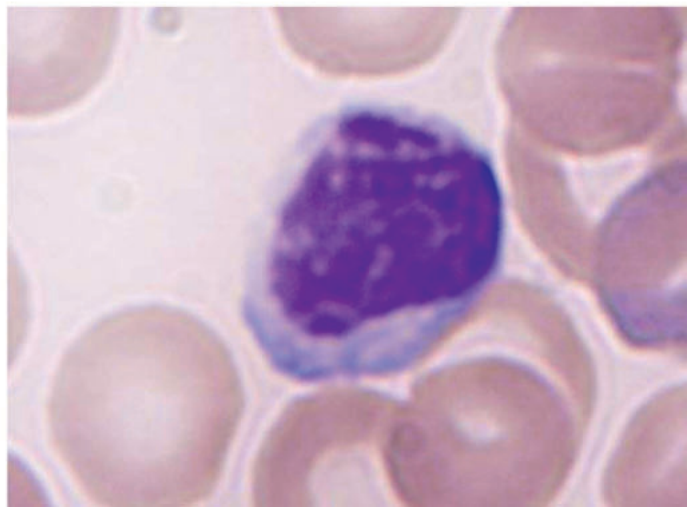
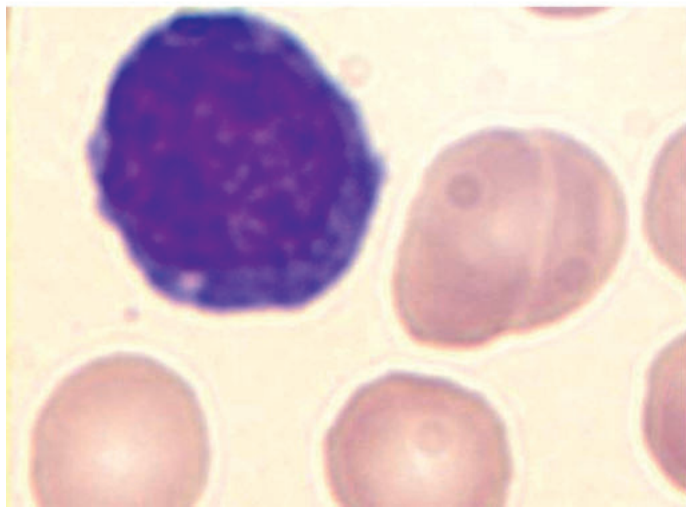
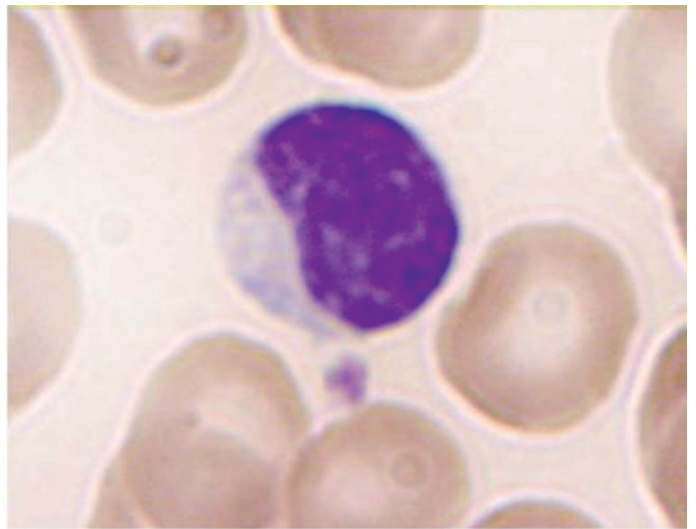
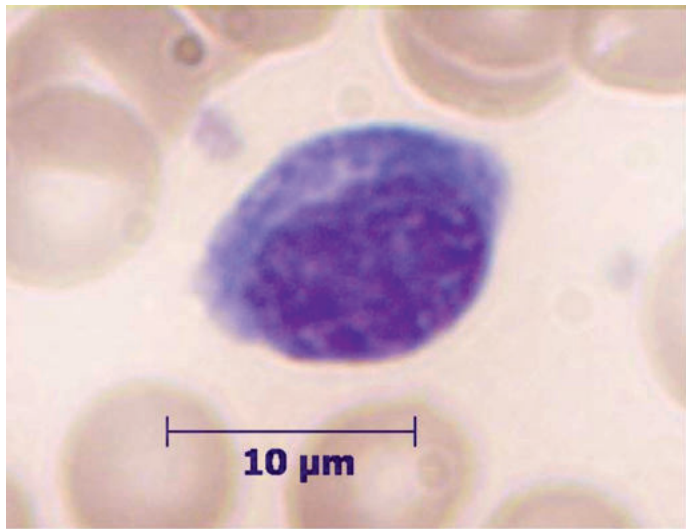


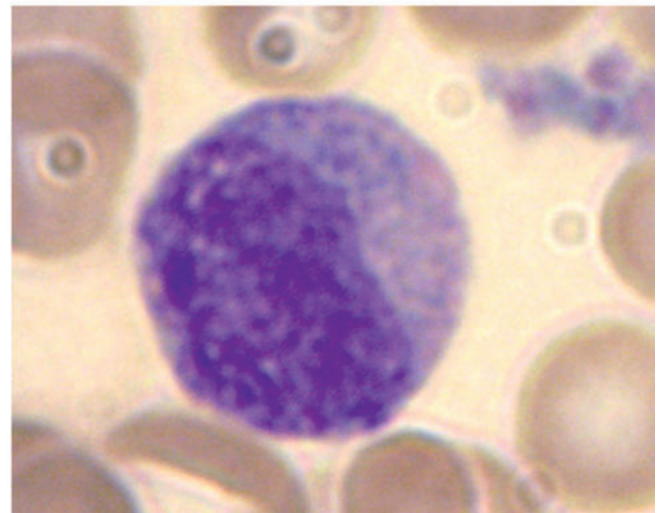
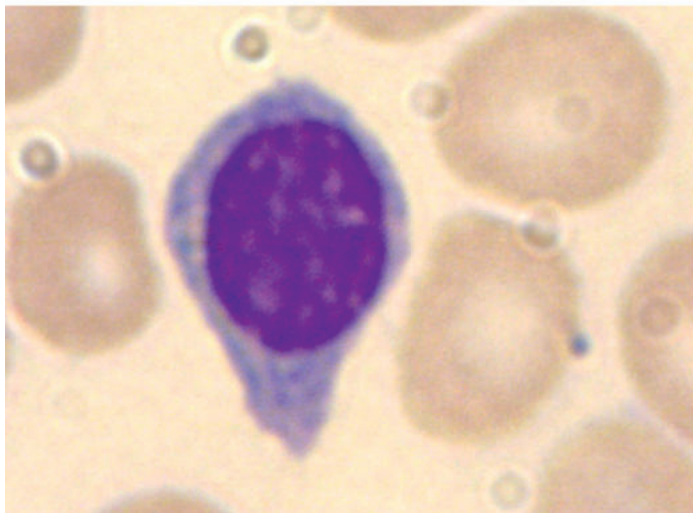
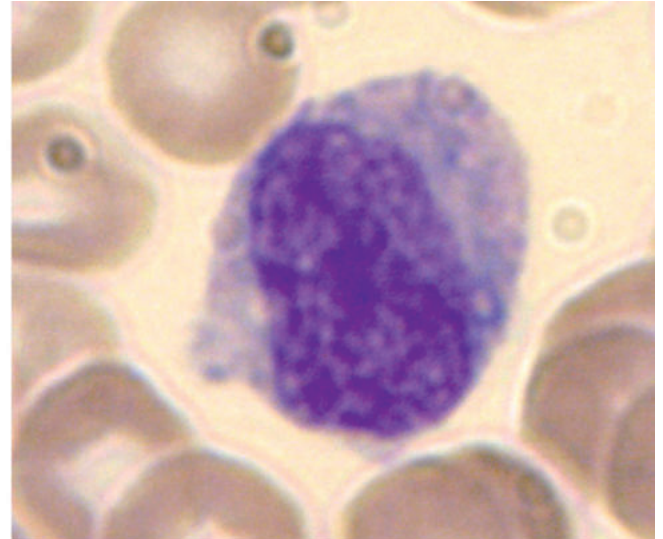
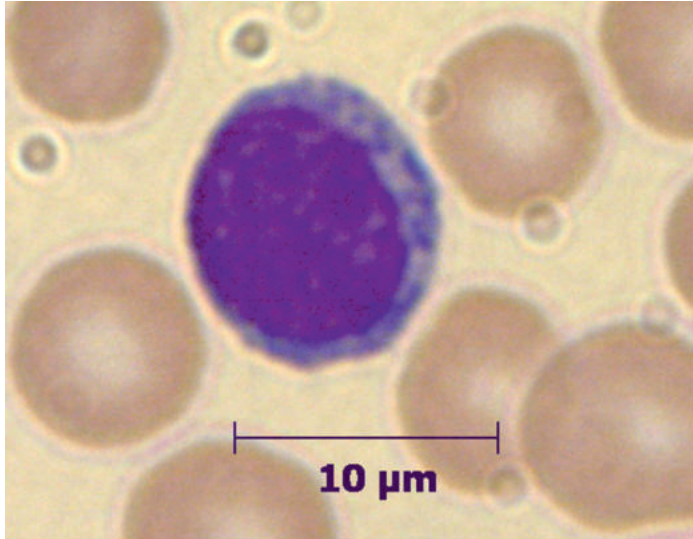
Lymphozyten

Lymphozyten sind die wandelbarsten Zellen des Körpers. Von den unterschiedlichen Zelltypen ist nur die Plasmazelle nicht mitosefähig. Normabweichung der Morphologie sind bei der Reaktion auf Erkrankungen und bei neoplastischen Erkrankungen zu beobachten. Während bei Neoplasien ein uniformes Aussehen der Zellen charakteristisch ist, sind bei reaktiven Krankheitsbildern vielfältige Morphologien obligat. Diese Tatsache bedingt, dass bei der Differenzierung des Blutausstriches die Nomenklatur eine Unterscheidung in typische Lymphozyten (Standardlymphozyten) und atypische Lymphozyten fordert. Dabei werden die atypischen Zellen weiter unterteilt in: vermutet reaktiv und vermutet neoplastisch.

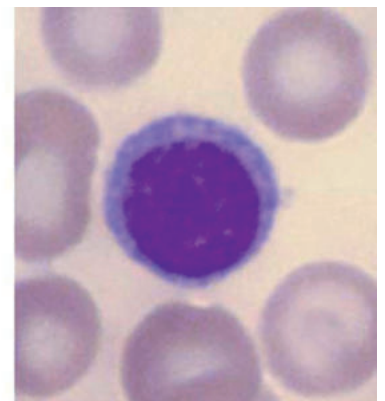
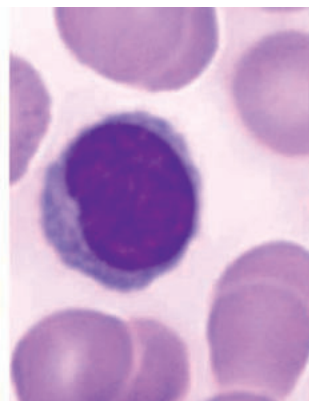
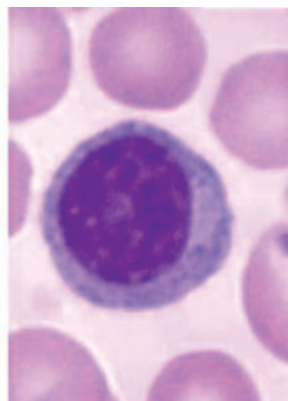
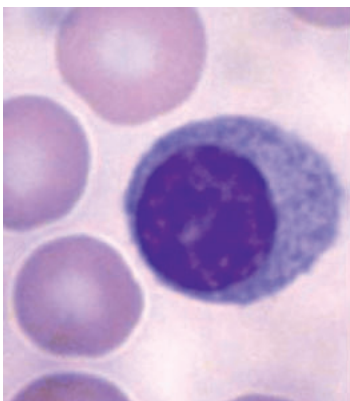


Der Standardlymphozyt gilt als morphologisch unauffällig und hat folgende Merkmale. Er ist rund 10 Mikrometer groß und hat einen Kern von der Größe eines normalen Erythrozyten. Das Chromatin ist heterogen und zeigt schollige Strukturen. Das Plasma ist schmal, deutlich begrenzt und von hellblauer bis basophiler Farbe. Bis zu 10 % der Zellen können eine azurophile Granulation besitzen. Die Kernformen variieren und können rund, oval, nierenförmig oder gebuchtet sein.

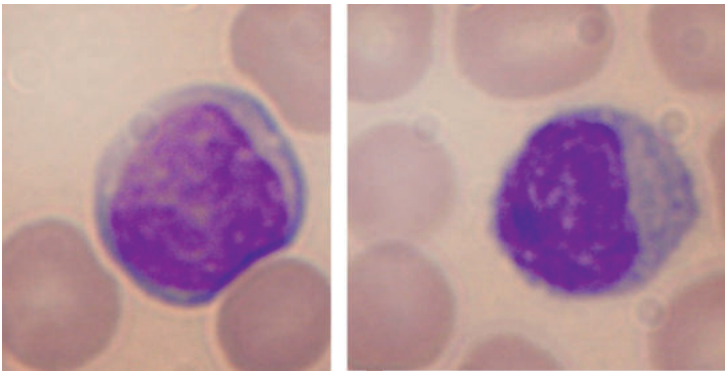
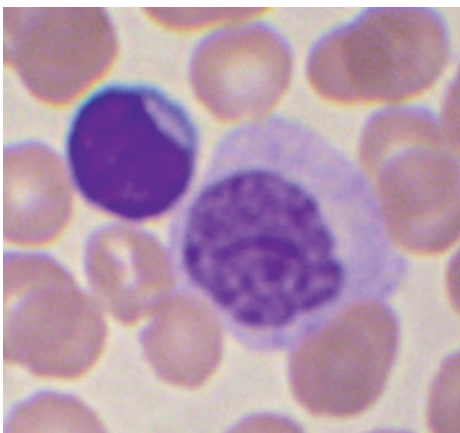
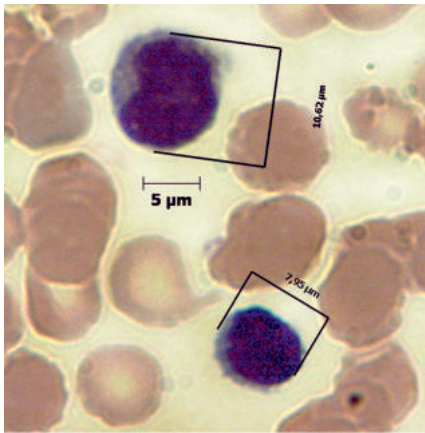
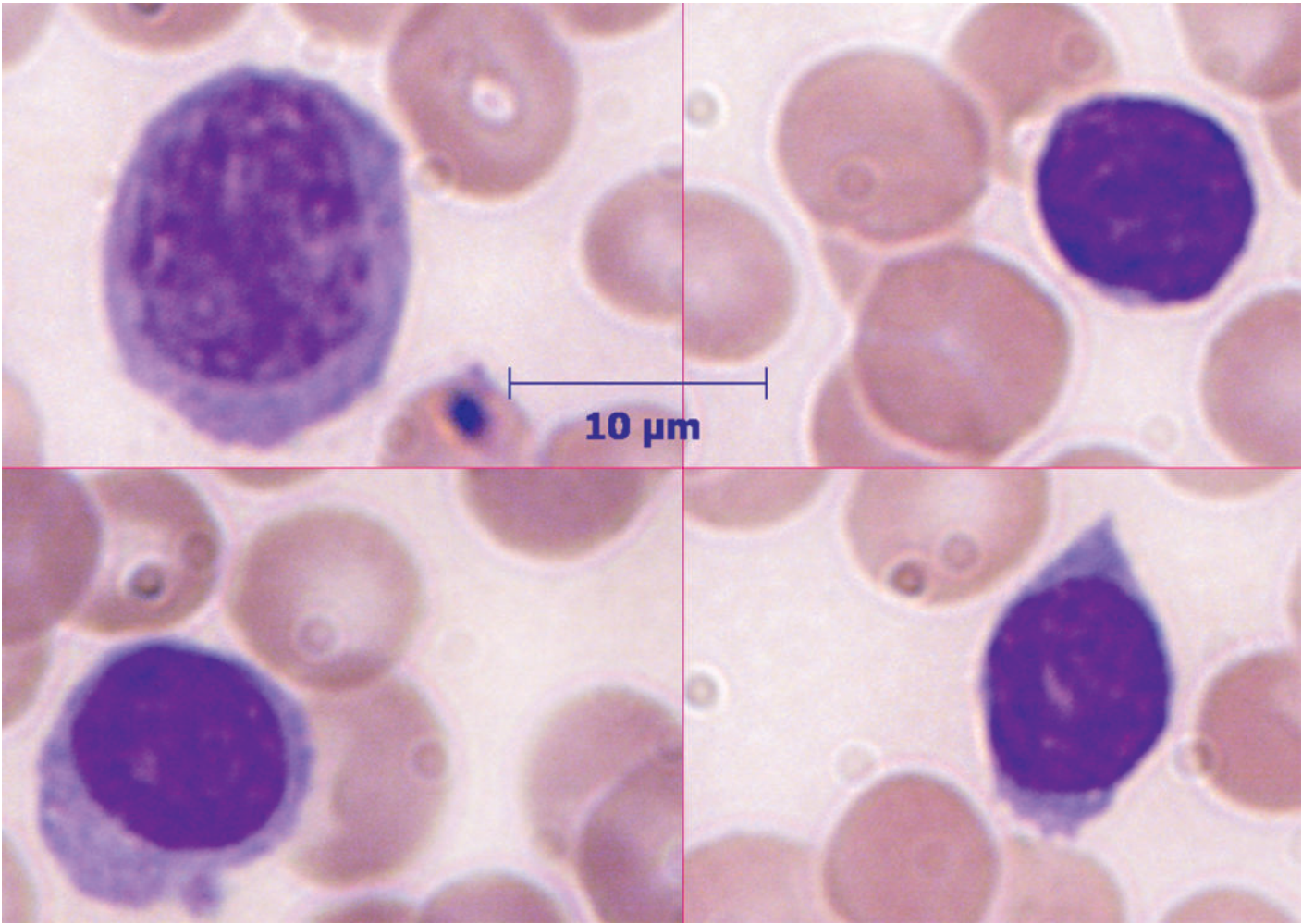
Standardlymphozyt



Anmerkung: Bei Anfertigen eines Fotos muss entschieden werden, ob beispielsweise der Fokus im Chromatin oder auf der Granula liegt. Um diese Strukturen besser zu verdeutlichen, wird mit der Aperturblende die Lichtbrechung manipuliert. Dabei werden gebrochene Strukturen nicht immer farbecht dargestellt. Das Optimum von Beleuchtungsstrahlengang und Abbildungsstrahlengang wird zugunsten der Mikroskopkamera verändert, da hier das Licht erneut gebrochen wird. Deshalb zeigt der Lymphozyt rechts oben nur noch eine objektähnliche Granula, die gröber und dunkler wirkt als beim Blick durch das Okular.

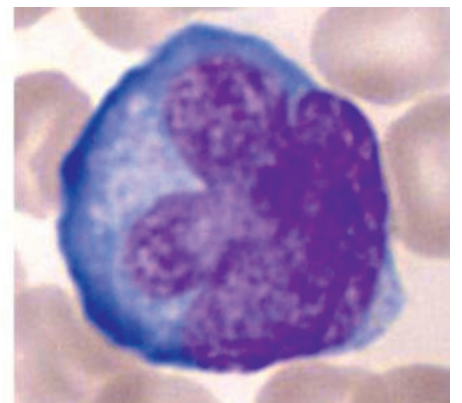
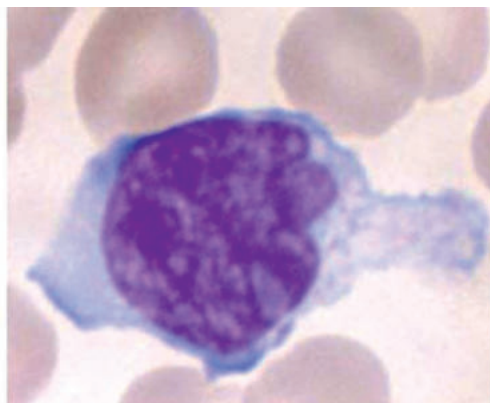
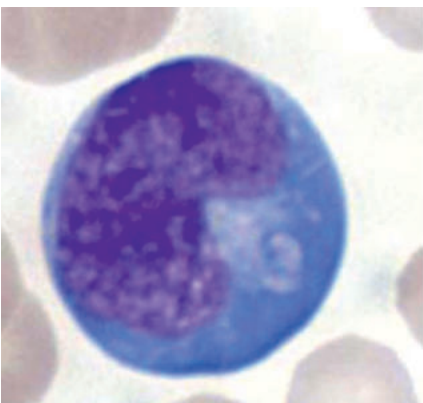
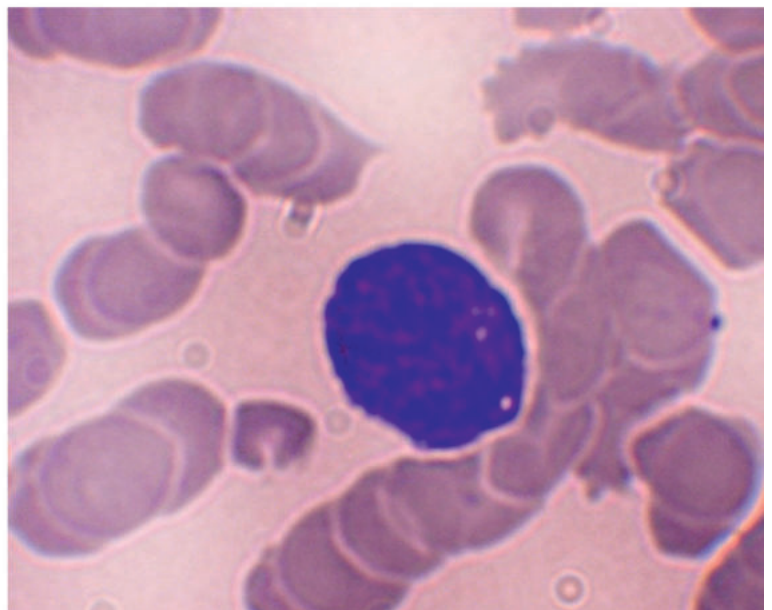
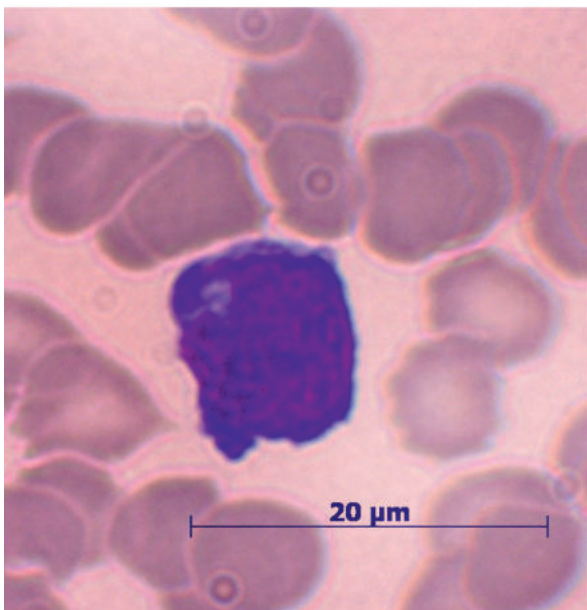
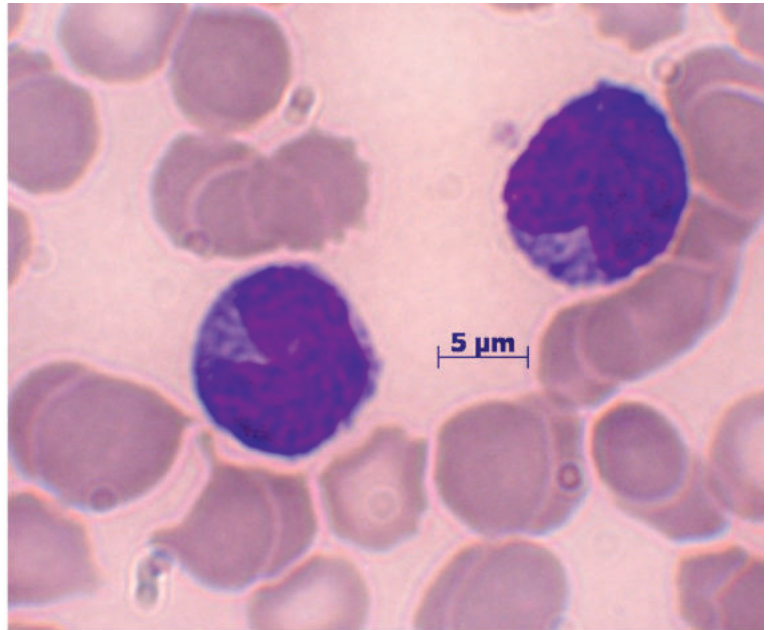
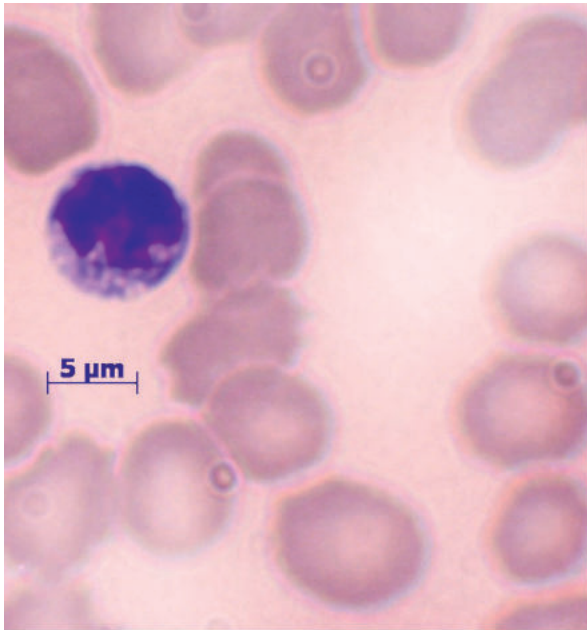


Standardlymphozyt



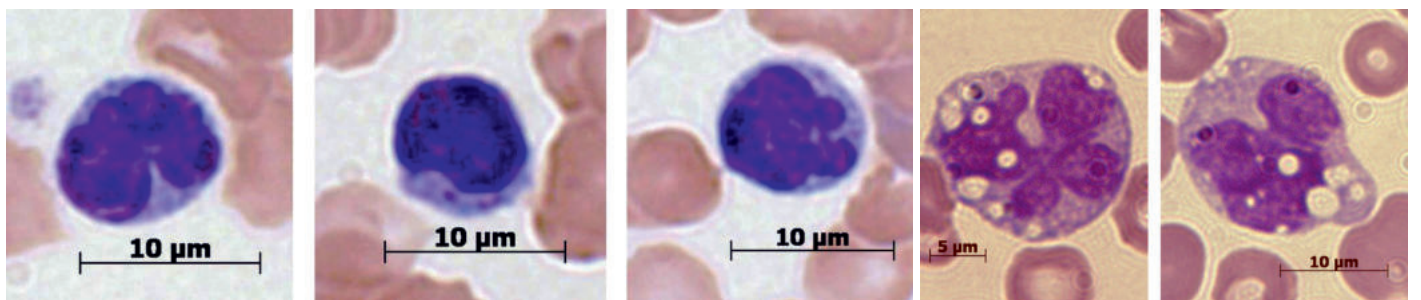
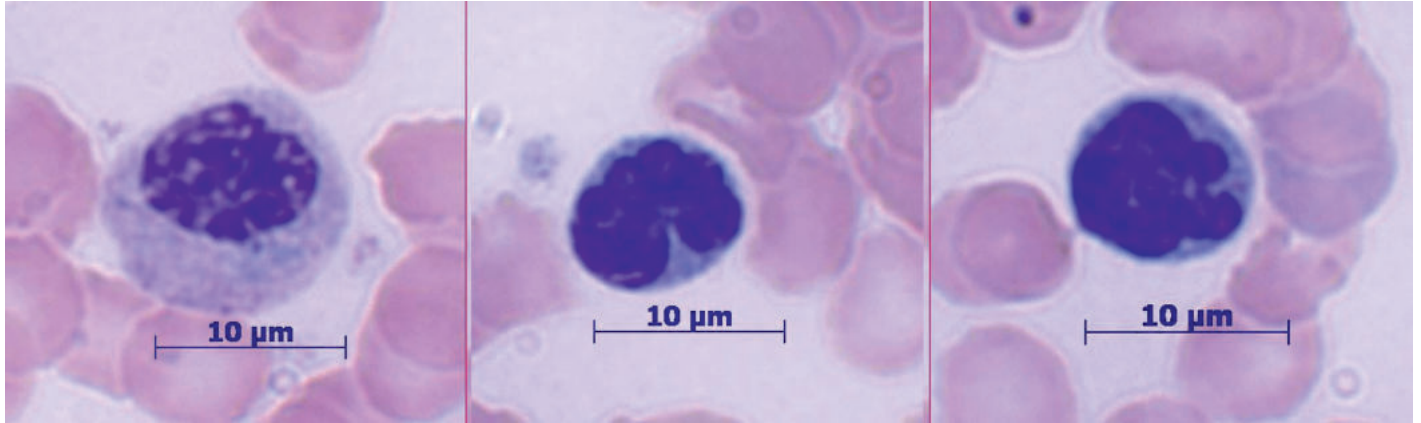
Die Abkürzung LGL steht für large granular lymphocytes.

Atypische Lymphozyten (vermutlich reaktiv)



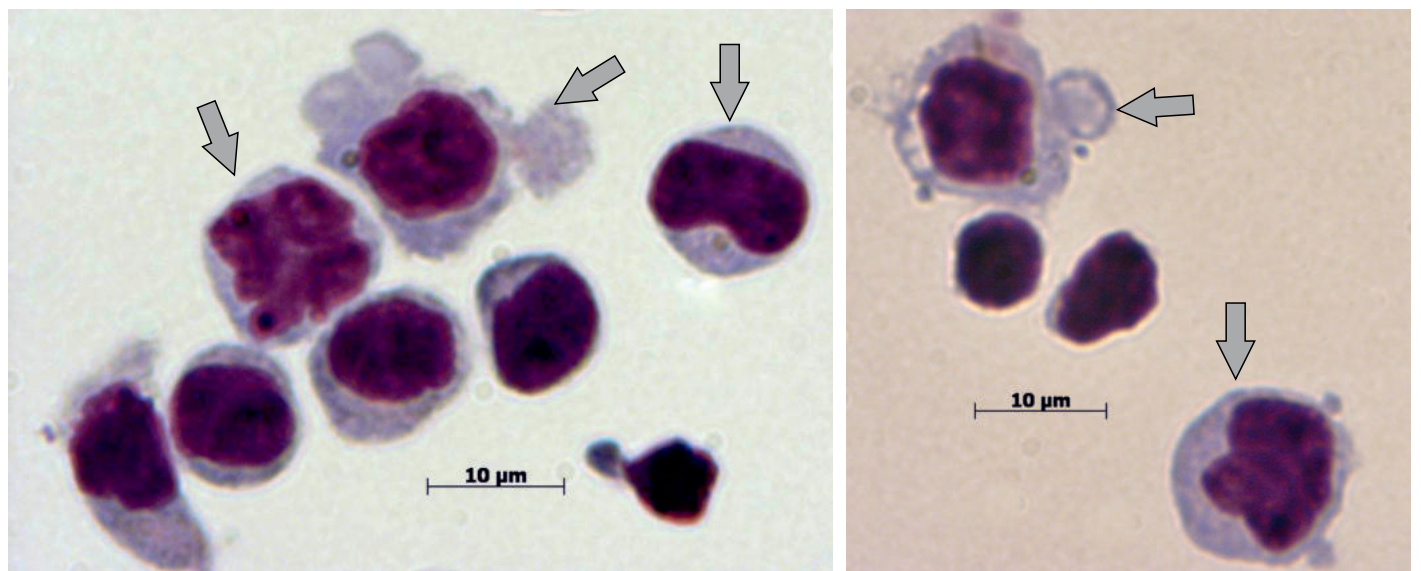
Zellen mit charakteristischen Abweichungen vom Aussehen des Standardlymphozyten.

Weitere Fotos von vermutlich reaktiv veränderten Lymphozyten

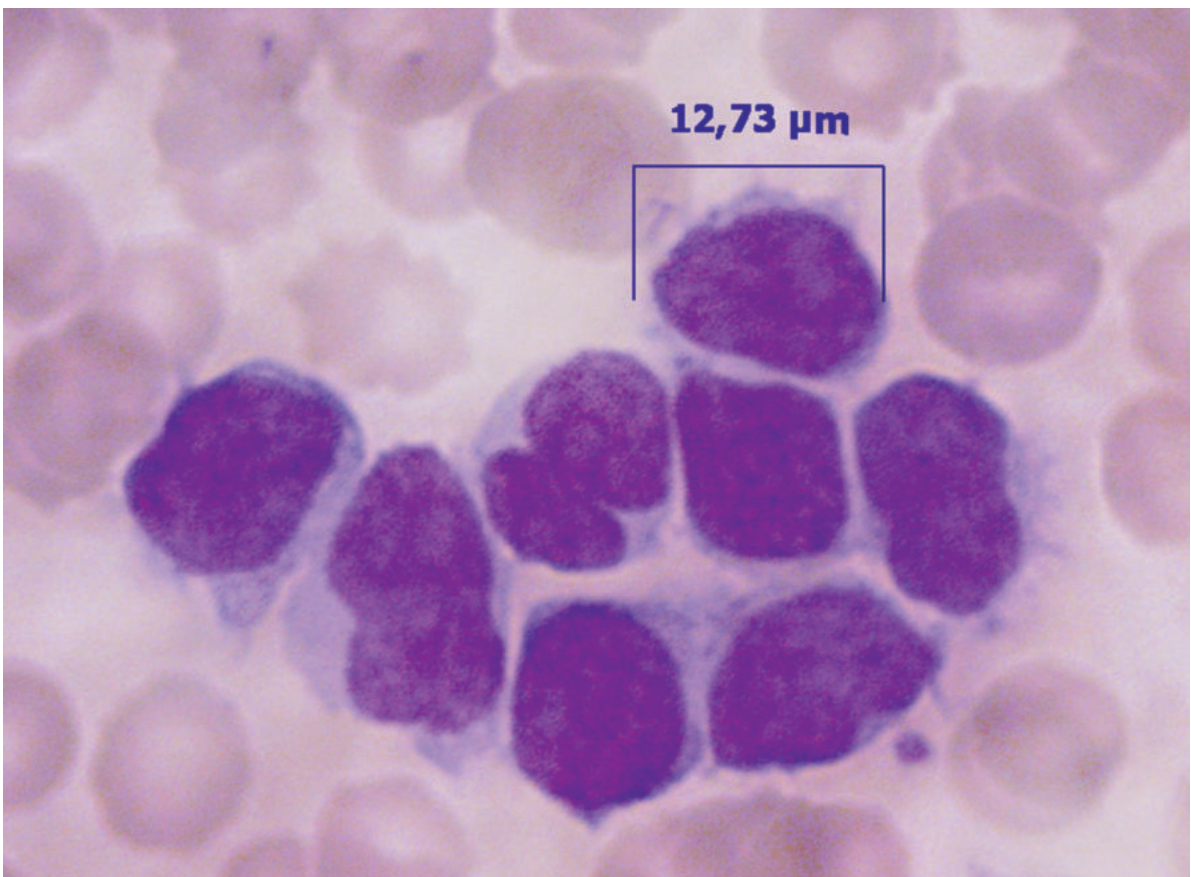
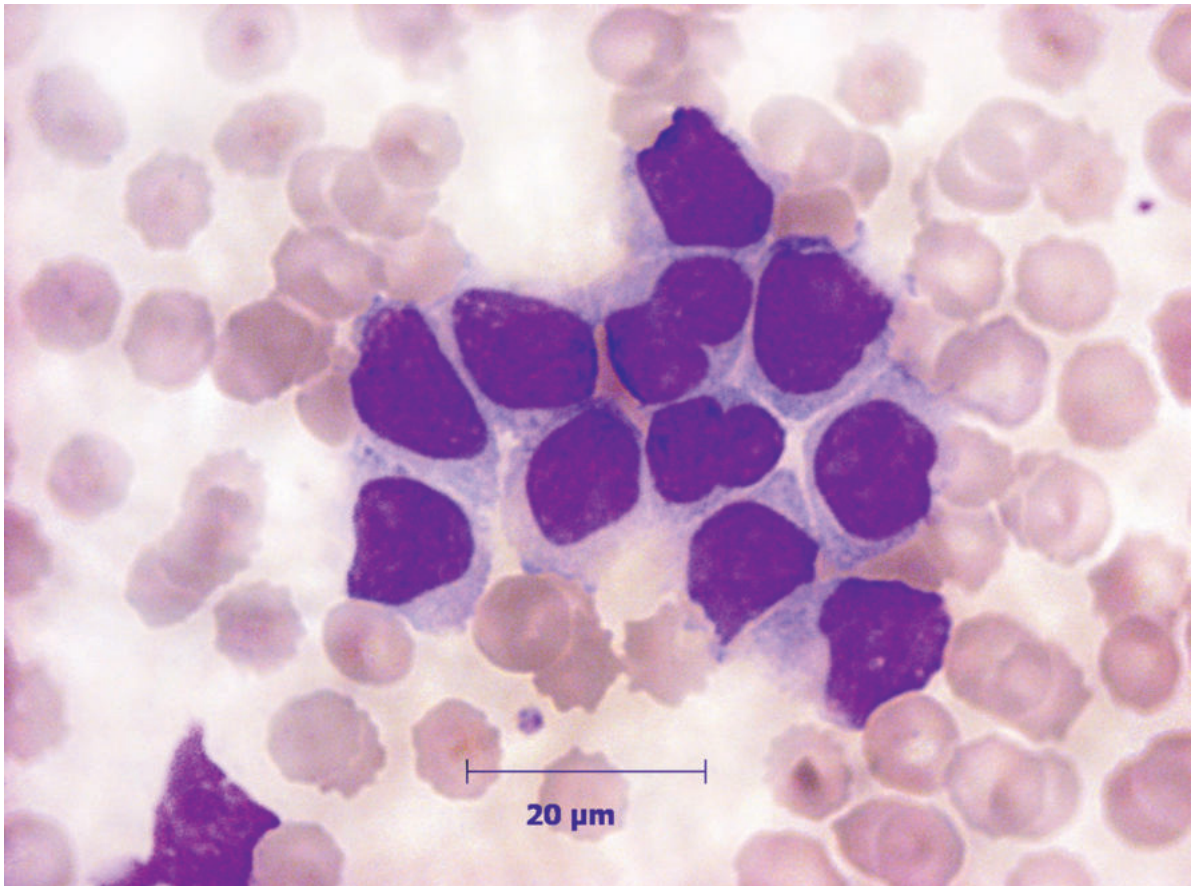


Lymphozyten im Liquor cerebrospinalis

Rund 70 Prozent der schätzungsweise 460×10^9 Lymphozyten eines Erwachsenen verteilen sich auf die lymphatischen Organe und erfüllen hier immunologische Funktionen. Die verbleibenden Lymphozyten sind zu 4 Prozent im Blut und zu 10 Prozent im Knochenmark enthalten. Im Bindegewebe lagern die verbleibenden 15 Prozent dieser Immunzellen. Der Liquor zerebrospinalis ist sehr zellarm (4Mpt/l) und enthält beim Gesunden Lymphozyten. Bestimmte Erkrankungen gehen mit einem Anstieg der Zellzahl und morphologischen Veränderungen einher. Hier sind Lymphozyten und aktivierte Lymphozyten (Pfeile) abgebildet. Aktivierte Lymphozyten der Liquorzytologie entsprechen atypisch reaktiven Lymphozyten des Blutes.

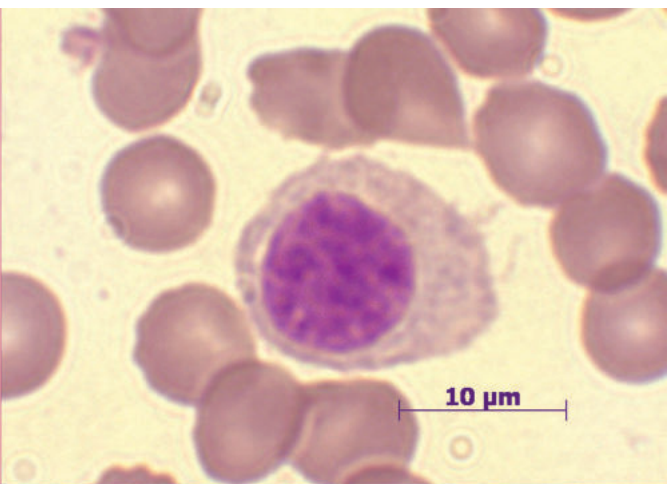
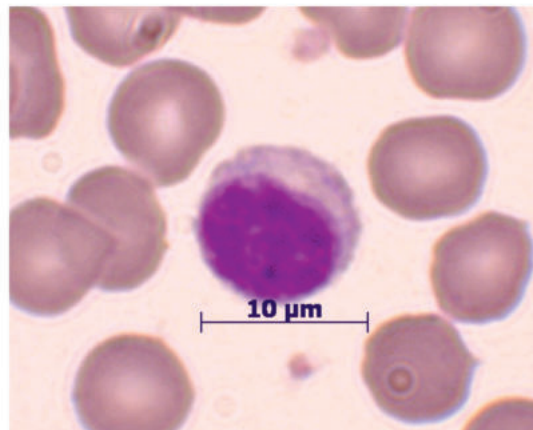
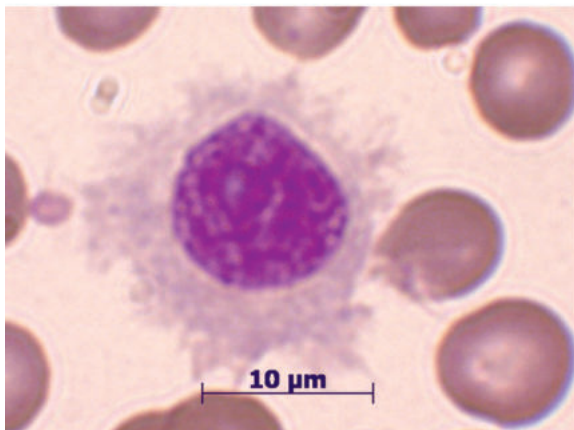
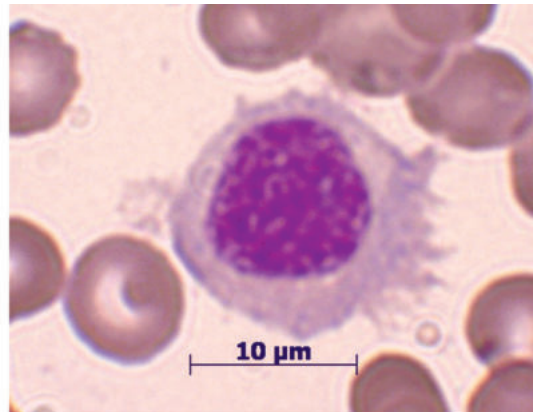
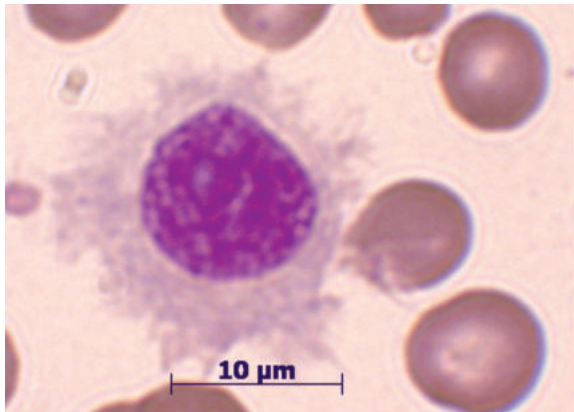


Atypische Lymphozyten (vermutlich neoplastisch)

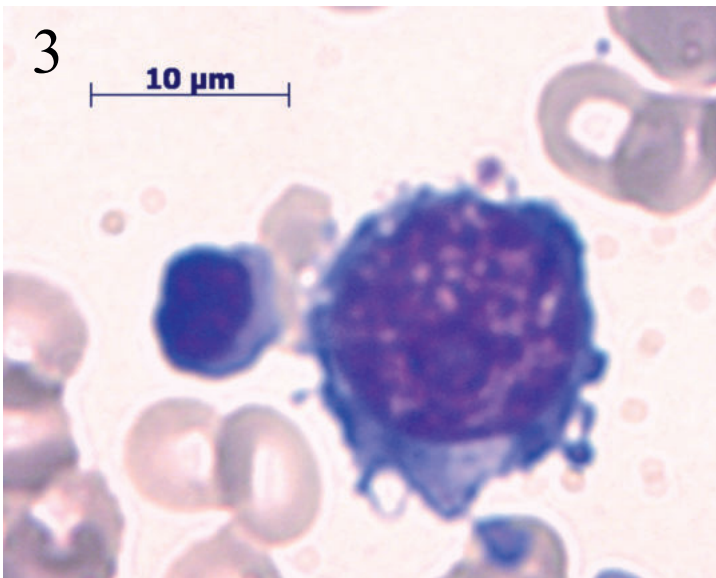
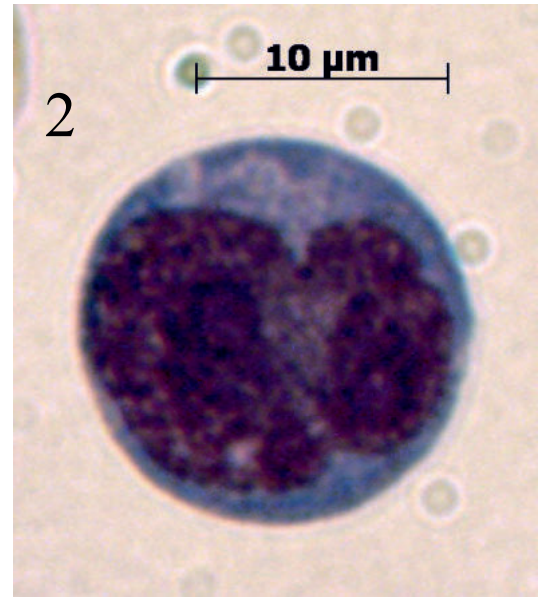
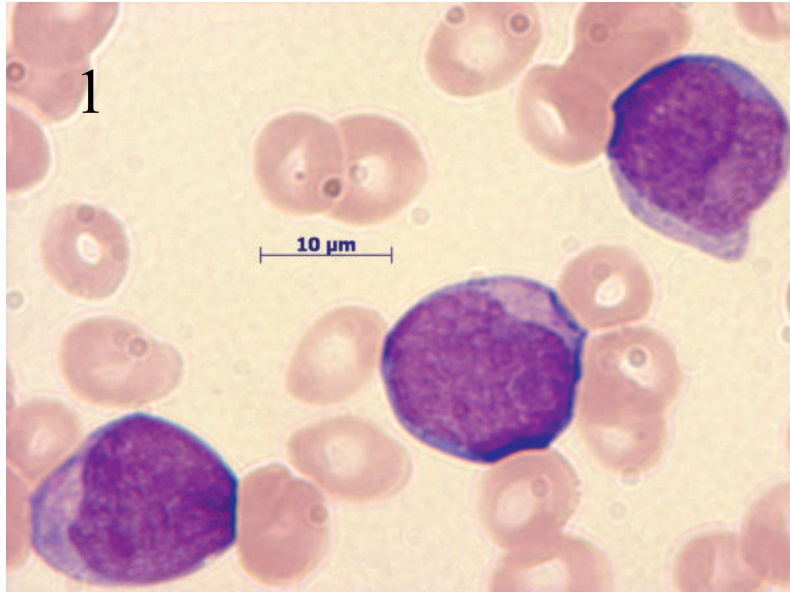


Die beiden Fotos zeigen Lymphoblasten bei der akuten lymphatischen Leukämie.

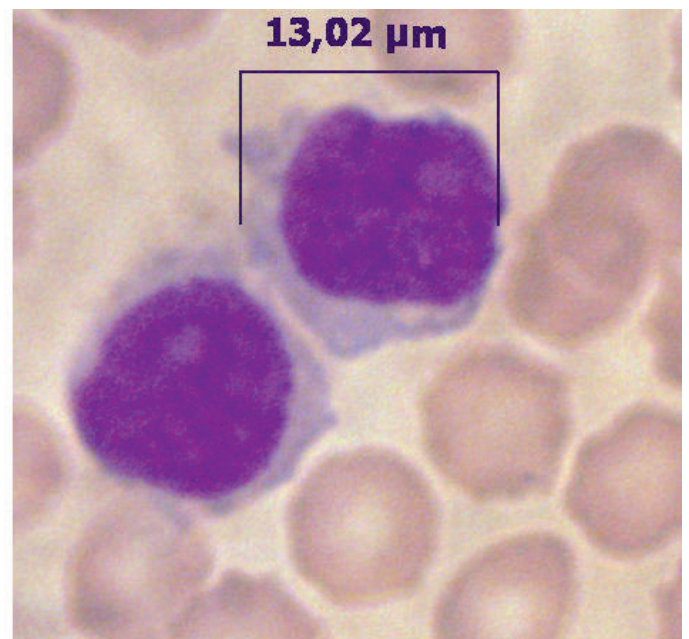
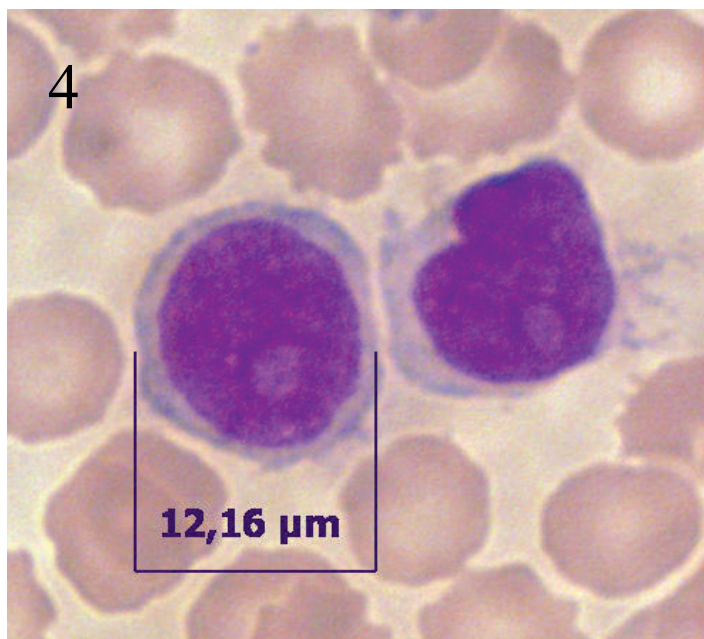
Atypische Lymphozyten bei Haarzellleukämie



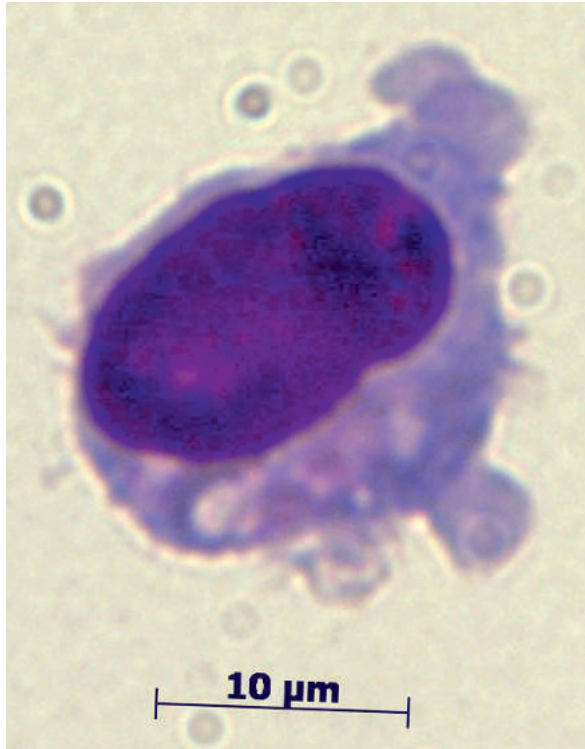
Lymphoblasten



- 1) drei Blasten bei akuter lymphatischer Leukämie
- 2) Blast im Liquor zerebrospinalis
- 3) Lymphoblast und Erythroblast im Blut
- 4) Blasten mit prominenten Kernkörperchen bei akuter lymphatischer Leukämie



Vergleich von Zelltypen



Lymphoidzelle im Liquor



Haarzelle im Blut

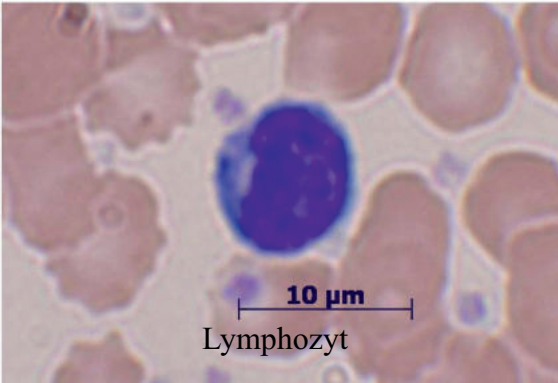
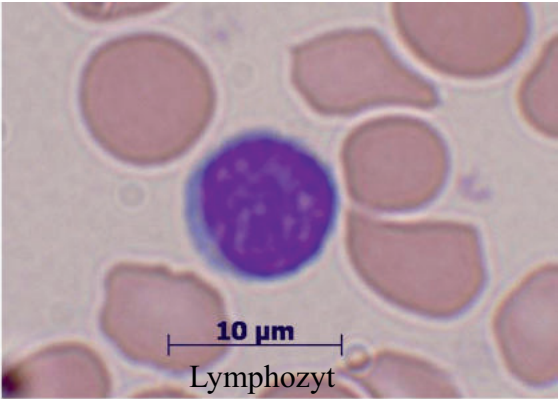
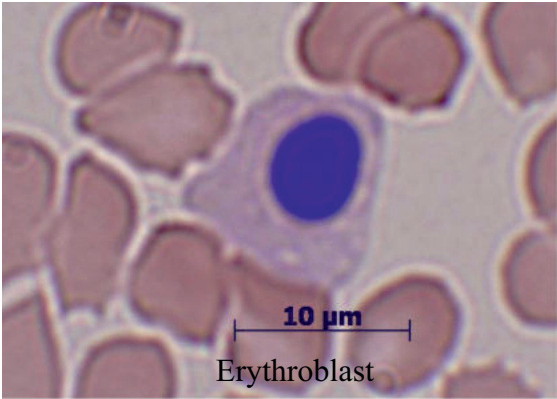
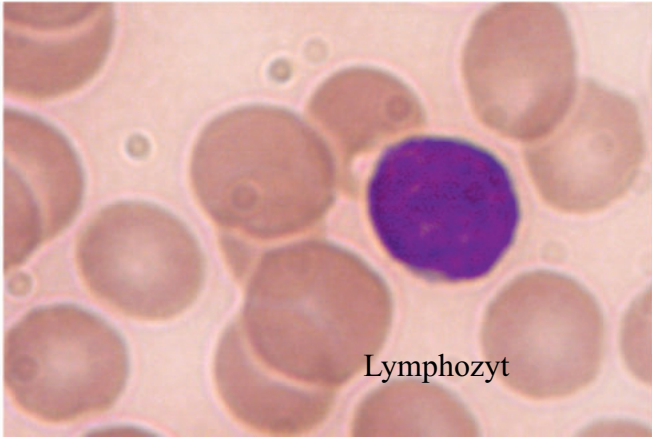
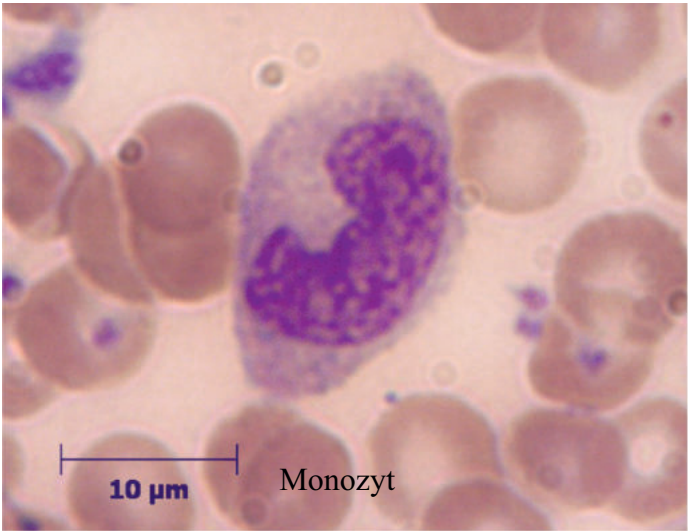


Lymphoblast im Liquor

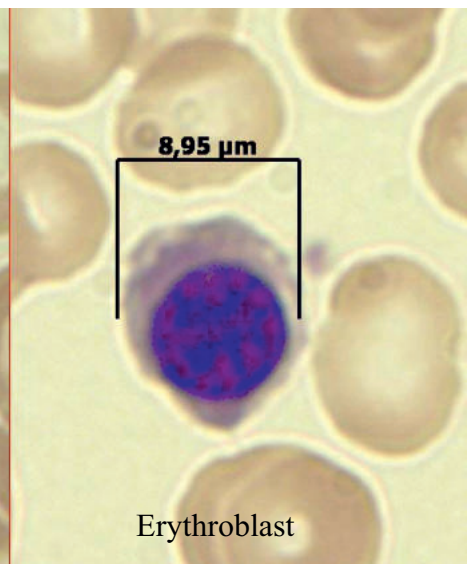
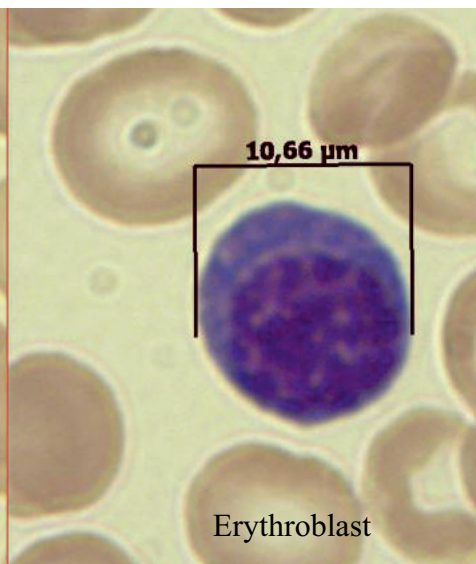
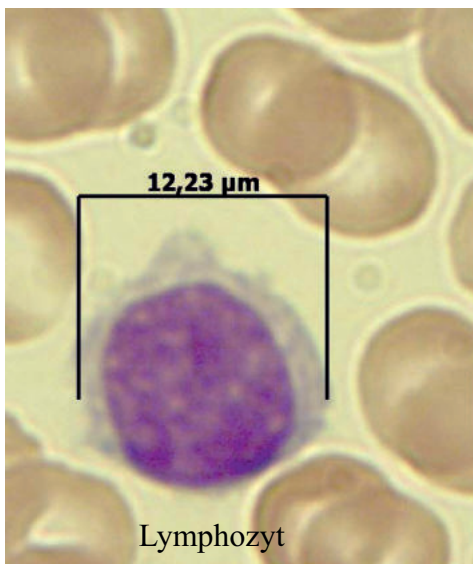
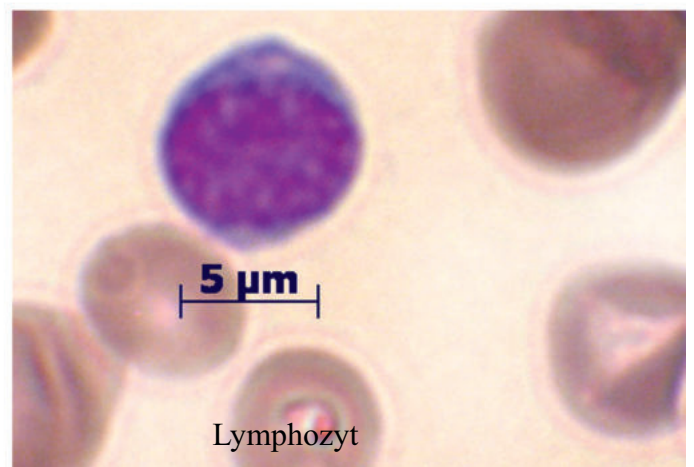
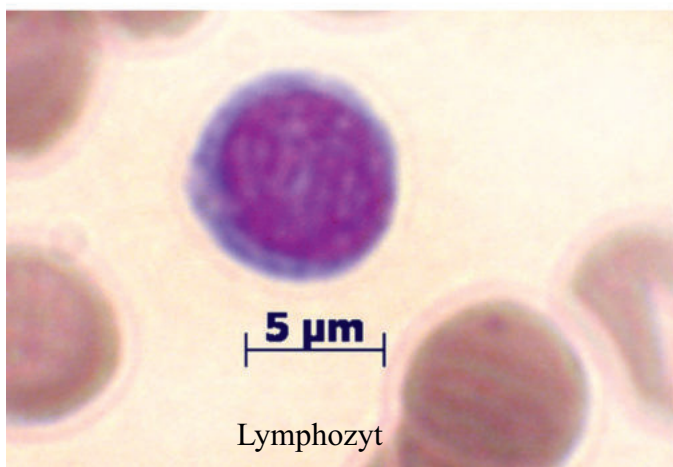
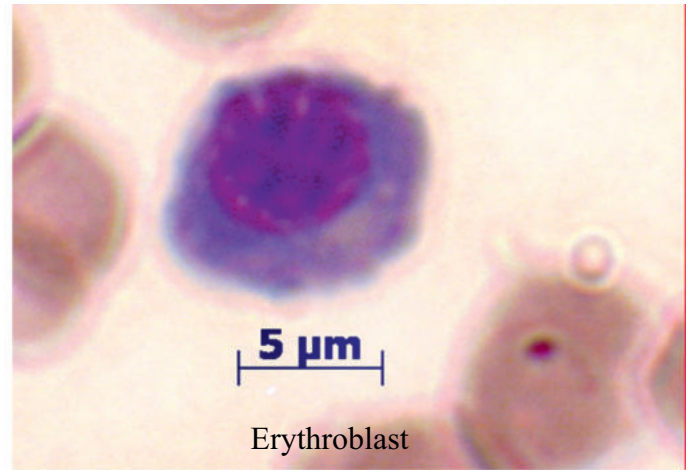
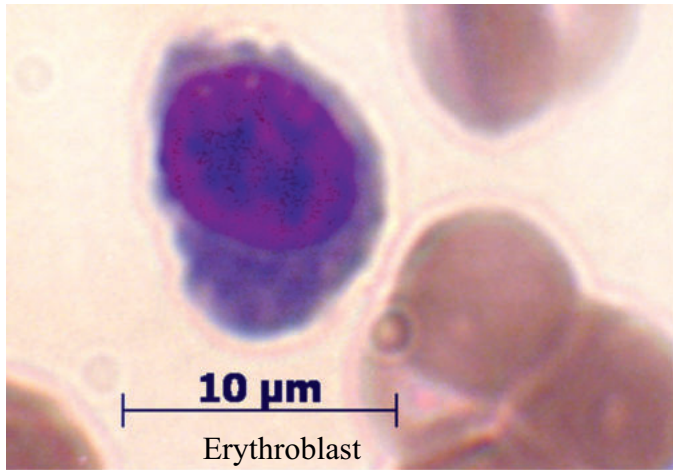


Prolymphozyt im Blut

Vergleich von Zelltypen 1

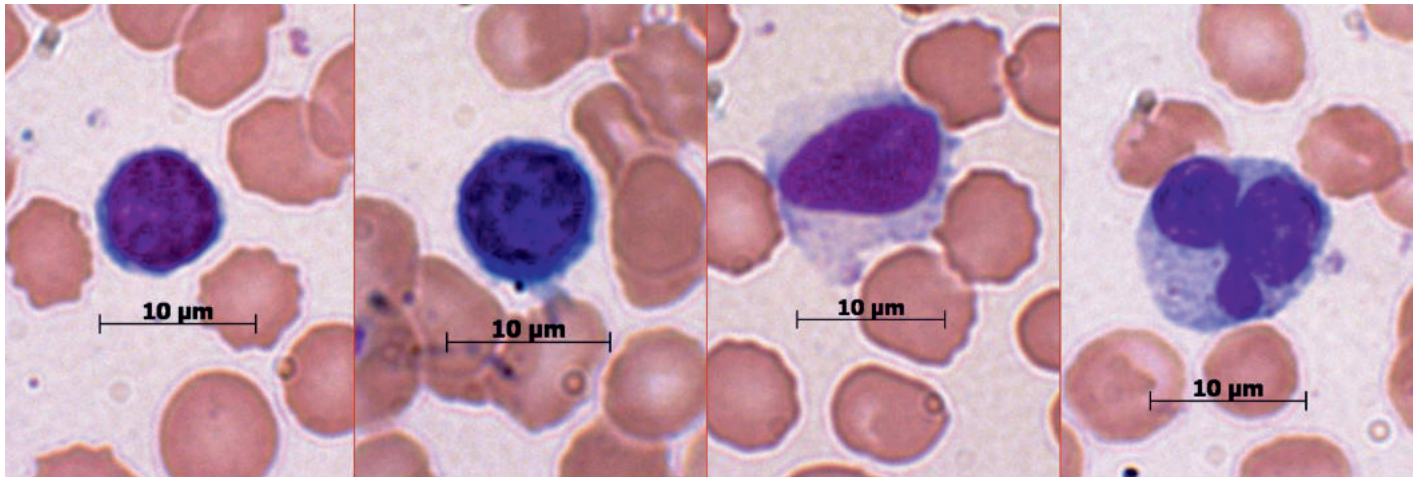


Vergleich von Zelltypen 2

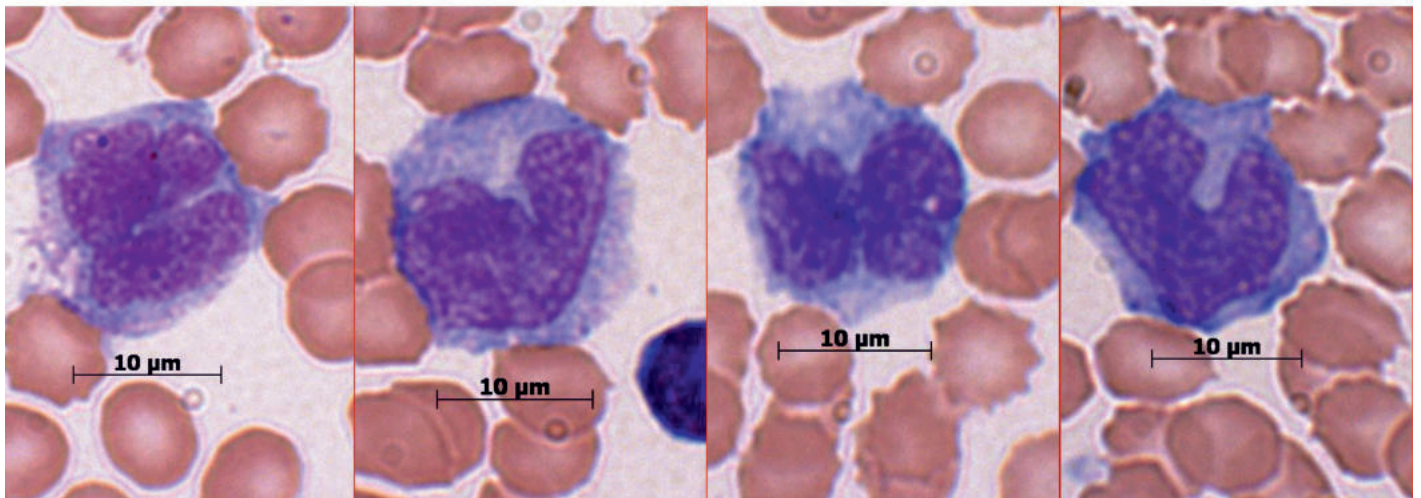


Die Zellen haben Gemeinsamkeiten betreffs ihrer Größe und der Kern-Plasma-Relation. Sichtbare Unterschiede bestehen im Farbton des Plasmas und der Struktur des Chromatins.

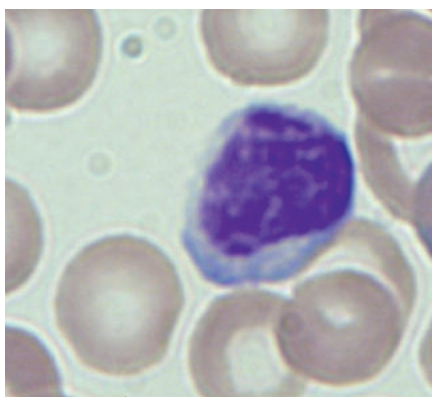
Vergleich von Zelltypen 3



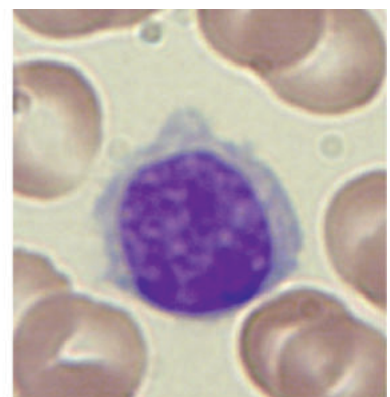
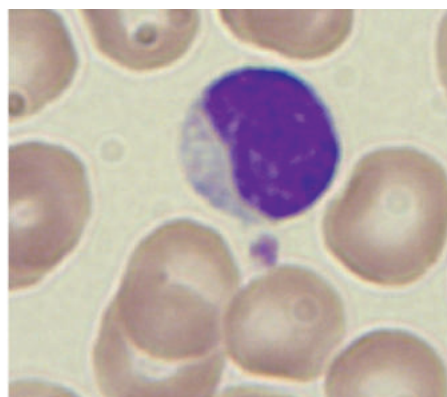
Lymphozyten



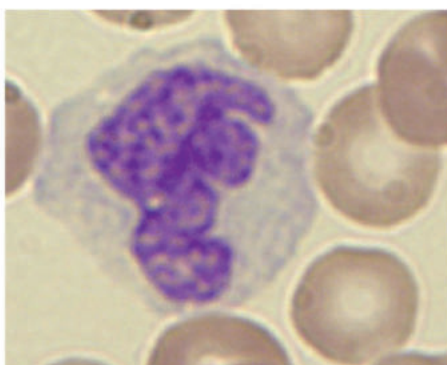
Monozyten



Lymphozyten

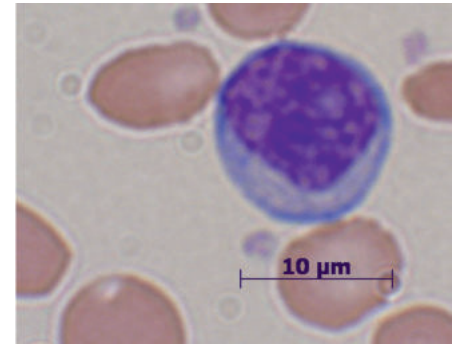
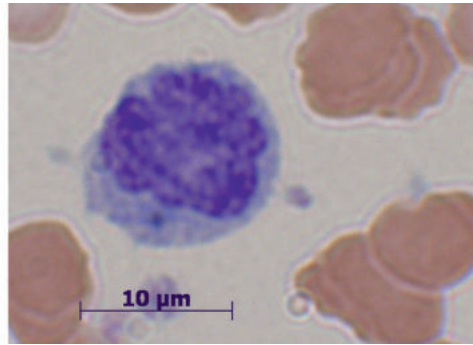
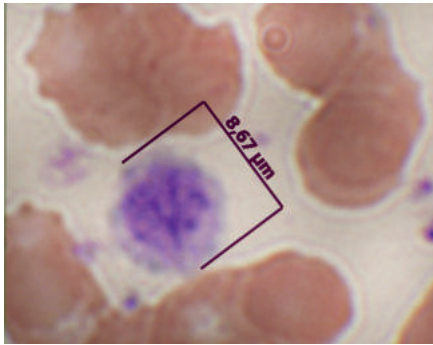


Monozyten

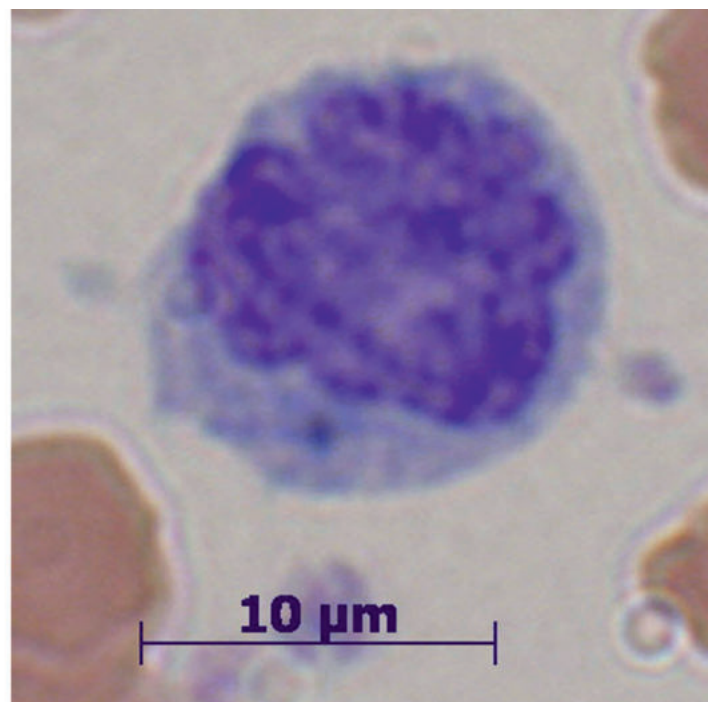
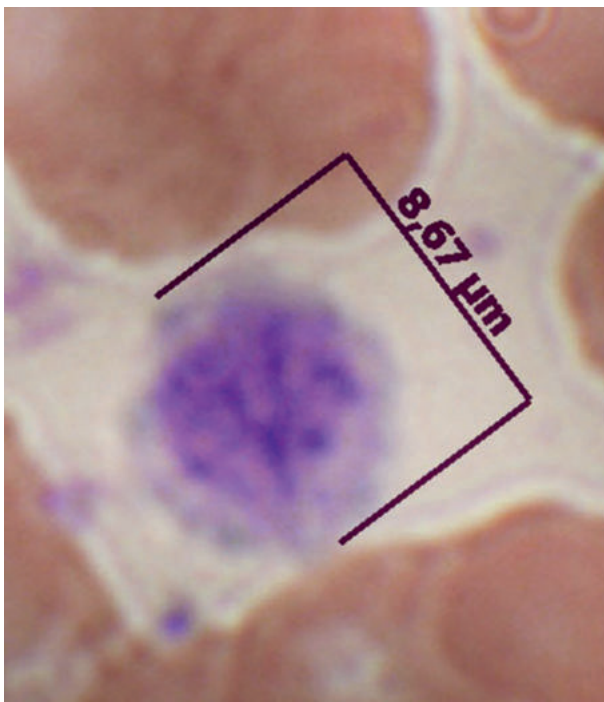


Die Fotos der Lymphozyten und Monozyten sollen die Variabilität der Zellen verdeutlichen.

Vergleich von Lymphozyt und Riesenthrombozyt

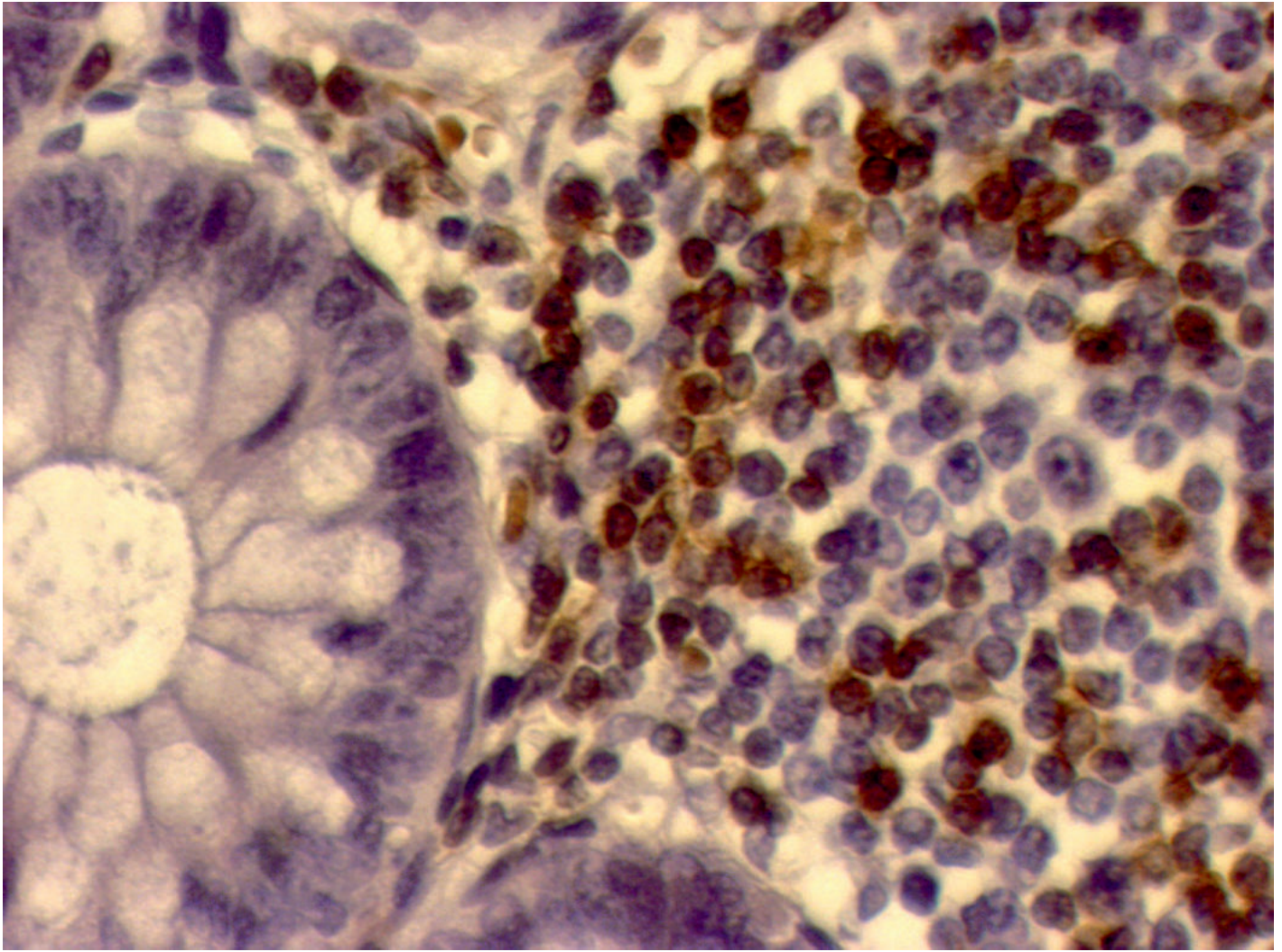


Riesenthrombozyt und zwei reaktive Lymphozyten im Blutausstrich bei chronisch myeloischer Leukämie.

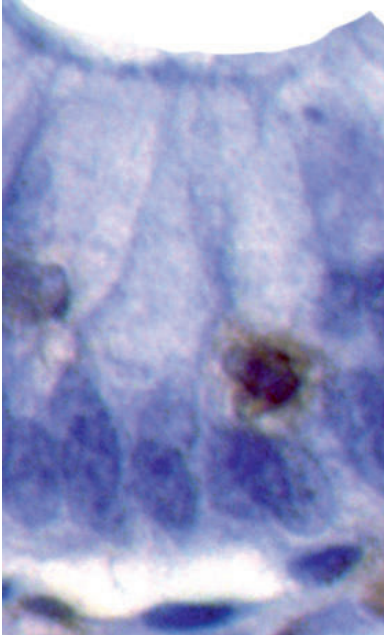


Im Foto mit stärkerer Auflösung können die Unterschiede studiert werden. Der Kern der aktivierten Zelle hat zahlreiche kleine Einbuchtungen und ein inhomogenes Chromatin mit dunklen Bereichen. Die Granula des Thrombozyten ist gleichzeitig diffus rötlich-violett mit größeren Anteilen im blau-violetten Farbton. Durch die Art der Lagerung der Granula und ihr großes Volumen besteht eine geringe Ähnlichkeit zu einem Zellkern. Die Kernmembran des Lymphozyten macht den Unterschied jedoch sehr deutlich. Die Begrenzung des Plasmas ist beim Lymphozyten deutlich und scharf. Beim Thrombozyten ist sie unscharf und verwaschen.

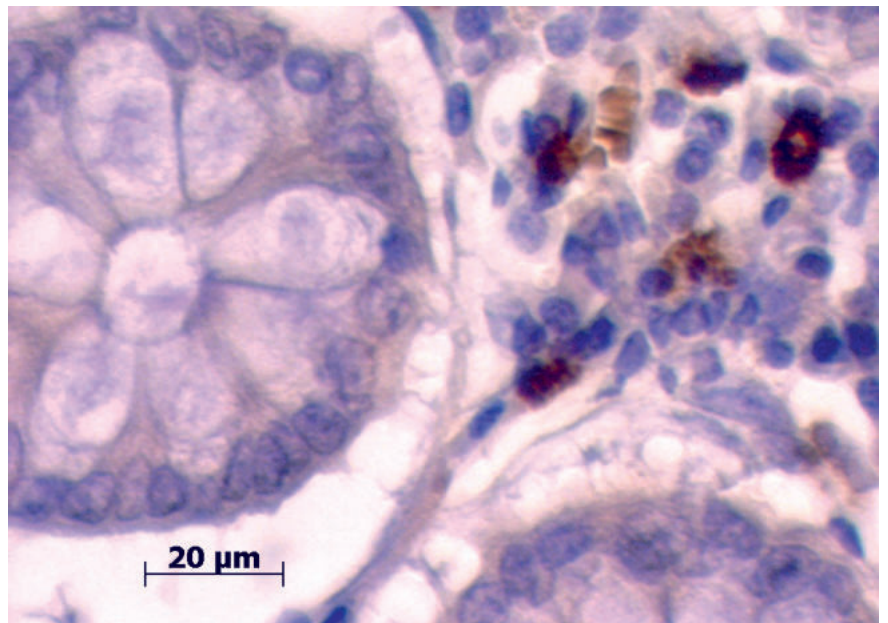
Lymphozyten im Gewebe



Immunhistologisches Präparat des humanen Dickdarms. Zu sehen ist der Teil einer Krypte sowie Lymphozyten in der Mukosa. Die T-Lymphozyten sind am CD-3-Hilfrezeptor antikörpermarkiert und erscheinen im mikroskopischen Bild im braunen Farbton.

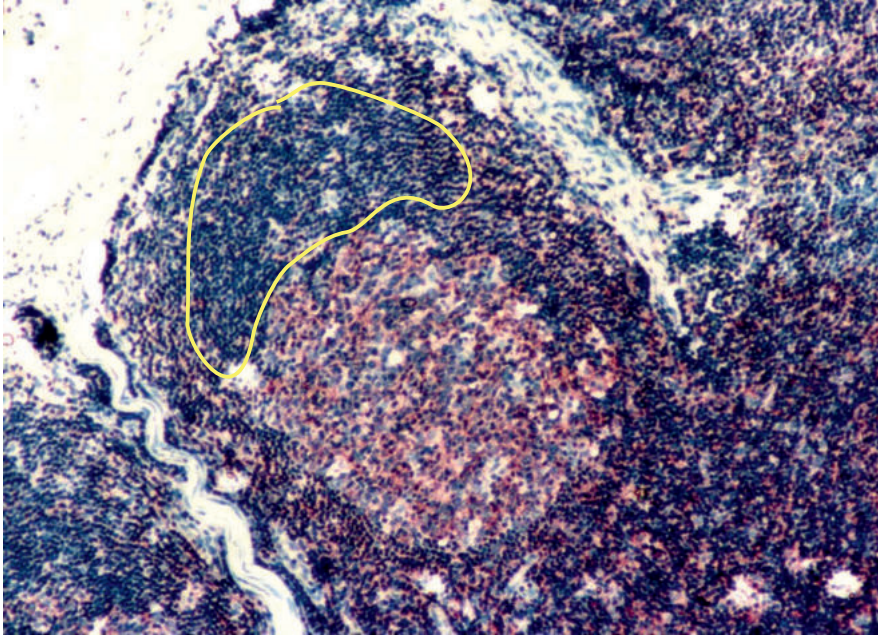


T-Zelle bei der Migration im Mukosaepithel.

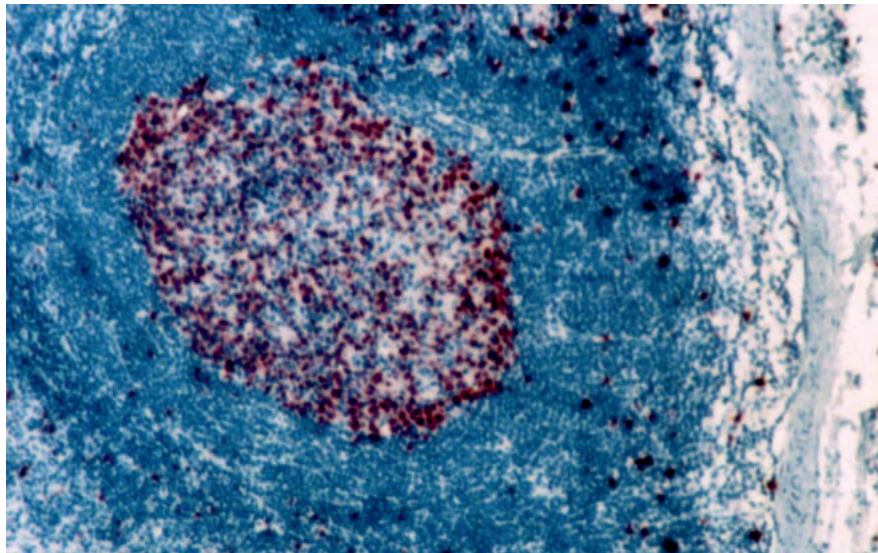


CD-20-markierte B-Lymphozyten lagern in der Submukosa des Dickdarms.

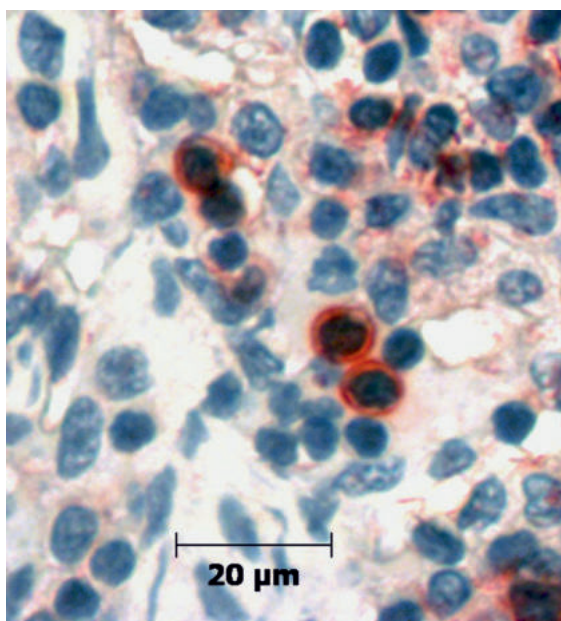
Lymphatisches Gewebe



Follikel eines Lymphknotens mit markierten B-Lymphozyten. Im Zentrum des Knötchens sind die im roten Farbton markierten Zellen gut zu beobachten. In dem gelb gekennzeichneten Areal lagern vorwiegend T-Zellen.

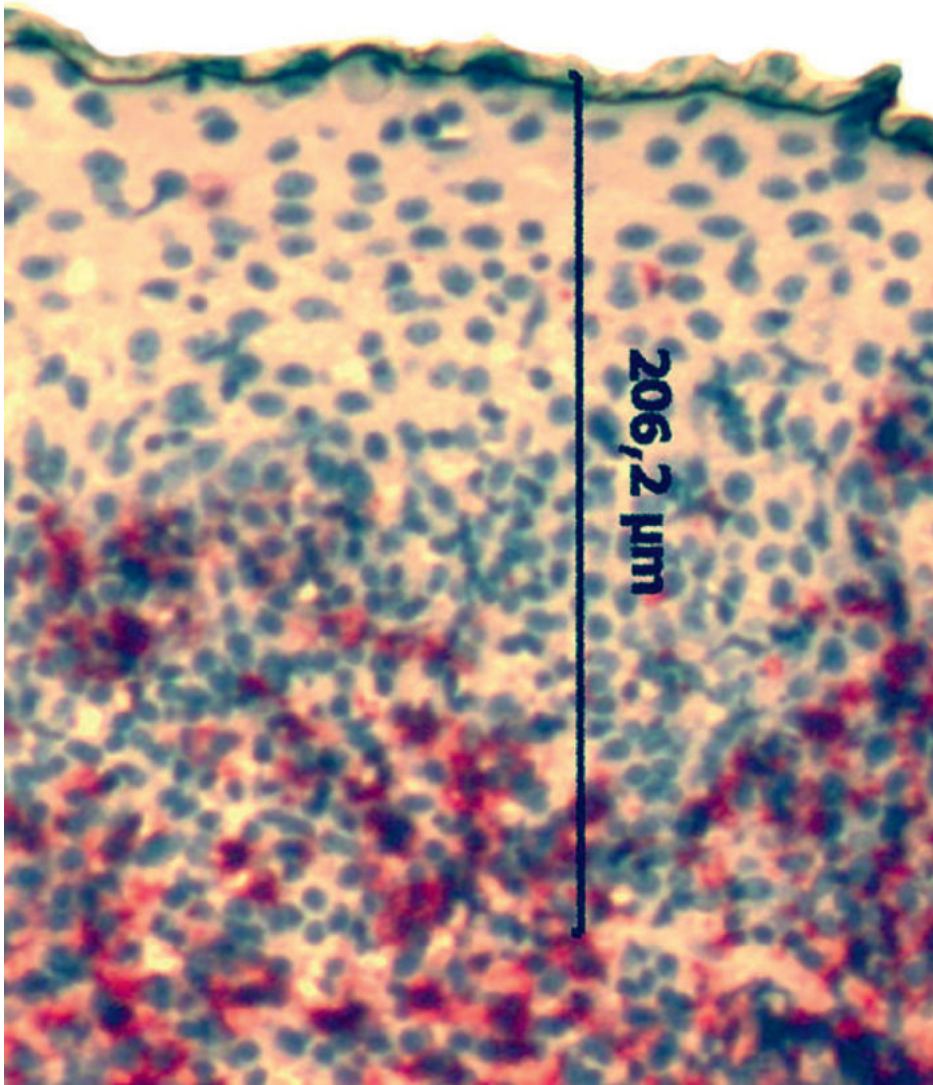


Im Zentrum des Follikels lagern die meisten der rot markierten Zellen. Der verwendete Marker hebt alle Zellen hervor, die sich in der Teilung befinden. Aktivierte B-Zellen teilen sich unter Rekombination der variablen Teile der leichten und schweren Ketten. Die Möglichkeiten der Neukombination beträgt 1 900 000. Diese wird durch somatische Hypermutation auf eine Diversität von 10^{11} gesteigert, weil das Enzym (activation induced cytidine desaminase) in den Immunglobulin-Genen Punktmutationen erzeugt.

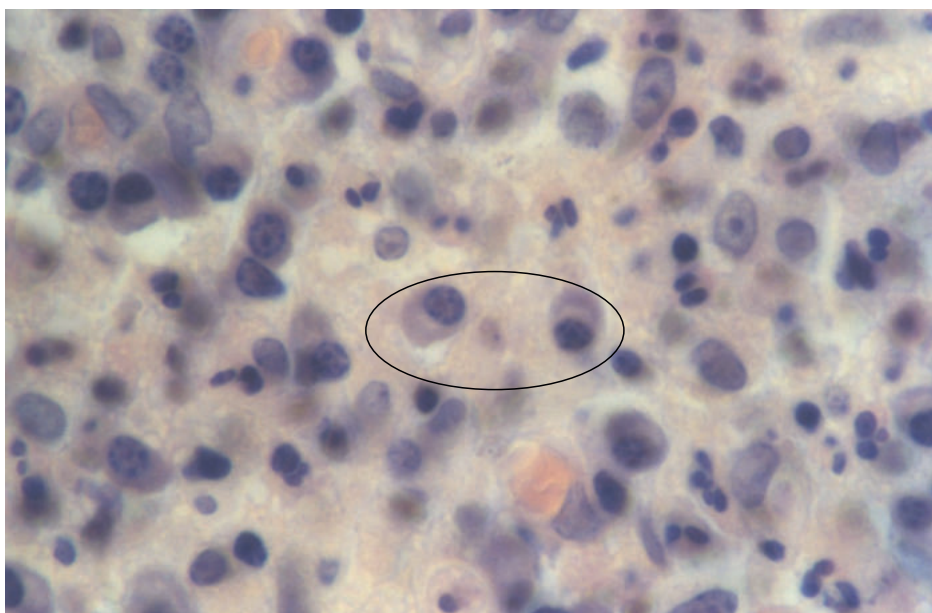


T-Lymphozyten mit CD-8-Rezeptor sind durch einen Antikörper markiert und durch die anschließende histochemische Reaktion rot gefärbt. Zellen mit CD-8-Rezeptor erkennen virusinfizierte Körperzellen und zerstören diese durch Freisetzung von Enzymen. Für diese Enzyme wurde der Terminus Granzyme eingeführt, er bezieht sich auf die Granula der Effektorzelle und die daraus freigesetzten Enzyme. Ein zytolytisches Enzym ist das Perforin.

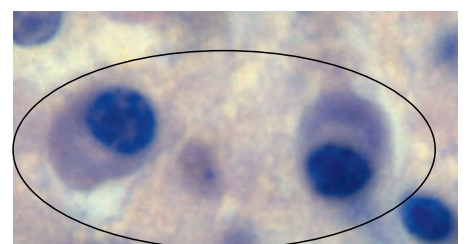
Lymphatisches Gewebe



Das Foto zeigt einen Ausschnitt des lympho-epithelialen Gewebeverbandes der Gaumenmandel. Naive B-Lymphozyten wandern durch das mehrschichtige Plattenepithel. Mit der Markierung des CD-20-Rezeptors sind die B-Zellen am roten Farbton zu erkennen. Naive B-Lymphozyten sind Zellen ohne Antigenkontakt. Durch einen Antigenkontakt werden die naiven Zellen zu jenen B-Lymphozyten, die zur Affinitätsreifung fähig sind. Durch die Affinitätsreifung entstehen Antikörper mit hoher Affinität.



Im Mark eines humanen Lymphknotens sind Plasmazellen zu beobachten. In der stärker aufgelösten Detailaufnahme ist der charakteristische Hof am exzentrisch lagernden Zellkern gut zu sehen.



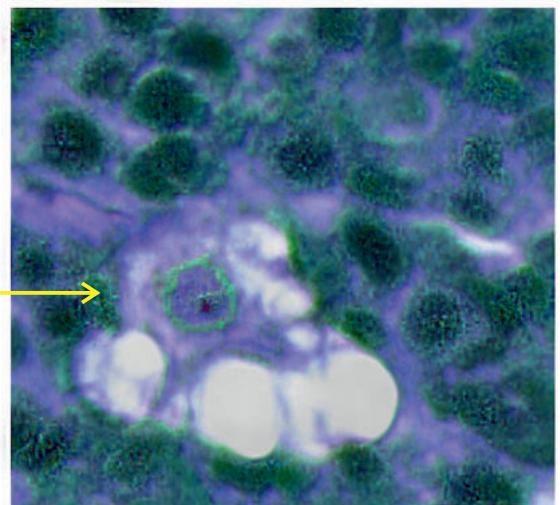
Lymphatisches Gewebe

3 mm



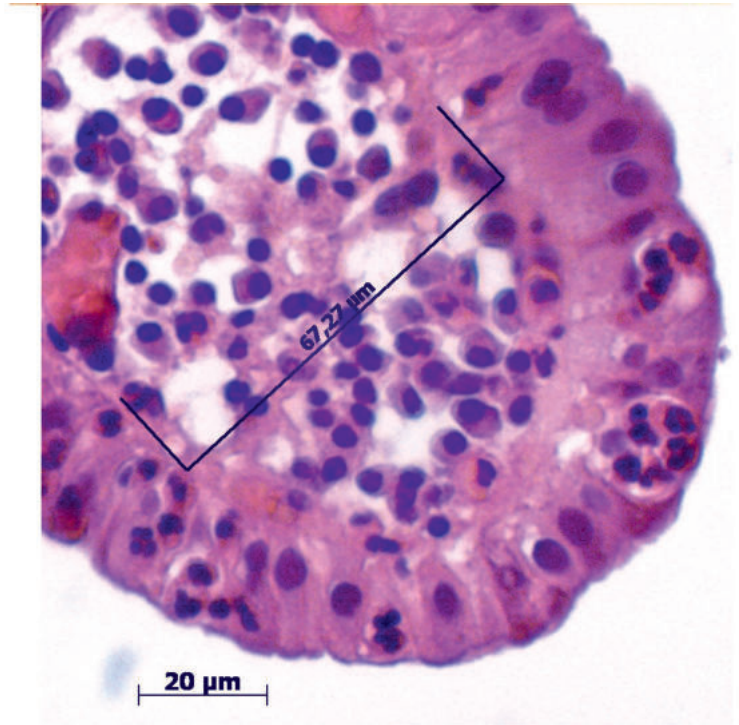
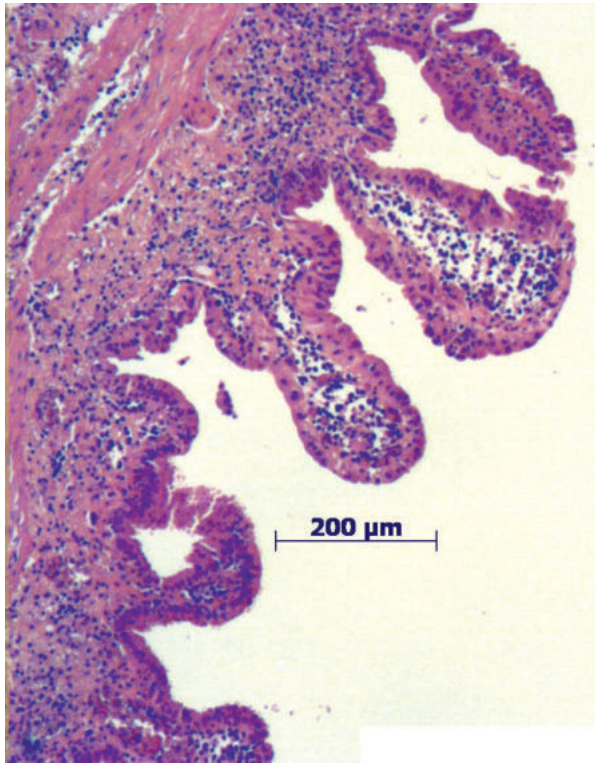
Weigert van Gieson gefärbter Paraffinschnitt einer humanen Tonsilla palatina.

In den Follikeln präsentieren Makrophagen aufbereitete Epitope von Mikroorganismen über MHC-II-Rezeptoren.

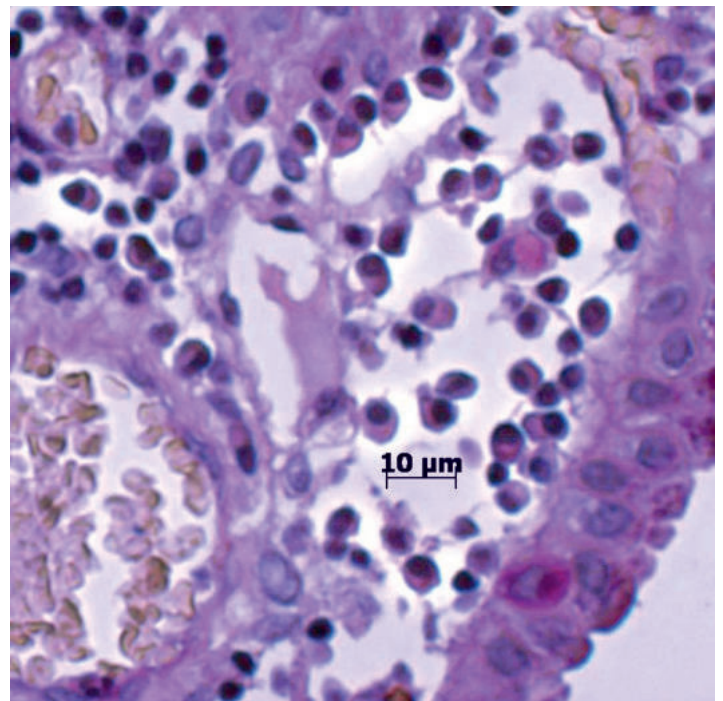
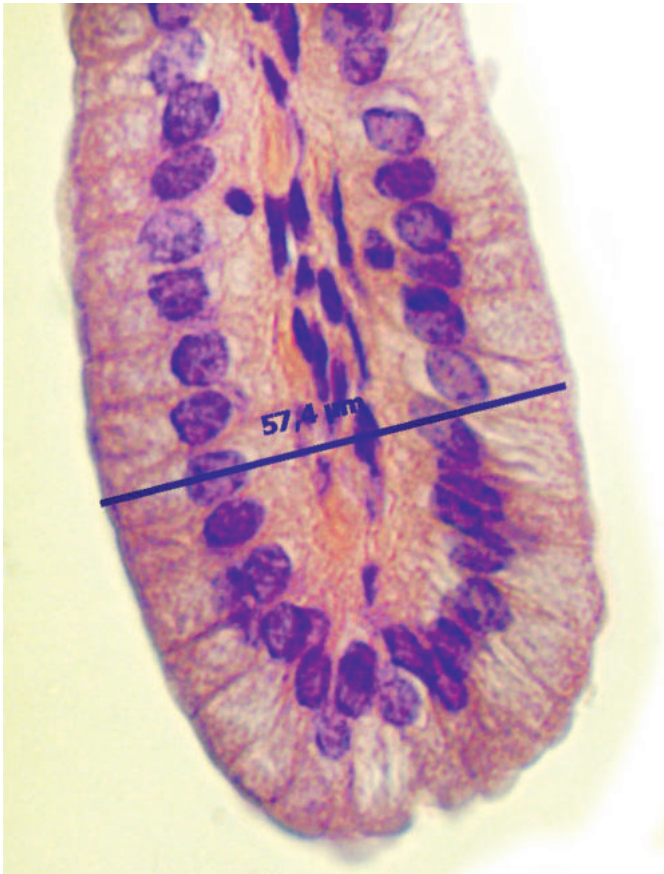


Digital bearbeitet Aufnahme eines Makrophagen bei der Interaktion mit T-Lymphozyten.

Chemotaxis und Migration



HE-Präparat einer humanen Gallenblase bei zwei Auflösungen. In dem subepithelialen Bindegewebe lagern reichlich Immunzellen. Granulozyten sind bis in den apikalen Bereich des hochprismatischen Epithels gewandert. Das Epithel ist hypereosinophil mit verwaschenen und gequollenen Kernen. Das Chromatin ist nicht mehr differenzierbar (Vergleich mit dem Foto links unten). Im Foto unten rechts sind im Bindegewebe zahlreich Plasmazellen differenzierbar.

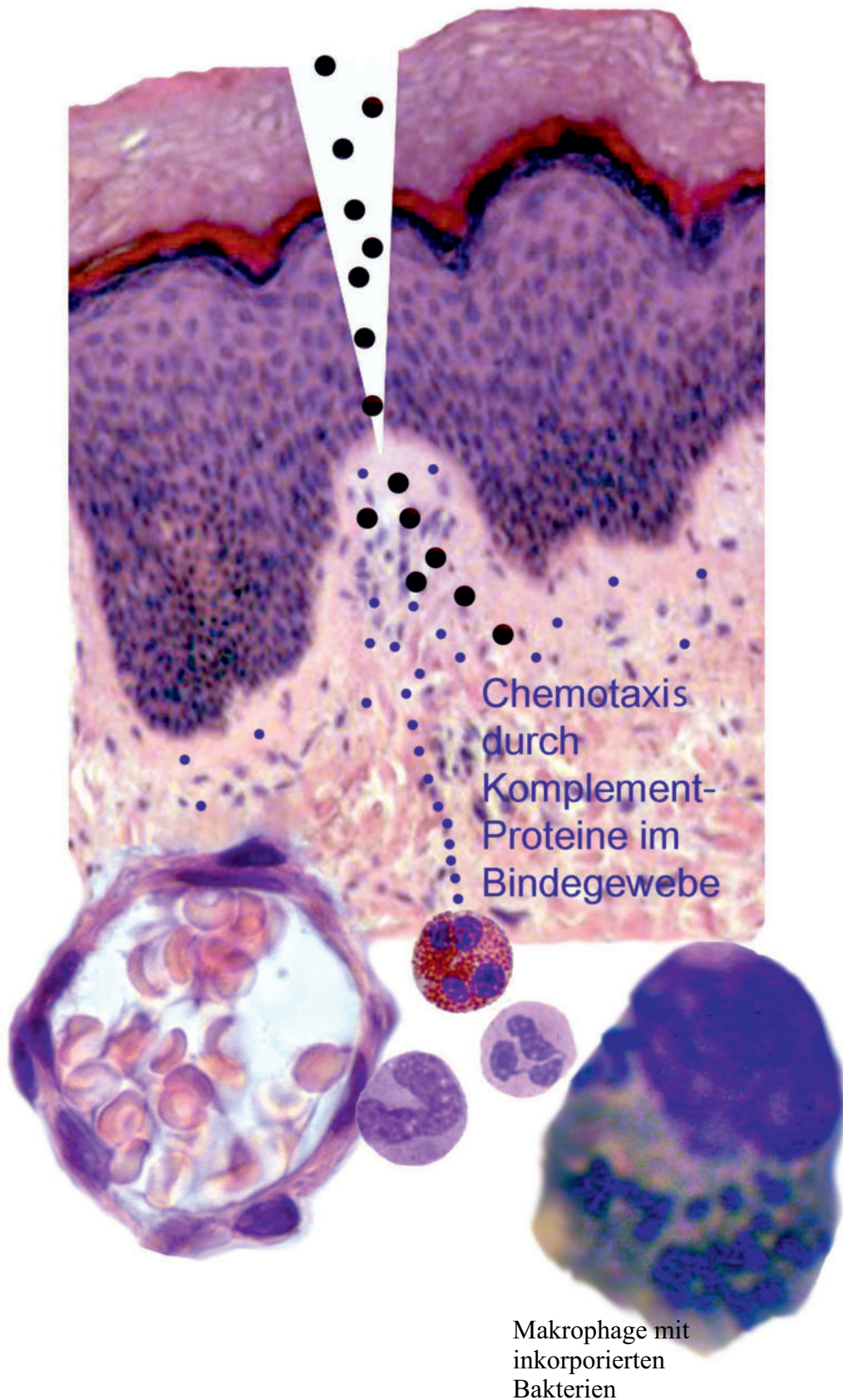


PAS-Reaktion und Kernfärbung mit Hämalaun am selben Präparat wie oben ausgeführt. Im Bindegewebe können PAS-positive Plasmazellen beobachtet werden.

Foto eines HE-Präparats der gesunden Gallenblase.

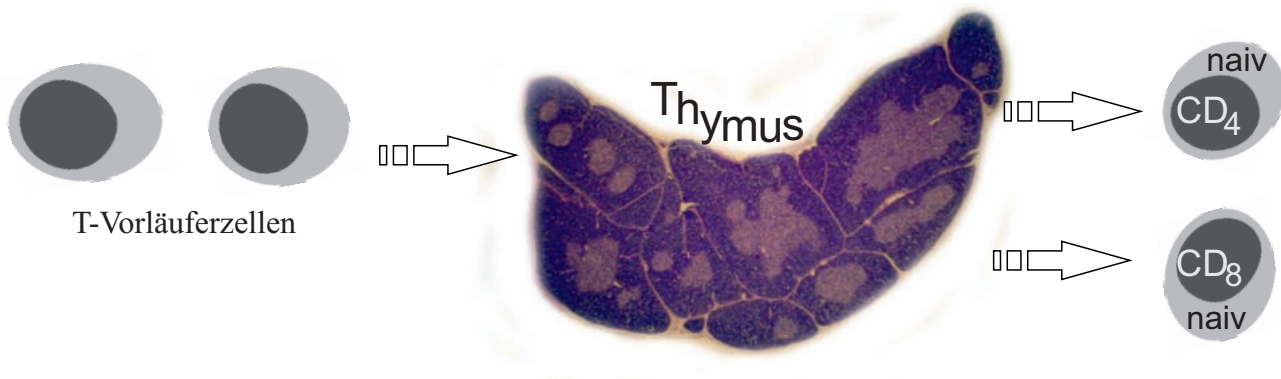
Grafische Darstellung zur Chemotaxis

Dargestellt ist ein Defekt in der Oberhaut und das Eindringen von Bakterien. Blaue Punkte symbolisieren die Komplementproteine C3a und C5a, die chemotaxisch wirken und Immunzellen zum Ort des Defektes mit der Bakterieninvasion locken.



T-Zell-Entwicklung

Die Bildung der T-Zellen erfolgt im Knochenmark. Sie verlassen das Knochenmark als T-Vorläuferzellen und reifen im Thymus zu T-Helferzellen (CD₄) und zytotoxischen Zellen CD₈).

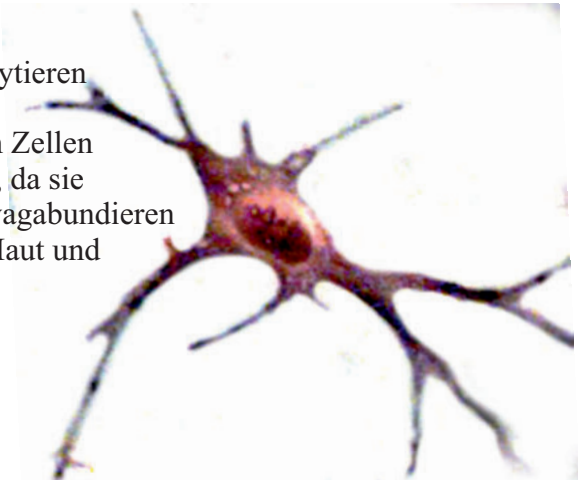


Die T-Vorläuferzellen werden im Thymus durch negative und positive Selektion geprägt. Lediglich 5 % der T-Vorläuferzellen verlassen als naive T-Helferzelle bzw. zytotoxische Zelle den Thymus. Alle anderen Vorläuferzellen mussten sterben, weil sie nicht zwischen selbst und fremd unterscheiden konnten oder die notwendige Toleranz zu den Körperzellen unzureichend war.

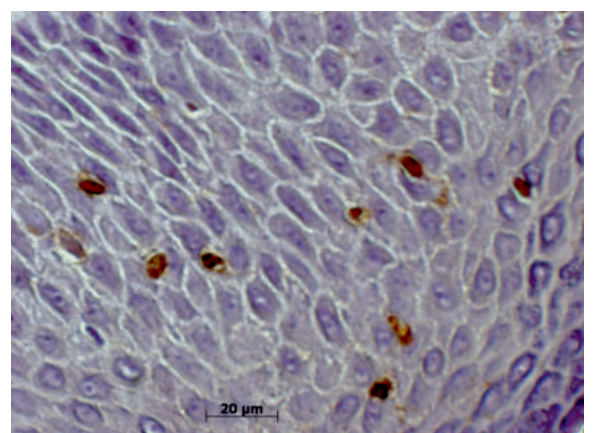
T-Zellen ohne Antigenkontakt werden als naive T-Helferzelle bzw. naive zytotoxische Zelle bezeichnet. Der Kontakt mit einer dendritischen Zelle führt zur Aktivierung. Aktivierte zytotoxische Zellen können proliferieren und eine klonale Expansion (mitotische Vermehrung) ausführen. Sind ausreichend viele Tochterzellen entstanden, so werden sie als zytotoxische Effektorzellen aktiv.

Dendritische Zellen kommen überall im Körper vor. Sie phagozytieren Pathogene und präsentieren deren Antigenpeptide.

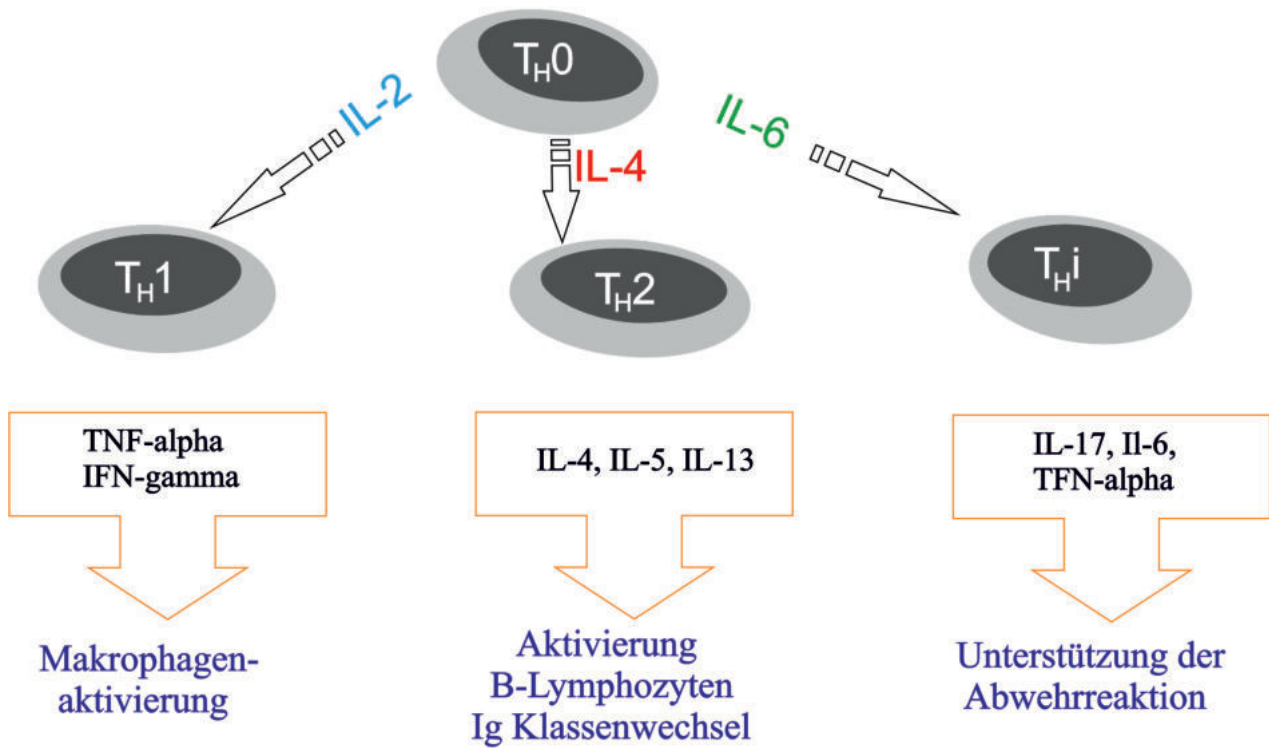
Dendritische Zellen sind die wichtigsten antigenpräsentierenden Zellen (APC). Sie können T-Helferzellen und T-Killerzellen aktivieren, da sie MHC-I- und MHC-II-Moleküle besitzen. Dendritische Zellen vagabundieren durch den Organismus. Im mehrschichtigen Plattenepithel der Haut und Schleimhaut werden sie auch als Langerhans-Zellen bezeichnet.



Immunhistologische Markierung von Langerhans-Zellen in einem Präparat der humanen Haut. Die Kerne sind mit Hämalaun gefärbt.



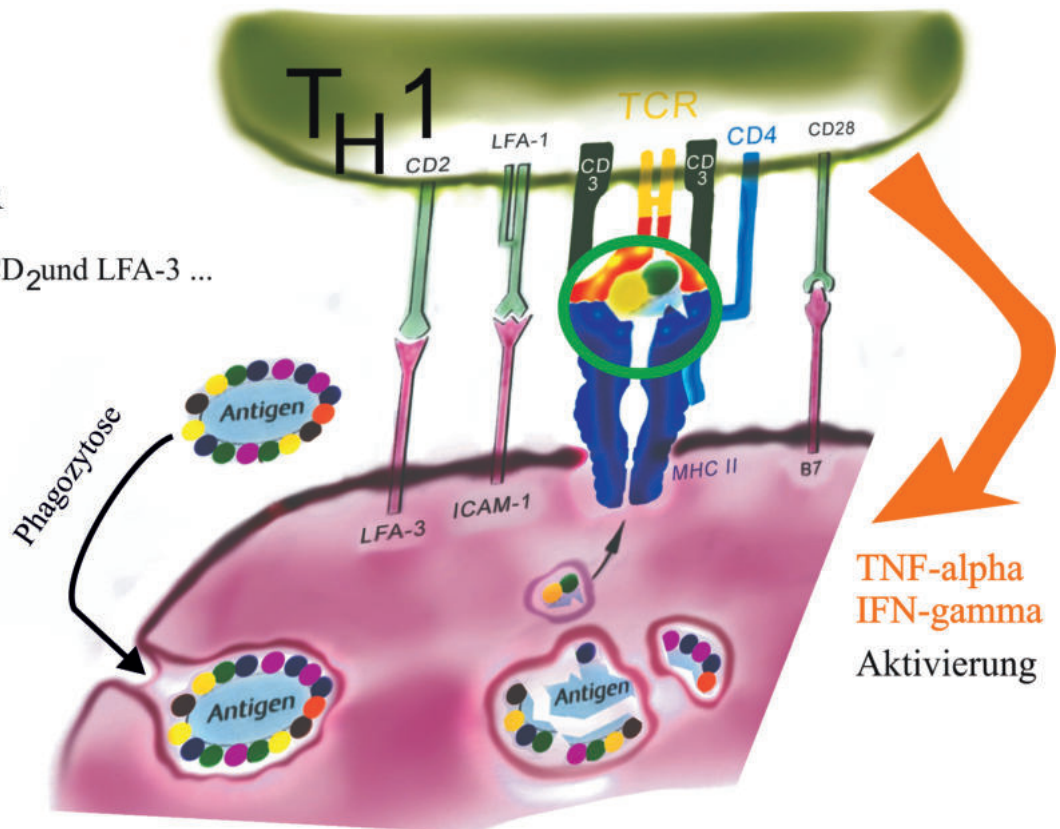
Effektorfunktion von T-Zellen



Makrophagenpräsentation und Makrophagenaktivierung

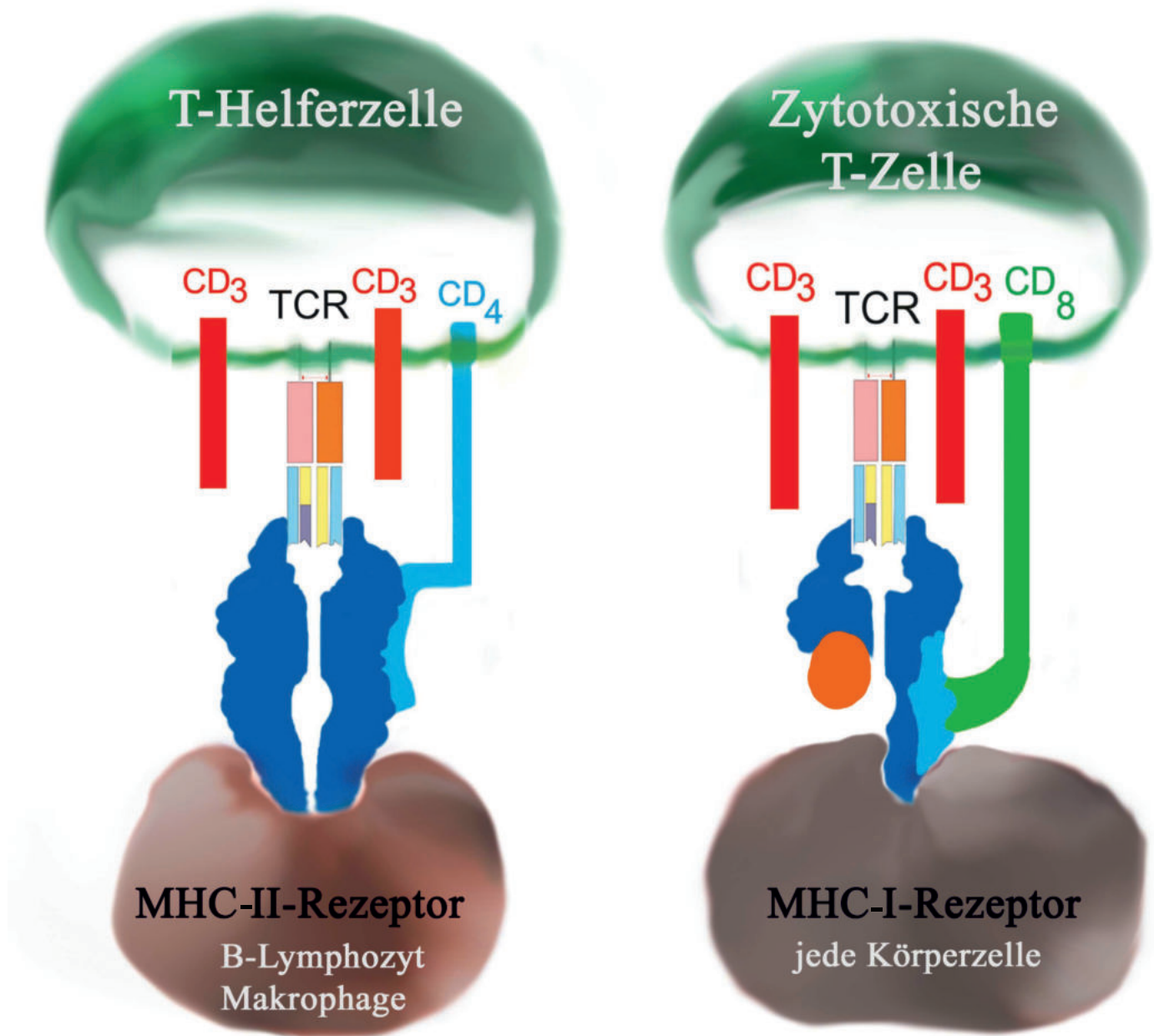
Interaktionen:

1. MHC-II und TCR
2. CD₄ und MHC-II
3. Hilfsrezeptoren CD₂ und LFA-3 ...



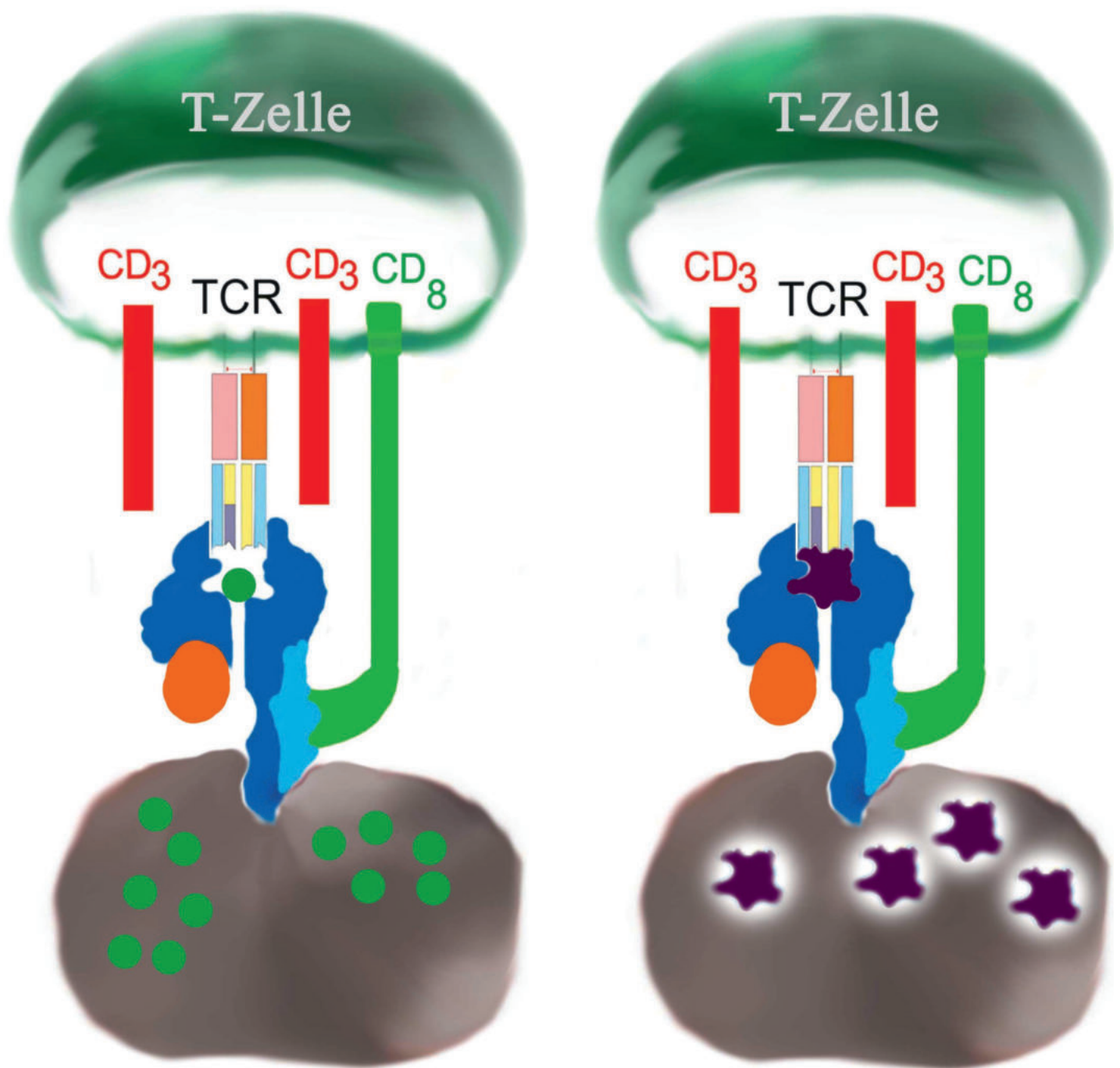
T-Zellrezeptor und Hilfsrezeptoren

Der T-Zellrezeptor dient der Interaktion mit MHC-Rezeptoren. Dabei erkennt die Helferzelle den Rezeptor vom Typ II und die Effektorzelle den Typ I.



Der MHC-Rezeptor wird auch mit HLA (humanes Leukozytenantigen) bezeichnet. An den Hilfsrezeptoren CD₄ und CD₈ sind Helferzelle und zytotoxische Zelle unterscheidbar. Die zytotoxische Zelle wird auch mit Effektorzelle benannt. Sie zerstört kranke Körperzellen, wenn diese Virusantigen präsentieren oder durch Antikörper markiert sind. Aufgabe der Helferzelle ist die Instruktion anderer Immunzellen.

Zytotoxische Zelle (Effektorzelle)

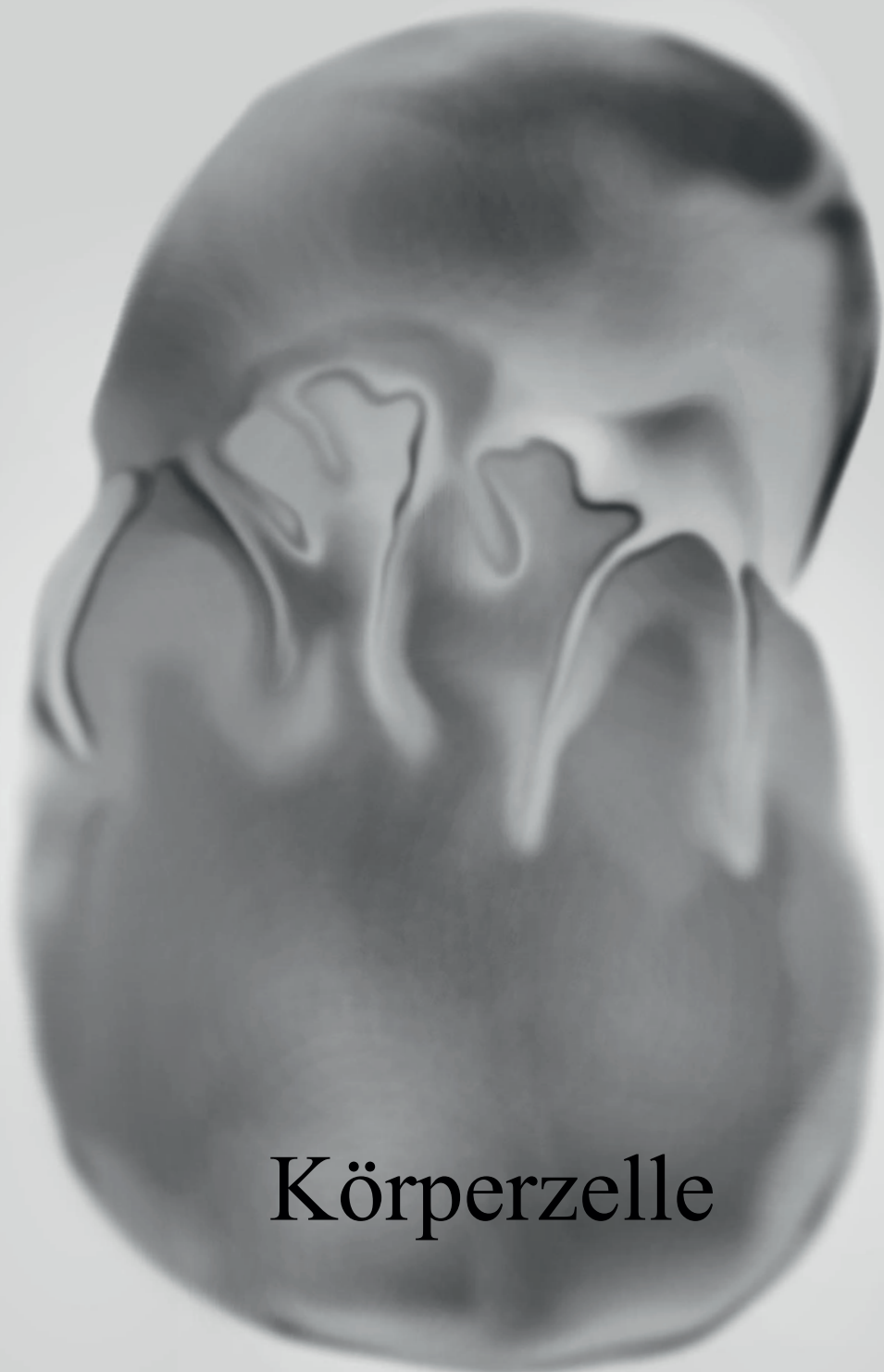


Die gesunde Körperzelle präsentiert ein **Protein** aus ihrem Stoffwechseln. Die vom Virus infizierte Zelle präsentiert ein kontaktauslösendes **Virusprotein**.

Über den MHC-I-Rezeptor gibt jede Körperzelle Auskunft zu ihrer Proteinsynthese. Die MHC-I-Rezeptoren werden ständig neu gebildet und in der Zellmembran verankert. Auf diese Weise wird bei einem Virusbefall ein Virusprotein der Effektorzelle präsentiert. Die befallene Körperzelle werden daraufhin getötet, um den Ort der Virusreplikation zu beseitigen.

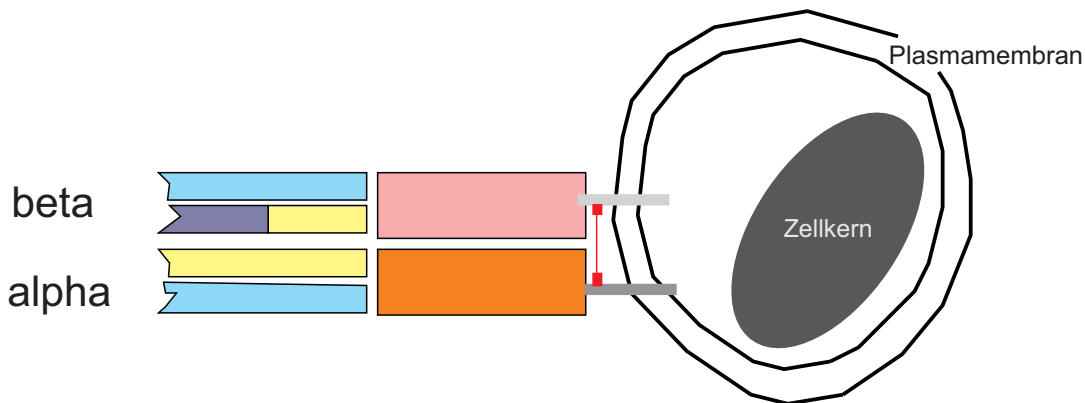
Grafische Darstellung der Interaktion einer Effektorzelle

Die obere Zelle stellt eine Effektorzelle dar und die untere eine beliebige Körperzelle.



Körperzelle

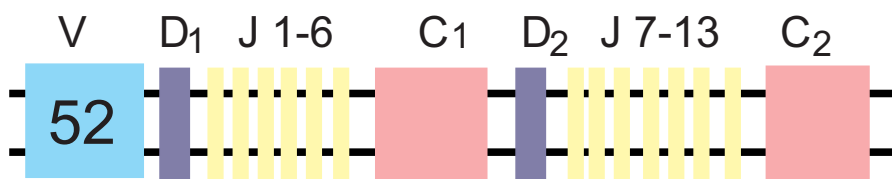
Struktur des T-Zell-Rezeptors (TCR)



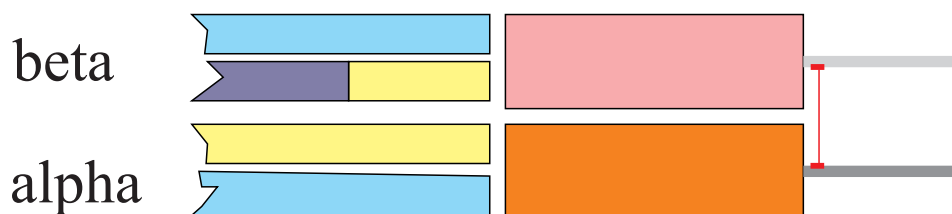
Alpha- und Beta-Kette sind durch eine Disulfidbindung verknüpft und durchdringen die Plasmamembran. Auf einer T-Zelle befinden sich 50.000 TCR. Für eine Aktivierung reicht die Stimulation von weniger als 100 TCR durch antigenpräsentierende Zellen.

Genomische Organisation des T-Zell-Rezeptors

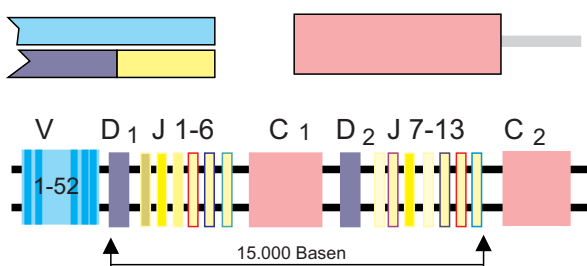
Beispiel: Beta-Kette (beta chain locus mit etwa 1.400.000 Basen)



52 Gensegmente V (variable) Gensegmente D1-2 (diversity)
Gensegmente C1-2 (constant) Gensegmente J1-13 (joining)



VDJ-Rekombination der Beta-Kette



$$52V \times 2D \times 13J = 1352 \text{ mögliche Beta-Ketten}$$

kombinatorische Diversität

Zufallsanordnung der Gensegmente

Kombinatorische Diversität (VDJ/variable-diversity-joining)

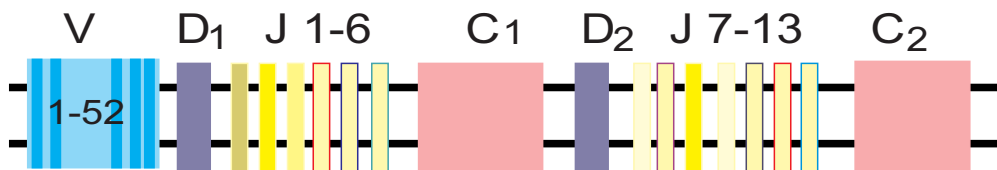
$52V \times 2D \times 13J = 1352$ mögliche Beta-Ketten

$80V \times 61J = 4880$ mögliche Alpha Ketten

$1352 \times 4880 = 6.597.760$ mögliche TCR (Keimbahn-DNA)

Keimbahn-DNA ist die ererbte Vielfalt an möglichen T-Zellrezeptoren.

Kombination der Gensegmente



Diversität von T-Zell-Rezeptoren
(beta-chain locus und Rekombination von Gensegmenten)



1. 400 000 Basen (52 V-Gensegmente+2 D-Gensegmente+13 J-Gensegmente)



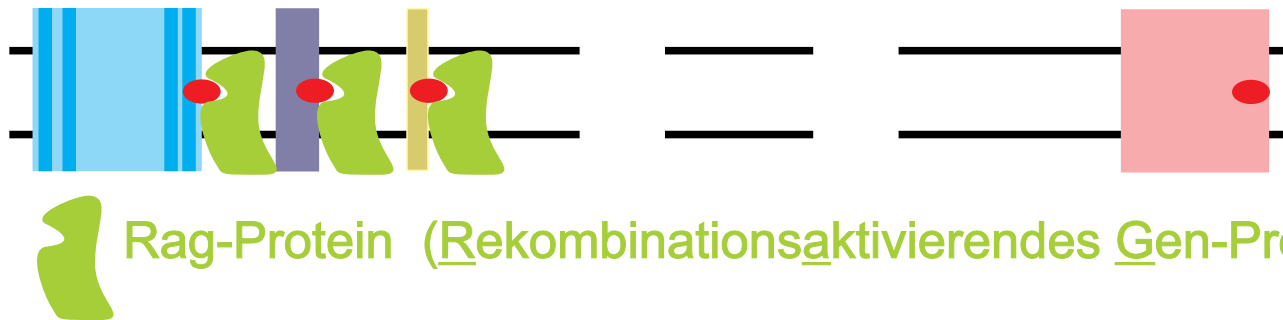
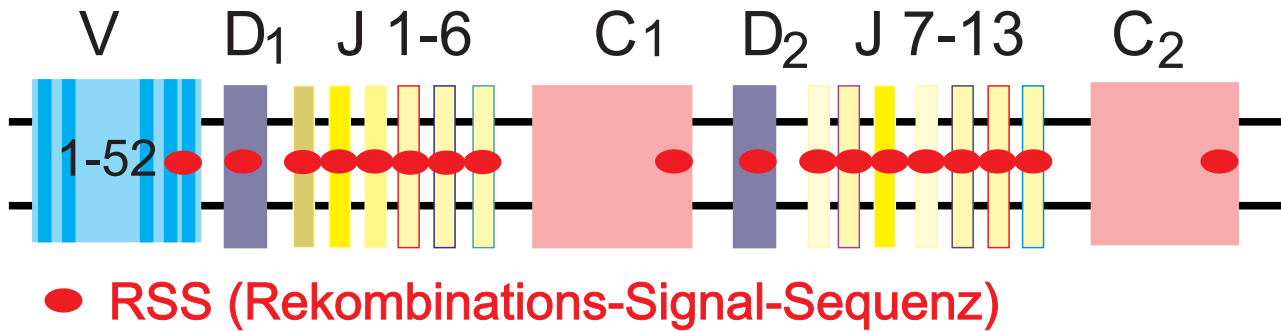
Junktionale Diversität/Verbindungsstellendiversität oder Verknüpfungsvielfalt

Die funktionale Diversität beschreibt die von der Keimbahn unabhängige Vielfalt des T-Zellrezeptors durch Veränderung der Rekombination. Dafür besitzt die T-Zelle Rag-Proteine (Rekombination-aktivierendes Gen-Protein).

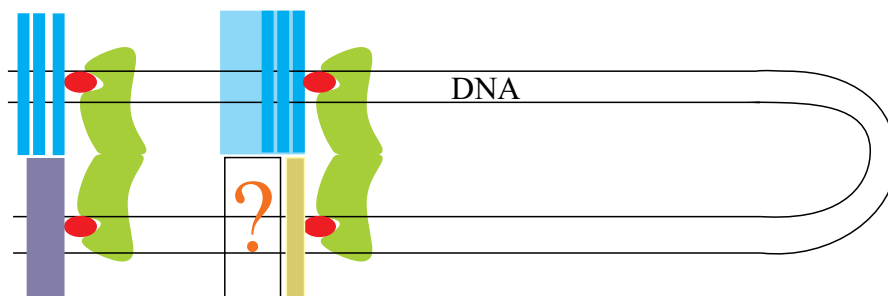


Bei der Kopplung der Waggon (Gensegmente) werden die Verbindungsstellen stets neu gefertigt: **Verknüpfungsvielfalt**. Das Peptidrepertoire durch die Verknüpfungsvielfalt wird auf etwa 10^{13} geschätzt.

Verknüpfungsvielfalt durch Rag-Proteine



Die Proteine lagern sich in die DNA ein und erzwingen eine Haarnadelgestalt (DNA-Hairpin). Gleichzeitig erzeugen sie DNA-Abschnitte, die unvollständig komplementär sind (?), sodass Nukleotide eingefügt werden müssen.



DNA-Lückenschluss durch die Terminale Desoxynukleotidyl- Transferase



Terminale Desoxynukleotidyl- Transferase

T-Zellen haben Enzyme, die eine Rekombination des T-Zellrezeptors unabhängig von der Keimbahn ermöglichen. So haben sie die Fähigkeit der Anpassung (adaptiver Teil des Immunsystems). Durch die Kombination aus keimbahnbestimmter Vielfalt (6.597.760 Möglichkeiten für TCR) und der keimbahnunabhängigen Rekombination wird ein TCR-Repertoire von 10^{16} angenommen.

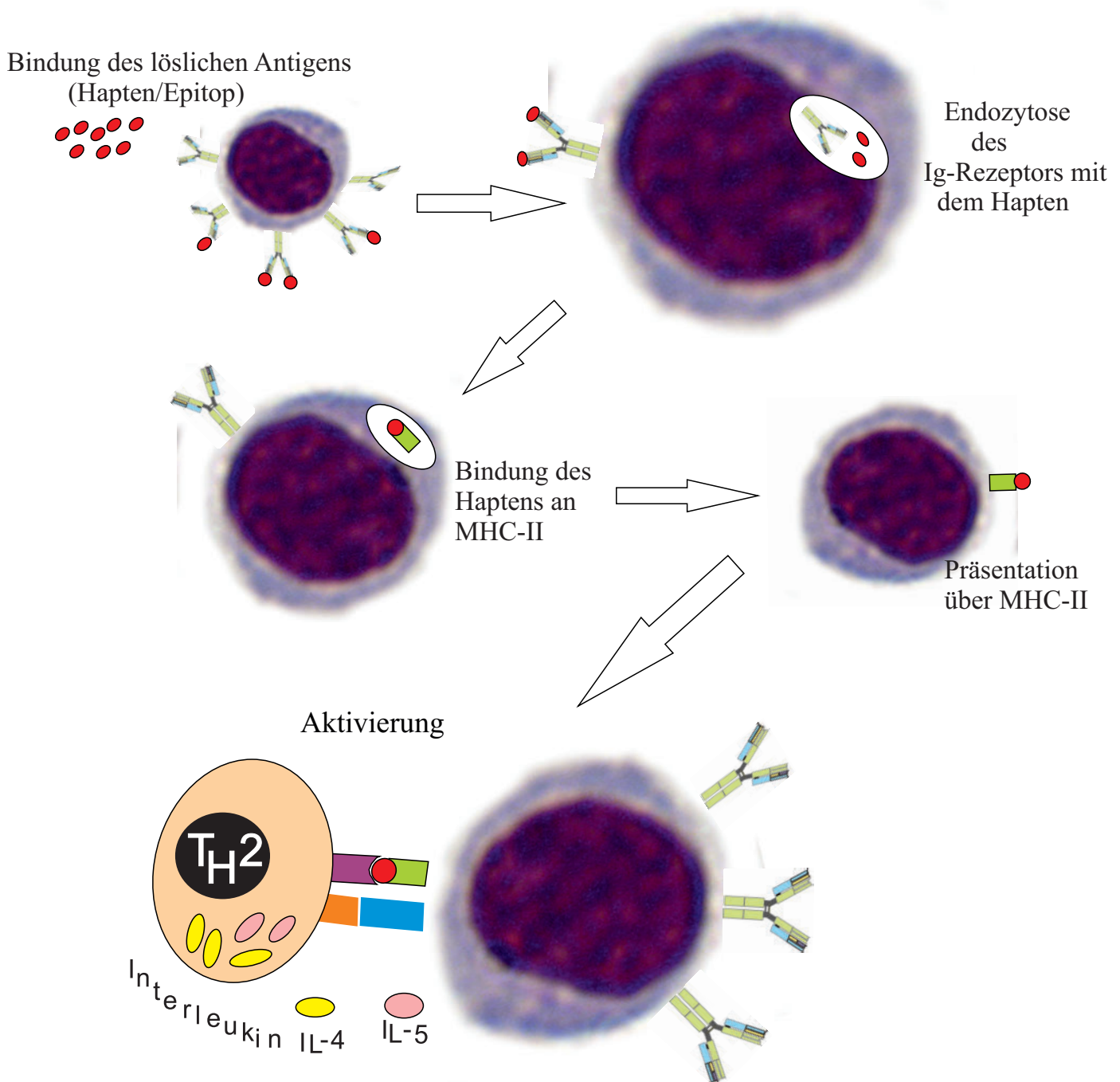
Verlauf einer B-Zellantwort

Wie kommt es zu einer B-Zellantwort? Durch Aktivierung eines B-Lymphozyten!

Wie wird ein B-Lymphozyt aktiviert? Es gibt zwei Wege: 1. Die B-Zellaktivierung durch ein Hapten, 2. Aktivierung durch die T-Helferzelle

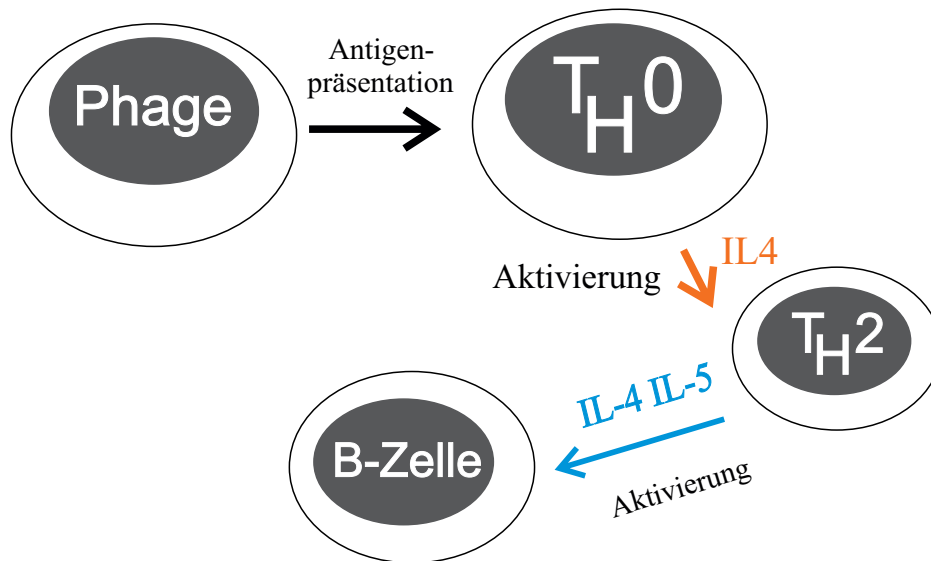
In der Regel werden B-Lymphozyten durch T-Helferzellen aktiviert. Eine direkte Aktivierung durch das Hapten (Epitop) ist die Ausnahme und findet bei wenigen giftigen Stoffen statt. Mit Hapten werden freie, also nicht an MHC-Rezeptoren gebundene Epitope bezeichnet. Die Bindung durch MHC mindert Überempfindlichkeitsreaktionen und allergische Reaktionen deutlich. Zudem können gegen anorganische Stoffe wie Quecksilber Antikörper gebildet werden, wenn dieses an MHC gebunden ist.

1. Aktivierung durch ein Hapten



Die T_H2-Zelle nimmt das präsentierte Molekül entgegen und schüttet Interleukin 4 und 5 aus, die zur Aktivierung der B-Zelle führen.

2. Aktivierung durch T_H2-Zelle



In der Regel erfolgt die Aktivierung der B-Lymphozyten über den dargestellten Weg. Das Ziel besteht darin, dass Antikörper als Antwort auf den antigenen Reiz gebildet werden (Immunantwort). Der Begriff **Antigen** wird für alle Stoffe verwendet, die **Antikörper** **genieren** können.

Diversität der Immunglobuline

VDJ-Diversität

Aktivierte B-Lymphozyten wandern in Lymphknoten und bilden Keimzentren. Hier teilen sich die Zellen und führen dabei eine Rekombination der variablen Anteile der schweren und leichten Ketten der Immunglobuline durch. Die Neukombination für die VDJ-Gensegmente beträgt 1.900 000.

schwere Kette: 40V x 25D x 6J leichte lambda Kette: 30v x 4J leichte kappa Kette: 40V x 5J

mögliche Kombinationen: 6000

120

200

$6000 \times 120 \times 200 = 1.900\,000$

Junktionale Diversität

Die Verknüpfungsvielfalt beruht auf dem Prinzip des T-Zellrezeptors.

Somatische Hypermutation

Während der Zellteilung werden durch das Enzym AICDA (Activation Induced Cytidine Desmidase) Punktmutationen in die bereits rearrangierten Ig-Gene eingefügt. Dies führt zur Affinitätsreifung. Es entstehen Antikörper mit hoher Affinität. Nur die affinen B-Zellen bilden einen Zellklon und wandeln sich zu Plasmazellen.

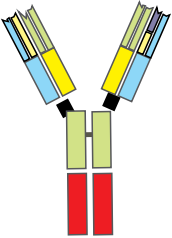
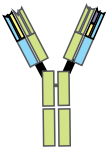
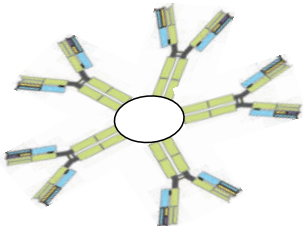
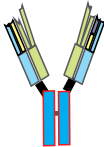
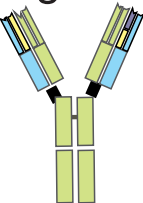
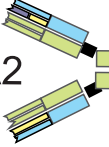
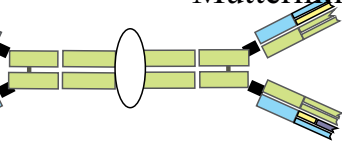
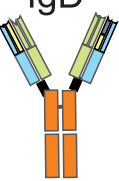
Die Affinitätsreifung besteht aus: Rekombination (VDJ), Verknüpfungsvielfalt (junktionale Diversität) und somatische Hypermutation. Gemeinsam ergeben sie für die Immunglobuline eine Diversität von 10^{11} .

Die Zahl verschiedener Antikörper wird auf 100 000 000 000 Möglichkeiten geschätzt.

Antikörperbildung

Jede Antikörperbildung beginnt mit dem Immunglobulin der Klasse M (IgM). Durch Einwirkung von T-Zellen kommt es zum Ig-Klassenwechsel. Der Klassenwechsel erfolgt durch Umlagerung von Gensegmenten der schweren Kette. Es können folgende Ig-Klassen gebildet werden:

IgA1 IgA2 IgE IgD IgM IgG1 IgG2 IgG3 IgG4

IgG	Vorkommen	Funktion
	70-75% der Serum-Ig (plazentagängig)	Makrophagenaktivierung Komplementaktivierung Nk-Zell-Aktivierung Antigenbindung
4 Subtypen (IgG1 bis 4)		
IgM	Vorkommen	Funktion
 	10% der Serum-Ig bildet Pentamere	Komplementaktivierung Antigenbindung
IgE	Vorkommen	Funktion
	1% der Serum-Ig Mastzellen	allergische Reaktion
IgA1	Vorkommen	Funktion
	Schleimhäute, Dünndarm Tränenflüssigkeit, Muttermilch	Makrophagenaktivierung Antigenbindung
IgA2		
 		
IgD	Vorkommen	Funktion
	1% der Serum-Lg	noch nicht sicher bekannt