

# Lymfoïde organen

Docenten: dr. P.J.M. Leenen, dr. S.C.A. van Blokland

## 1 Toelichting

### 1.1 Achtergrondinformatie

Zoals je in de afgelopen weken hebt gezien in diverse colleges, practica en zelfstudieopdrachten, is het tot stand komen van een immuunrespons een uitermate nauwkeurig gereguleerd proces, waarbij verschillende factoren een rol spelen. Cruciaal in dit proces is de activering van T-helpercellen door antigeen presenterende cellen (APC), die eerder antigeen hebben opgenomen en verwerkt, én zelf geactiveerd zijn tot effectieve APC. Geactiveerde T-helpercellen gaan prolifereren en stimuleren op hun beurt de activatie van B-cellen. Dit proces vindt plaats in de lymfeklier, die door zijn unieke microanatomische structuur alle elementen, die nodig zijn voor de immuunrespons, optimaal bij elkaar brengt.

In dit practicum ga je in detail in op de opbouw van de lymfeklier, de lokalisatie van de verschillende celtypen en vooral de dynamische veranderingen hierin tijdens een immuunrespons. Je neemt de verschillende fasen van de immuunrespons door aan de hand van microscopische preparaten van de lymfeklier. Hierbij maak je gebruik van preparaten die gekleurd zijn volgens een 'klassieke' histologische kleuring, of een specifieke immunohistologische kleuring. Het eerste type preparaten laat bij uitstek de complexiteit van de lymfeklier zien. Met de immunohistologische techniek worden individuele celtypen in de lymfeklier zichtbaar gemaakt, zodat de organisatie van dit orgaan duidelijker wordt.

Door de structuur van rustende lymfeklieren te vergelijken met lymfeklieren op verschillende tijdstippen na infectie (in dit geval met een facultatief intracellulaire bacterie, *Listeria monocytogenes*), kun je de histologische veranderingen observeren die gepaard gaan met het optreden van een immuunrespons tegen deze bacterie.

In de nabespreking van dit practicum wordt de structuur van de lymfeklier vergeleken met die van enkele andere lymfoïde organen, en worden overeenkomsten en verschillen besproken.

### 1.2 Literatuur

Ross' Histology, 7th ed., pp. 460-464

### 1.3 Overige informatie

#### Studiebelasting

Het volgen van dit vaardigheidsonderwijs neemt twee uur in beslag (exclusief voorbereidingstijd).

#### Vorbereiding

Dit vaardigheidsonderwijs heeft een integrerend karakter: veel aspecten van de immuunreactie die in eerdere colleges en zelfstudieopdrachten aan de orde zijn geweest komen nu aan de orde tegen de achtergrond van de histologische opbouw van de lymfeklier. Neem daarom tenminste de bovenvermelde leerstof door.

In de onderstaande checklist staan de begrippen, waarvan we verwachten dat je die na afloop beheerst.

Mocht dat niet zo zijn, zoek deze dan op in Ross' Histology.

#### checklist practicum lymfeklier

- |  |  |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> lymfeklier structuur: cortex, paracortex, medulla | <input type="checkbox"/> plasmacel                 |
| <input type="checkbox"/> follikel, follikelcentrum                         | <input type="checkbox"/> antigeen, -presentatie    |
| <input type="checkbox"/> sinus   | <input type="checkbox"/> humorale immuunrespons    |
| <input type="checkbox"/> hoog-endotheliale venule                          | <input type="checkbox"/> antistof, IgM, IgG        |
| <input type="checkbox"/> Langerhans cel, dendritische cel                  | <input type="checkbox"/> cellulaire immuunrespons  |
| <input type="checkbox"/> folliculaire dendritische cel                     | <input type="checkbox"/> naieve lymfocyt           |
| <input type="checkbox"/> macrofaag   | <input type="checkbox"/> memory cel                |
| <input type="checkbox"/> T-lymfocyt  | <input type="checkbox"/> recirculatie              |
| <input type="checkbox"/> B-lymfocyt  | <input type="checkbox"/> lymfe, afferent, efferent |

## 2 Handleiding

Dit practicum bestaat uit drie onderdelen:

het bestuderen van microscopische preparaten van de lymfeklier (ongeveer 60 minuten; individueel of met 2 studenten) m.b.v. virtuele microscopie

het werkcollege: verwerken van opdrachten (ongeveer 30 minuten met 3 of 4 studenten)

samenvatting van de bevindingen, 'reconstructie' van de immuunrespons, en vergelijking van de lymfeklier met andere organen (± 20 minuten, plenair)

### 2.1 Microscopische preparaten van de lymfeklier

#### 2.1.1 Lymfeklier overzicht

[\(prep. IM8, lymfeklier, rat, perfusie fixatie, HE\)](#)

- Oriënteer je in het preparaat aan de hand van figuur 14-17 in Ross, en identificeer de volgende gebieden en structuren:

buitenste schors / outer cortex	kapsel
	kapselsinus / randsinus
	trabekelsinus
	follikels
binnenste schors / paracortex	hoogendotheliale venulen
merg / medulla	mergstrengen
	mergsinussen

- 1 Hoe herken je de verschillende compartimenten – outer cortex, paracortex en medulla – in een histologisch gekleurd preparaat van de lymfeklier?

In de volgende preparaten is een specifieke immunohistologische kleuring uitgevoerd om de lokalisatie van verschillende celtypen in de lymfeklier zichtbaar te maken.

### 2.1.2 B-lymfocyten in de lymfeklier

[\(prep. IM1h2, mesenteriale lymfeklier, rat, immunohistologie IgM\)](#)

Met een anti-IgM kleuring zijn B-lymfocyten in een mesenteriale lymfeklier specifiek (bruin) aangekleurd. In dit preparaat is geen tegenkleuring gebruikt.

- Bestudeer het voorkomen van IgM-positieve cellen in de verschillende gebieden van de lymfeklier. Let hierbij ook op de intensiteit en de lokalisatie van de cellulaire kleuring (membraan vs. cytoplasma).
- 2 In welk compartiment komen de sterkst IgM-positieve cellen voor?  
Welke cellen zijn dit?
  - 3 Zijn er concentraties B-lymfocyten in de paracortex? Zo ja, hoe verklaar je de aanwezigheid van deze cellen hier?

### 2.1.3 T-lymfocyten in de lymfeklier

[\(prep. IM1h1, MLK, rat, immunohistol. CD4 + CD8\)](#)

In een seriecoupe van de vorige lymfeklier zijn alle T-cellen aangetoond door in één coupe zowel CD4 als CD8-positieve cellen te kleuren.

- Bestudeer het voorkomen van T-cellen in de verschillende gebieden van de lymfeklier.
- 4 Hoe verklaar je de aanwezigheid van T-cellen in de mergstrengen en -sinussen?

#### 2.1.4 Macrofagen in de lymfeklier

[\(prep. IMIh7, MLK, muis, immunohistol. MOMA-1 + ER-TR9\)](#)

Gebruikmakend van andere antistoffen gericht tegen moleculen die alleen voorkomen op het oppervlak van macrofagen, zijn deze cellen aangekleurd in de lymfeklier. Bij deze kleuring is voor een betere oriëntatie een rode tegenkleuring gebruikt.

- Bestudeer het voorkomen van macrofagen in de verschillende gebieden van de lymfeklier.
- 5 Hoe hangt de lokalisatie van macrofagen in de lymfeklier samen met hun specifieke functie?

#### 2.1.5 Dendritische cellen in de lymfeklier

[\(prep. IMIh5, MLK, muis, immunohistologie CD11c\)](#)

- Bestudeer het voorkomen van dendritische cellen in de verschillende gebieden van de lymfeklier.
- 6 Hoe hangt de lokalisatie van de dendritische cellen in de verschillende gebieden van de lymfeklier samen met de verschillende fasen van de primaire immunrespons?

Dendritische cellen in de paracortex van de lymfeklier worden ook wel "interdigiterende cellen" genoemd (*L. inter* = tussen, *digitus* = vinger).

- 7 Relateer deze naam van de DC in de paracortex aan hun functie.

#### 2.1.6 Reticulair bindweefsel in de lymfeklier

[\(prep. IMIh4, mesenteriale lymfeklier, rat, immunohistol. ED14\)](#)

De interne structuur van de lymfeklier wordt gevormd door reticulair bindweefsel. Behalve ondersteunend, is dit weefsel ook belangrijk bij het transport van lymfe (met antigenen) en van cellen in de lymfeklier. Reticulair bindweefsel vormt zgn. 'conduits' (leidingen), waardoor lymfe vanuit de randsinus direct kan doorstromen naar de paracortex.

In dit preparaat zijn met behulp van een immunohistologische kleuring zowel de fibroblasten als de extracellulaire reticulaire vezels aangekleurd.

- Bestudeer het voorkomen van reticulair bindweefsel in de verschillende gebieden van de lymfeklier.
- 8 Wat zijn de ronde structuren in de paracortex?
- 9 Welke cellen in de paracortex zijn de belangrijkste verwerkers van antigenen die via de conduits worden aangevoerd?
- 10 Hoe kan reticulair bindweefsel een rol spelen bij de migratie van cellen door de lymfeklier?

#### 2.1.7 Folliculaire dendritische cellen in de lymfeklier

[\(prep. IMIh6, MLK, muis, immunohistol. FDC-M2\)](#)

Een andere populatie stromale cellen wordt gevormd door de zogenaamde 'folliculaire dendritische cellen'. Anders dan hun naam doet vermoeden zijn ze géén nauwe verwanten van de dendritische cellen / interdigiterende cellen die je in het vorige preparaat hebt bestudeerd. Deze laatste zijn leukocyten, terwijl

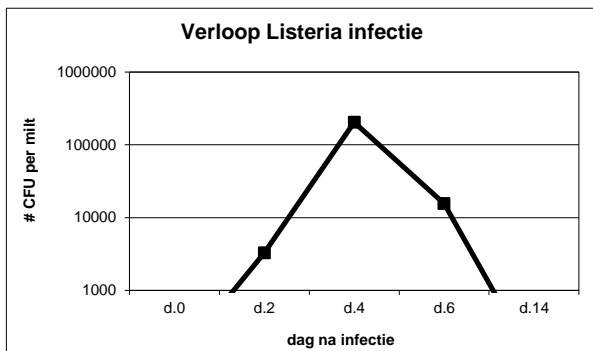
folliculaire dendritische cellen gerelateerd zijn aan fibroblasten.

- Bestudeer het voorkomen van folliculaire dendritische cellen in de verschillende gebieden van de lymfeklier.
- 11 Wat is de functie van folliculaire DC?
  - 12 Welke rol speelt de relatief hoge dichtheid aan receptoren voor immunoglobulinen en complement op het oppervlak van folliculaire DC hierbij?

## 2.2 Werkcollege opdrachten: experimentele casus

Veel experimenteel onderzoek naar de weerstand tegen infecties vindt plaats in de muis als proefdier. Onder gecontroleerde omstandigheden kan worden onderzocht hoe de immunreactie tegen micro-organismen verloopt. Een model pathoog in dit verband is de facultatief intracellulaire bacterie *Listeria monocytogenes*.

In een experiment zijn muizen geïnfecteerd door intraperitoneale injectie van een aantal bacteriën. Dit leidt tot sepsis en infectie van doelwitorganen als de lever en de milt. De kinetiek van de infectie is in figuur 1 af te lezen aan het aantal colony-forming units (CFU) bacteriën dat gekweekt wordt uit de milt van geïnfecteerde proefdieren (n.b. let op de logaritmische schaal!).



**Figuur 1.** Verloop van een experimentele *Listeria* infectie in de muis.

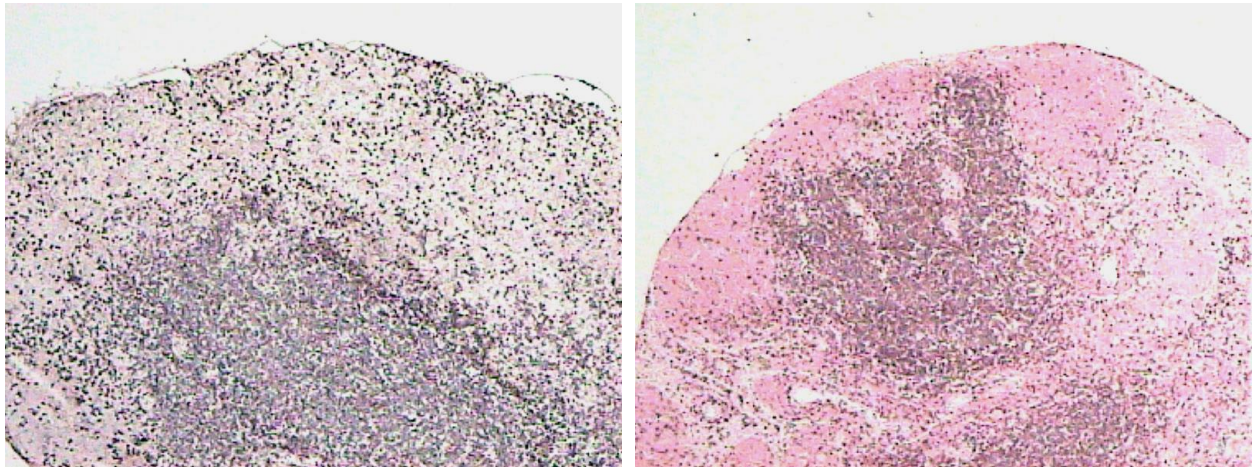
Eigendom Erasmus MC, afdeling Immunologie

Door de peritoneale infectie is ook een duidelijke reactie waarneembaar in de mesenteriale lymfeklieren.

### T-cellen in de primaire immunrespons

Figuren 2 en 3 zijn opnamen van de mesenteriale lymfeklier tijdens *Listeria* infectie, geïsoleerd op dag 2 en dag 14 na begin van de infectie. Een specifieke immunohistologische kleuring is toegepast om T-cellen aan te tonen.

- 13 Welke van deze opnamen is van dag 2, welke van dag 14? Motiveer je antwoord.

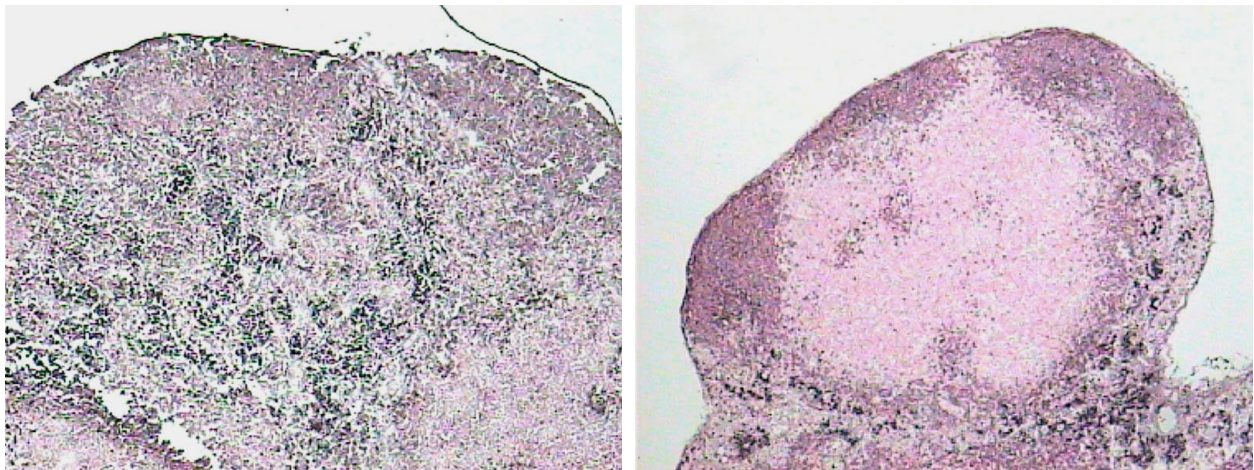


**Figuur 2 en 3.** Immunohistochemische kleuring van T lymfocyten in lymfeklieren geïsoleerd na of tijdens een *Listeria* infectie.

Eigendom Erasmus MC, afdeling Immunologie

#### **B-cellen in de primaire immuunrespons**

De figuren 4 en 5 zijn opnamen van de mesenteriale lymfeklier tijdens *Listeria* infectie, geïsoleerd op dag 0 en dag 6 na begin van de infectie. Een specifieke immunohistologische kleuring is toegepast om immunoglobuline aan te tonen.



**Figuur 4 en 5.** Immunohistochemische kleuring van B lymfocyten in lymfeklieren geïsoleerd voor of tijdens een *Listeria* infectie.

Eigendom Erasmus MC, afdeling Immunologie

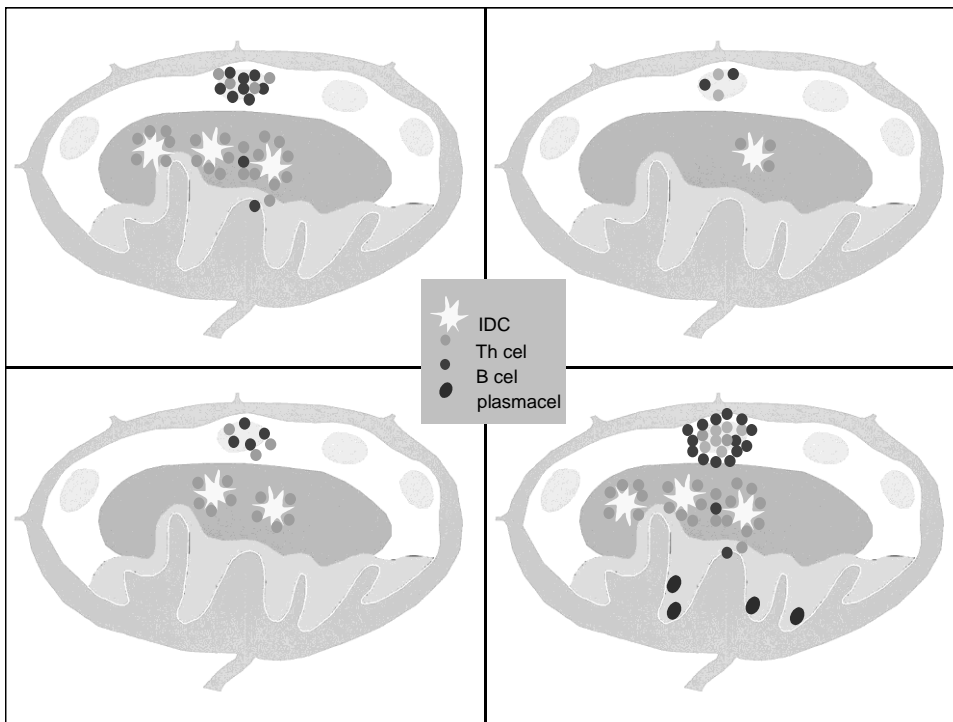
- 14 Welke opname is van d.0? Welke van d.6?
- 15 Welke specifieke verandering(en) neem je waar?
- 16 Welke immunologische effectormechanismen zijn het belangrijkste bij het elimineren van de bacteriën? Bedenk hierbij dat *Listeria* zich vooral vermenigvuldigt in het cytoplasma van epitheliale cellen en

sommige macrofagen en DC.

### 2.3 Kinetiek van de immuunrespons: een puzzel

In figuur 6 (op de volgende pagina) zijn schematisch, in willekeurige volgorde, de verschillende fasen van de primaire immuunrespons weergegeven, op dag 1, dag 2, dag 3 - 4 en dag 4 - 6 na infectie. Op het practicum worden beschrijvingen gegeven voor morfologisch waarneembare veranderingen, kenmerkend voor elk van deze stadia.

- Combineer de verschillende beschrijvingen met de schematische weergaven van de immuunrespons.
- Verklaar de morfologische veranderingen en verwoord wat er gebeurt tijdens de verschillende fasen van dit proces. Betrek in je beschrijving hoe antigeen de T- en B-cellen bereikt.



**Figuur 6.** Schematische weergave van lymfeklieren in verschillende fasen van de immuunrespons.

Eigendom Erasmus MC, afdeling Immunologie