

Histologie bloedcelvorming

.....
Docent Dr. P.J.M. Leenen

1 Toelichting

1.1 Achtergrondinformatie

Voor het succesvol volgen van dit VO is het essentieel dat je vooraf de ZO *Bloedcellen en bloedcelvorming* hebt gemaakt.

Bloed en beenmerg behoren - histologisch gezien - tot het bindweefsel. Omdat bloedcellen en nieuwvorming ervan in het beenmerg essentieel zijn voor het handhaven van de homeostase, besteden we daar in dit VO specifiek aandacht aan. Bij de behandeling van kankerpatiënten met cytostatica blijkt dat het beenmerg, met het darmepitheel, van de gezonde weefsels het meest gevoelig is voor deze farmaca die snel delende cellen doden. Hieruit blijkt dat beenmerg een van de organen is met de meest actieve celdeling. Alle bloedcellen, behalve T-lymfocyten, komen na uitrijping direct vanuit het beenmerg in het perifere bloed. Voorlopers van T-lymfocyten gaan uit het beenmerg eerst naar de thymus, waar ze een aantal rijpingsstappen doormaken voordat ze als rijpe cellen in de circulatie komen.

Dit VO is een vervolg op het college *Bloed en bloedcellen* in week 3 en de ZO *Bloedcellen en bloedcelvorming* van deze week.

1.2 Leerdoelen

Na het volgen van dit vaardigheidsonderwijs kun je:

- de verschillende celtypen in een uitstrijkpreparaat van perifeer bloed herkennen en kwantificeren in een differentiële telling;
- blasten en andere voorstadia van erythrocytaire en granulocytaire cellen herkennen in een uitstrijk van normaal beenmerg;
- een algemene beschrijving geven van de histologische opbouw van de thymus en de verschillende histologische structuren onderscheiden.

1.3 Literatuur

- *Basis*
Mescher, A.L. (2013). *Junqueira's Basic Histology* (13th ed.). New York: McGraw – Hill. ► 234 - 261 (chapter 12 en 13), 272 - 276 (chapter 14, Thymus)
- *Verdieping*
Mescher, A.L. (2013). *Junqueira's Basic Histology* (13th ed.). New York: McGraw – Hill. ► 234 - 261 (chapter 12 en 13)

Verdiepingsstof houdt in dat feitenkennis hieruit bij een evt. tentamenvraag wordt aangeleverd.

Het COO-programma 'Hematopoietic Cells' biedt extra verdiepings- en oefenmateriaal voor het herkennen van verschillende typen bloed- en beenmergcellen.

1.4 Overige informatie

Studiebelasting

Dit vaardigheidsonderwijs neemt twee uur in beslag.

Vorbereiding

Als voorbereiding op dit vaardigheidsonderwijs wordt van je verwacht dat je de ZO *Bloedcellen en bloedcelvorming* hebt gemaakt.

2 Handleiding

Overzicht VO

- 2.1 Perifeer bloed
 - Preparaat 1: uitstrijk normaal perifeer bloed (May-Grünwald Giemsa)
 - Preparaat 2: uitstrijk perifeer bloed patiënt met ziekte van Pfeiffer
- 2.2 Beenmerg
 - Preparaat 3: uitstrijk normaal humaan beenmerg (MGG)
- 2.3 Thymus
 - Preparaat 4: thymus (rat; HE kleuring)
 - Preparaat 5: thymus epitheel (muis, immunohistologie)
 - Afbeelding 1: thymus reticulair bindweefsel (muis, immunohistologie)
 - Preparaat 6: thymus dendritische cellen (muis, immunohistologie)

2.1 Perifeer bloed

2.1.1 Uitstrijk normaal perifeer bloed

Cellen in het perifere bloed kunnen het best worden bekeken op een uitstrijk die gekleurd is met May-Grünwald Giemsa. Met de belangrijkste kenmerken van deze kleuring heb je in de ZO ('Bloedcellen en bloedcelvorming') kennis gemaakt.

[Preparaat 1: uitstrijk normaal perifeer bloed \(May-Grünwald Giemsa\)](#)

Bestudeer de uitstrijk op een locatie waar de cellen los van elkaar liggen (in de zgn. 'baard' van de uitstrijk en identificeer **erythrocyten**, **trombocyten** en **leukocyten**. Als het nodig is, kun je dit preparaat scherpstellen met de PgUp / PgDn toetsen.

Leukocyten in bloed en beenmerg kunnen naar morfologie en functie verder onderverdeeld worden. Belangrijke morfologische criteria bij deze indeling zijn:

- de grootte van de cel (vergelijk altijd met de erytrocyt: $\varnothing$ 7,5 μ m)
- de vorm van de kern: rond / gedeukt / gelobd
- de aanwezigheid en kleur van granula
- de hoeveelheid en kleur van het cytoplasma.

De verschillende leukocyten in het bloed ingedeeld volgens deze criteria:

Type	Kenmerken
neutrofiële granulocyt	1,5 - 2x Ø ery; gelobde kern met gecondenseerd chromatine; nauwelijks zichtbare neutrofiële granula
eosinofiele granulocyt	1,5 - 2,5x Ø ery; kern meestal twee lobben; eosinofiele granula
basofiele granulocyt	1,5 - 2x Ø ery; kern onregelmatig van vorm; basofiele granula
lymfocyt	kleine lymfocyt: 1 - 1,4x Ø ery; grote lymfocyt: 1,4 - 2x Ø ery; kern rond of iets gedeukt; geen granula; kleine lymfocyt heeft weinig cytoplasma
monocyt	2 - 3x Ø ery; kern gedeukt tot hoefijzervormig met dispers chromatine; soms enkele azurofiële granula; egaal, licht basofiel cytoplasma

Concentreer je nu op de leukocyten en zoek voorbeelden van de verschillende typen. Waarschijnlijk zul je basofiele granulocyten niet tegenkomen, omdat deze slechts in zeer lage frequentie in het normale bloed voorkomen. Vergelijk je eigen schatting van de frequenties van voorkomen met de onderstaande tabel voor de normaalwaarden.

type leukocyt	Percentage in normaal bloed
neutrofiële granulocyt	40 - 80 %
eosinofiele granulocyt	0 - 6 %
basofiele granulocyt	0 - 2 %
lymfocyt	15 - 50 %
monocyt	2 - 10 %

Morfologisch onderscheiden we binnen de lymfocyten nog kleine (rustende) en grote (geactiveerde) lymfocyten.

- 1 Zijn de lymfocyten in het normale perifere bloed voornamelijk rustend of geactiveerd?

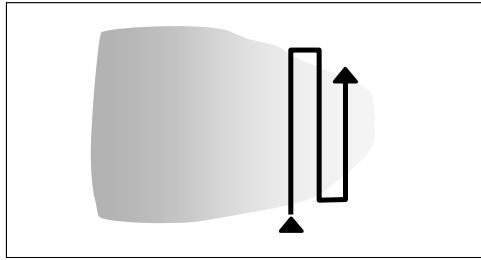
2.1.2 Uitstrijk perifeer bloed patiënt met ziekte van Pfeiffer

Infecties en andere aandoeningen kunnen belangrijke verschuivingen teweegbrengen in de leukocytsamenstelling van het perifere bloed. Het volgende preparaat is een bloeduitstrijk van een patiënt met de ziekte van Pfeiffer ('infectieuze mononucleosis', veroorzaakt door infectie met het Epstein-Barr virus; EBV).

Preparaat 2: uitstrijk perifeer bloed patiënt met ziekte van Pfeiffer

Maak van dit preparaat een (te) kleine differentiële telling van 25-50 cellen. Zorg dat je daarbij hetzelfde veld niet meer dan eenmaal telt, door het preparaat te scannen volgens het onderstaande schema. Tel echter alleen de gebieden waar de erythrocyten los van elkaar liggen; kapotte cellen en andere artefacten worden niet geteld.

Bron:
Eigendom Erasmus MC,
afdeling Immunologie



<i>type leukocyt</i>	<i>percentage</i>
neutrofiële granulocyt	 %
eosinofiele granulocyt	 %
basofiele granulocyt	 %
kleine lymfocyt	 %
grote lymfocyt	 %
monocyt	 %

2 Wat zijn de belangrijkste verschillen met het preparaat van het normale bloed?

3 Hoe kun je dit relateren aan de veroorzaker van de ziekte?

2.2 Beenmerg

De verschillende rijpe bloedcellen ontwikkelen zich in een differentiatieproces vanuit de pluripotente hemopoietische stamcellen. Deze ontwikkeling gaat gepaard met een sterke toename in cel aantal. In kwantitatief opzicht vormen de **granulocyttaire** en **erythrocytaire** ontwikkelingsreeksen de belangrijkste componenten van het beenmerg. Vooral deze celtypen zullen we in meer detail bekijken.

In de ZO 'Bloedcellen en bloedcelvorming' hebben jullie kennisgemaakt met de principes van de morfologische herkenning van de verschillende voorlopercellen en de veranderingen die tijdens hun maturatie optreden. Gebruik deze informatie, en het determinatieschema dat in deze ZO is opgenomen bij het bestuderen van de cellen in de uitstrijk van normaal beenmerg. Het doel van dit onderdeel is dat je de volgende celtypen van elkaar kunt onderscheiden:

- blasten: pro-erytroblasten, myeloblasten en promyelocyten
- erythrocytaire cellen vs. granulocyttaire cellen
- relatief rijpe vs. relatief onrijpe stadia (toepassing van de maturatie-principes)
- lymfocyten en plasmacellen
- megakaryocyten

Preparaat 3: uitstrijk normaal humaan beenmerg (MGG kleuring)

Selecteer bij lage vergroting (objectief 5x) een gebied met een redelijke celdichtheid in de nabijheid van de restanten van botbalkjes (hier is de verdeling van voorlopercellen het meest representatief).

4 Wat zijn de grote ronde gaten in het uitstrijkpreparaat?

Zoek vervolgens enkele **megakaryocyten**: cellen die een grootte-orde groter zijn dan de andere kernhoudende bloedcellen. Let in het bijzonder op de kern van deze cellen. Megakaryocyten verkrijgen hun uitzonderlijke grootte door zgn. endomitose van megakaryoblasten.

5 Wat wordt met de term *endomitose* bedoeld?

Ga bij hoge vergroting (40x) op zoek naar **blasten**: relatief grote cellen met weinig, basofiel cytoplasma en een grote kern met duidelijk zichtbare **nucleoli**. Bepaal vervolgens of je te maken hebt met een **pro-erythroblast** (perfecte ronde kern, sterk basofiel cytoplasma), **myeloblast** (min of meer ronde kern, tamelijk basofiel cytoplasma) of een **promyelocyt** (min of meer ronde kern, meer cytoplasma dan myeloblast, azurofiele granula).

Bestudeer in detail de verschillende latere stadia van **erythrocytaire** en **granulocytaire** differentiatie. Ga hierbij als volgt te werk:

- Bepaal van een cel eerst of je te maken hebt met een relatief onrijp of relatief rijp stadium. Gebruik hierbij de criteria van de ZO (grootte, chromatine-condensatie, cytoplasma-kleur).
- Bepaal vervolgens of je te maken hebt met een cel van de erythrocytaire of granulocytaire reeks (ronde vs. gedeukte kern, af- of aanwezigheid van granula). Maak voor de granulocyten onderscheid tussen cellen met **neutrofiele**, **eosinofiele** en **basofiele** granula. Net als in het bloed komen basofiele granulocytaire cellen erg weinig voor.

Niet alle cellen in het beenmerg behoren tot de erythrocytaire of granulocytaire reeks. Ook **lymfocyten** en **monocyten** worden in het beenmerg gevormd. Morfologisch zijn de verschillende voorloperstadia van de lymfocyten weinig verschillend van de rijpere cellen. We onderscheiden daarom alleen kleine en grote lymfocyten en plasmacellen.

Zoek enkele **kleine lymfocyten**. Het onderscheid tussen kleine lymfocyten en rijpere stadia van de erythrocytaire reeks kan gemaakt worden op basis van de aankleuring van de kern die bij een lymfocyt homogeen / glad is en bij een erythrocytaire cel sterk gekorrelt. Bovendien heeft een kleine lymfocyt veel minder cytoplasma. Zoek vervolgens enkele **plasmacellen**. Deze worden gekenmerkt door een excentrische kern en relatief veel, sterk basofiel cytoplasma.

6 Hoe verklaar je de basofiele kleuring van het cytoplasma van de plasmacellen?

2.3 Thymus

2.3.1 Thymus (HE)

In het beenmerg voltooien alle bloedcellen hun rijpingsproces, behalve de T-lymfocyten die al in een zeer onrijp stadium naar de thymus migreren. De ontwikkeling tot rijpe T-cellen in de thymus-'leerschool' gaat gepaard met sterke proliferatie van onrijpe cellen, maar ook met celdood van 'verkeerd geprogrammeerde' T-cellen. Tijdens hun differentiatie worden T-cellen geselecteerd op het vermogen te reageren op antigenen. Uiteindelijk slaagt slechts 2-4% van alle nieuwgevormde thymocyten in het selectieproces.

7 Hoe herkent een T-lymfocyt antigeen?

De thymus is een tweelobbig orgaan gelegen in de borstholte, vlak boven het hart. Elke lob wordt verder onderverdeeld in **lobuli**.

Preparaat 4: [thymus \(rat; HE kleuring\)](#)

Bestudeer de thymus bij lage vergroting. Onderscheid de lobuli die worden gescheiden door bindweefselsepta. Het lymfoïde weefsel in deze lobuli bestaat uit een donkerder gekleurde schors (**cortex**) en een centraal in de lobulus gelegen merg (**medulla**).

8 Hoe verklaar je het verschil in kleuring tussen het schors- en het merggebied?

9 Hoe is de morfologie en lokalisatie van de bloedvaten in de thymus?

De cortex bestaat voornamelijk uit voorloper T-cellen, epitheliale reticulumcellen en macrofagen. Proliferatie van de jongste voorloper-T-cellen vindt plaats in het buitenste schorsgebied, vlak onder het **kapsel**.

Onderscheid bij hogere vergroting in de cortex de kleine, onrijpe **thymocyten** en de **niet-lymfocyttaire** cellen. Ook zijn hier veel **capillairen** te vinden, en **apoptotische cellen**, herkenbaar aan het gecondenseerde chromatine.

In de **medulla** zijn de rijpere stadia van T-celontwikkeling gelokaliseerd.

Onderscheid ook hier de thymocyten en de niet-lymfocyttaire cellen.

2.3.2 Thymus - epitheel

De opbouw van de thymus is bijzonder, omdat het reticulum (het 'netwerk' dat de interne structuur vormt van de orgaan) is opgebouwd uit epitheelcellen.

10 Welke cellen vormen in andere organen het reticulum?

Het epitheel in de thymus heeft niet alleen een ondersteunende functie, maar speelt ook een belangrijke rol bij de ontwikkeling en 'opvoeding' van de T-lymfocyten, zodat deze als functionele cellen in de periferie wel lichaamsvreemde antigenen, maar niet lichaamseigen antigenen kunnen herkennen.

[Preparaat 5: thymus epitheel \(muis, immunohistologie\)](#)

Bestudeer bij lage vergroting het preparaat waarin de epitheelcellen specifiek (zwart) zijn aangekleurd. De kernen van alle cellen zijn met een tegenkleuring rood gekleurd. Onderscheid op basis van lokalisatie en dichtheid van cellen de cortex en de medulla.

11 Wat is het morfologische verschil tussen epitheliale cellen in de cortex en in de medulla?

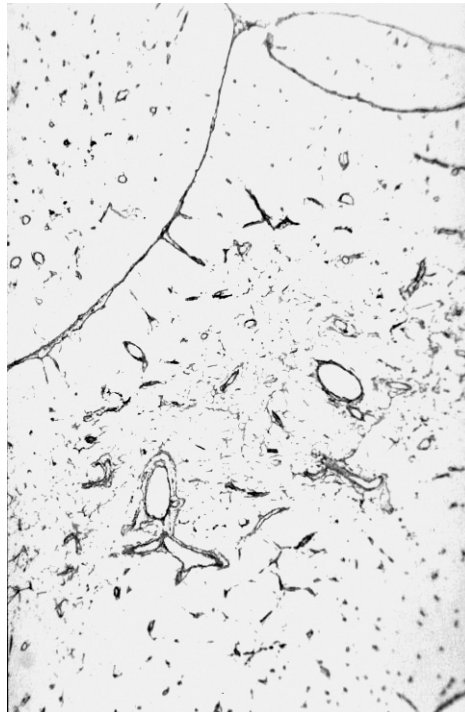
12 Wat zou dit morfologische verschil kunnen betekenen voor de functie van deze cellen?

2.3.3 Thymus - reticulair bindweefsel

Hoewel epitheelcellen een belangrijke structurele rol spelen in de thymus, komt hier ook bindweefsel voor. Afbeelding 1 is een opname van een thymuscoupe waarin reticulair bindweefsel specifiek is aangekleurd.

Afbeelding 1

Thymus (muis).
Immuunkleuring voor
reticulair bindweefsel.
Bron: Erasmus MC,
Afdeling Immunologie.



- 13** Hoe kun je in deze kleuring de cortex en de medulla van elkaar onderscheiden?
- 14** Wat is de belangrijkste functie van het reticulaire bindweefsel in de thymus?
(tip: met welke structuren is het reticulaire bindweefsel vooral geassocieerd)?

2.3.4 Thymus - dendritische cellen

Naast epitheel en reticulair bindweefsel maken ook cellen van hemopoietische oorsprong, zoals macrofagen en dendritische cellen, deel uit van het thymusstroma (= ondersteunend weefsel). De dendritische cellen worden ook wel 'interdigiterende cellen' genoemd.

[Preparaat 6: thymus dendritische cellen \(muis, immunohistologie\)](#)

Bekijk het preparaat bij lage vergroting en onderscheid cortex en medulla. Bestudeer vervolgens de interactie tussen dendritische cellen en T-cellen in meer detail bij hogere vergroting.

- 15** In welk gebied zijn de interdigiterende cellen m.n. gelokaliseerd?
- 16** Hoe relateer je de naam van de interdigiterende cellen aan hun functie in de thymus?