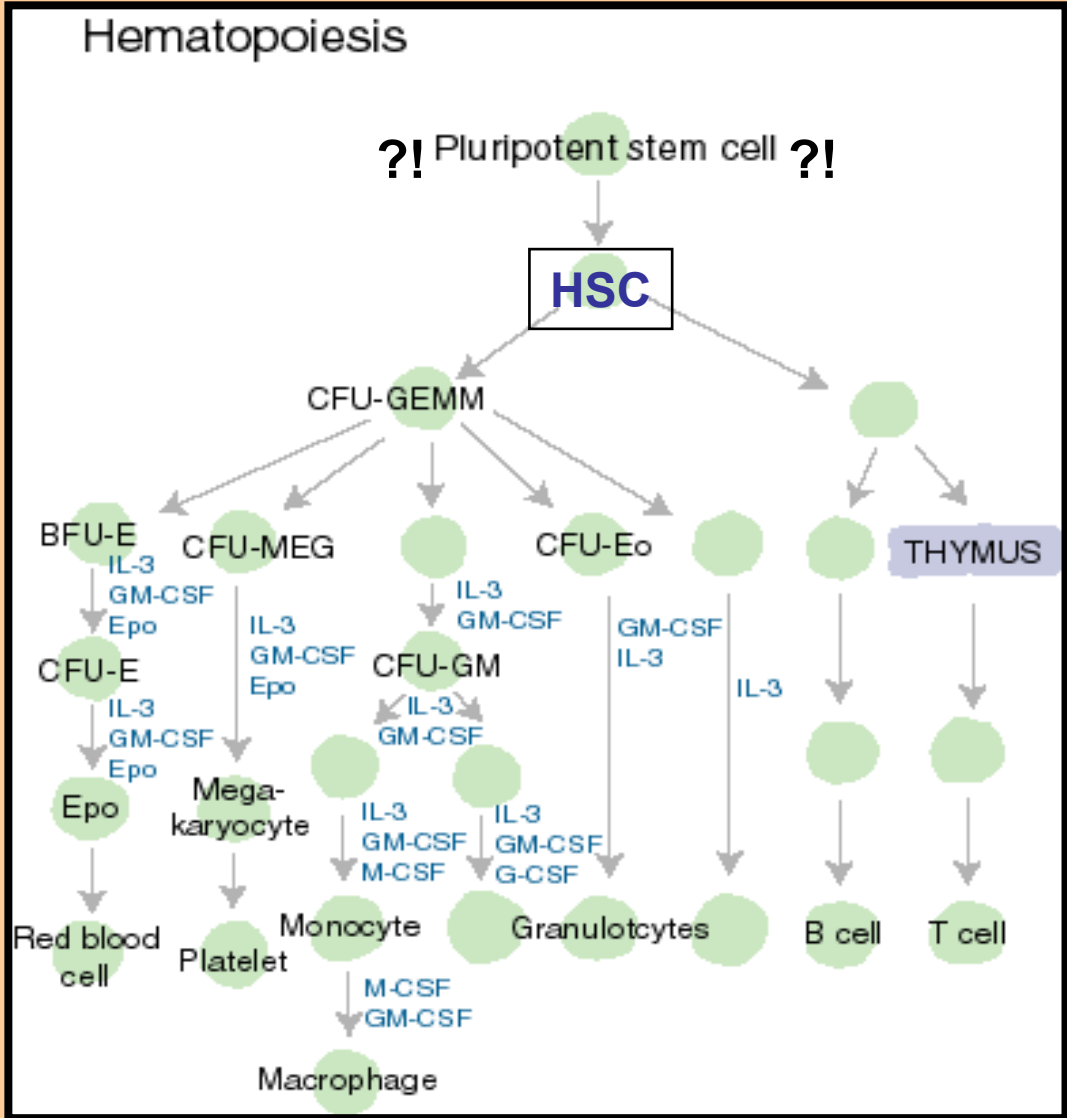


# Hematopoetické kmenové buňky – HSCs (hematopoietic stem cells)

Hematopoéza + ?

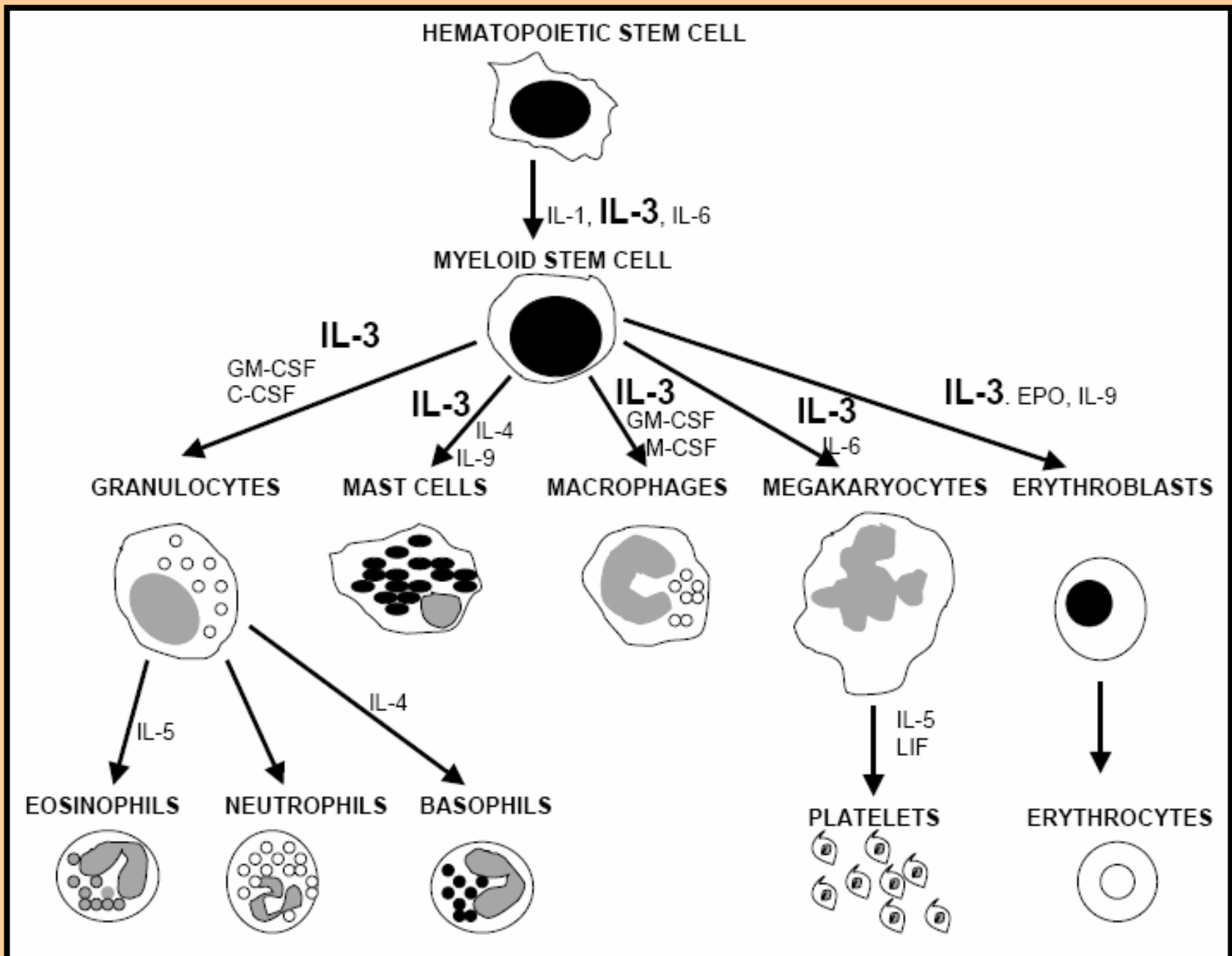


Kostní dřeň - <0.01% buněk  
 ~ 98 % v G<sub>0</sub> fázi buněčného cyklu  
 (LT-HSC)

Jsou závislé na osteoblastech !?!

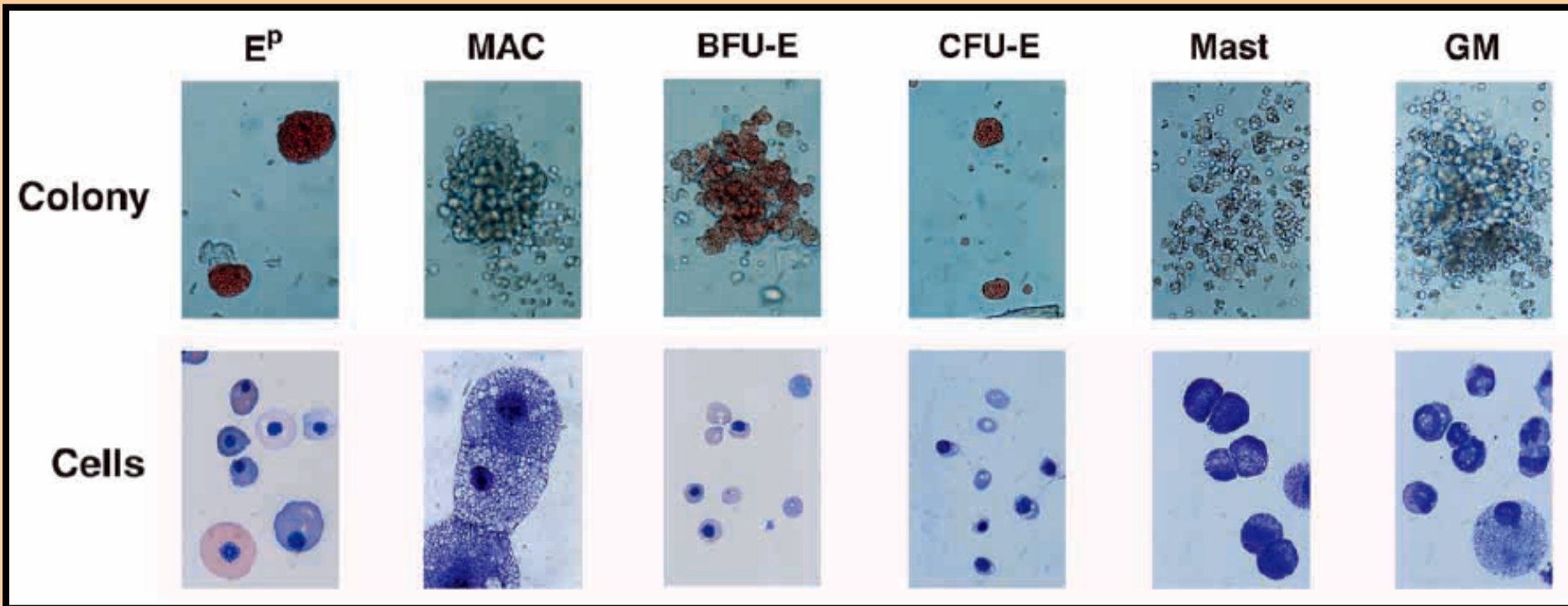
~ 1- 3% proliferujících  
 (ST-HSC)

Jsou závislé na endoteliích



# Příklad kolonií hematopoézy v *in vitro* experimentu

Palis 1999



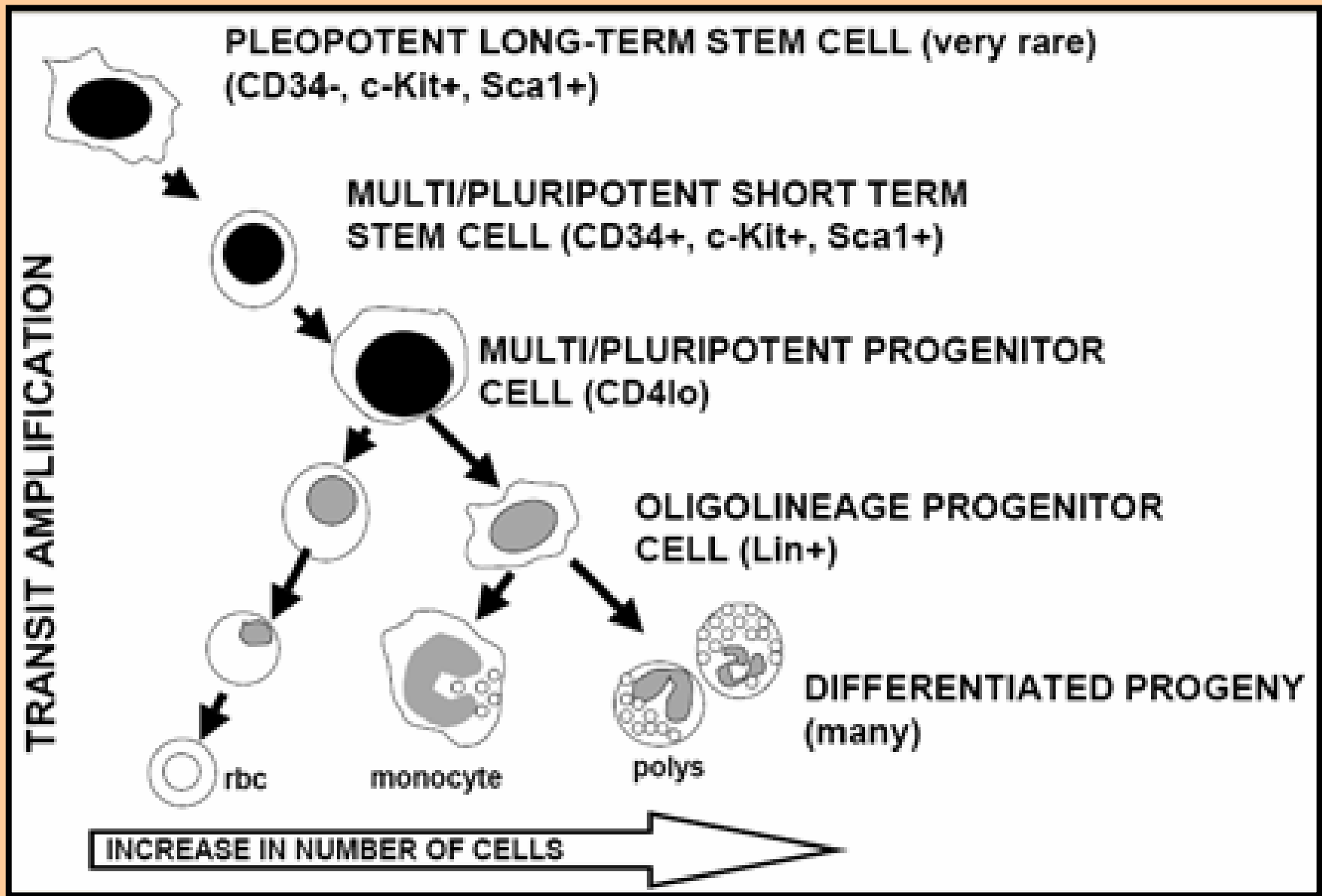
Ep – primitivní erythropoéza, MAC – primitivní makrofágy,  
BFU-E – (Burst-forming unit erytroidní) z fetálních jater,  
GM – granulocytární-makrofágová kolonie

## HEMATOPOÉZA

- Hematopoéza je v současné době zřejmě nejlépe prostudovaná diferenciační dráha s nejdokonalejším fenotypovým rozlišením jednotlivých buněčných stádií buněk tzv. **CD** (cluster determinants) antigeny.
- Jednotlivé diferenciační dráhy jsou často majoritně závislé na jediném cytokinu (kolonie stimulujícím faktoru – CSF; např. G-CSF, faktor stimulující tvorbu zejména granulocytů)
- V průběhu ontogeneze je hematopoéza realizována jedinečným způsobem (časoprostorově, viz. níže), což dobře umožňuje i studium rozdílů mezi embryonálními a adultními somatickými kmenovými buňkami. Každopádně v průběhu embryonálního vývoje vznikají jisté typy populací T-lymfocytů, které zůstávají po celý život jedince, ale v dospělosti již nevznikají. Druhou možností, vedle možnosti odlišnosti embryonálních a adultních HSCs je schopnost těchto buněk osidlovat odlišné „niche“.
- HSC vzniklé ve žloutkovém váčku také migrují do oblasti AGM a do jater, kde dávají vznik adultním HSC (Samokhvalov, 2007)
- rozlišujeme: **LT-HSC** (long-term HSC) – schopné opakovaně kompletní obnovy hematopoézy  
(vyžadují osteoblasty)
  - : **ST-HSC** (short-term HSC) – schopné jen krátkodobé obnovy hematopoézy  
(vyžadují endotelie – vaskulární niche)  
(**aktuální X potencionální** (proliferující) **kmenová buňka**)
- Harrison et al. (1979): transplantoval myším opakovaně identický štěp HSC déle jak 8 let  
- > výrazné překročení délky života myši!!!

## Fenotyp HSC

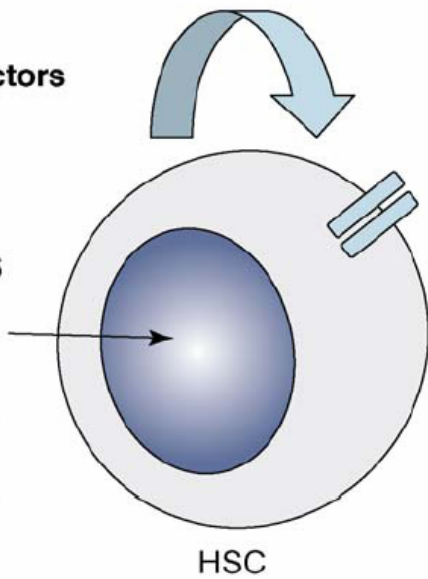
<i>antigen</i>	HSC	Myeloid SC	Lymphoid SC
CD10 (CALLA)	-	-	+
CD33 (Sialoadhesin)	-	+	-
CD34 (L-selectinR)	-	+	+
CD38 (ecto-ADP-ribosyl cyclase)	-	-	+
<b>CD90 (Thy1)</b>	+	-	+
<b>CD110 (Trombopoietin receptor)</b>	+	+	-
<b>CD111 (Nectin1)</b>	-	+	-
<b>CD112 (Nectin2)</b>	-	+	-
<b>CD117 (c-Kit, SCFR)</b>	+	+	+
CD123 ( $\alpha$ řetězec IL-3R)	+	+	-
CD124 (IL-4R/IL-13R)	-	-	+
CD127 ( $\alpha$ řetězec IL-7R)	-	-	+
CDw131 ( $\beta$ řetězec IL-3R/IL-5/GM-CSF)	-	+	-
<b>CD133 (Ac133)</b>	-	+	-
<b>CD135 (Flt3/Flk2)</b>	+	-	-
<b>CD173 (krevní skupina H typ 2)</b>	-	+	-
<b>CD174 (Lewis Y)</b>	-	+	-
CD176 (Thomson-Friedenreich antigen)	-	+	-
CD227 (MUC-1)	-	+	-
CD228 (Melanotransferrin)	-	+	+
<u>CD243 (MDR-1)</u>	+	-	-



### Self-renewal

#### Intrinsic factors

Bmi1  
Gfi-1  
PTEN  
STAT5  
Tel/Etv6  
p21  
p18  
MCL-1  
Mel-18  
Rae28  
HoxB4

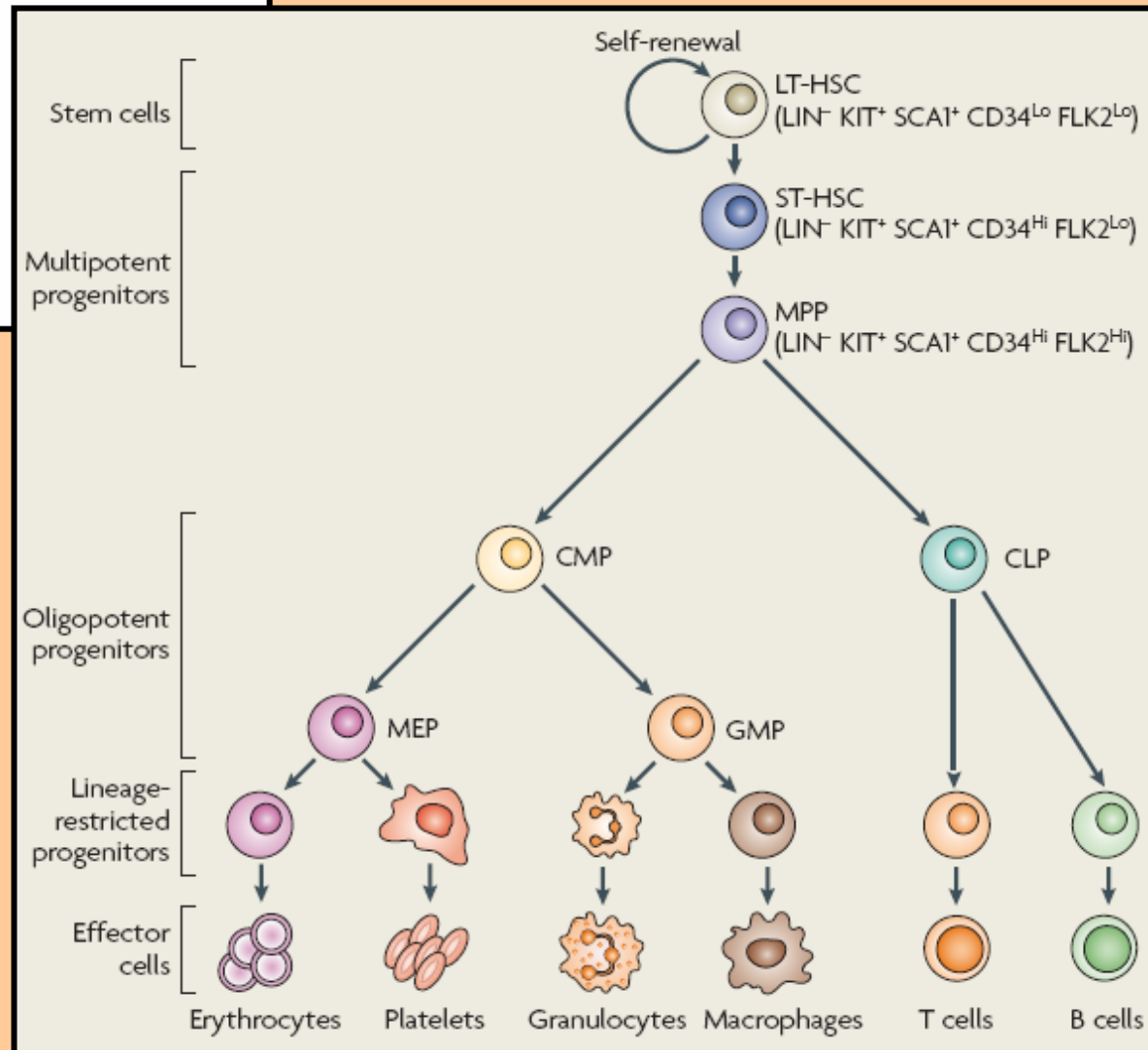


#### Extrinsic factors

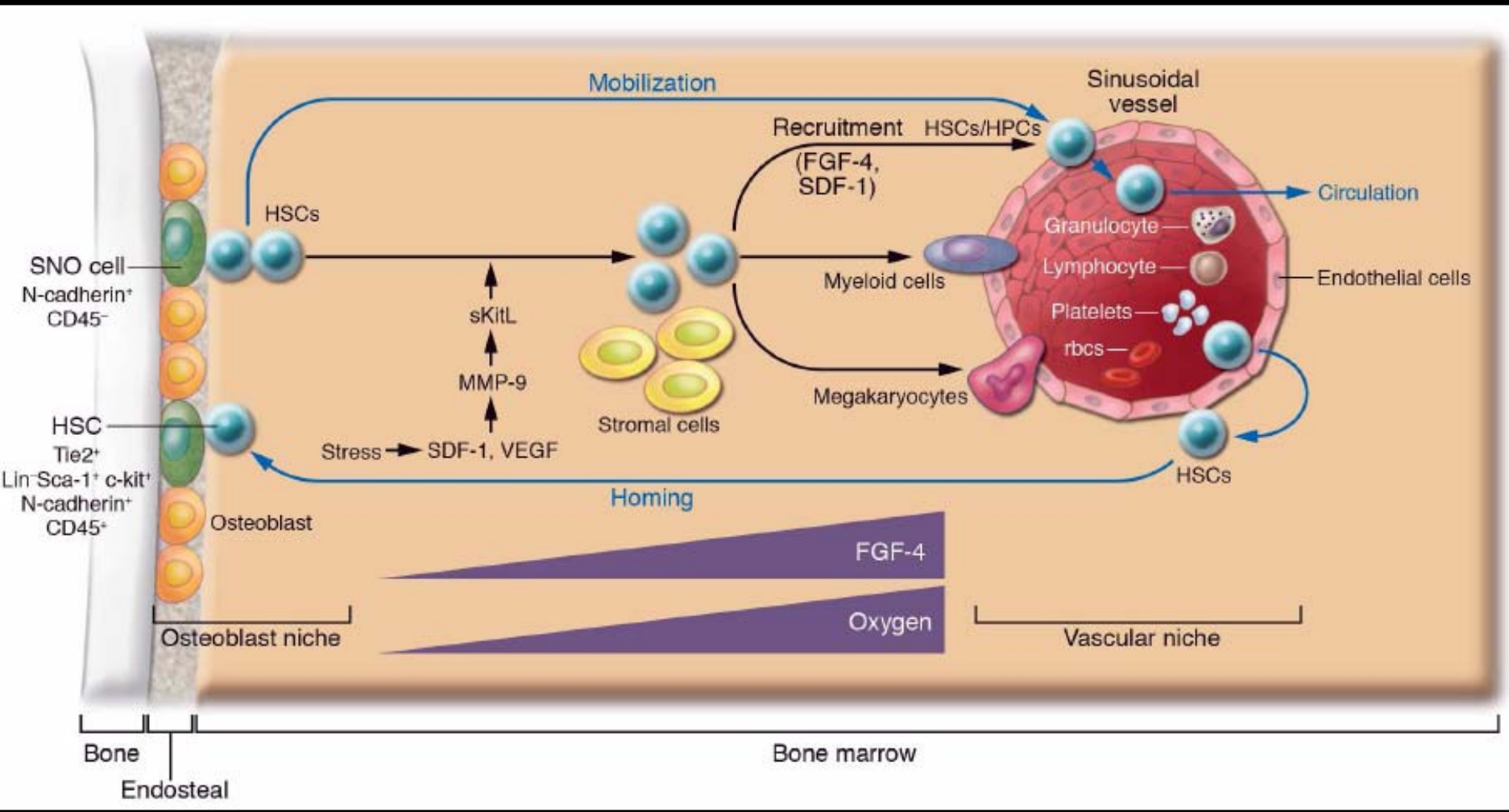
Notch  
Wnt  
Shh  
Tie2/Ang-1

**Extrinsic a intrinsic faktory regulující sebeobnovu adultních HSC (Akala & Clarke 2006) významnou úlohu hraje hypoxie a HIF! HSC mají vysokou hladinu HIF nezávisle na hypoxii! - úloha cytokinů SCF, IL-x?**

**Schema hematopoézy a fenotyp aktuálních a potencionálních HSC**



# HSC niche



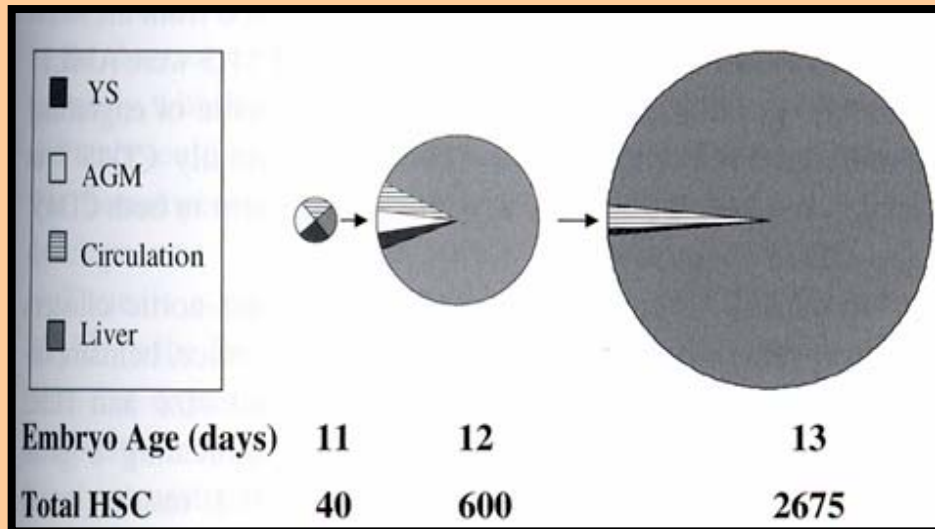
Mobilizace HSC (přechod HSC do periferní krve) – působením G-CSF, SCF, IL-3, TPO

G-CSF – granulocyte colony-stimulating factor, SCF – stem/steel cell factor, IL-3 – interleukin 3, TPO - trombopoetin



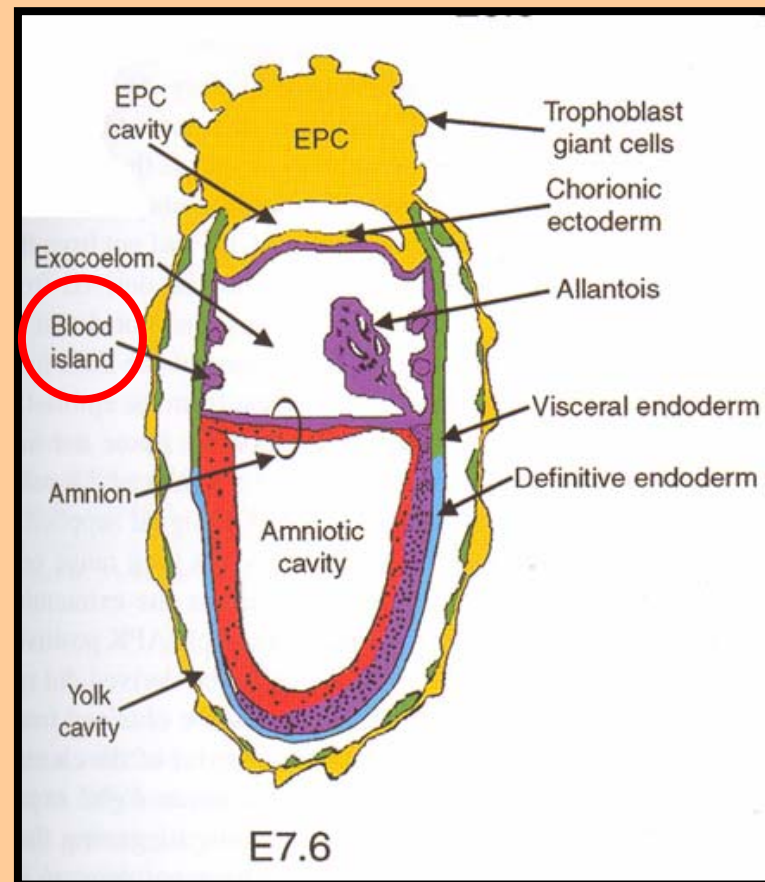
# Původ HSC

Podíl jednotlivých tkání na celkovém objemu hematopoézy mezi 11 – 13 dpc u myši

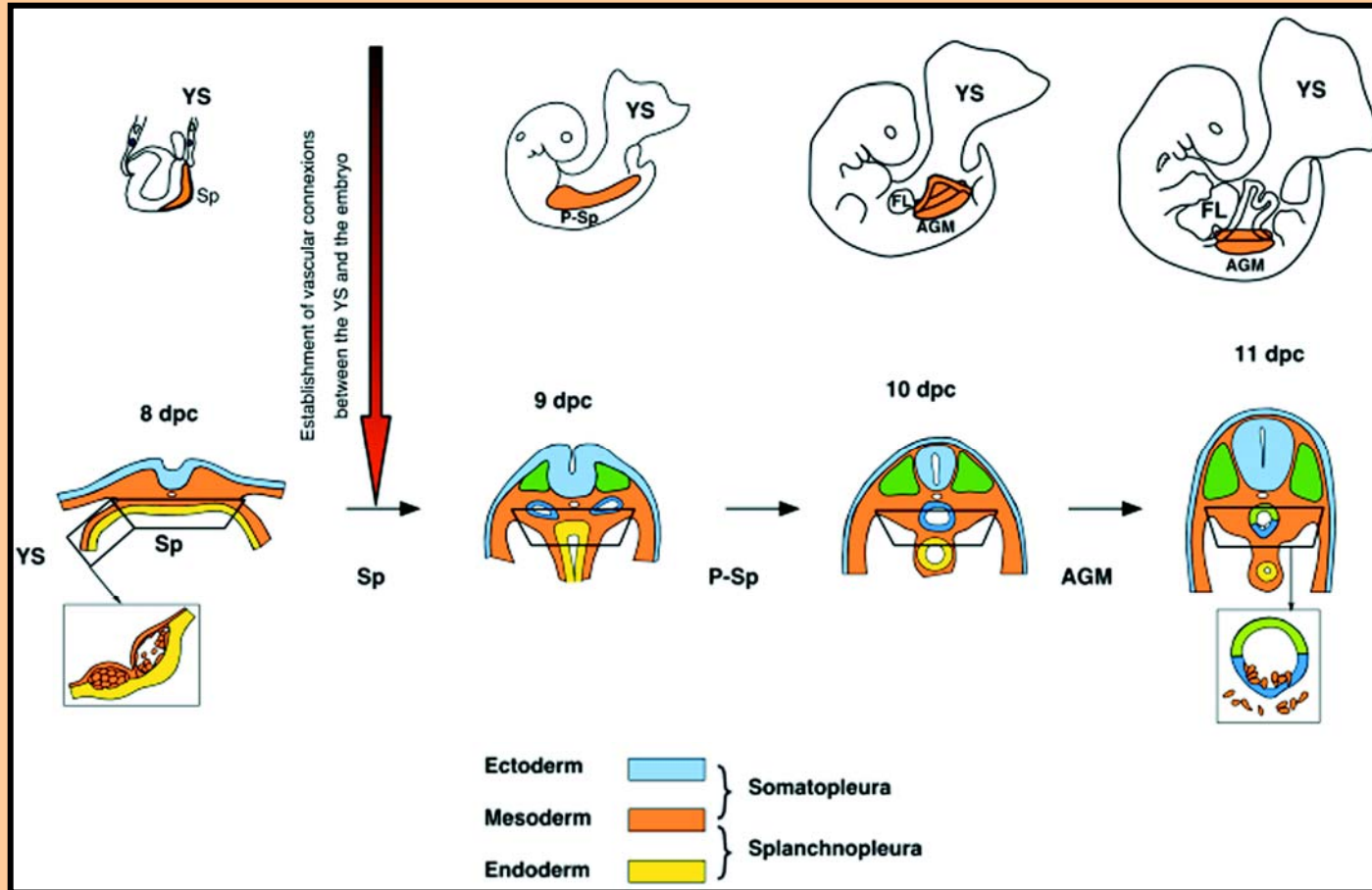


**Pozn. Slezina je osídlena HSCs a hematopoetickými progenitory pravděpodobně z jater, protože v době objevení se hematopoézy ve slezině, v žloutkovém vaku a v aortě už hematopoéza neprobíhá a kostní dřeň dosud není vyvinuta.**

Místo vzniku krevních ostrůvků (blood island) v průběhu embryogeneze u myši



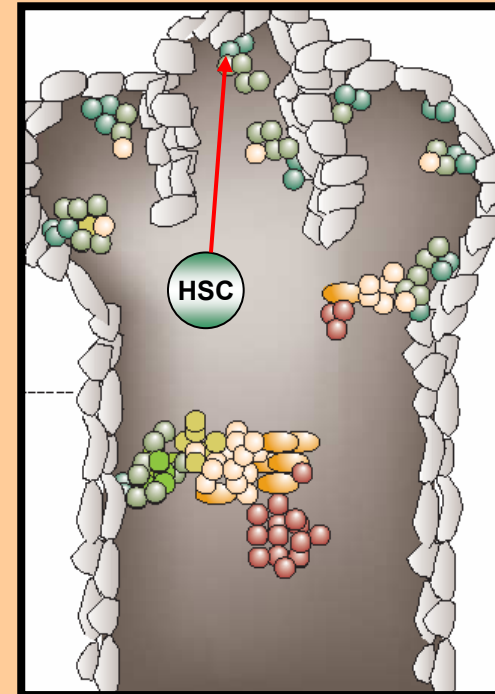
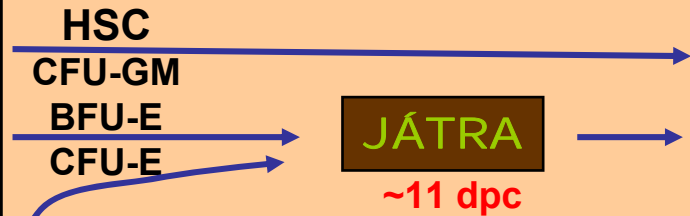
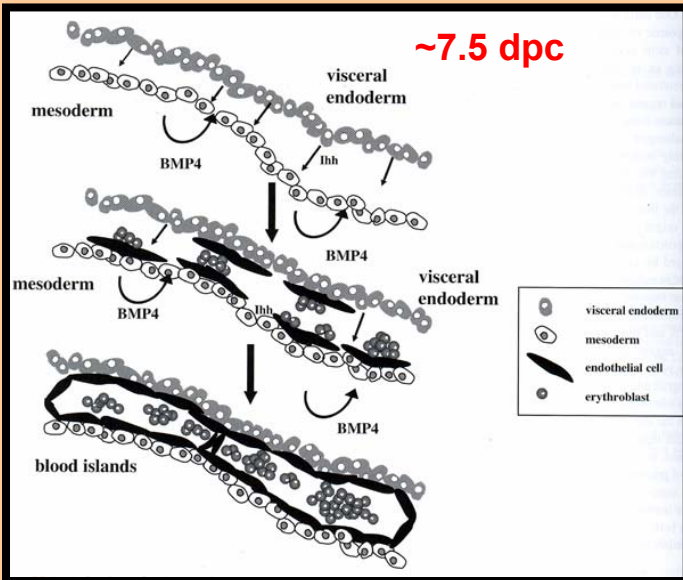
# Schema vývoje AGM (aorta-gonads-mesonephros) - začátek fetální hematopoézy



# MOUSE

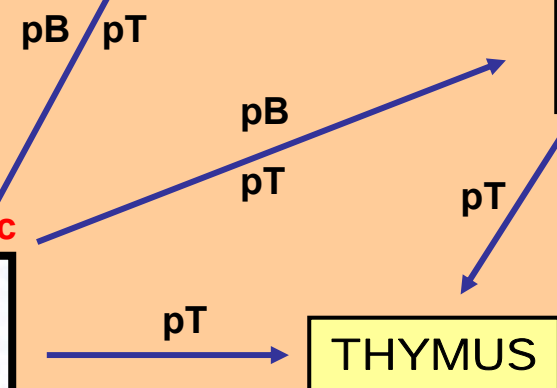
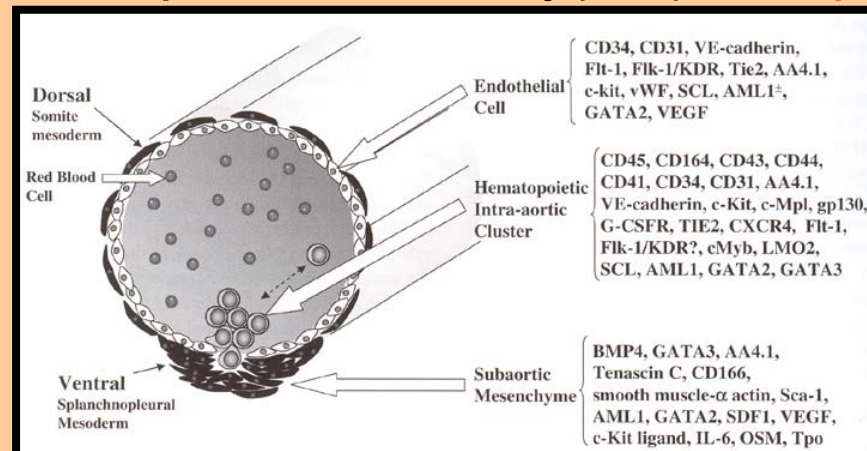
## Lokalizace, změna „niche“ u hematopoézy v průběhu ontogeneze

Vznik krevních ostrůvků ve vznikajícím žloutkovém vaku mezi mezodermem a buňkami viscerálního endodermu



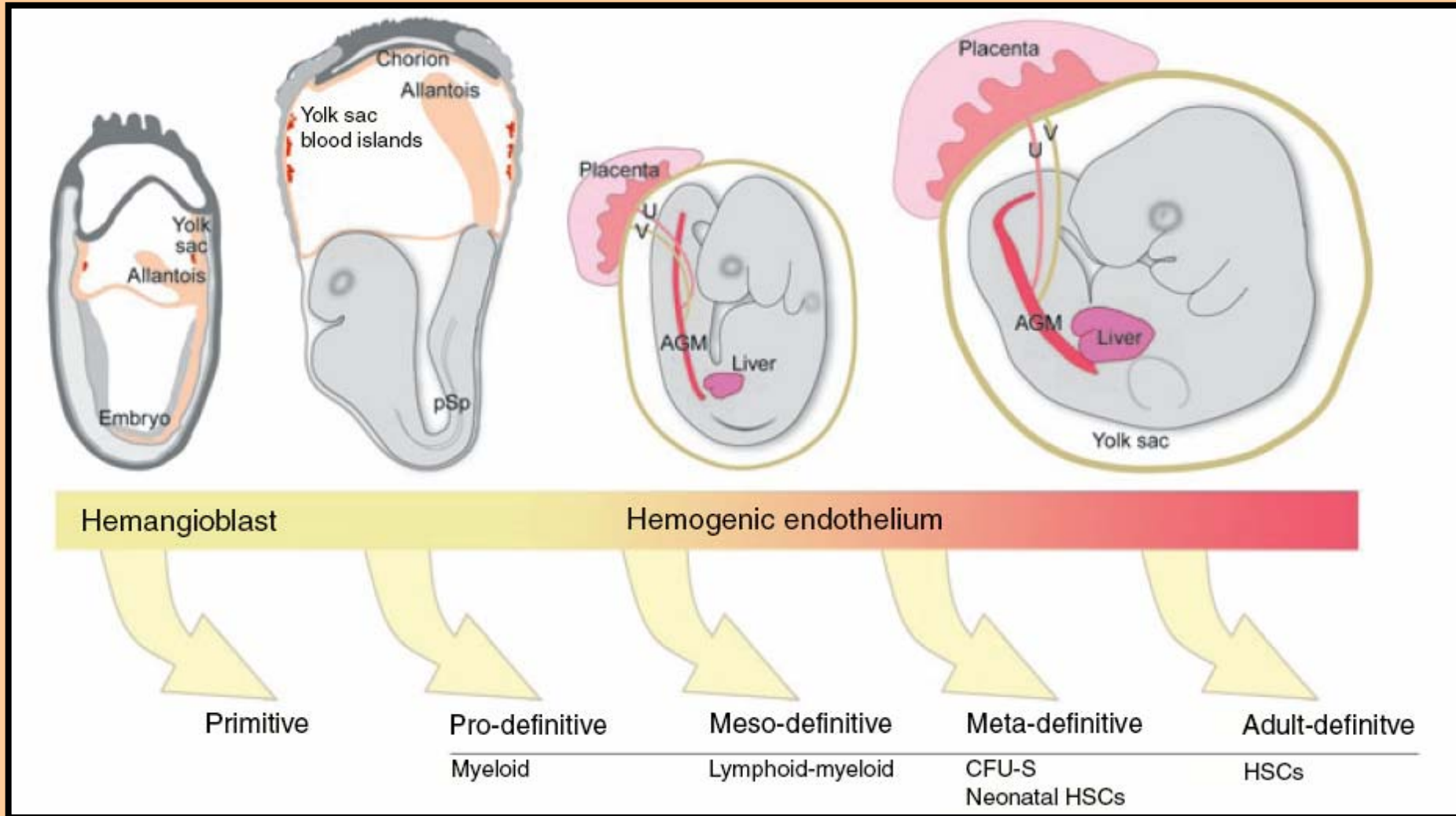
**Kostní dřeň, ~15 dpc**  
S vývojem kostní dřeně se HSCs usazují v jejím stroma.

**Hematopoéza v endotelu aorty (AGM), ~10.5 dpc**

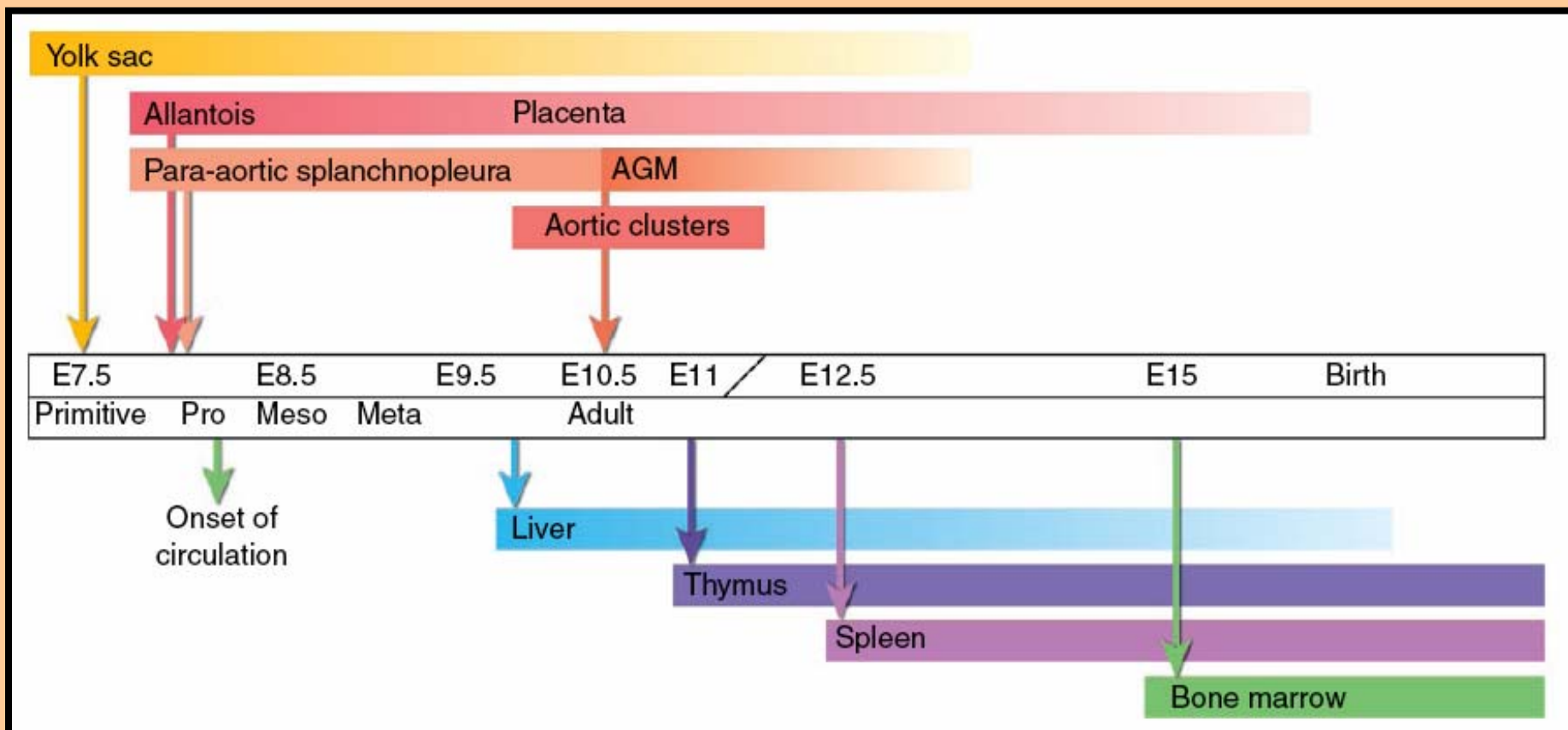


pT, pB – lymfocytární progenitory  
CFU-GM – myeloidní progenitory  
BFU-E, CFU-E – erythroidní progenitory

# Embryonální hematopoéza (mouse)

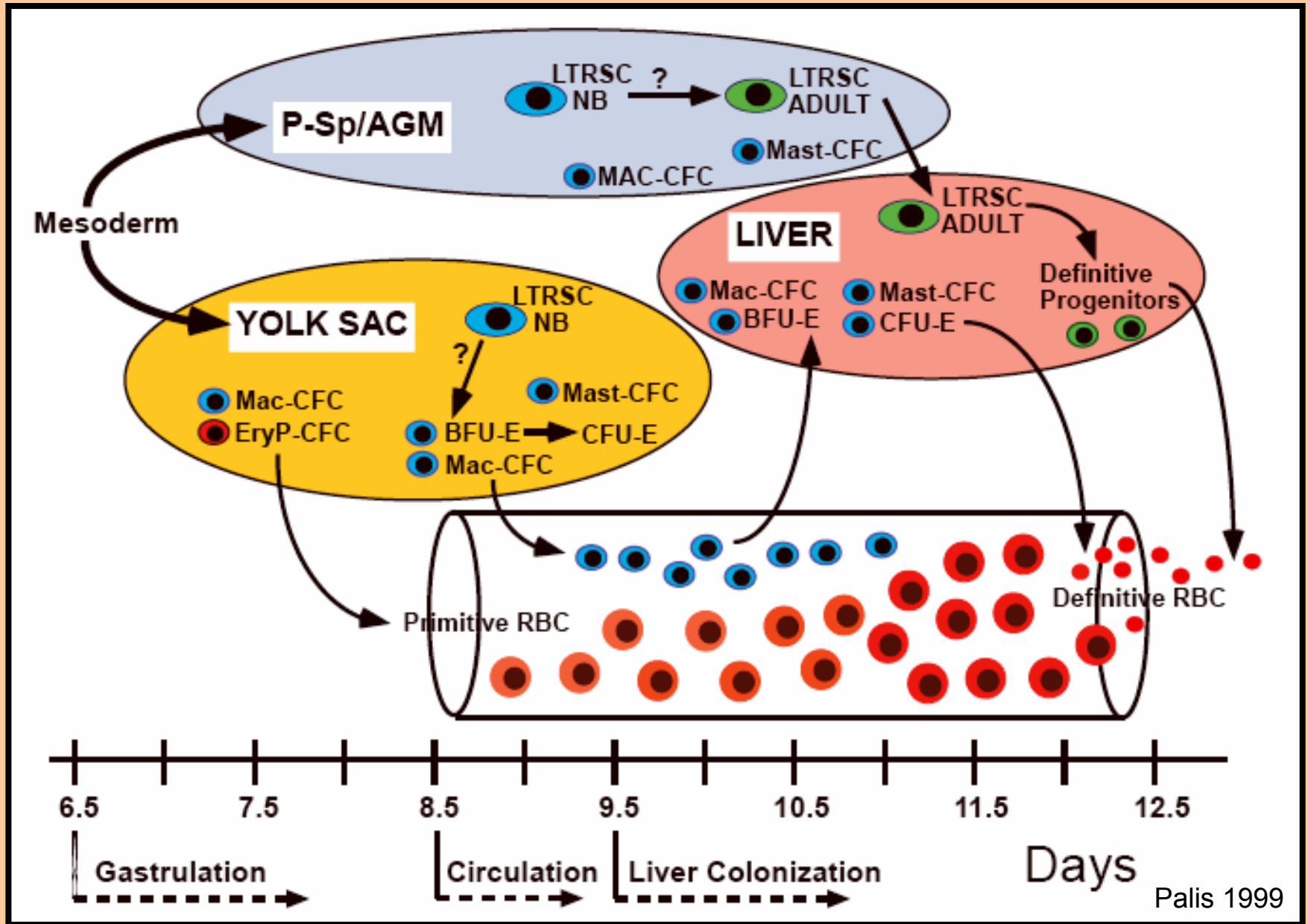


# *Embryonální hematopoéza* (mouse)





# Embryonální x adultní HSC (mouse)



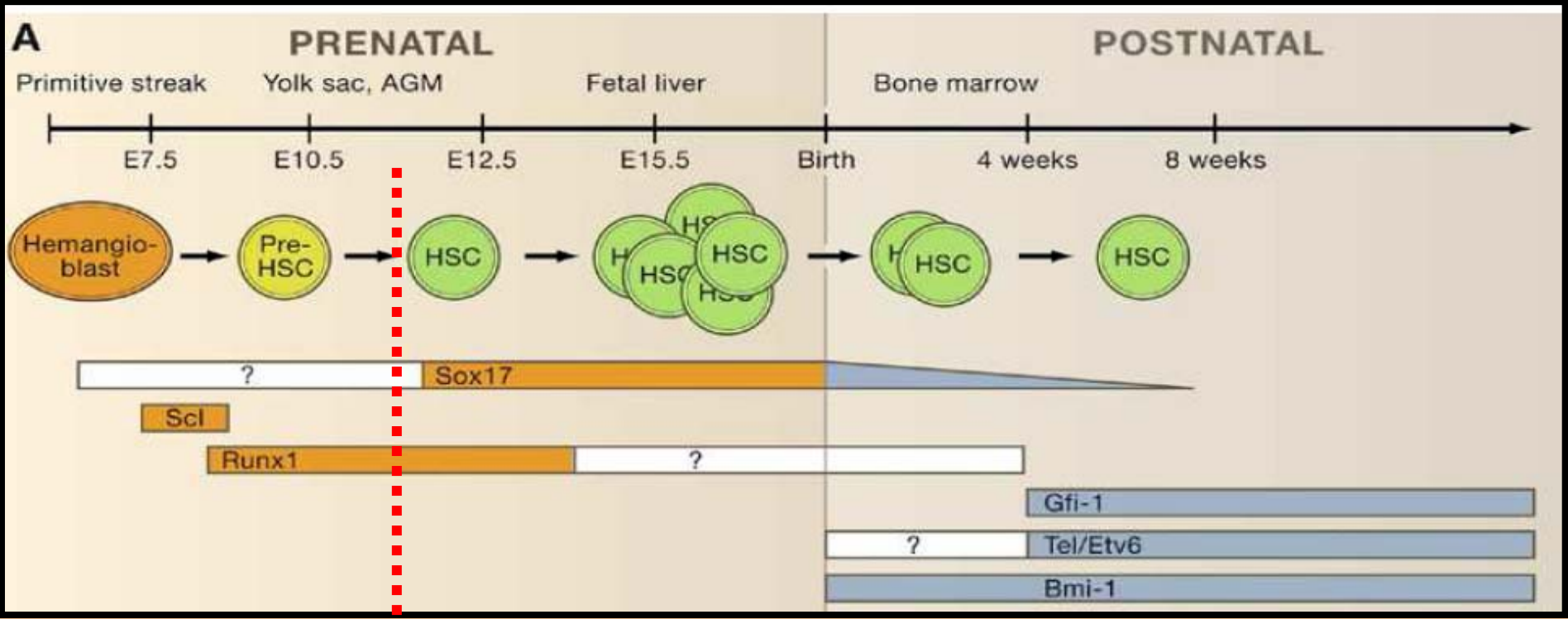
CFC – colony-forming cell (progenitor), CFU – colony-forming unit

	Developmental time	Site	Functional activity
Primitive	E7.5	Yolk sac <sup>a</sup>	Primitive erythroid
	E7.5–E8 (0–4sp)	Yolk sac <sup>b</sup>	Primitive erythroid
Pro-definitive	E7.5–E8 (EHF–2sp)	Allantois <sup>a</sup>	Erythroid-myeloid progenitor
	E7.5–E8 (0–7sp)	Allantois <sup>a</sup>	Erythroid-myeloid progenitor
	E8.25	Yolk sac <sup>a</sup>	Erythroid-myeloid progenitor
	E8.25	Yolk sac <sup>b</sup>	Erythroid-myeloid progenitor
	E9.5	Yolk sac <sup>b</sup>	Erythroid-myeloid progenitor
	E9.0	Placenta	Erythroid-myeloid progenitor
Meso-definitive	E7.5–E8 (0–8sp)	pSp <sup>a</sup>	Erythroid-myeloid-lymphoid progenitor
	E7.5–E 8 (0–5sp)	pSp <sup>a</sup>	Multipotent low-level repopulating progenitor
Meta-definitive	E9.0	Yolk sac <sup>c</sup>	Neonatal repopulating HSC
	E9.0	AGM <sup>c</sup>	Neonatal repopulating HSC
	E9.0	Yolk sac <sup>c</sup>	CFU-S
	E9.0	AGM <sup>c,d</sup>	CFU-S
Adult-definitive	E10.5	AGM <sup>d,e</sup>	Adult repopulating HSC
	E10.5	Umbilical and vitelline vessels <sup>d</sup>	Adult repopulating HSC
	E10.5–E11	Placenta	Adult repopulating HSC

# Rozdíly mezi embryonálními a adultními HSC

*Intenzivně proliferující HSC*

*pomalou proliferující / quiescentní HSC*



**Obnova embryonální hematopoézy**

**Obnova adultní hematopoézy**



## Chronologie hematopoézy u člověka a myši

<b>hematopoéza/lymfopoéza (dny)</b>	<b>člověk</b>	<b>myš</b>
embryonální vývoj (dny)	~270	~21
<b>žloutkový vak</b>	18	7.5
<b>dorsální aorta</b>	27	9.5
<i>thymus</i>	40	11
<b>játra</b>	42	11
<b>slezina</b>	48	13
<b>kostní dřeň</b>	77	15
<b>cirkulace krevních buněk</b>	24	8.5

# Časování cest lidských HSC

