

Запорізький державний медичний університет
Кафедра клінічної лабораторної діагностики

МОРФОЛОГІЯ ТА ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ КЛІТИН АГРАНУЛОЦИТАРНОГО РЯДУ

2016 – 2017 н.р.

Агранулоцити

(незернисті лейкоцити) — підгрупа білих клітин крові, яка характеризується відсутністю специфічної зернистості і несегментованими ядрами (моноцити і лімфоцити - всі вони відносяться до мононуклеарних лейкоцитів).

Дифферон - це сукупність всіх клітин, складових тієї або іншої лінії диференціювання від стовбурових (найменш диференційованих) клітин до зрілих клітин (термінально диференційованих).

Дифферон клітин, об'єднаних в систему мононуклеарних моноцитів, має свої особливості:

- ❖ **недифференційовані кістково-мозкові клітини-передниці**
- ❖ **пул циркулюючих у крові моноцитів**
- ❖ **тканинно-специфічні макрофаги**

- Продукція моноцитів відбувається швидше, ніж гранулоцитів (клас дозріваючих клітин у них представлений лише однією формою - промоноцитами).
- Резерв їх у кістковому мозку після дозрівання незначний.
- Потрапляючи в тканини, вони перетворюються в активні макрофаги, що утворюють самостійну **систему моноклеарних фагоцитів**

МОНОЦИТОПОЕЗ

Клітини, що морфологічно не розпізнаються:

- ❖ плюрипотентна стовбурова клітина
- ❖ мультипотентна комітована частково детермінована клітина (попередниця мієлопоезу – **КУО-ГЕММ**)
- ❖ **КУО-М** – уніпотентна комітована детермінована клітина

Завдяки певному фенотипу (антигенному профілю) морфологічно неідентифіковані клітини можна виявити методом
імуноцитохімії

– (імунологічний аналіз цитологічного матеріалу проводиться за допомогою мічених моноклональних антитіл в умовах збереження морфології клітин) - один з видів імунохімічних методів:
імуноферментного,
імунофлюоресцентного, радіоімунного та
т.п.

Імуноцитохімічна ідентифікація моноцитів

Найбільш важливим є визначення
активності **альфа-
нафтилацетатестерази**.

В моноцитах висока активність даного ферменту блокується фторидом натрію (**NaF**) (у відмінності від гранулоцитів).

Крім того, визначається **кисла
фосфатаза** (як і для активованих
лімфоцитів)

МОНОЦИТОПОЕЗ

Клітини, що морфологічно розрізняються:

- ❖ **монобласт**
- ❖ **промоноцит**
- ❖ **моноцит**
- ❖ **тканинний макрофаг** (*гістіоцит у сполучній тканині, купферівська клітина у печінці, остеокласти, альвеолярні і плевральні макрофаги, мікроглія ЦНС*)

Моноцити є макрофагами.

Сукупність моноцитів крові і макрофагів інших тканин об'єднуються у систему **мононуклеарних фагоцитів.**

Вони здатні до активного **піноцитозу** та **імунного фагоцитозу**, характеризуються наявністю рецепторів до імуноглобулінів та системи комплементу на своїй плазмалемі.

Головні функції моноцитів і макрофагів, їх біохімічних рецепторів і продуктів їх секреції:

- 1. Участь у захисті організму від патогенних впливів.
- 2. Участь в гострому і хронічному запаленні.
- 3. Мобілізація лейкоцитів.
- 4. Регулювання діяльності Т-лімфоцитів і В-лімфоцитів.

Головні функції моноцитів і макрофагів, їх біохімічних рецепторів і продуктів їх секреції:

- 5. Регуляція функцій дендритних клітин.
- 6. Процесинг антигенів.
- 7. Модуляція функцій кератиноцитів.
- 8. Участь в регулюванні гемопоезу.
- 9. Участь у згортанні крові і фібринолізі.
- 10. Участь у метаболізмі і резервуванні ліпідів і заліза.

Головні функції моноцитів і макрофагів, їх біохімічних рецепторів і продуктів їх секреції:

- 11. Секреція ферментів для деградації клітин.
- 12. Видалення виснажених клітин і продуктів некрозу.
- 13. Загоєння ран.
- 14. Участь у детоксикації.
- 15. Протипухлинна активність.
- 16. Запобігання атеросклерозу.

Монобласт – діаметр 14-20 мкм.

Ядро округле світло-фіолетового кольору з ніжно-сітчастою структурою хроматину та 1-5 ядерцями синьо-блакитного кольору; цитоплазма синювато-сіра без зернистості.

Ядерно-цитоплазматичний індекс –
3:1; 1: 1.

- **Промоноцит** — діаметр 14-20 мкм.

Овальне світло-фіолетове ядро з зазублинами; хроматин дрібно-сітчастий; ядерця - 1-5.

- Цитоплазма синювато-сірого кольору дрібнозерниста, містить численні пілоподібні синюваті гранули, іноді видно вакуолі.

- Ядерно-цитоплазматичний індекс

2: 1; 1: 1.

Моноцит – діаметр 14-21 мкм.

Підковоподібне темно-пурпурове ядро з зазублинами, виїмками; хроматин у вигляді сіточки, в осередках якої світлі простори; ядерець немає.

Цитоплазма з короткими тупокінцевими псевдоподіями, блакитно-сіра дрібнозерниста, містить численні пілоподібні синюваті гранули, іноді видно вакуолі.

Ядерно-цитоплазматичний індекс 1:1.



Монобласт



Промоноцит



Моноциты



Особливості диферону лімфоцитів:

- ❖ здатність перетворення **лімфобластів** у відповідні **імунобласти**
- ❖ клас дозріваючих клітин представлений **пролімфоцитами**
- ❖ наявність **антигеннезалежної** та **антигензалежної диференціації**
- ❖ здатність зрілих лімфоцитів до **бласт-трансформації**

ЛІМФОЦИТОПОЕЗ

Клітини, що морфологічно не
розпізнаються:

- ❖ плюрипотентна стовбурова клітина
- ❖ мультипотентна комітована частково детермінована клітина (*попередниця клітин лімфопоезу*)
- ❖ уніпотентні комітовані детерміновані клітини – попередниці **T**- або **B**-лімфоцитів

ЛІМФОЦИТОПОЕЗ

Клітини, що морфологічно
ідентифікуються:

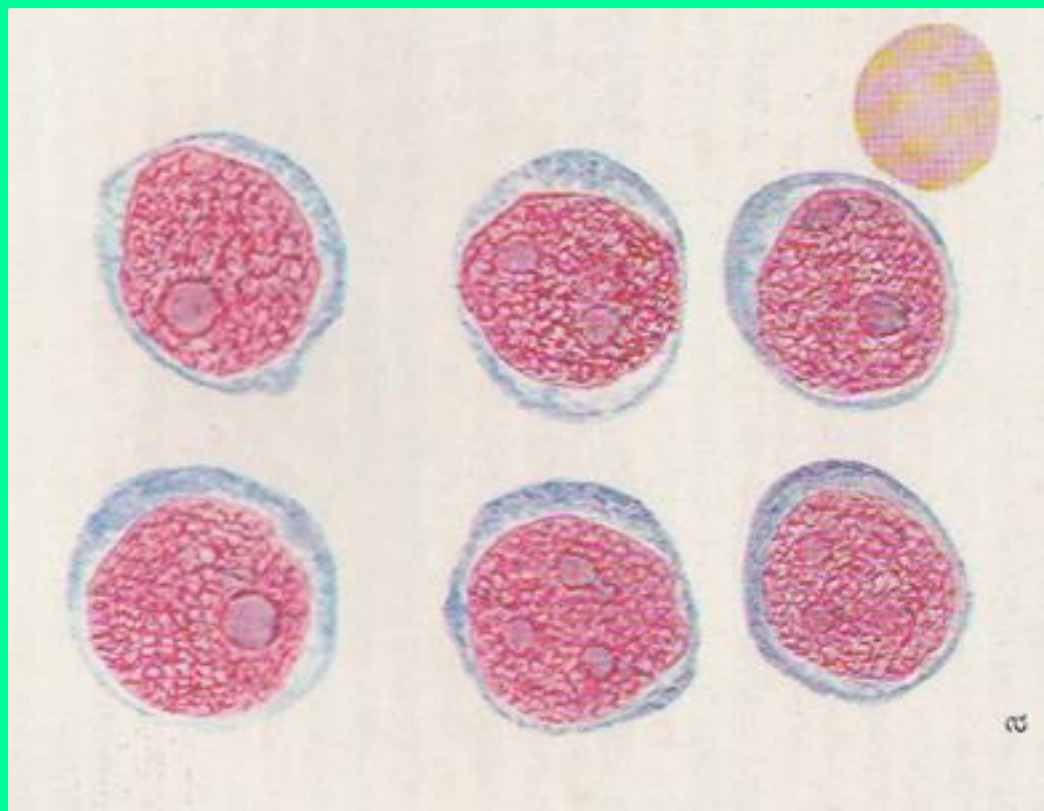
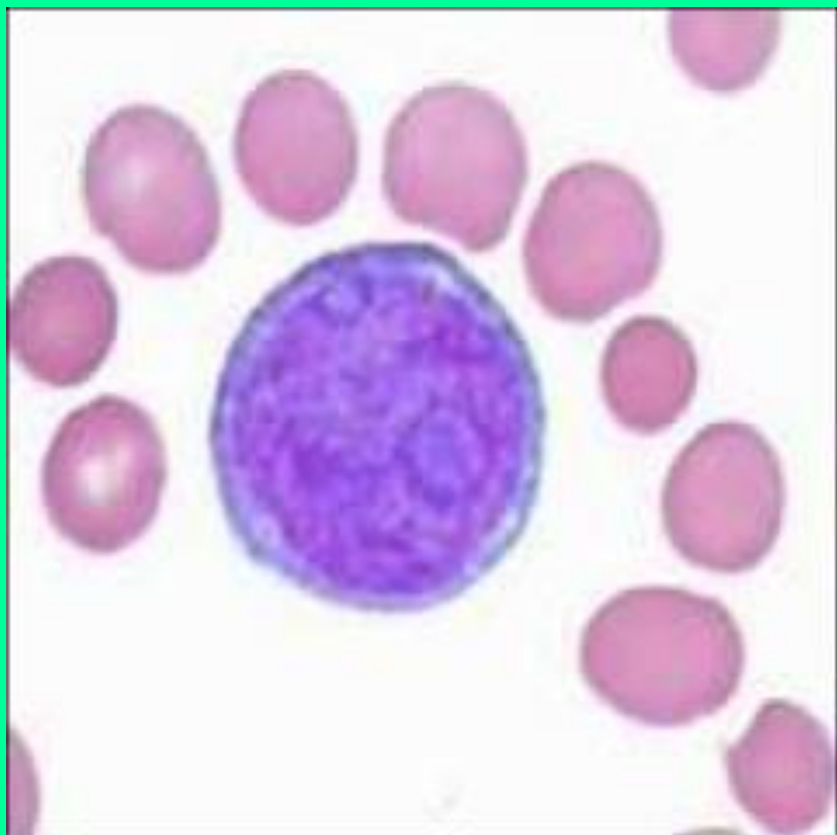
- ❖ В- і Т-лімфобласти (В- та Т-імунобласти)
- ❖ В- і Т-пролімфоцити
- ❖ В- і Т-лімфоцити

Дозрівання (*диференціація*) В-лімфобластів
відбувається у кістковому мозку,
Т-лімфобластів у тимусі.

Лімфобласт — діаметр 10-22 мкм.

Ядро округле червоно-фіолетового кольору з 1-2 ядерцями синьо-блакитного кольору; хроматин у вигляді ниток різної товщини; цитоплазма від світло-синього до темно-синього забарвлення без зернистості, іноді видно вакуолі.

Ядерно-цитоплазматичний індекс - 7: 1;
4: 1.

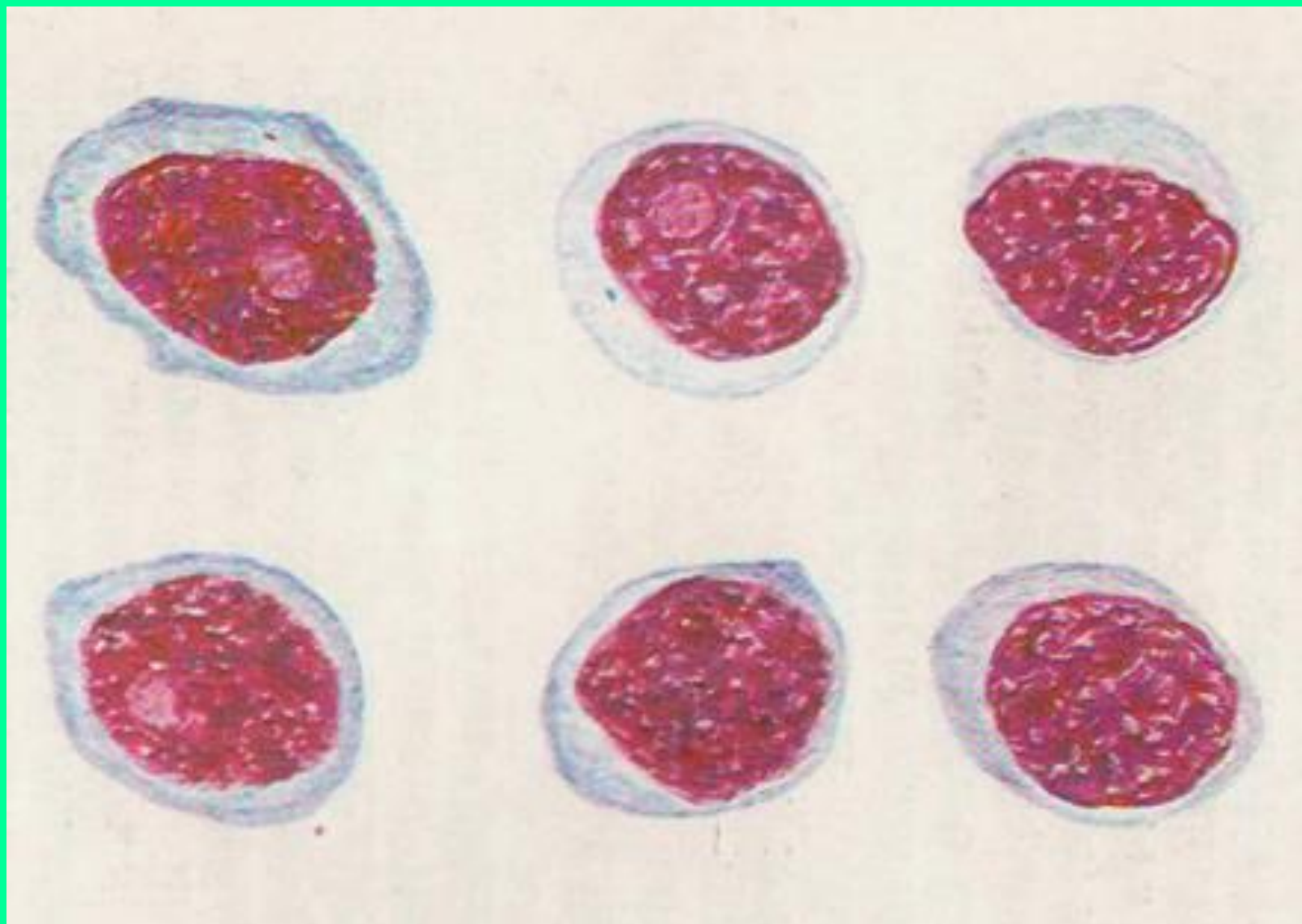


Пролімфоцит – діаметр 10- 22 мкм.

Ядро округле червоно-фіолетового кольору зі слідами ядерець; хроматин досить конденсований; цитоплазма світло-синя без зернистості, з перинуклеарною зоною просвітлення.

Ядерно-цитоплазматичний індекс –
5: 1; 3: 1.

- **Пролімфоцити** майже не відрізняються від зрілих клітин.
- Відмінність полягає лише в тому, що на їх поверхні ще **відсутні імуноглобуліни** (їх ланцюги синтезуються на даній стадії диференціювання, але знаходяться в цитоплазмі).
- **В- і Т-пролімфоцити** відрізняються один від одного **по набору поверхневих антигенів.**



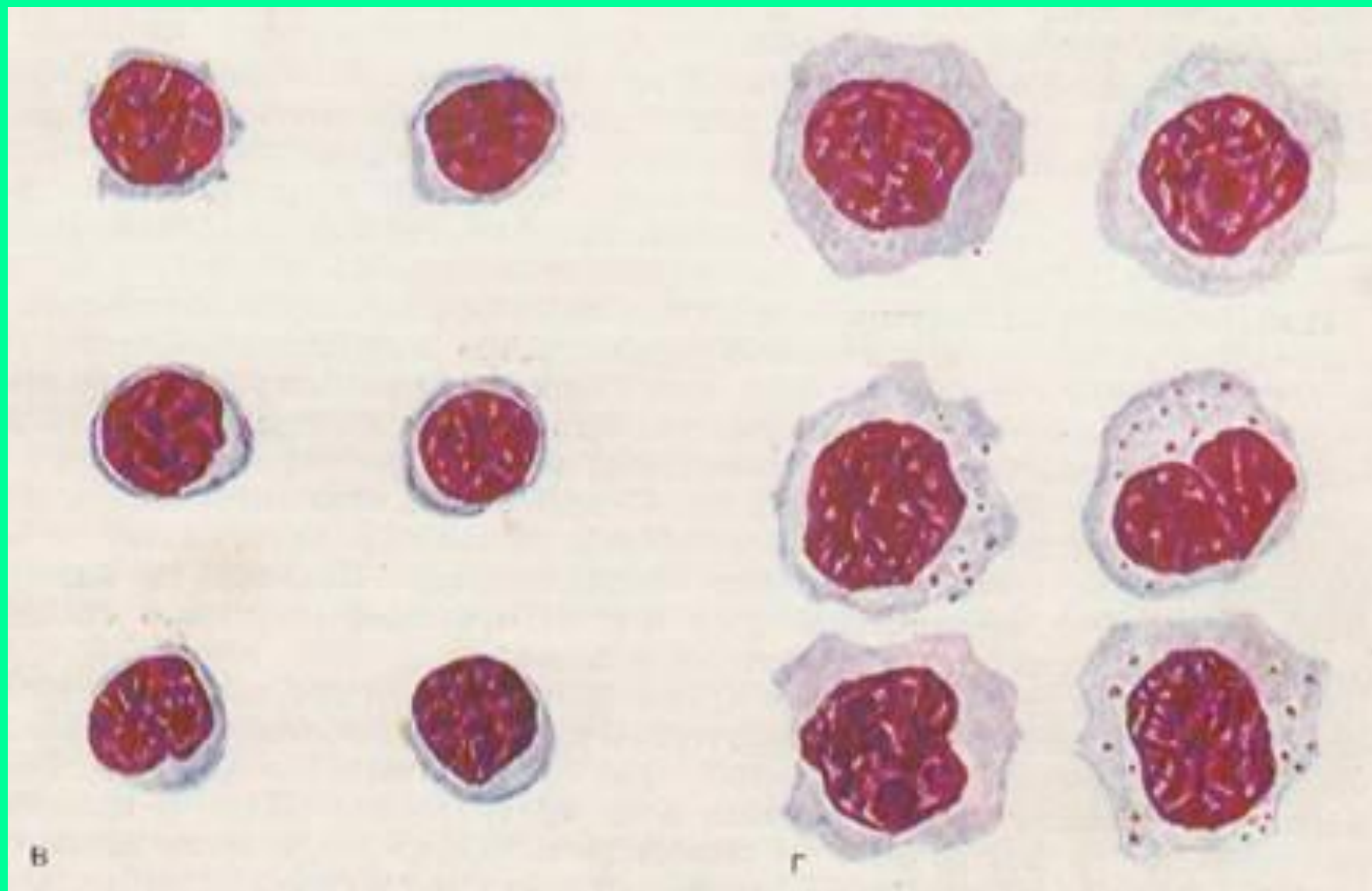
Лімфоцит – діаметр 7-15 мкм.

Округле або трохи зазубрене темно-пурпурно-синє ядро, розташоване ексцентрично;

хроматин у вигляді тяжів різної товщини, грубий; ядерець немає.

Цитоплазма від світло-синього до темно-синього забарвлення, зернистості немає (іноді - нечисленні азурофільні гранули).

Ядерно-цитоплазматичний індекс 3: 1.



На поверхні **В-лімфоцитів** (у складі мембрани) з'являються **імуноглобуліни класу М (IgM)**, а на поверхні **Т-лімфоцитів** – рецептори, що близькі до них за своєю структурою.

Т-лімфоцити підрозділяються на три функціональні групи:
Т-хелпери, Т-кілери і Т-супресори

Після цього у тимусі відбувається
дуже важливий процес –
елімінація Т-лімфоцитів,
налаштованих проти власних
антигенних детермінант організму
(***відбракування***).

У цьому процесі беруть участь
стромальні клітини тимусу.

Вони «представляють» Т-клітинам
різні **антигенні детермінанти** –
пептидні послідовності з 8 - 9
амінокислотних залишків.

Если у лімфоцита виявляється
рецептор до будь-якої з цих
детермінант, реалізуються дві
можливості:

- Лімфоцит **втрачає цей рецептор** і перестає бути небезпечним для організму.
- В іншому випадку в ньому **запускається програма апоптозу** (запрограмованої загибелі клітини).
- За деякими даними, частка клітин, які гинуть при вибракуванні Т-лімфоцитів вельми велика.

Вибракування В-лімфоцитів в місці утворення (у кістковому мозку) не відбувається.

Оскільки їх імунна реакція на антиген можлива тільки в тому випадку, якщо вона **"дозволена" (стимульована) Т-хелперами з тією ж антигенною специфічністю.**

Отже, для захисту організму від аутоімунної атаки **досить відбракування Т-клітин.**

Антигензалежна диференціація лімфоцитів.

Вона починається лише після того, як з поверхневими імуноглобулінами або рецепторами лімфоцита зв'язується антиген, який має детермінанти, комплементарні для зв'язування з рецепторами на поверхні лімфоцита).

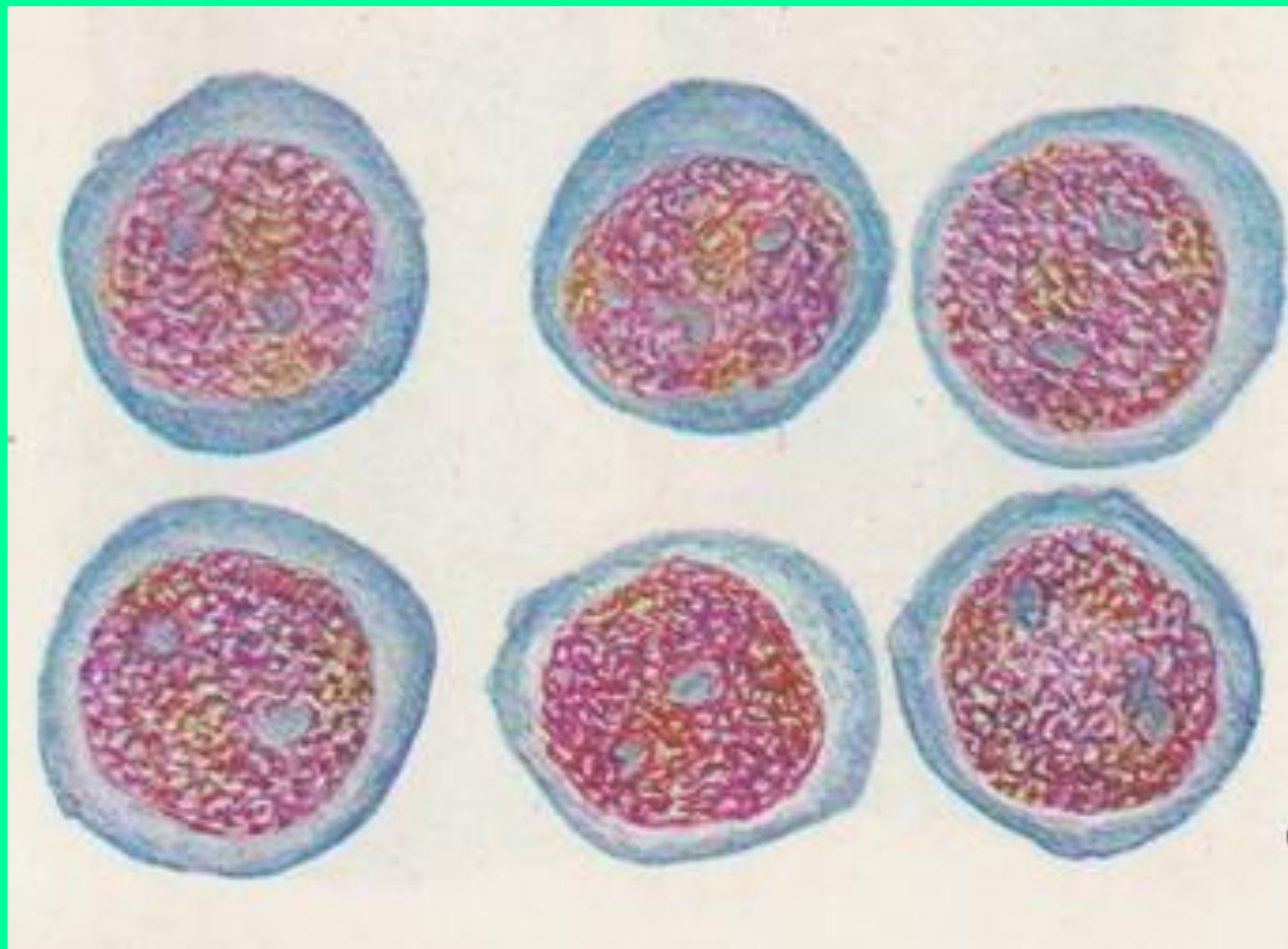
Антигензалежна диференціація лімфоцитів.

Після зв'язування антигену клітина
збільшується у розмірі і перетворюється
в **імунобласт**

Для В-лімфоцитів необхідна **додаткова
стимуляція Т-хелперами і
макрофагами**, які синтезують
інтерлейкіни, викликаючи вказані
перетворення

Імунобласти по морфології нагадують лімфобласти. Вони інтенсивно діляться, утворюючи в лімфатичному вузлі відповідного лімфоїдного органу світлий так званий **реактивний центр**.

В-імунобласти диференціюються в **проплазмоцити** (містять окремі ланцюги імуноглобуліну в цитоплазмі) і далі в **плазматичні клітини** (плазмоцити).



Плазмоцити починають виробляти у навколишній простір та кров **IgM** – це **перша фаза синтезу антитіл**.

Потім, шляхом перебудови відповідного гену при збереженні попередньої імуноспецифічності відбувається заміна класу імуноглобулінів, що синтезуються (**C_H-перемикання**).



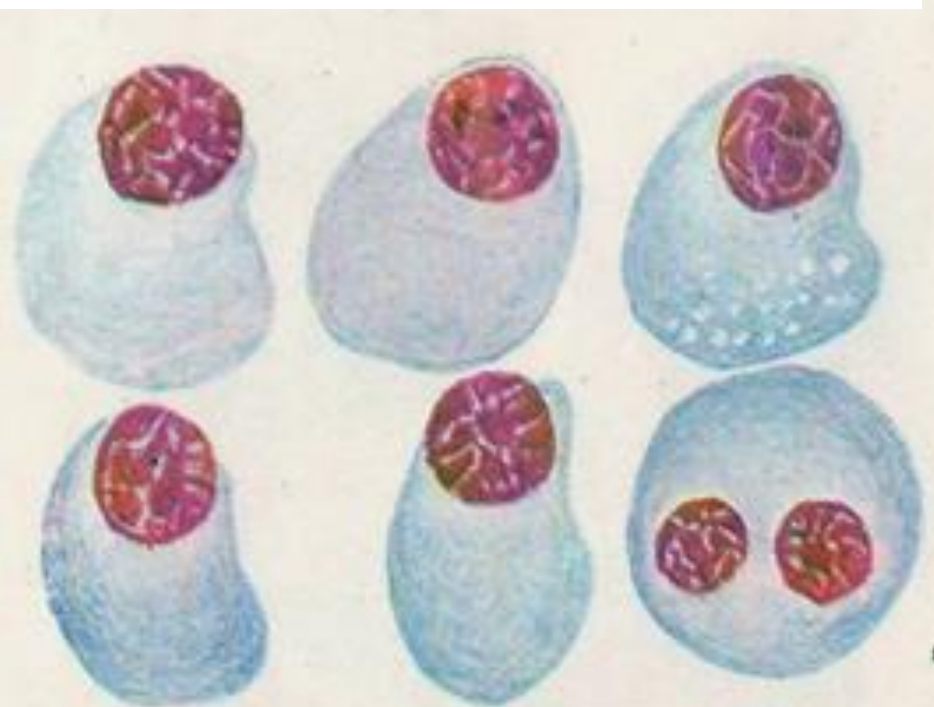
Плазмобласты



Проплазмоциты



Плазмоциты



Найчастіше вони починають
утворювати і секретувати в
навколишній простір **IgG** -
основний клас імуноглобулінів
крові.

Це **друга фаза синтезу антитіл.**

На одній з ранніх стадій лімфопоезу відбувається перебудова геномної області, що кодує фрагменти імуноглобулінів, і в результаті в кожній клітині утворюється лише *один повний ген імуноглобуліну*.

У підсумку, **кожна клітина несе на поверхні імуноглобуліни (антитіла) тільки до одного виду (з безлічі можливих) антигенних детермінант.**

В силу випадковості процесу геномної перебудови, утворюється велика кількість різних клітин, що відрізняються за своєю антигенною специфічністю.

Наступні ділення клітин призводять до утворення **клонів лімфоцитів з різною антигенною специфічністю.**

За деякими оцінками, число таких клонів близько до 10^7 .

Т-імунобласти (на відміну від В-імунобластів) у процесі диференціювання перетворюються у **Т-кілери, Т-хелпери** і

Т-супресори.

Може утворюватися ще одна популяція **Т_{гут}** – клітини, які викликають **гіперчутливість уповільненого типу** (місцеву реакцію, що виникає при повторному введенні антигену).

Т-кілери мають поверхневі рецептори, які за структурою подібні до антитіл.

З їх допомогою вони специфічно реагують з чужорідними антигенними детермінантами на поверхні інших клітин - чужих (трансплантат) або своїх (напр., інфікованих вірусом).

Цьому передує складний процес розпізнавання, в якому важливу роль відіграють макрофаги.

Окрім T_K і $T_{ГЗТ}$, виявлені ще дві групи лімфоцитів з кіллерною активністю – це **NK- і К-клітини**.

NK-клітини (*натуральні кілери*) не містять на поверхні антитіло-подібних рецепторів і не відрізняються один від одного за специфічністю.

Вони розпізнають групи певних білків на поверхні клітин (наприклад, пухлинних).

К-клітини також **не є антиген-специфічними.**

Вони впливають на будь-які клітини-мішені, якщо з їх поверхневими антигенами **зв'язалися антитіла.**

Механізм цитотоксичної дії клітин-кілерів:

при контакті з клітиною-мішенню вони виділяють **білок перфорин**, який утворює гідрофільні канали в її мембрані, через які в клітину проникають спеціальні протеази - **гранзими**, що руйнують внутрішньоклітинні білки, а також низькомолекулярні сполуки і вода, що **викликають осмотичний шок**.

Частина нащадків В- і Т-імунобластів перетворюється в **клітини пам'яті**.

Як і активовані Т-клітини, вони мають вигляд **малих лімфоцитів**.

У них, можливо, збільшена кількість генів, що кодують пептидні ланцюги відповідного імуноглобуліну.

Тому вторинна імунна реакція (при повторному антигенному подразненні) розвивається інтенсивніше.

Поверхневі антигенні маркери Т-лімфоцитів

CD7, CD10, CD5, CD2 (розміщені у порядку їх експресії)

CD3 – найбільш специфічний маркер зрілих клітин

CD4 и **CD8+** – маркери субпопуляцій Т-хелперів і цитотоксичних клітин

CD16, CD56 і CD57 – маркери **NK**-клітин

Поверхневі антигенні маркери В-лімфоцитів

CD19, CD20, CD22, CD40, CD72