immune suppressive cells by shifting macrophage differentiation from inflammatory M1 to anti-inflammatory M2 macrophages. *Stem Cell Rev Rep.* říjen 2013;9(5):620–41.
 61. Mayadas TN, Cullere X, Lowell CA. The multifaceted functions of neutrophils. *Annu Rev Pathol.* 2014;9:181–218.
 62. Amulic B, Cazalet C, Hayes GL, Metzler KD, Zychlinsky A. Neutrophil function: from mechanisms to disease. *Annu Rev Immunol.* 2012;30:459–89.
 63. Raffaghello L, Bianchi G, Bertolotto M, Montecucco F, Busca A, Dallegri F, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit neutrophil apoptosis: a model for neutrophil preservation in the bone marrow niche. *Stem Cells Dayt Ohio.* leden 2008;26(1):151–62.
 64. Munir H, Rainger GE, Nash GB, McGettrick H. Analyzing the effects of stromal cells on the recruitment of leukocytes from flow. *J Vis Exp JoVE.* 7. leden 2015;(95):e52480.

65. Brown JM, Nemeth K, Kushnir-Sukhov NM, Metcalfe DD, Mezey E. Bone marrow stromal cells inhibit mast cell function via a COX2-dependent mechanism. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. duben 2011;41(4):526–34.
66. Rasmusson I, Ringdén O, Sundberg B, Le Blanc K. Mesenchymal stem cells inhibit the formation of cytotoxic T lymphocytes, but not activated cytotoxic T lymphocytes or natural killer cells. *Transplantation*. 27. říjen 2003;76(8):1208–13.
67. Sotiropoulou PA, Perez SA, Gritzapis AD, Baxevanis CN, Papamichail M. Interactions between human mesenchymal stem cells and natural killer cells. *Stem Cells Dayt Ohio*. leden 2006;24(1):74–85.
68. Spaggiari GM, Capobianco A, Abdelrazik H, Becchetti F, Mingari MC, Moretta L. Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2,3-dioxygenase and prostaglandin E2. *Blood*. 1. únor 2008;111(3):1327–33.
69. Ramasamy R, Fazekasova H, Lam EWF, Soeiro I, Lombardi G, Dazzi F. Mesenchymal stem cells inhibit dendritic cell differentiation and function by preventing entry into the cell cycle. *Transplantation*. 15. leden 2007;83(1):71–6.
70. Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood*. 15. únor 2005;105(4):1815–22.
71. Ivanova-Todorova E, Bochev I, Mourdjeva M, Dimitrov R, Bukarev D, Kyurkchiev S, et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells are more potent suppressors of dendritic cells differentiation compared to bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Immunol Lett*. 22. září 2009;126(1–2):37–42.
72. Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, Giunti D, Cappiello V, Cazzanti F, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood*. 1. leden 2006;107(1):367–72.
73. Li L, Yang M, Wang C, Zhao Q, Liu J, Zhan C, et al. Effects of cytokines and chemokines on migration of mesenchymal stem cells following spinal cord injury. *Neural Regen Res*. 15. květen 2012;7(14):1106–12.
74. Zhao Q, Ren H, Han Z. Mesenchymal stem cells: Immunomodulatory capability and clinical potential in immune diseases. *J Cell Immunother*. 1. březen 2016;2(1):3–20.
75. Krampera M, Glennie S, Dyson J, Scott D, Laylor R, Simpson E, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide. *Blood*. 1. květen 2003;101(9):3722–9.
76. Potian JA, Aviv H, Ponzio NM, Harrison JS, Rameshwar P. Veto-like activity of mesenchymal stem cells: functional discrimination between cellular responses to alloantigens and recall antigens. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1. říjen 2003;171(7):3426–34.

77. Tse WT, Pendleton JD, Beyer WM, Egalka MC, Guinan EC. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation. *Transplantation*. 15. únor 2003;75(3):389–97.
78. Kim JH, Lee YT, Hong JM, Hwang YI. Suppression of in vitro murine T cell proliferation by human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells is dependent mainly on cyclooxygenase-2 expression. *Anat Cell Biol. prosinec* 2013;46(4):262–71.
79. Glennie S, Soeiro I, Dyson PJ, Lam EWF, Dazzi F. Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of activated T cells. *Blood*. 1. duben 2005;105(7):2821–7.
80. Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, Milanese M, Longoni PD, Matteucci P, et al. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood*. 15. květen 2002;99(10):3838–43.
81. Meisel R, Zibert A, Laryea M, Göbel U, Däubener W, Dilloo D. Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation. *Blood*. 15. červen 2004;103(12):4619–21.
82. Berebichez-Fridman R, Montero-Olvera PR. Sources and Clinical Applications of Mesenchymal Stem Cells: State-of-the-art review. *Sultan Qaboos Univ Med J*. srpen 2018;18(3):e264–77.
83. Al-Dhamin Z, Liu LD, Li DD, Zhang SY, Dong SM, Nan YM. Therapeutic efficiency of bone marrow-derived mesenchymal stem cells for liver fibrosis: A systematic review of in vivo studies. *World J Gastroenterol*. 21. prosinec 2020;26(47):7444–69.
84. Costela-Ruiz VJ, Melguizo-Rodríguez L, Bellotti C, Illescas-Montes R, Stanco D, Arciola CR, et al. Different Sources of Mesenchymal Stem Cells for Tissue Regeneration: A Guide to Identifying the Most Favorable One in Orthopedics and Dentistry Applications. *Int J Mol Sci*. leden 2022;23(11):6356.
85. Friedenstein AJ. Precursor cells of mechanocytes. *Int Rev Cytol*. 1976;47:327–59.
86. Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Gerasimov UV. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers. *Cell Tissue Kinet*. květen 1987;20(3):263–72.
87. Castro-Malaspina H, Ebell W, Wang S. Human bone marrow fibroblast colony-forming units (CFU-F). *Prog Clin Biol Res*. 1984;154:209–36.
88. Kern S, Eichler H, Stoeve J, Klüter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells Dayt Ohio*. květen 2006;24(5):1294–301.
89. Stenderup K, Justesen J, Clausen C, Kassem M. Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells,. *Bone*. 1. prosinec 2003;33(6):919–26.

90. Siegel G, Kluba T, Hermanutz-Klein U, Bieback K, Northoff H, Schäfer R. Phenotype, donor age and gender affect function of human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. *BMC Med.* 11. červen 2013;11:146.
91. Chen LB, Jiang XB, Yang L. Differentiation of rat marrow mesenchymal stem cells into pancreatic islet beta-cells. *World J Gastroenterol WJG.* 15. říjen 2004;10(20):3016–20.
92. Dueñas F, Becerra V, Cortes Y, Vidal S, Sáenz L, Palomino J, et al. Hepatogenic and neurogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells from abattoir-derived bovine fetuses. *BMC Vet Res.* 10. červenec 2014;10:154.
93. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.* duben 2001;7(2):211–28.
94. Fraser JK, Wulur I, Alfonso Z, Zhu M, Wheeler ES. Differences in stem and progenitor cell yield in different subcutaneous adipose tissue depots. *Cytotherapy.* 2007;9(5):459–67.
95. Yoshimura K, Shigeura T, Matsumoto D, Sato T, Takaki Y, Aiba-Kojima E, et al. Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. *J Cell Physiol.* červenec 2006;208(1):64–76.
96. Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, Dominici M, Katz AJ, March KL, et al. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy.* červen 2013;15(6):641–8.
97. Rada T, Reis RL, Gomes ME. Novel method for the isolation of adipose stem cells (ASCs). *J Tissue Eng Regen Med.* únor 2009;3(2):158–9.
98. Lindroos B, Suuronen R, Miettinen S. The potential of adipose stem cells in regenerative medicine. *Stem Cell Rev Rep.* červen 2011;7(2):269–91.
99. Kornicka K, Marycz K, Tomaszewski KA, Marędziak M, Śmieszek A. The Effect of Age on Osteogenic and Adipogenic Differentiation Potential of Human Adipose Derived Stromal Stem Cells (hASCs) and the Impact of Stress Factors in the Course of the Differentiation Process. *Oxid Med Cell Longev.* 2015;2015:309169.
100. Lee RH, Kim B, Choi I, Kim H, Choi HS, Suh K, et al. Characterization and expression analysis of mesenchymal stem cells from human bone marrow and adipose tissue. *Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol.* 2004;14(4–6):311–24.
101. Braun J, Kurtz A, Barutcu N, Bodo J, Thiel A, Dong J. Concerted regulation of CD34 and CD105 accompanies mesenchymal stromal cell derivation from human adventitial stromal cell. *Stem Cells Dev.* 1. březen 2013;22(5):815–27.

102. Tsuji W, Rubin JP, Marra KG. Adipose-derived stem cells: Implications in tissue regeneration. *World J Stem Cells*. 26. červenec 2014;6(3):312–21.
103. Francis SL, Duchi S, Onofrillo C, Di Bella C, Choong PFM. Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells in the Use of Cartilage Tissue Engineering: The Need for a Rapid Isolation Procedure [Internet]. *Stem Cells International*. 2018 [citován 4. srpen 2020]. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/sci/2018/8947548/>
104. Timper K, Seboek D, Eberhardt M, Linscheid P, Christ-Crain M, Keller U, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells differentiate into insulin, somatostatin, and glucagon expressing cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 24. březen 2006;341(4):1135–40.
105. Bonora-Centelles A, Jover R, Mirabet V, Lahoz A, Carbonell F, Castell JV, et al. Sequential hepatogenic transdifferentiation of adipose tissue-derived stem cells: relevance of different extracellular signaling molecules, transcription factors involved, and expression of new key marker genes. *Cell Transplant*. 2009;18(12):1319–40.
106. Anghileri E, Marconi S, Pignatelli A, Cifelli P, Galié M, Sbarbati A, et al. Neuronal differentiation potential of human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev*. říjen 2008;17(5):909–16.
107. Radtke C, Schmitz B, Spies M, Kocsis JD, Vogt PM. Peripheral glial cell differentiation from neurospheres derived from adipose mesenchymal stem cells. *Int J Dev Neurosci Off J Int Soc Dev Neurosci*. prosinec 2009;27(8):817–23.
108. Yu JM, Bunnell BA, Kang SK. Neural differentiation of human adipose tissue-derived stem cells. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2011;702:219–31.
109. Han IH, Sun F, Choi YJ, Zou F, Nam KH, Cho WH, et al. Cultures of Schwann-like cells differentiated from adipose-derived stem cells on PDMS/MWNT sheets as a scaffold for peripheral nerve regeneration. *J Biomed Mater Res A*. listopad 2015;103(11):3642–8.
110. Noël D, Caton D, Roche S, Bony C, Lehmann S, Casteilla L, et al. Cell specific differences between human adipose-derived and mesenchymal-stromal cells despite similar differentiation potentials. *Exp Cell Res*. 15. duben 2008;314(7):1575–84.
111. Mohammadi Z, Afshari JT, Keramati MR, Alamdari DH, Ganjibakhsh M, Zarmehri AM, et al. Differentiation of adipocytes and osteocytes from human adipose and placental mesenchymal stem cells. *Iran J Basic Med Sci*. březen 2015;18(3):259–66.
112. Battula VL, Bareiss PM, Treml S, Conrad S, Albert I, Hojak S, et al. Human placenta and bone marrow derived MSC cultured in serum-free, b-FGF-containing medium express cell surface frizzled-9 and SSEA-4 and give rise to multilineage differentiation. *Differ Res Biol Divers*. duben 2007;75(4):279–91.
113. Malek A, Bersinger NA. Human placental stem cells: biomedical potential and clinical relevance. *J Stem Cells*. 2011;6(2):75–92.

114. Lee JM, Jung J, Lee HJ, Jeong SJ, Cho KJ, Hwang SG, et al. Comparison of immunomodulatory effects of placenta mesenchymal stem cells with bone marrow and adipose mesenchymal stem cells. *Int Immunopharmacol.* červen 2012;13(2):219–24.
115. Kita K, Gauglitz GG, Phan TT, Herndon DN, Jeschke MG. Isolation and characterization of mesenchymal stem cells from the sub-amniotic human umbilical cord lining membrane. *Stem Cells Dev.* duben 2010;19(4):491–502.
116. McElreavey KD, Irvine AI, Ennis KT, McLean WH. Isolation, culture and characterisation of fibroblast-like cells derived from the Wharton's jelly portion of human umbilical cord. *Biochem Soc Trans.* únor 1991;19(1):29S.
117. Amable PR, Teixeira MVT, Carias RBV, Granjeiro JM, Borojevic R. Gene expression and protein secretion during human mesenchymal cell differentiation into adipogenic cells. *BMC Cell Biol* [Internet]. 20. prosinec 2014 [citován 16. květen 2019];15. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4293810/>
118. Kim JH, Jo CH, Kim HR, Hwang YI. Comparison of Immunological Characteristics of Mesenchymal Stem Cells from the Periodontal Ligament, Umbilical Cord, and Adipose Tissue. *Stem Cells Int.* 2018;2018:8429042.
119. Mennan C, Wright K, Bhattacharjee A, Balain B, Richardson J, Roberts S. Isolation and characterisation of mesenchymal stem cells from different regions of the human umbilical cord. *BioMed Res Int.* 2013;2013:916136.
120. Hsieh JY, Fu YS, Chang SJ, Tsuang YH, Wang HW. Functional module analysis reveals differential osteogenic and stemness potentials in human mesenchymal stem cells from bone marrow and Wharton's jelly of umbilical cord. *Stem Cells Dev.* prosinec 2010;19(12):1895–910.
121. Fong CY, Subramanian A, Gauthaman K, Venugopal J, Biswas A, Ramakrishna S, et al. Human umbilical cord Wharton's jelly stem cells undergo enhanced chondrogenic differentiation when grown on nanofibrous scaffolds and in a sequential two-stage culture medium environment. *Stem Cell Rev Rep.* březem 2012;8(1):195–209.
122. Campard D, Lysy PA, Najimi M, Sokal EM. Native umbilical cord matrix stem cells express hepatic markers and differentiate into hepatocyte-like cells. *Gastroenterology.* březem 2008;134(3):833–48.
123. Zhang YN, Lie PC, Wei X. Differentiation of mesenchymal stromal cells derived from umbilical cord Wharton's jelly into hepatocyte-like cells. *Cytotherapy.* 2009;11(5):548–58.
124. Zhao Q, Ren H, Li X, Chen Z, Zhang X, Gong W, et al. Differentiation of human umbilical cord mesenchymal stromal cells into low immunogenic hepatocyte-like cells. *Cytotherapy.* 2009;11(4):414–26.
125. Mitchell KE, Weiss ML, Mitchell BM, Martin P, Davis D, Morales L, et al. Matrix cells from Wharton's jelly form neurons and glia. *Stem Cells Dayt Ohio.* 2003;21(1):50–60.

126. Ma L, Feng X yong, Cui B lin, Law F, Jiang X wu, Yang LY, et al. Human umbilical cord Wharton's Jelly-derived mesenchymal stem cells differentiation into nerve-like cells. *Chin Med J (Engl)*. 5. prosinec 2005;118(23):1987–93.
127. Zhang HT, Fan J, Cai YQ, Zhao SJ, Xue S, Lin JH, et al. Human Wharton's jelly cells can be induced to differentiate into growth factor-secreting oligodendrocyte progenitor-like cells. *Differ Res Biol Divers*. leden 2010;79(1):15–20.
128. Kaviani A, Perry TE, Dzakovic A, Jennings RW, Ziegler MM, Fauza DO. The amniotic fluid as a source of cells for fetal tissue engineering. *J Pediatr Surg*. listopad 2001;36(11):1662–5.
129. Koike C, Zhou K, Takeda Y, Fathy M, Okabe M, Yoshida T, et al. Characterization of Amniotic Stem Cells. *Cell Reprogramming*. 1. srpen 2014;16(4):298–305.
130. Díaz-Prado S, Muiños-López E, Hermida-Gómez T, Rendal-Vázquez ME, Fuentes-Boquete I, de Toro FJ, et al. Multilineage differentiation potential of cells isolated from the human amniotic membrane. *J Cell Biochem*. 1. listopad 2010;111(4):846–57.
131. Wolbank S, Peterbauer A, Fahrner M, Hennerbichler S, van Griensven M, Stadler G, et al. Dose-dependent immunomodulatory effect of human stem cells from amniotic membrane: a comparison with human mesenchymal stem cells from adipose tissue. *Tissue Eng*. červen 2007;13(6):1173–83.
132. Magatti M, Vertua E, Cargnoni A, Silini A, Parolini O. The Immunomodulatory Properties of Amniotic Cells. *Cell Transplant*. leden 2018;27(1):31–44.
133. Gao Y, Li W, Bu X, Xu Y, Cai S, Zhong J, et al. Human Amniotic Mesenchymal Stem Cells Inhibit aGVHD by Regulating Balance of Treg and T Effector Cells. *J Inflamm Res*. 16. srpen 2021;14:3985–99.
134. Suchánek J, Soukup T, Ivancaková R, Karbanová J, Hubková V, Pytlík R, et al. Human dental pulp stem cells--isolation and long term cultivation. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2007;50(3):195–201.
135. Ferro F, Spelat R, Baheney CS. Dental pulp stem cell (DPSC) isolation, characterization, and differentiation. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2014;1210:91–115.
136. Zhang Y, Xing Y, Jia L, Ji Y, Zhao B, Wen Y, et al. An In Vitro Comparative Study of Multisource Derived Human Mesenchymal Stem Cells for Bone Tissue Engineering. *Stem Cells Dev*. 1. prosinec 2018;27(23):1634–45.
137. Lizier NF, Kerkis A, Gomes CM, Hebling J, Oliveira CF, Caplan AI, et al. Scaling-up of dental pulp stem cells isolated from multiple niches. *PloS One*. 2012;7(6):e39885.
138. Nuti N, Corallo C, Chan BMF, Ferrari M, Gerami-Naini B. Multipotent Differentiation of Human Dental Pulp Stem Cells: a Literature Review. *Stem Cell Rev Rep*. 1. říjen 2016;12(5):511–23.

139. Tsutsui TW. Dental Pulp Stem Cells: Advances to Applications. *Stem Cells Cloning Adv Appl.* 13. únor 2020;13:33–42.
140. Zhang Q, Shi S, Liu Y, Uyanne J, Shi Y, Shi S, et al. Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation-related tissue destruction in experimental colitis. *J Immunol Baltim Md* 1950. 15. prosinec 2009;183(12):7787–98.
141. Fonticoli L, Della Rocca Y, Rajan TS, Murmura G, Trubiani O, Oliva S, et al. A Narrative Review: Gingival Stem Cells as a Limitless Reservoir for Regenerative Medicine. *Int J Mol Sci.* 8. duben 2022;23(8):4135.
142. Angelopoulos I, Brizuela C, Khoury M. Gingival Mesenchymal Stem Cells Outperform Haploidentical Dental Pulp-derived Mesenchymal Stem Cells in Proliferation Rate, Migration Ability, and Angiogenic Potential. *Cell Transplant.* červen 2018;27(6):967–78.
143. Jabbour HN, Kelly RW, Fraser HM, Critchley HOD. Endocrine regulation of menstruation. *Endocr Rev.* únor 2006;27(1):17–46.
144. Chan RWS, Schwab KE, Gargett CE. Clonogenicity of human endometrial epithelial and stromal cells. *Biol Reprod.* červen 2004;70(6):1738–50.
145. Gargett CE, Masuda H. Adult stem cells in the endometrium. *Mol Hum Reprod.* listopad 2010;16(11):818–34.
146. Masuda H, Matsuzaki Y, Hiratsu E, Ono M, Nagashima T, Kajitani T, et al. Stem cell-like properties of the endometrial side population: implication in endometrial regeneration. *PloS One.* 28. duben 2010;5(4):e10387.
147. Gargett CE, Nguyen HPT, Ye L. Endometrial regeneration and endometrial stem/progenitor cells. *Rev Endocr Metab Disord.* prosinec 2012;13(4):235–51.
148. Gargett CE, Chan RWS, Schwab KE. Endometrial stem cells. *Curr Opin Obstet Gynecol.* srpen 2007;19(4):377–83.
149. Meng X, Ichim TE, Zhong J, Rogers A, Yin Z, Jackson J, et al. Endometrial regenerative cells: a novel stem cell population. *J Transl Med.* 15. listopad 2007;5:57.
150. Patel AN, Park E, Kuzman M, Benetti F, Silva FJ, Allickson JG. Multipotent menstrual blood stromal stem cells: isolation, characterization, and differentiation. *Cell Transplant.* 2008;17(3):303–11.
151. Kazemnejad S, Akhondi MM, Soleimani M, Zarnani AH, Khanmohammadi M, Darzi S, et al. Characterization and chondrogenic differentiation of menstrual blood-derived stem cells on a nanofibrous scaffold. *Int J Artif Organs.* leden 2012;35(1):55–66.
152. Karadas O, Yucel D, Kenar H, Torun Kose G, Hasirci V. Collagen scaffolds with in situ-grown calcium phosphate for osteogenic differentiation of Wharton's jelly and menstrual blood stem cells. *J Tissue Eng Regen Med.* červenec 2014;8(7):534–45.

153. Du X, Yuan Q, Qu Y, Zhou Y, Bei J. Endometrial Mesenchymal Stem Cells Isolated from Menstrual Blood by Adherence. *Stem Cells Int.* 23. listopad 2015;2016:e3573846.
154. Santamaria X, Massasa EE, Feng Y, Wolff E, Taylor HS. Derivation of insulin producing cells from human endometrial stromal stem cells and use in the treatment of murine diabetes. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther.* listopad 2011;19(11):2065–71.
155. Yang X yuan, Wang W, Li X. In vitro hepatic differentiation of human endometrial stromal stem cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* únor 2014;50(2):162–70.
156. Wolff EF, Gao XB, Yao KV, Andrews ZB, Du H, Elsworth JD, et al. Endometrial stem cell transplantation restores dopamine production in a Parkinson's disease model. *J Cell Mol Med.* duben 2011;15(4):747–55.
157. Khoury M, Alcayaga-Miranda F, Illanes SE, Figueroa FE. The promising potential of menstrual stem cells for antenatal diagnosis and cell therapy. *Front Immunol.* 2014;5:205.
158. Steingrímsson E, Copeland NG, Jenkins NA. Melanocyte stem cell maintenance and hair graying. *Cell.* 8. duben 2005;121(1):9–12.
159. Al-Nbaheen M, Vishnubalaji R, Ali D, Bouslimi A, Al-Jassir F, Megges M, et al. Human stromal (mesenchymal) stem cells from bone marrow, adipose tissue and skin exhibit differences in molecular phenotype and differentiation potential. *Stem Cell Rev Rep.* únor 2013;9(1):32–43.
160. Shi CM, Cheng TM. Differentiation of dermis-derived multipotent cells into insulin-producing pancreatic cells in vitro. *World J Gastroenterol.* 1. září 2004;10(17):2550–2.
161. Hoogduijn MJ, Gorjup E, Genever PG. Comparative characterization of hair follicle dermal stem cells and bone marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev.* únor 2006;15(1):49–60.
162. Lorenz K, Sicker M, Schmelzer E, Rupf T, Salvetter J, Schulz-Siegmund M, et al. Multilineage differentiation potential of human dermal skin-derived fibroblasts. *Exp Dermatol.* listopad 2008;17(11):925–32.
163. Bi D, Chen FG, Zhang WJ, Zhou GD, Cui L, Liu W, et al. Differentiation of human multipotent dermal fibroblasts into islet-like cell clusters. *BMC Cell Biol.* 25. červen 2010;11:46.
164. Bharadwaj S, Liu G, Shi Y, Markert C, Andersson KE, Atala A, et al. Characterization of urine-derived stem cells obtained from upper urinary tract for use in cell-based urological tissue engineering. *Tissue Eng Part A.* srpen 2011;17(15–16):2123–32.
165. Bento G, Shafigullina AK, Rizvanov AA, Sardão VA, Macedo MP, Oliveira PJ. Urine-Derived Stem Cells: Applications in Regenerative and Predictive Medicine. *Cells.* 28. únor 2020;9(3):E573.

166. Lang R, Liu G, Shi Y, Bharadwaj S, Leng X, Zhou X, et al. Self-renewal and differentiation capacity of urine-derived stem cells after urine preservation for 24 hours. *PloS One*. 2013;8(1):e53980.
167. Schosserer M, Reynoso R, Wally V, Jug B, Kantner V, Weilner S, et al. Urine is a novel source of autologous mesenchymal stem cells for patients with epidermolysis bullosa. *BMC Res Notes*. 10. prosinec 2015;8:767.
168. Bharadwaj S, Liu G, Shi Y, Wu R, Yang B, He T, et al. Multipotential differentiation of human urine-derived stem cells: potential for therapeutic applications in urology. *Stem Cells Dayt Ohio*. září 2013;31(9):1840–56.
169. Guan J, Zhang J, Guo S, Zhu H, Zhu Z, Li H, et al. Human urine-derived stem cells can be induced into osteogenic lineage by silicate bioceramics via activation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Biomaterials*. červenec 2015;55:1–11.
170. Liu G, Wu R, Yang B, Deng C, Lu X, Walker SJ, et al. Human Urine-Derived Stem Cell Differentiation to Endothelial Cells with Barrier Function and Nitric Oxide Production. *Stem Cells Transl Med*. září 2018;7(9):686–98.
171. Hwang Y, Cha SH, Hong Y, Jung AR, Jun HS. Direct differentiation of insulin-producing cells from human urine-derived stem cells. *Int J Med Sci*. 2019;16(12):1668–76.
172. Zhou M, Shen L, Qiao Y, Sun Z. Inducing differentiation of human urine-derived stem cells into hepatocyte-like cells by coculturing with human hepatocyte L02 cells. *J Cell Biochem*. leden 2020;121(1):566–73.
173. Guan JJ, Niu X, Gong FX, Hu B, Guo SC, Lou YL, et al. Biological characteristics of human-urine-derived stem cells: potential for cell-based therapy in neurology. *Tissue Eng Part A*. červenec 2014;20(13–14):1794–806.
174. Tondreau T, Meuleman N, Delforge A, Dejeneffe M, Leroy R, Massy M, et al. Mesenchymal stem cells derived from CD133-positive cells in mobilized peripheral blood and cord blood: proliferation, Oct4 expression, and plasticity. *Stem Cells Dayt Ohio*. září 2005;23(8):1105–12.
175. McGonagle D, Jones E. A potential role for synovial fluid mesenchymal stem cells in ligament regeneration. *Rheumatol Oxf Engl*. srpen 2008;47(8):1114–6.
176. Jackson WM, Nesti LJ, Tuan RS. Potential therapeutic applications of muscle-derived mesenchymal stem and progenitor cells. *Expert Opin Biol Ther*. duben 2010;10(4):505–17.
177. Huang YZ, He T, Cui J, Jiang YL, Zeng JF, Zhang WQ, et al. Urine-Derived Stem Cells for Regenerative Medicine: Basic Biology, Applications, and Challenges. *Tissue Eng Part B Rev*. říjen 2022;28(5):978–94.
178. Chang C, Yan J, Yao Z, Zhang C, Li X, Mao HQ. Effects of Mesenchymal Stem Cell-Derived Paracrine Signals and Their Delivery Strategies. *Adv Healthc Mater*. 2021;10(7):2001689.

179. Li C, Cheung MKH, Han S, Zhang Z, Chen L, Chen J, et al. Mesenchymal stem cells and their mitochondrial transfer: a double-edged sword. *Biosci Rep.* 3. květen 2019;39(5):BSR20182417.
180. Hafez P, Jose S, Chowdhury SR, Ng MH, Ruszymah BHI, Abdul Rahman Mohd R. Cardiomyogenic differentiation of human sternal bone marrow mesenchymal stem cells using a combination of basic fibroblast growth factor and hydrocortisone. *Cell Biol Int.* leden 2016;40(1):55–64.
181. Wang X, Zhen L, Miao H, Sun Q, Yang Y, Que B, et al. Concomitant Retrograde Coronary Venous Infusion of Basic Fibroblast Growth Factor Enhances Engraftment and Differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells for Cardiac Repair after Myocardial Infarction. *Theranostics.* 2015;5(9):995–1006.
182. Guo Y, Yu Y, Hu S, Chen Y, Shen Z. The therapeutic potential of mesenchymal stem cells for cardiovascular diseases. *Cell Death Dis.* 11. květen 2020;11(5):1–10.
183. Alanazi A, Alassiri M, Jawdat D, Almalik Y. Mesenchymal stem cell therapy: A review of clinical trials for multiple sclerosis. *Regen Ther.* prosinec 2022;21:201–9.
184. Bačenková D, Trebuňová M, Morochovič R, Dosedla E, Findrik Balogová A, Gašparová P, et al. Interaction between Mesenchymal Stem Cells and the Immune System in Rheumatoid Arthritis. *Pharm Basel Switz.* 28. červenec 2022;15(8):941.
185. Hoseinzadeh A, Rezaieyazdi Z, Afshari JT, Mahmoudi A, Heydari S, Moradi R, et al. Modulation of Mesenchymal Stem Cells-Mediated Adaptive Immune Effectors' Repertoire in the Recovery of Systemic Lupus Erythematosus. *Stem Cell Rev Rep.* 22. říjen 2022;
186. Inada R, Mendoza HY, Tanaka T, Horie T, Satomi T. Preclinical study for the treatment of diabetes mellitus using β -like cells derived from human dental pulp stem cells. *Regen Med.* prosinec 2022;17(12):905–13.
187. Lightner AL, Reese J, Ream J, Nachand D, Jia X, Pineiro AO, et al. A Phase IB/IIA study of allogeneic bone marrow derived mesenchymal stem cells for the treatment of refractory ileal anal anastomosis and peripouch fistulas in the setting of Crohn's disease of the pouch. *J Crohns Colitis.* 2. listopad 2022;jjac172.
188. Connick P, Kolappan M, Crawley C, Webber DJ, Patani R, Michell AW, et al. Autologous mesenchymal stem cells for the treatment of secondary progressive multiple sclerosis: an open-label phase 2a proof-of-concept study. *Lancet Neurol.* únor 2012;11(2):150–6.
189. Wang L, Wang L, Cong X, Liu G, Zhou J, Bai B, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell therapy for patients with active rheumatoid arthritis: safety and efficacy. *Stem Cells Dev.* 15. prosinec 2013;22(24):3192–202.
190. Duijvestein M, Vos ACW, Roelofs H, Wildenberg ME, Wendrich BB, Verspaget HW, et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cell treatment for refractory luminal Crohn's disease: results of a phase I study. *Gut.* prosinec 2010;59(12):1662–9.

191. Le Blanc K, Remberger M, Uzunel M, Mattsson J, Barkholt L, Ringdén O. A comparison of nonmyeloablative and reduced-intensity conditioning for allogeneic stem-cell transplantation. *Transplantation*. 15. říjen 2004;78(7):1014–20.
192. Ringdén O, Uzunel M, Rasmusson I, Remberger M, Sundberg B, Lönnies H, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease. *Transplantation*. 27. květen 2006;81(10):1390–7.
193. Lysak D, Vlas T, Holubova M, Miklikova M, Jindra P. In vitro testing of immunosuppressive effects of mesenchymal stromal cells on lymphocytes stimulated with alloantigens. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czechoslov*. červen 2015;159(2):215–9.
194. Moll G, Drzeniek N, Kamhieh-Milz J, Geissler S, Volk HD, Reinke P. MSC Therapies for COVID-19: Importance of Patient Coagulopathy, Thromboprophylaxis, Cell Product Quality and Mode of Delivery for Treatment Safety and Efficacy. *Front Immunol*. 2020;11:1091.
195. Jayaramayya K, Mahalaxmi I, Subramaniam MD, Raj N, Dayem AA, Lim KM, et al. Immunomodulatory effect of mesenchymal stem cells and mesenchymal stem-cell-derived exosomes for COVID-19 treatment. *BMB Rep*. srpen 2020;53(8):400–12.
196. Leng Z, Zhu R, Hou W, Feng Y, Yang Y, Han Q, et al. Transplantation of ACE2-Mesenchymal Stem Cells Improves the Outcome of Patients with COVID-19 Pneumonia. *Aging Dis*. duben 2020;11(2):216–28.
197. Le H, Xu W, Zhuang X, Chang F, Wang Y, Ding J. Mesenchymal stem cells for cartilage regeneration. *J Tissue Eng*. 26. srpen 2020;11:2041731420943839.
198. Russo E, Caprnda M, Kruzliak P, Conaldi PG, Borlongan CV, La Rocca G. Umbilical Cord Mesenchymal Stromal Cells for Cartilage Regeneration Applications. *Stem Cells Int*. 6. leden 2022;2022:2454168.
199. Shang F, Yu Y, Liu S, Ming L, Zhang Y, Zhou Z, et al. Advancing application of mesenchymal stem cell-based bone tissue regeneration. *Bioact Mater*. 21. září 2020;6(3):666–83.
200. Asgari Taei A, Khodabakhsh P, Nasoohi S, Farahmandfar M, Dargahi L. Paracrine Effects of Mesenchymal Stem Cells in Ischemic Stroke: Opportunities and Challenges. *Mol Neurobiol*. říjen 2022;59(10):6281–306.
201. Zhou L, Wang X, Wang X, An J, Zheng X, Han D, et al. Neuroprotective effects of human umbilical cord mesenchymal stromal cells in PD mice via centrally and peripherally suppressing NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory responses. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother*. září 2022;153:113535.
202. Maeda Y, Takeda M, Mitsuhashi T, Okazaki T, Shimizu K, Kuwabara M, et al. Longitudinal electrophysiological changes after mesenchymal stem cell transplantation in a spinal cord injury rat model. *PloS One*. 2022;17(8):e0272526.

203. Tahmasebi F, Barati S. Effects of mesenchymal stem cell transplantation on spinal cord injury patients. *Cell Tissue Res.* září 2022;389(3):373–84.
204. Rhode SC, Beier JP, Ruhl T. Adipose tissue stem cells in peripheral nerve regeneration-In vitro and in vivo. *J Neurosci Res.* únor 2021;99(2):545–60.
205. Guillamat-Prats R. The Role of MSC in Wound Healing, Scarring and Regeneration. *Cells.* 8. červenec 2021;10(7):1729.
206. Palek R, Rosendorf J, Maleckova A, Vistejnova L, Bajcurova K, Mirka H, et al. Influence of Mesenchymal Stem Cell Administration on The Outcome of Partial Liver Resection in a Porcine Model of Sinusoidal Obstruction Syndrome. *Anticancer Res.* prosinec 2020;40(12):6817–33.
207. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 1. prosinec 1994;372(6505):425–32.
208. Exley MA, Hand L, O’Shea D, Lynch L. Interplay between the immune system and adipose tissue in obesity. *J Endocrinol.* 1. listopad 2014;223(2):R41–8.
209. Vielma SA, Klein RL, Levingston CA, Young MRI. Adipocytes as immune regulatory cells. *Int Immunopharmacol.* červen 2013;16(2):224–31.
210. Bruun JM, Pedersen SB, Kristensen K, Richelsen B. Effects of pro-inflammatory cytokines and chemokines on leptin production in human adipose tissue in vitro. *Mol Cell Endocrinol.* 25. duben 2002;190(1–2):91–9.
211. Coppack SW. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proc Nutr Soc.* srpen 2001;60(3):349–56.
212. Gélóën A, Roy PE, Bukowiecki LJ. Regression of white adipose tissue in diabetic rats. *Am J Physiol.* říjen 1989;257(4 Pt 1):E547-553.
213. Ojha S, Budge H, Symonds ME. Adipocytes in Normal Tissue Biology. In: McManus LM, Mitchell RN, editoři. *Pathobiology of Human Disease* [Internet]. San Diego: Academic Press; 2014 [citován 17. listopad 2022]. s. 2003–13. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123864567044087>
214. Ronquillo MD, Mellnyk A, Cárdenas-Rodríguez N, Martínez E, Comoto DA, Carmona-Aparicio L, et al. Different gene expression profiles in subcutaneous & visceral adipose tissues from Mexican patients with obesity. *Indian J Med Res.* květen 2019;149(5):616–26.
215. Ibrahim MM. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes.* leden 2010;11(1):11–8.
216. Yi W, Kim K, Im M, Ryang S, Kim EH, Kim M, et al. Association between visceral adipose tissue volume, measured using computed tomography, and cardio-metabolic risk factors. *Sci Rep.* 10. leden 2022;12(1):387.

217. Nicholls DG, Locke RM. Thermogenic mechanisms in brown fat. *Physiol Rev.* leden 1984;64(1):1–64.
218. Virtanen KA, Lidell ME, Orava J, Heglind M, Westergren R, Niemi T, et al. Functional brown adipose tissue in healthy adults. *N Engl J Med.* 9. duben 2009;360(15):1518–25.
219. Jiang S, Bae JH, Wang Y, Song W. The Potential Roles of Myokines in Adipose Tissue Metabolism with Exercise and Cold Exposure. *Int J Mol Sci.* 29. září 2022;23(19):11523.
220. Aldiss P, Betts J, Sale C, Pope M, Budge H, Symonds ME. Exercise-induced ‘browning’ of adipose tissues. *Metabolism.* 1. duben 2018;81:63–70.
221. De Matteis R, Lucertini F, Guescini M, Polidori E, Zeppa S, Stocchi V, et al. Exercise as a new physiological stimulus for brown adipose tissue activity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 1. červen 2013;23(6):582–90.
222. Zheng Z, Liu X, Zhao Q, Zhang L, Li C, Xue Y. Regulation of UCP1 in the Browning of Epididymal Adipose Tissue by β 3-Adrenergic Agonist: A Role for MicroRNAs. *Int J Endocrinol.* 17. prosinec 2014;2014:e530636.
223. Baskaran P, Krishnan V, Ren J, Thyagarajan B. Capsaicin induces browning of white adipose tissue and counters obesity by activating TRPV1 channel-dependent mechanisms. *Br J Pharmacol.* 2016;173(15):2369–89.
224. Wang S, Wang X, Ye Z, Xu C, Zhang M, Ruan B, et al. Curcumin promotes browning of white adipose tissue in a norepinephrine-dependent way. *Biochem Biophys Res Commun.* 16. říjen 2015;466(2):247–53.
225. Zhao D, Pan Y, Yu N, Bai Y, Ma R, Mo F, et al. Curcumin improves adipocytes browning and mitochondrial function in 3T3-L1 cells and obese rodent model. *R Soc Open Sci.* 17. březen 2021;8(3):200974.
226. Wu J, Boström P, Sparks LM, Ye L, Choi JH, Giang AH, et al. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell.* 20. červenec 2012;150(2):366–76.
227. Bartelt A, Heeren J. Adipose tissue browning and metabolic health. *Nat Rev Endocrinol.* leden 2014;10(1):24–36.
228. Valencak TG, Osterrieder A, Schulz TJ. Sex matters: The effects of biological sex on adipose tissue biology and energy metabolism. *Redox Biol.* srpen 2017;12:806–13.
229. Cinti S. Reversible physiological transdifferentiation in the adipose organ. *Proc Nutr Soc.* listopad 2009;68(4):340–9.
230. Cinti S. Pink Adipocytes. *Trends Endocrinol Metab.* 1. září 2018;29(9):651–66.
231. Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev.* leden 2008;88(1):125–72.

232. Wang CH, Wang CC, Wei YH. Mitochondrial dysfunction in insulin insensitivity: implication of mitochondrial role in type 2 diabetes. *Ann N Y Acad Sci.* červenec 2010;1201:157–65.
233. Logan DC. The mitochondrial compartment. *J Exp Bot.* 2006;57(6):1225–43.
234. Zalman LS, Nikaido H, Kagawa Y. Mitochondrial outer membrane contains a protein producing nonspecific diffusion channels. *J Biol Chem.* 10. březen 1980;255(5):1771–4.
235. Dadsena S, Zollo C, García-Sáez AJ. Mechanisms of mitochondrial cell death. *Biochem Soc Trans.* 30. duben 2021;49(2):663–74.
236. Parsons MJ, Green DR. Mitochondria in cell death. *Essays Biochem.* 2010;47:99–114.
237. Malek MH, Hüttemann M, Lee I. Mitochondrial Structure, Function, and Dynamics: The Common Thread across Organs, Disease, and Aging. *Oxid Med Cell Longev.* 8. únor 2018;2018:1863414.
238. Benard G, Faustin B, Passerieux E, Galinier A, Rocher C, Bellance N, et al. Physiological diversity of mitochondrial oxidative phosphorylation. *Am J Physiol Cell Physiol.* prosinec 2006;291(6):C1172-1182.
239. Zeviani M, Di Donato S. Mitochondrial disorders. *Brain J Neurol.* říjen 2004;127(Pt 10):2153–72.
240. Friedman JR, Nunnari J. Mitochondrial form and function. *Nature.* 16. leden 2014;505(7483):335–43.
241. Cedikova M, Pitule P, Kripnerova M, Markova M, Kuncova J. Multiple roles of mitochondria in aging processes. *Physiol Res.* 22. prosinec 2016;65(Suppl 5):S519–31.
242. Kladnická I, Čedíková M, Kripnerová M, Dvořáková J, Kohoutová M, Tůma Z, et al. Mitochondrial Respiration of Adipocytes Differentiating From Human Mesenchymal Stem Cells Derived From Adipose Tissue. *Physiol Res.* 30. prosinec 2019;S287–96.
243. Si Y, Palani S, Jayaraman A, Lee K. Effects of forced uncoupling protein 1 expression in 3T3-L1 cells on mitochondrial function and lipid metabolism. *J Lipid Res.* duben 2007;48(4):826–36.
244. Wilson-Fritch L, Nicoloso S, Chouinard M, Lazar MA, Chui PC, Leszyk J, et al. Mitochondrial remodeling in adipose tissue associated with obesity and treatment with rosiglitazone. *J Clin Invest.* listopad 2004;114(9):1281–9.
245. Bremer J, Bjerve KS, Borrebaek B, Christiansen R. The glycerophosphateacyltransferases and their function in the metabolism of fatty acids. *Mol Cell Biochem.* 30. srpen 1976;12(2):113–25.

246. Franckhauser S, Muñoz S, Pujol A, Casellas A, Riu E, Otaegui P, et al. Increased fatty acid re-esterification by PEPCCK overexpression in adipose tissue leads to obesity without insulin resistance. *Diabetes*. březen 2002;51(3):624–30.
247. Böhm A, Keuper M, Meile T, Zdichavsky M, Fritsche A, Häring HU, et al. Increased mitochondrial respiration of adipocytes from metabolically unhealthy obese compared to healthy obese individuals. *Sci Rep*. 24. červenec 2020;10(1):12407.
248. Hansen M, Lund MT, Gregers E, Kraunsøe R, Van Hall G, Helge JW, et al. Adipose tissue mitochondrial respiration and lipolysis before and after a weight loss by diet and RYGB. *Obesity*. 2015;23(10):2022–9.
249. Chan DC. Mitochondria: dynamic organelles in disease, aging, and development. *Cell*. 30. červen 2006;125(7):1241–52.
250. De Pauw A, Tejerina S, Raes M, Keijer J, Arnould T. Mitochondrial (dys)function in adipocyte (de)differentiation and systemic metabolic alterations. *Am J Pathol*. zří 2009;175(3):927–39.
251. Cedikova M, Kripnerová M, Dvorakova J, Pitule P, Grundmanova M, Babuska V, et al. Mitochondria in White, Brown, and Beige Adipocytes. *Stem Cells Int*. 2016;2016:6067349.
252. Poissonnet CM, Burdi AR, Garn SM. The chronology of adipose tissue appearance and distribution in the human fetus. *Early Hum Dev*. zří 1984;10(1–2):1–11.
253. Rosen ED, MacDougald OA. Adipocyte differentiation from the inside out. *Nat Rev Mol Cell Biol*. prosinec 2006;7(12):885–96.
254. Sharma RP, Chopra VL. Effect of the Wingless (wg1) mutation on wing and haltere development in *Drosophila melanogaster*. *Dev Biol*. únor 1976;48(2):461–5.
255. Rijsewijk F, Schuermann M, Wagenaar E, Parren P, Weigel D, Nusse R. The *Drosophila* homolog of the mouse mammary oncogene int-1 is identical to the segment polarity gene wingless. *Cell*. 14. srpen 1987;50(4):649–57.
256. Ross SE, Hemati N, Longo KA, Bennett CN, Lucas PC, Erickson RL, et al. Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling. *Science*. 11. srpen 2000;289(5481):950–3.
257. Gupta RK, Arany Z, Seale P, Mepani RJ, Ye L, Conroe HM, et al. Transcriptional control of preadipocyte determination by Zfp423. *Nature*. 25. březen 2010;464(7288):619–23.
258. Zamani N, Brown CW. Emerging roles for the transforming growth factor- β superfamily in regulating adiposity and energy expenditure. *Endocr Rev*. červen 2011;32(3):387–403.
259. Tamori Y, Masugi J, Nishino N, Kasuga M. Role of peroxisome proliferator-activated receptor- γ in maintenance of the characteristics of mature 3T3-L1 adipocytes. *Diabetes*. červenec 2002;51(7):2045–55.

260. Fujimoto T, Parton RG. Not just fat: the structure and function of the lipid droplet. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 1. března 2011;3(3).
261. Fujimoto T, Ohsaki Y, Cheng J, Suzuki M, Shinohara Y. Lipid droplets: a classic organelle with new outfits. *Histochem Cell Biol.* srpen 2008;130(2):263–79.
262. Wilfling F, Haas JT, Walther TC, Farese RV. Lipid droplet biogenesis. *Curr Opin Cell Biol.* srpen 2014;29:39–45.
263. Czabany T, Wagner A, Zweytick D, Lohner K, Leitner E, Ingolic E, et al. Structural and biochemical properties of lipid particles from the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem.* 20. červen 2008;283(25):17065–74.
264. Blanchette-Mackie EJ, Dwyer NK, Barber T, Coxey RA, Takeda T, Rondinone CM, et al. Perilipin is located on the surface layer of intracellular lipid droplets in adipocytes. *J Lipid Res.* červen 1995;36(6):1211–26.
265. Londos C, Gruia-Gray J, Brasaemle DL, Rondinone CM, Takeda T, Dwyer NK, et al. Perilipin: possible roles in structure and metabolism of intracellular neutral lipids in adipocytes and steroidogenic cells. *Int J Obes Relat Metab Disord J Int Assoc Study Obes.* března 1996;20 Suppl 3:S97-101.
266. Sentinelli F, Capoccia D, Incani M, Bertocchini L, Severino A, Pani MG, et al. The perilipin 2 (PLIN2) gene Ser251Pro missense mutation is associated with reduced insulin secretion and increased insulin sensitivity in Italian obese subjects. *Diabetes Metab Res Rev.* září 2016;32(6):550–6.
267. Boschi F, Rizzatti V, Zamboni M, Sbarbati A. Models of lipid droplets growth and fission in adipocyte cells. *Exp Cell Res.* 15. srpen 2015;336(2):253–62.
268. Puche JE, Saiman Y, Friedman SL. Hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Compr Physiol.* říjen 2013;3(4):1473–92.
269. Dichlberger A, Schlager S, Maaninka K, Schneider WJ, Kovanen PT. Adipose triglyceride lipase regulates eicosanoid production in activated human mast cells. *J Lipid Res.* prosinec 2014;55(12):2471–8.
270. Gartung A, Zhao J, Chen S, Mottillo E, VanHecke GC, Ahn YH, et al. Characterization of Eicosanoids Produced by Adipocyte Lipolysis: IMPLICATION OF CYCLOOXYGENASE-2 IN ADIPOSE INFLAMMATION. *J Biol Chem.* 29. červenec 2016;291(31):16001–10.
271. Schlager S, Goeritzer M, Jandl K, Frei R, Vujic N, Kolb D, et al. Adipose triglyceride lipase acts on neutrophil lipid droplets to regulate substrate availability for lipid mediator synthesis. *J Leukoc Biol.* listopad 2015;98(5):837–50.
272. Abramczyk H, Surmacki J, Kopeć M, Olejnik AK, Lubecka-Pietruszewska K, Fabianowska-Majewska K. The role of lipid droplets and adipocytes in cancer. Raman imaging of cell cultures: MCF10A, MCF7, and MDA-MB-231 compared to adipocytes in cancerous human breast tissue. *The Analyst.* 7. duben 2015;140(7):2224–35.

273. Krahmer N, Farese RV, Walther TC. Balancing the fat: lipid droplets and human disease. *EMBO Mol Med.* červenec 2013;5(7):973–83.
274. Dvořáková J, Čedíková M, Malečková A, Kulda V, Tonar Z, Müllerová D. The origin and development of fat droplet and its role in health and illness. *Cas Lek Cesk.* Fall 2018;157(5):254–62.
275. Kladnicka I, Bludovska M, Plavinova I, Muller L, Mullerova D. Obesogens in Foods. *Biomolecules.* 9. květen 2022;12(5):680.
276. Xu W, Wang X, Cai Z. Analytical chemistry of the persistent organic pollutants identified in the Stockholm Convention: A review. *Anal Chim Acta.* 6. srpen 2013;790:1–13.
277. Neel BA, Sargis RM. The paradox of progress: environmental disruption of metabolism and the diabetes epidemic. *Diabetes.* červenec 2011;60(7):1838–48.
278. Yang C, Kong APS, Cai Z, Chung ACK. Persistent Organic Pollutants as Risk Factors for Obesity and Diabetes. *Curr Diab Rep.* 2. listopad 2017;17(12):132.
279. Kallenborn R. Persistent organic pollutants (POPs) as environmental risk factors in remote high-altitude ecosystems. *Ecotoxicol Environ Saf.* leden 2006;63(1):100–7.
280. Achour A, Derouiche A, Barhoumi B, Kort B, Cherif D, Bouabdallah S, et al. Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue from northern Tunisia: Current extent of contamination and contributions of socio-demographic characteristics and dietary habits. *Environ Res.* červenec 2017;156:635–43.
281. Jimenez Torres M, Campoy Folgoso C, Cañabate Reche F, Rivas Velasco A, Cerrillo Garcia I, Mariscal Arcas M, et al. Organochlorine pesticides in serum and adipose tissue of pregnant women in Southern Spain giving birth by cesarean section. *Sci Total Environ.* 15. prosinec 2006;372(1):32–8.
282. Malarvannan G, Dirinck E, Dirtu AC, Pereira-Fernandes A, Neels H, Jorens PG, et al. Distribution of persistent organic pollutants in two different fat compartments from obese individuals. *Environ Int.* květen 2013;55:33–42.
283. Müllerová D, Kopecký J. White adipose tissue: storage and effector site for environmental pollutants. *Physiol Res Acad Sci Bohemoslov.* 2007;56(4):375–81.
284. Mustieles V, Fernández MF, Martín-Olmedo P, González-Alzaga B, Fontalba-Navas A, Hauser R, et al. Human adipose tissue levels of persistent organic pollutants and metabolic syndrome components: Combining a cross-sectional with a 10-year longitudinal study using a multi-pollutant approach. *Environ Int.* červenec 2017;104:48–57.
285. Li X, Ycaza J, Blumberg B. The environmental obesogen tributyltin chloride acts via peroxisome proliferator activated receptor gamma to induce adipogenesis in murine 3T3-L1 preadipocytes. *J Steroid Biochem Mol Biol.* říjen 2011;127(1–2):9–15.

286. Masuno H, Kidani T, Sekiya K, Sakayama K, Shiosaka T, Yamamoto H, et al. Bisphenol A in combination with insulin can accelerate the conversion of 3T3-L1 fibroblasts to adipocytes. *J Lipid Res.* květen 2002;43(5):676–84.
287. Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell.* 30. prosinec 1994;79(7):1147–56.
288. Kim SA, Lee H, Park SM, Kim MJ, Lee YM, Yoon YR, et al. Effect of Low-Dose Persistent Organic Pollutants on Mitochondrial Function: Human and in Vitro Evidence. *Diabetes Metab J.* červenec 2022;46(4):592–604.
289. Williams G. Aromatase up-regulation, insulin and raised intracellular oestrogens in men, induce adiposity, metabolic syndrome and prostate disease, via aberrant ER- α and GPER signalling. *Mol Cell Endocrinol.* 4. duben 2012;351(2):269–78.
290. Darbre PD. Endocrine Disruptors and Obesity. *Curr Obes Rep.* březen 2017;6(1):18–27.
291. Dvořáková J, Kripnerová M, Čedíková M, Babuška V, Kulda V, Pešta M, et al. Vliv perzistentních organických polutantů na mitochondriální funkce a vznik metabolického syndromu. *Chem Listy.* 15. červen 2015;109(6):418–23.
292. Montano L, Pironti C, Pinto G, Ricciardi M, Buono A, Brogna C, et al. Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in the Environment: Occupational and Exposure Events, Effects on Human Health and Fertility. *Toxics.* 1. červenec 2022;10(7):365.
293. Park EY, Park E, Kim J, Oh JK, Kim B, Hong YC, et al. Impact of environmental exposure to persistent organic pollutants on lung cancer risk. *Environ Int.* říjen 2020;143:105925.
294. ČR M. Stockholmská úmluva o persistentních organických polutantech (2001) [Internet]. <http://.> 2008 [citován 23. listopad 2022]. Dostupné z: https://www.mzp.cz/stockholmska_umluva_polutanty

5 PŘÍLOHY

5.1 Seznam prací autorky mimo téma habilitační práce

5.1.1 Původní a přehledové články

1. Hejretová L., Weberová K., Čedíková M., Lysák D., Jindra P., Holubová M. Invariantní NKT buňky a jejich využití pro imunomodulaci GvHD – souhrn literatury a preklinická data. *Transfuze a hematologie dnes*, 28(3), 164-172.
2. Pandey S., Tuma Z., Smrhova T., Cedikova M., Macanova T., Chottova Dvorakova M. Laser Capture Microdissection Coupled Capillary Immunoassay to Study the Expression of PCK-2 on Spatially-Resolved Islets of Rat Langerhans. *Pharmaceutics*. 2021 Jun 15;13(6):883. doi: 10.3390/pharmaceutics13060883. PMID: 34203686; PMCID: PMC8232303. IF₂₀₂₁ = 6,525
3. Machuldova A., Holubova M., Caputo V.S., Cedikova M., Jindra P., Houdova L., Pitule P. Role of Polymorphisms of NKG2D Receptor and Its Ligands in Acute Myeloid Leukemia and Human Stem Cell Transplantation. *Front Immunol*. 2021 Mar 30;12:651751. doi: 10.3389/fimmu.2021.651751. PMID: 33868289; PMCID: PMC8044845. IF₂₀₂₁ = 8,787
4. Lysak D., Brychtová M., Leba M., Čedíková M., Georgiev D., Jindra P., Vlas T., Holubova M. Long-Term Cryopreservation Does Not Affect Quality of Peripheral Blood Stem Cell Grafts: A Comparative Study of Native, Short-Term and Long-Term Cryopreserved Haematopoietic Stem Cells. *Cell Transplant*. 2021 Jan-Dec;30:9636897211036004. doi: 10.1177/09636897211036004. PMID: 34328022; PMCID: PMC8327011. IF₂₀₂₁ = 4,139
5. Dejmek J., Markova M., Kripnerova M., Cedikova M., Tuma Z., Babuska V., Bolek L., Kuncova J. Repeated exposure to hyperbaric hyperoxia affects

- mitochondrial functions of the lung fibroblasts. *Physiol Res.* 2018 Dec 31;67(Suppl 4):S633-S643. doi: 10.33549/physiolres.934046. PMID: 30607970. IF₂₀₁₈ = 1,701
6. Kozeluhova J., Kotyza J., Balihar K., Krcma M., Cedikova M., Karbanova J., Kalis V., Janska E., Matejovic M. Risk of anal incontinence in women with inflammatory bowel diseases after delivery. *Bratisl Lek Listy.* 2017;118(6):328-333. IF₂₀₁₇ = 0,678
 7. Krakorová K., Čedíková M., Polívka J. Autosomálně dominantní spinocerebelární ataxie: review. *Plzeňský lékařský sborník*, 2018 (84), 55-62.
 8. Dejmek J., Čedíková M., Bolek L., Marková M., Babuška V., Kuncová J. Mikrohyperbarie – možnost studia buněčného metabolismu v odlišných fyzikálních podmínkách. *Plzeňský lékařský sborník*, 2018 (84), 37-42.
 9. Kuncová J., Jirkovská A., Švíglerová J., Marková M., Meireles D., Čedíková M. Neonatal capsaicin administration impairs postnatal development of the cardiac chronotropy and inotropy in rats. *Physiol Res.* 2016 Dec 22;65(Supplementum 5):S633-S642. IF₂₀₁₆ = 1,461
 10. Grundmanová M., Jarkovská D., Süß A., Tůma Z., Marková M., Grundman Z., El-Kadi A., Čedíková M., Štengl M., Kuncová J. Propofol-induced mitochondrial and contractile dysfunction of the rat ventricular myocardium. *Physiol Res.* 2016 Dec 22;65(Supplementum 5):S601-S609. IF₂₀₁₆ = 1,461
 11. Čedíková M., Kripnerová M., Pitule P., Marková M., Kuncová J. Is Aging Reversible? – Beneficial Effects of Exercise. *Plzeňský lékařský sborník.*, 2016 (82), 9-15.
 12. Čedíková M., Miklíková M., Stachová L., Grundmanová M., Tůma Z., Větvička V., Zech N., Králíčková M., Kuncová J. Effects of Czech propolis on sperm mitochondrial function. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.*

Volume 2014 (2014), Article ID 248768, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/248768>.

IF₂₀₁₄ = 1,880

13. Pitule P., Čedíková M., Daum O., Vojtíšek J., Vyčítal O., Hošek P., Třeška V., Hes O., Králíčková M., Liška V. Immunohistochemical detection of cancer stem cell related markers CD44 and CD133 in metastatic colorectal cancer patients. *Biomed Res Int.* 2014;2014:432139. doi: 10.1155/2014/432139. Epub 2014 Apr 22. IF₂₀₁₄ = 1,579
14. Gonçalves Ferreira N., Černá L., Čedíková M., Bibková K., Mičanová Z., Ulčová-Gallová Z. Some immunological properties of female saliva and its effect on sperm motility. *Cas Lek Cesk.* 2014;153(2):86-90.
15. Čedíková M., Miklíková M., Grundmanová M., Zech N. H., Králíčková M., Kuncová J. Sperm mitochondrial function in men with normozoospermia and asthenozoospermia. *Ceska Gynekol.* 2014 Jan;79(1):22-8.
16. Lhotská P., Martínek P., Čedíková M., Lošan P., Králíčková M., Kališ V., Novotný Z. Vyšetření bodových mutací v genu pro interleukin-11 (IL-11) v populaci neplodných žen a plodných kontrol. *Ceska Gynekol.* 2014 Jan;79(1):48-52.
17. Čedíková M., Babuška V., Lhotská P., Lošan P., Zech N.H., Králíčková M., Novotný Z. Effect of overweight on the outcome of assisted reproductive technology in infertile women. *Ceska Gynekol.* 2014 Jan;79(1):16-21.
18. Čedíková M., Houdek Z., Babuška V., Kulda V., Vožeh F., Zech N., Černá L., Krakorová K., Králíčková M., Cendelín J. Fate of two types of cerebellar graft in wild type and cerebellar mutant mice. *J Appl Biomed*, 2014, 12 (1): 17 - 23. IF₂₀₁₄ = 1,302.

19. Pitule P., Cedikova M., Treska V., Kralickova M., Liska V. Assessing colorectal cancer heterogeneity: one step closer to tailored medicine. *J Appl Biomed*, 2013, 11 (3). IF₂₀₁₃ = 1,775
20. Čedíková M., Ulčová-Gallová Z., Bibková K., Mičanová Z. The incidence of latent asymptomatic celiac disease in women with decreased fertility. *Ceska Gynekol.* 2013 Jun; 78 (3):247-51.
21. Ulčová-Gallová Z., Mocková A, Čedíková M. Screening tests of reproductive immunology in systemic lupus erythematosus. *Autoimmune Dis.* 2012;2012:812138. doi: 10.1155/2012/812138.
22. Babuška V, Čedíková M., Rajdl D., Racek J., Zech N. H., Novotný Z., Králíčková M. Comparison of selective oxidative stress parameters in the follicular fluid of infertile women and healthy fertile oocyte donors. *Ceska Gynekol.* 2012, 77(6), 543-8.
23. Čedíková M., Krakorová K., Králíčková M.: Diferenciace myších embryonálních buněk do kardiomyocytů. *Plzeňský lékařský sborník*, 2012 (78), 27-32.
24. Čedíková M., Babuška V., Rajdl D., Zech N., Kališ V., Králíčková M Comparison of prolactin, free T3 and free T4 levels in the follicular fluid of infertile women and healthy fertile oocyte donors. *Ceska Gynekol.* 2012 Oct;77(5):471-6.
25. Ůrgerová A., Pitule P., Čedíková M., Bouda J. Nádorové buňky u karcinomu ovaria. *Praktická gynekologie*, 2012, 16(1), 42-44.
26. Houdek Z., Cendelín J., Kulda V., Babuška V., Čedíková M., Králíčková M., Pacherník J., Zech N., Stefano G. B., Vožeh F. Intracerebellar application of P19-derived neuroprogenitor and naive stem cells to Lurcher mutant and wild type B6CBA mice. *Med Sci Monit.* 2012 May;18(5):BR174-180. IF₂₀₁₂ = 1,358

27. Pitule P., Liška V., Třeška V., Novák P., Čedíková M., Králíčková M. Přínos molekulární biologie v diagnostice a léčbě kolorektálního karcinomu – současnost a budoucnost. *Rozhl.Chir.*, 2011, roč. 90, č. 6, s. 315 – 323.
28. Čedíková M., Černá L., Kohoutová A. Protilátky proti gliadinu a tkáňové transglutamináze u pacientek s opakovanými potraty a in vitro fertilizacích. *Plzeňský lékařský sborník*, 2010.
29. Čedíková M., Černá L., Ulčová-Gallová Z., Bibková K., Hodinová A., Mičanová Z. Životní styl plzeňských vysokoškolaček a jeho vliv na výskyt vaginální mykózy. *Čes. gynek.* 2009 Feb.; 74(1): 27-30.

5.1.2 Kapitola v knize

1. Králíčková. M., Čedíková M., Pitule P., Šíma P., Větvička V. The Impact of Follicular Fluid Components and Embryo-Endometrial Cross-Talk on the Oocyte Quality or Embryo Viability: Search for New Biomarkers . – In: Renato NASCIMENTO, and Henrique Vilas BOAS, eds. *Infertility: Genetic Factors, Treatment Risks and Benefits, Social and Psychological Consequences*. New York: Nova Science Publishers, January 2013, pp. 59-76, ISBN: 978-1-62257-909-9.