

jako ruptura sleziny, akutní poškození plic a přechodný hyperkoagulační stav (9).

Mezenchymální kmenové buňky (mesenchymal stem cell – MSC) představují heterogenní podskupinu stromálních buněk, které se mohou vyskytovat téměř ve všech tkáních, ale ve velmi malém množství (přibližně 1 ku 10 000 buněk kostní dřeně). Je však možné namnožit je *in vitro* (9). Pro MSC je charakteristická přítomnost znaků CD29, CD73, CD90, CD44. Zdrojem MSC je kostní dřeň, periferní krev, tuková tkáň, embryonální tkáň a fetální tkáň (krev pupečnicku, Warthonův rosol, amnion, amnionová tekutina a placenta). K dalším alternativním zdrojům patří zubní dřeň, periodontální ligamenta, nervová tkáň a endometrium (17, 21). Zvažovala se i možnost použití menstruační krve, čímž by se zjednodušil odběr i pro samotnou pacientku (22).

MSC v porovnání s BMMNC a PBMNC mají několik výhod. Jsou lehké dostupné na odběr a mají širokou schopnost diferenciaci na jiný typ tkáně. Jejich imunosupresivní a protizánětlivé vlastnosti jsou pořád předmětem diskuze (23). Výhodou je také jejich nízká imunogenita, tím pádem je možné zvážit i alogenní ACT od zdravého dárce (21). Nevýhodou je potřeba kultivace, což zvyšuje časovou náročnost jejich využití. Odebraná tkáň je promývána a nařezána na několikamilimetrové části, které jsou následně vloženy do nádob s kultivačním médiem, kde několik dnů rostou. Je možnost tkáň nejprve kultivovat s enzymatickým roztokem (např. Hankův roztok), které z tkáně odstraní zbývající extracelulární matrix. Tím pádem se izolované buňky nebo jejich shluky uvolní od ostatních složek tkáně a můžou být dále kultivovány (24).

Dle metaanalýzy Sun et al. 2022 není zatím jasné, jestli mají větší terapeutický efekt MSC pocházející z kostní dřeně, nebo PBMNC (25). Jiná studie publikovaná Lu et al. z roku 2011 prokázala více zhojených defektů za kratší čas (přesněji o 4 týdny) po aplikaci MSC z kostní dřeně oproti aplikaci BMMNC. Došlo i ke zlepšení perfuze podle měření transkutánní tenze kyslíku (TcPO₂), ABI, hodnocení délky chůze bez klaudikací, ABI a magnetické rezonanční angiografie. Na druhé straně nebyl pozorován rozdíl mezi počtem amputací a redukcí bolesti (26).

Byly také identifikovány endoteliální prekursorové buňky (endothelial progenitor cell – EPC), které představují skupinu buněk skládající se z 2 hlavních linií, a to z hematopoetické a endoteliální. Hlavní zástupci hematopoetické linie jsou myeloidní angiogenní buňky (myeloid angiogenic cells – MAC) pocházející z mononukleární frakce periferní krve. Nejsou schopné diferenciaci na endotelové buňky, avšak podporují angiogenezi přes jejich parakrinní aktivitu. Endoteliální linii představují endoteliální kolonie formující buňky (endothelial colony forming cells – ECFC), které pocházejí z pupečnickové krve nebo mononukleární frakce periferní krve. Mají proliferační potenciál a schopnost formace cév *de novo* i reparace poškozených cév (27).

Za pomoci neurálních kmenových buněk (neural stem cell – NSC) je potenciálně možné docílit regenerace postižených periferních nervů (28). NSC se nachází ve ventrikulární, subventrikulární (v-SVZ) a subgranulární zóně (SGZ) mozku (29). Použití těchto buněk má ale několik limitací. První z ní je vysoké riziko při jejich odběru, dále malé množství odebraných buněk, a nakonec i jejich nízký proliferační potenciál (30). Studie ohledně použití NSC při léčbě pacientů s CLTI zatím žádné nejsou. Dosud byla publikovaná pouze studie ohledně použití NSC u pacientů po cévní mozkové příhodě, která popsala určité zlepšení motorické hybnosti u pacientů po ACT, ale je potřeba ještě mnoha dalších studií (31).

Endometriální kmenové buňky (endometrial-derived stem cells – EnSC) mají vysokou schopnost proliferace a diferenciaci, proto představují potenciál pro regeneraci tkáně. Rovněž jako MSC vykazují nízkou imunogenitu a schopnost parakrinní aktivity, což má klíčovou roli v procesu angiogeneze (17). Navíc endometriální progenitorové buňky a mezenchymální buňky pocházející z menstruační krve jsou schopné se *in vitro* i *in vivo* podmínkách transdiferencovat na myoblasty/ myocyty (32). Nakonec *in vitro* podmínkách byla potvrzena i schopnost diferenciaci EnSC na neurální buňky. Pomocí EnSC by bylo proto potenciálně možné nejenom stimulovat angiogenezi v postižené končetině, ale i zlepšit stav svalové tkáně a periferních nervů (17). Jednotlivé typy kmenových buněk a jejich znaků jsou uvedeny v tabulce 1.

Tab. 1. Přehled kmenových buněk, jejich zdroje a typické povrchové znaky (17)

Typ kmenových buněk	Zdroj	Povrchové znaky (phenotype)
Mononukleární frakce buněk kostní dřeně (BMMNC)	Kostní dřeň	CD34+, PROM1 (CD133)+, KIT (C-Kit)+, CD14-, CD45-
Frakce jaderných buněk z periferní krve (PBMNC)	Periferní krev, krev z pupečnicku, vyplavené z kostní dřeně	CD34+, CD14-, CD45-
Mezenchymální kmenové buňky (MSC)	Kostní dřeň, periferní krev, pupečník, tuková tkáň, svalová tkáň, kůže, tkáň srdce	CD73+, CD90+, 105+, CD34-, CD45-, D11b-, CD14-, CD19-, CD79a-, HLA-DR-
Myeloidní angiogenní buňky (MAC)	Mononukleární frakce periferní krve	CD45+, CD14+, CD31+
Endoteliální buňky formující kolonie (ECFC)	Pupečnicková krev, mononukleární frakce periferní krve	CD31+, CD105+, CD146+, CD 34+ (exprimace může v průběhu expanze <i>in vitro</i> klesat)
Neurální kmenové buňky (NSC)	Ventrikulární, subventrikulární a subgranulární zóna mozku, neurosféry, prekursorové neurální embryonální kmenové buňky	CD184+, CD24+, nestin+, FGF-R+, GFAP+, SOX1/2+, FOXO-3+, TLX+, CD271+, CD44+
Endometriální kmenové buňky (EnSC)	Endometrium	CD146+, PDGF-, Rβ+, CD29+, CD44+, CD73+, CD90+, CD105+, SSEA-1, CD34-, CD31-, CD45-

CD – the cluster of differentiation, PROM1 – prominin-1, c-Kit – stem cell factor receptor, HLA – hlavní histokompatibilní komplex, FGF-R – receptor pro fibroblastový růstový faktor, GFAP – gliální fibrilární protein, SOX1/2 – SOX transkripční faktor, FOXO-3 – Forkhead box O3, TLX – TLX transkripční faktor, PDGF – destičkový růstový faktor, SSEA-1 – stage-specific mouse embryonic antigen