

Infektionskänslighet med fokus på neutrofila granulocyter

Anna Thunström Salzer

ST-läkare i hematologi, Cancercentrum, Norrlands Universitetssjukhus

Doktorand, klinisk mikrobiologi, Umeå Universitet

Infektionskänslighet

Infektionskänslighet = ökad risk att drabbas av infektion

Orsak:

- Immundämpande läkemedel (t.ex. vid reumatiska sjukdomar, efter transplantation)
- Leukemi
- Lymfom
- HIV/AIDS
- Immunbristsjukdom

Immunförsvaret

Fysiska barriärer

Ospecifikt försvar (det medfödda immunförsvaret)

Specifikt försvar (det adaptiva, inlärd, immunförsvaret)

Immunförsvaret

Fysiska barriärer:

Hud och slemhinnor hindrar bakterier och virus från att ta sig in i kroppen

Skador på fysiska barriärer kan göra att man blir känslig för infektioner

Immunförsvaret

Ospecifikt försvar (det medfödda immunförsvaret):

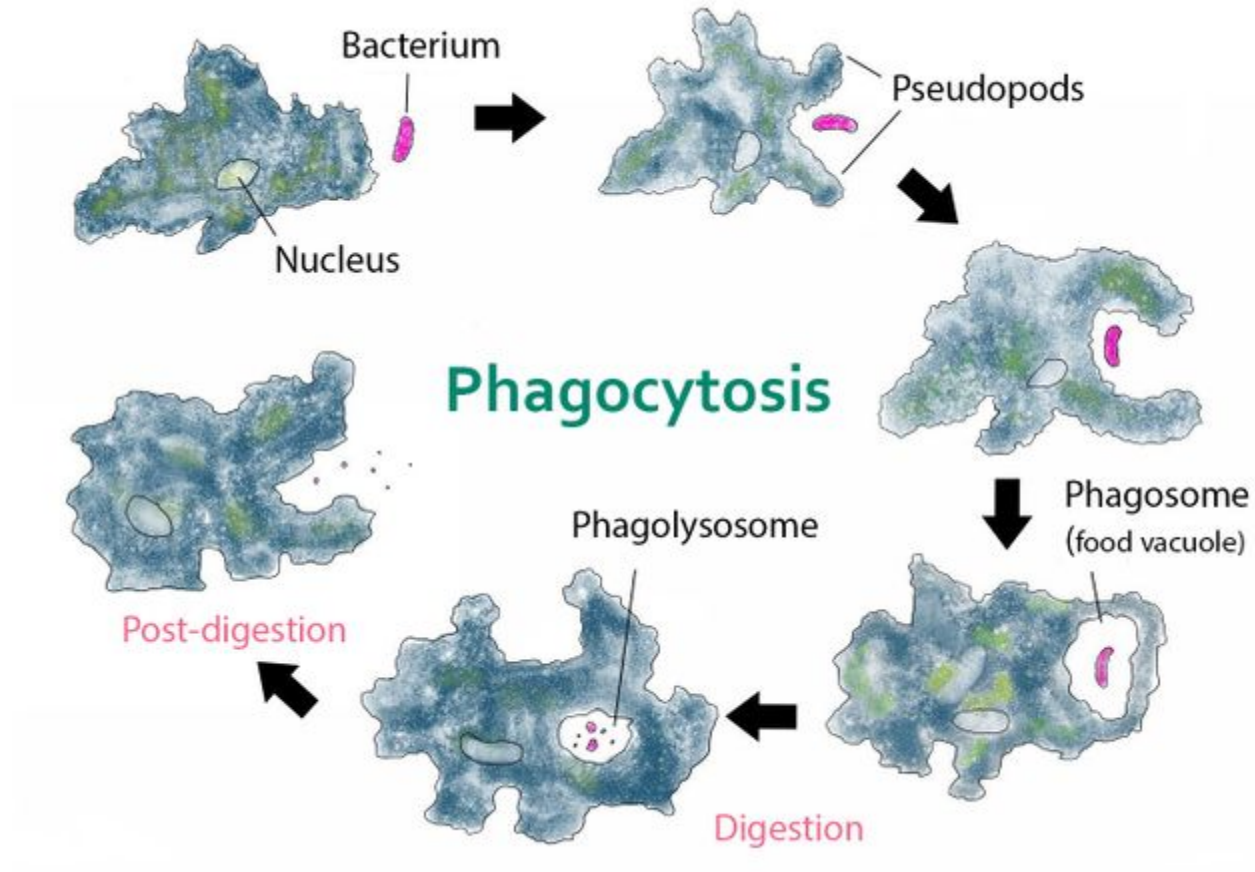
- Fagocyter (monocyter, neutrofiler)
- Komplementfaktorer

Myelopoesen

- Neutrofila granulocyter
- Eosinofila granulocyter – involverade i allergi och försvar mot parasiter
- Basofila granulocyter – involverade i astma och allergi
- Monocyter – ”storätare”, äter död vävnad, bakterier

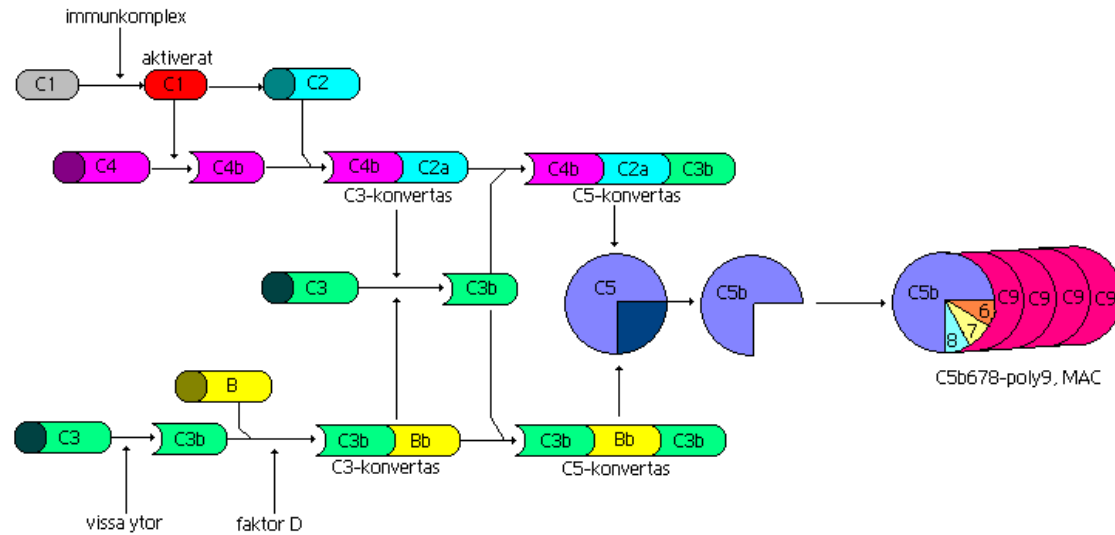
Immunförsvaret, ospecifikt försvar

Fagocyter



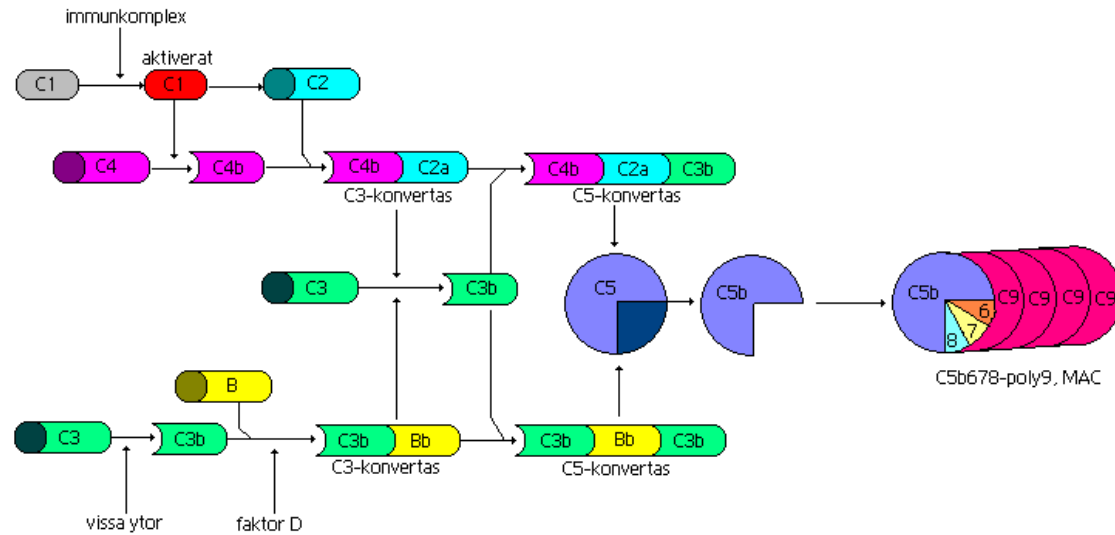
Immunförsvaret, ospecifikt försvar

Komplement



Immunförsvaret, ospecifikt försvar

Komplement



Immunförsvaret

Specifikt försvar (det adaptiva, inlärd, immunförsvaret):

- T-lymfocyter (mognar i thymus)
- B-lymfocyter (mognar i benmärgen)

Lymfopoesen

- T-celler – adaptiva immunförsvaret (det upplärda försvaret), lär sig att känna igen kroppsfrämmande ämnen t.ex. virus
- B-celler – adaptiva immunförsvaret, bildar antikroppar

Lymfocyter kan skapa ett immunologiskt ”minne”

- NK-celler – medfödda immunförsvaret, NK = natural killer, dödar celler som inte är kroppsegna

Det lymfatiska systemet

- Lymfkörtlar och lymfkärl
- Mjälten
- Thymus (brässen)
- Tonsiller
- Benmärg

Immunförsvaret - infektioner

Fysiska barriärer - bakterier

Ospecifikt försvar (det medfödda immunförsvaret) – bakterier, svampinfektioner

Specifikt försvar (det adaptiva, inlärd, immunförsvaret) - virusinfektioner

Neutrofila granulocyter



Neutrofila granulocyter

- Den vanligaste vita blodkroppen som cirkulerar i blodet
- Kort livstid, ca ett dygn
- Tillhör det medfödda immunförsvaret

Neutrofilens funktioner

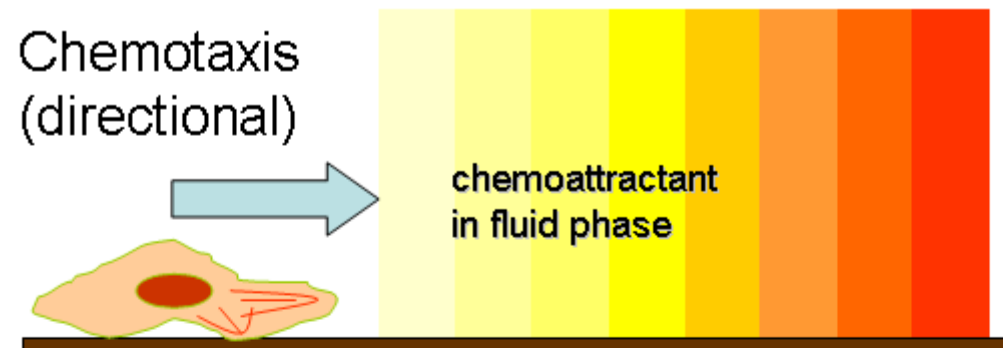
- Kemotaxi
- Fagocytos
- Extracellulära nät
- Cytokinfrisättning

Neutrofilens funktioner

- **Kemotaxi**
- Fagocytos
- Extracellulära nät
- Cytokinfrisättning

Kemotaxi

Kemotaxi = celler reagerar på kemiska ämnen som gör att dom flyttar sig närmare eller flyttar ifrån någonting



Neutrofilens funktioner

- Kemotaxi
- Fagocytos
- Extracellulära nät
- Cytokinfrisättning

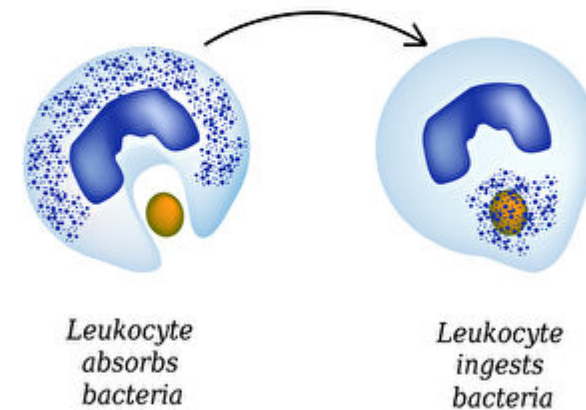
Neutrofilens funktioner

- Kemotaxi
- **Fagocytos**
- Extracellulära nät
- Cytokinfrisättning

Fagocytos

Neutrofiler kan "äta upp" främmande ämnen, t.ex. bakterier

Phagocytosis of leukocytes



Neutrofilens funktioner

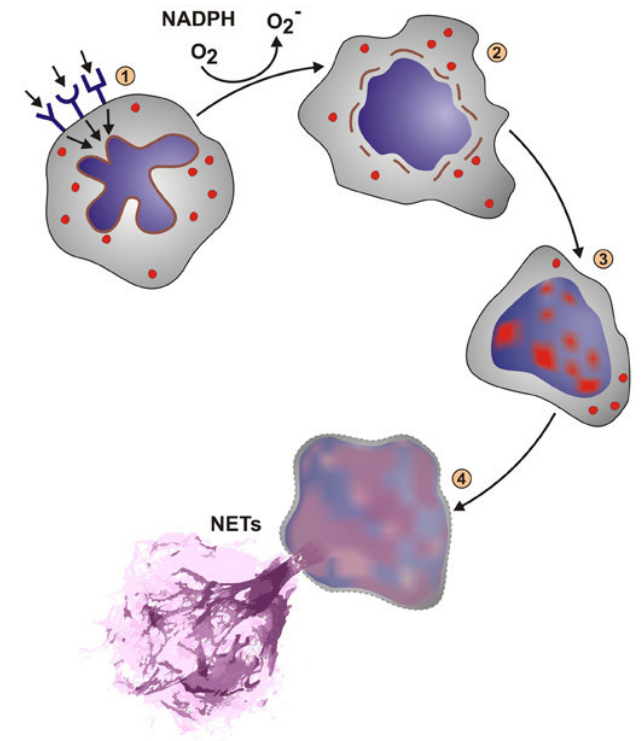
- Kemotaxi
- Fagocytos
- Extracellulära nät
- Cytokinfrisättning

Neutrofilens funktioner

- Kemotaxi
- Fagocytos
- **Extracellulära nät**
- Cytokinfrisättning

Extracellulära nät

Neutrofiler kan aktivt gå sönder och kasta ut sitt cellinnehåll i form av ett nät



Neutrofilens funktioner

- Kemotaxi
- Fagocytos
- Extracellulära nät
- Cytokinfrisättning

Neutrofilens funktioner

- Kemotaxi
- Fagocytos
- Extracellulära nät
- **Cytokinfriättning**

Original Research ARTICLE

Front. Immunol., 11 September 2018 | <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01968>

Assessment of Neutrophil Chemotaxis Upon G-CSF Treatment of Healthy Stem Cell Donors and in Allogeneic Transplant Recipients

Anna Thunström Salzer, Maria J. Niemiec, Ava Hosseinzadeh, Marios Stylianou, Fredrik Åström, Marc Röhm, Clas Ahlm, Anders Wahlin, David Ermert and Constantin F. Urban

•Department of Radiation Sciences, University of Umeå, Umeå, Sweden

•Department of Clinical Microbiology & Laboratory of Molecular Infection Medicine Sweden, Umeå University, Umeå, Sweden

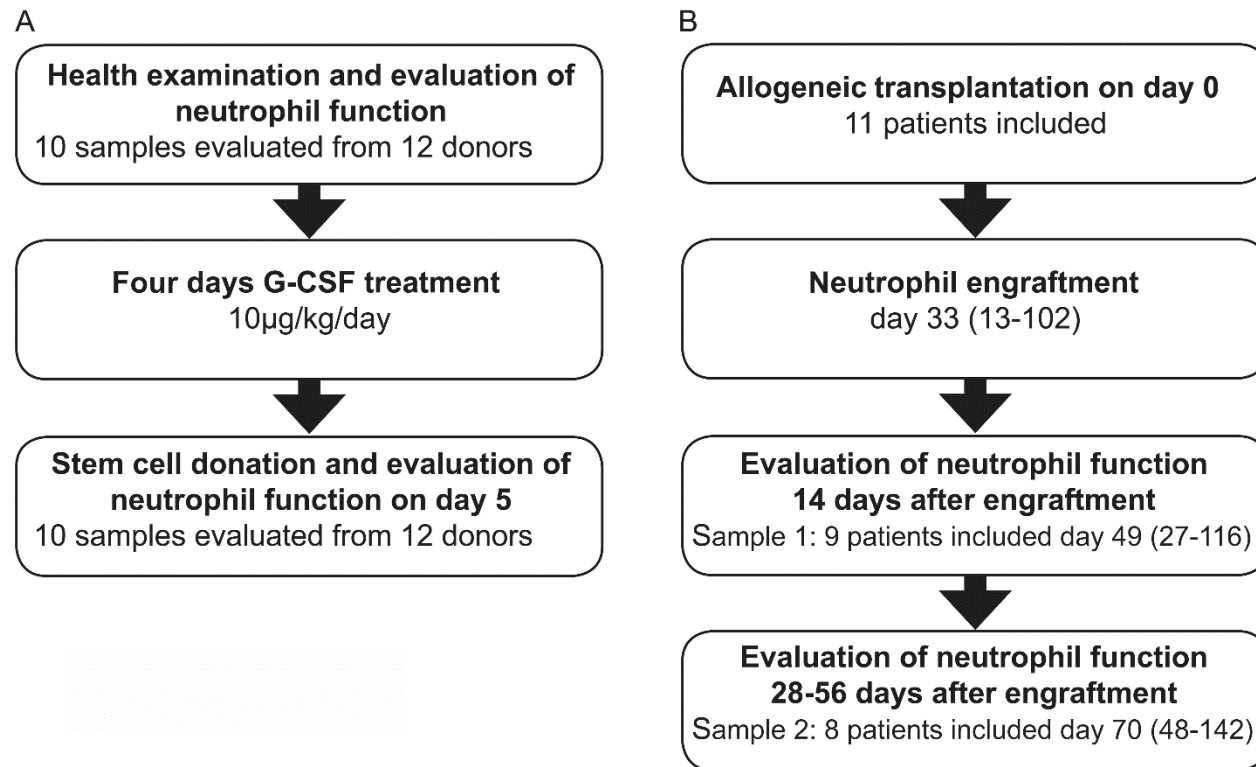
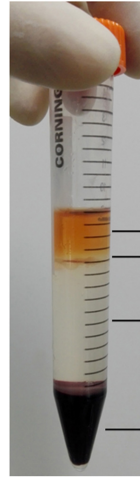
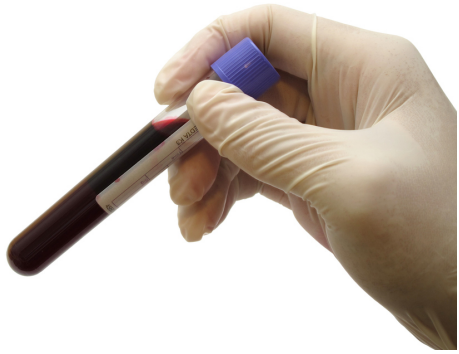


Figure S1: Flow chart for sampling. Flow chart for the sampling within the group stem cell donors **(A)**, and the group allogeneic transplanted **(B)**.

| | Allogeneic transplanted (n = 11) | Stem cell donors (n = 12) | p-value |
|---------------------------------------|---|----------------------------------|----------------|
| Demographics | Caucasian | Caucasian | NA |
| Mean Age (y)/ 95% percentile | 49.6/ 40.2–58.9 | 47.0/37.4–56.6 | 0.68 |
| Gender (m/f) | 7/4 | 5/7 | NA |
| Acute myeloid leukemia | n = 3 | | |
| Acute lymphocytic leukemia | n = 2 | | |
| Myelofibrosis | n = 2 | | |
| Myelodysplastic syndrome | n = 2 | | |
| Chronic myelogenous leukemia | n = 1 | | |
| Hemophagocytic lymphohistiocytosis | n = 1 | | |

NA, not analyzed or applying.

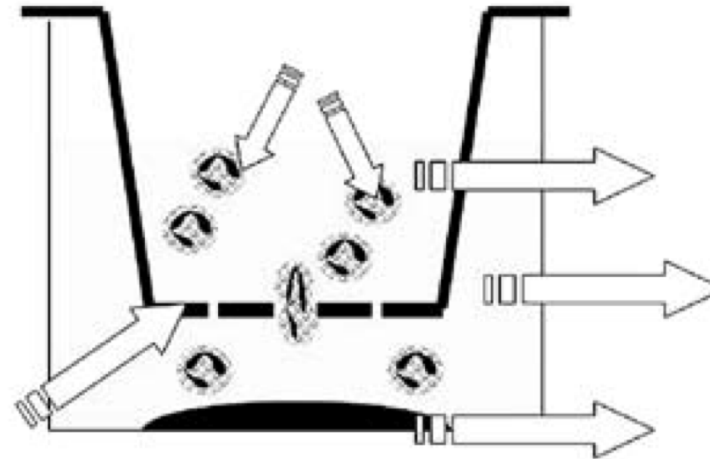


plasma
mononuclear cell
Ficoll paque
red blood cell



Kemotaxi, experiment

neutrofiler som är märkta med flourescerande färg

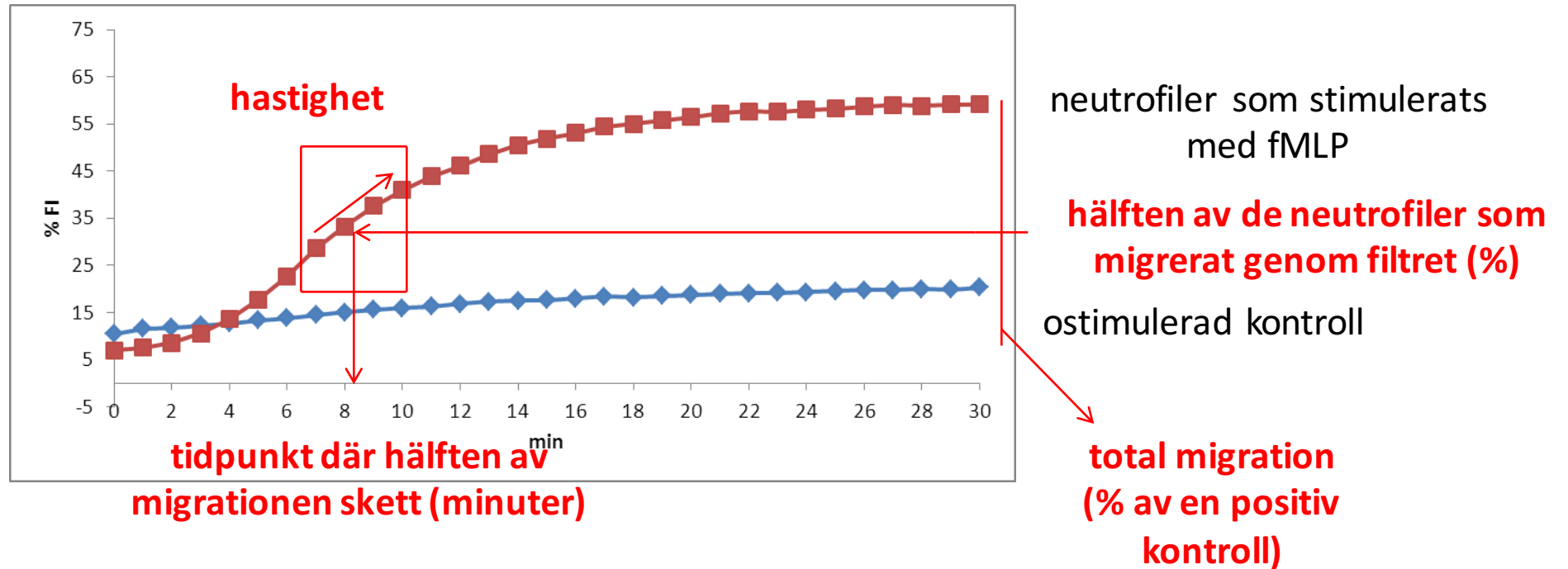


övre
kammaren

undre
kammaren

fMLP =
kemokin

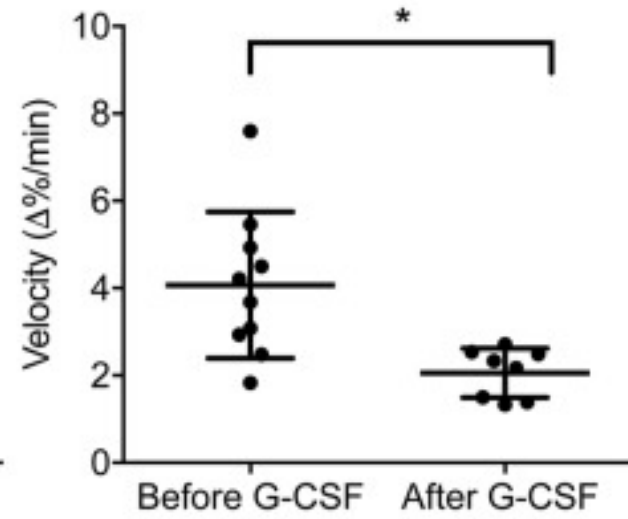
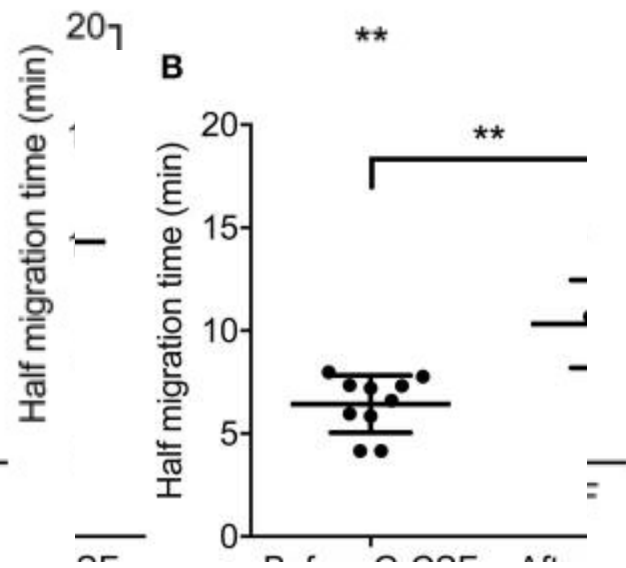
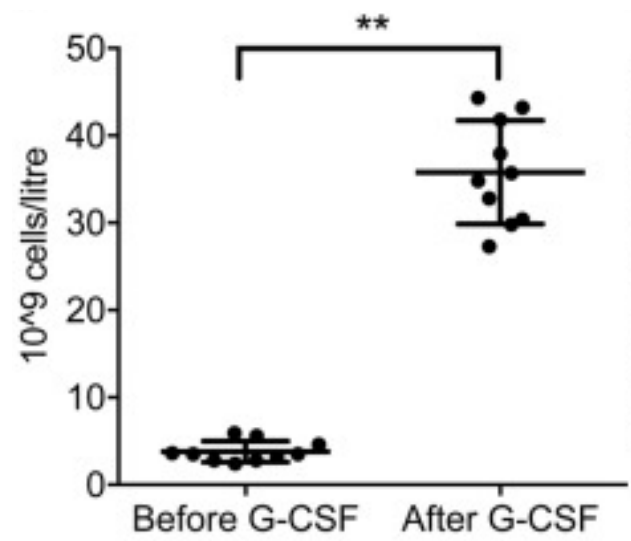
filter med 3 mikrometer stora porer

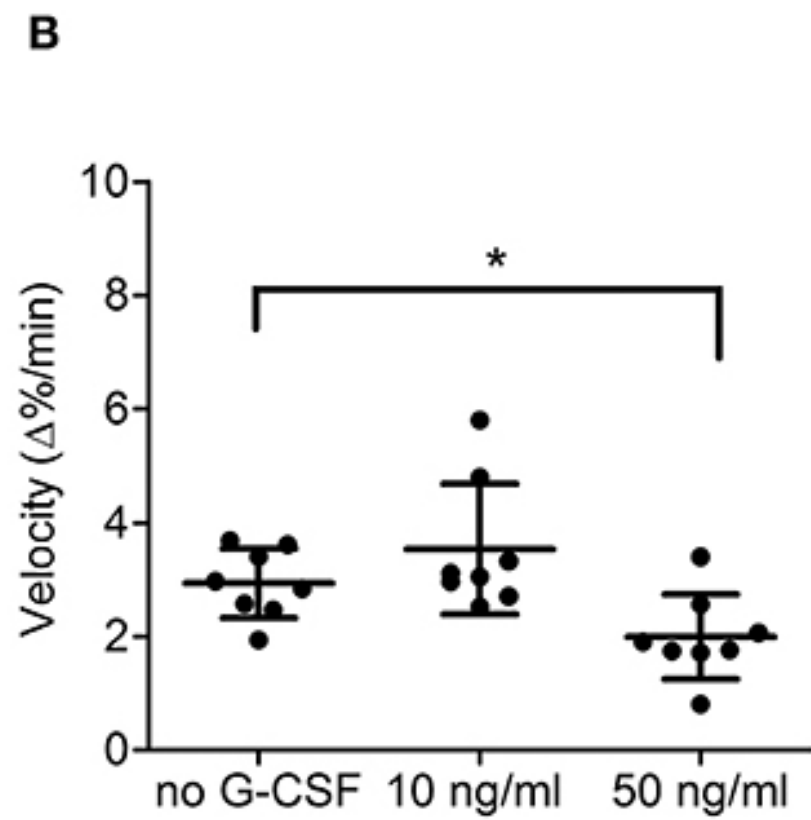
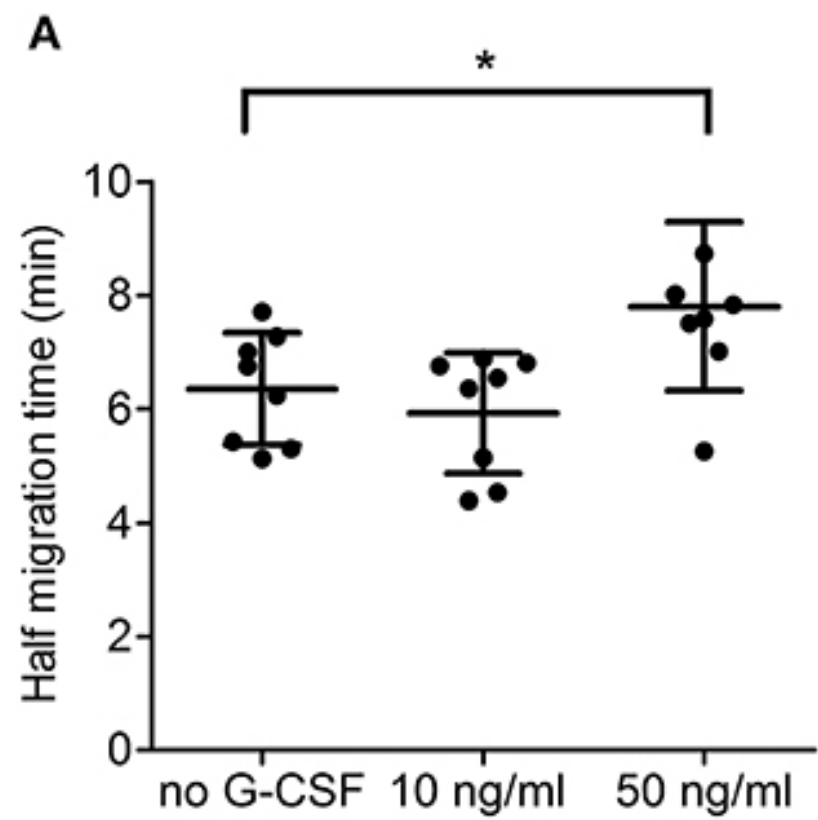


Total migration: fMLP-stimulerade neutrofiler efter 30 minuter som % av positiv kontroll

Migration, halvtid: Tidpunkt när fMLP-stimulerade neutrofiler migrerat till hälften av sitt slutvärde

Hastighet: Linearisering vid halvtid ger hastigheten som $\Delta\%/min$



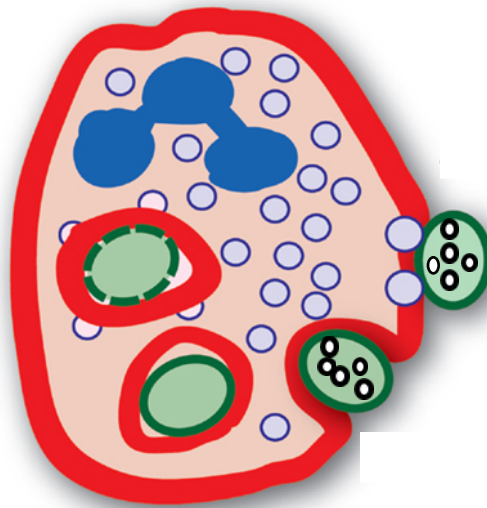


Phagocytosis assay

Små korn som imiterar *Staphylococcus aureus* (en bakterie)

Kornen ger ifrån sig flourescerande ljus när omgivningen blir sur (vid lågt pH)

När neutrofilen "äter upp" bakterier är pH-värdet lågt i de fagosomer (bubblor) som bildas



Mätning av fria syreradikaler

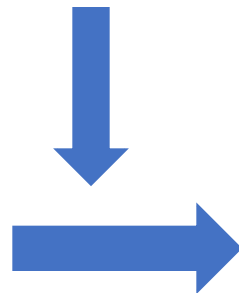
Luminol

Neutrofiler stimuleras med

PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate) som gör att dom producerar ROS

Horseradish peroxidase

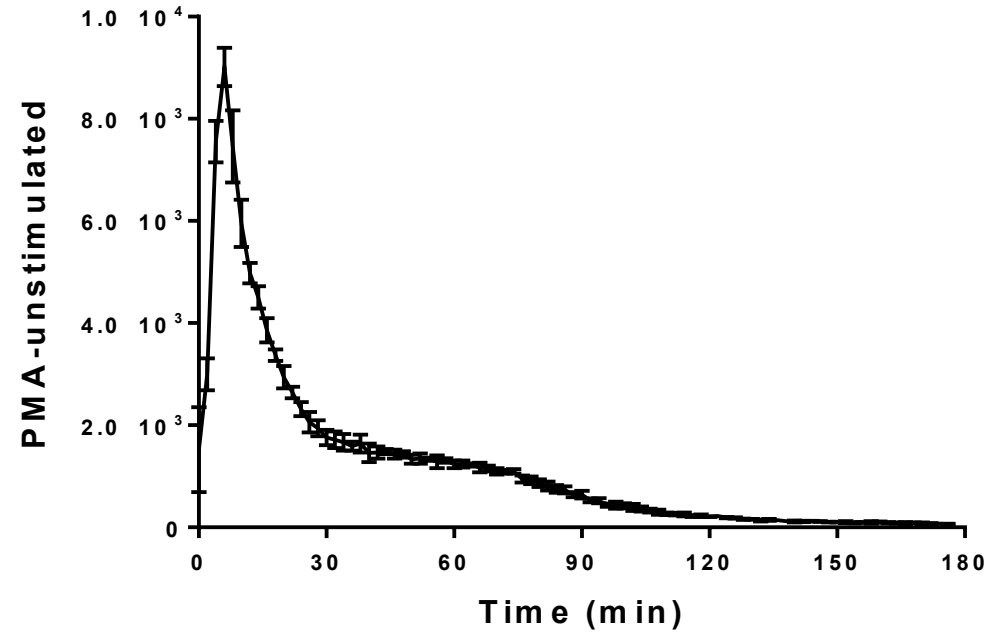
Luminol + fria syreradikaler



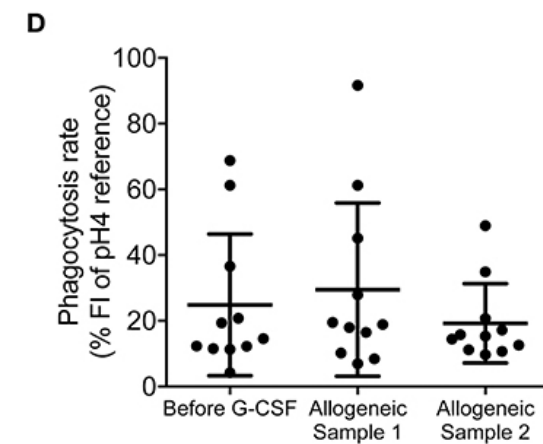
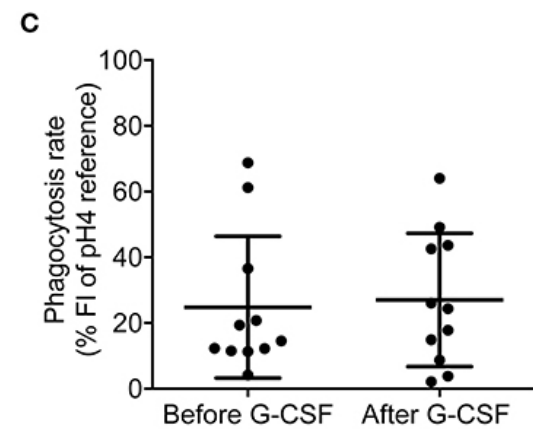
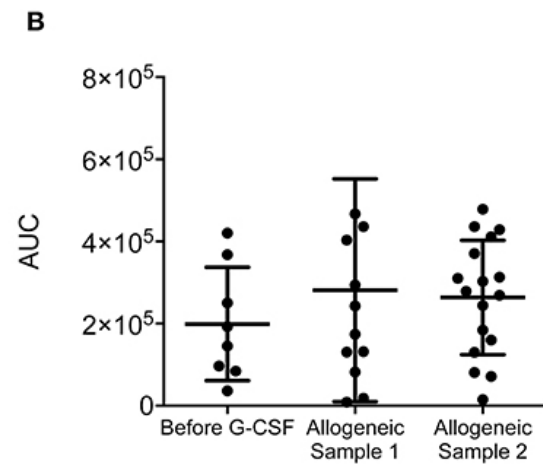
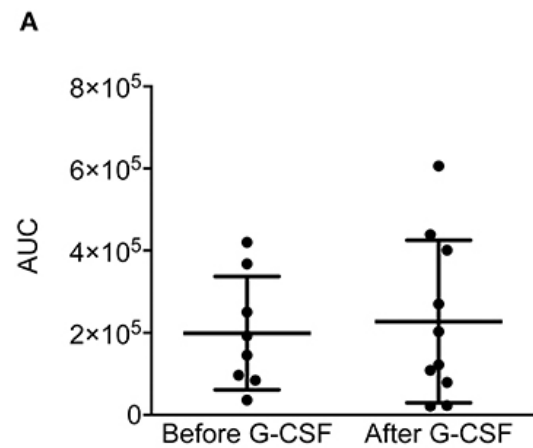
blue ligblått ljus (428nm)

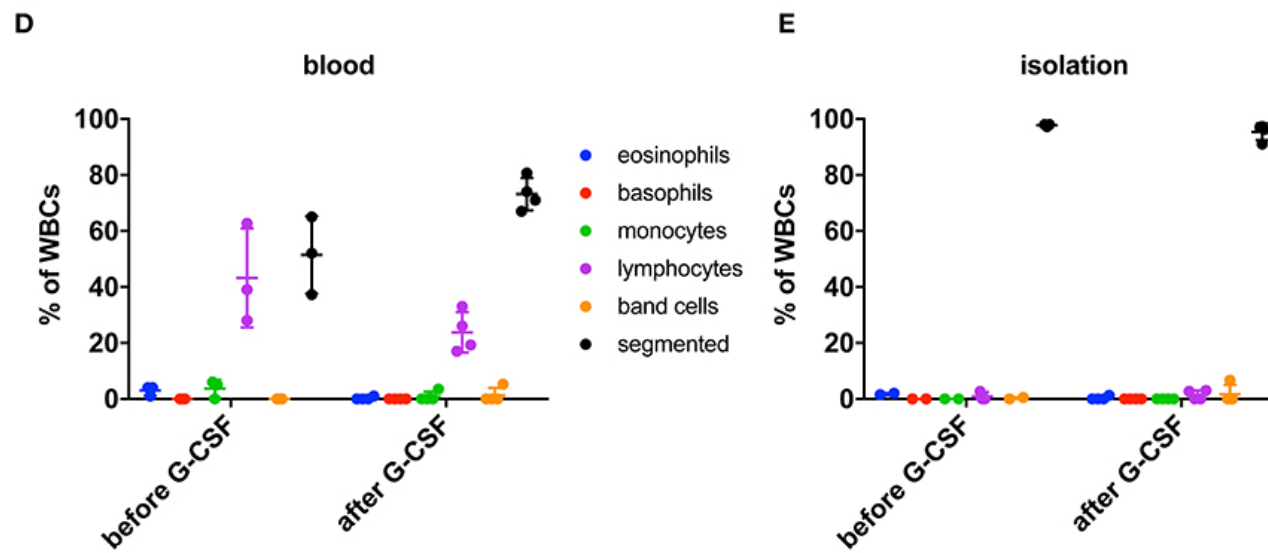
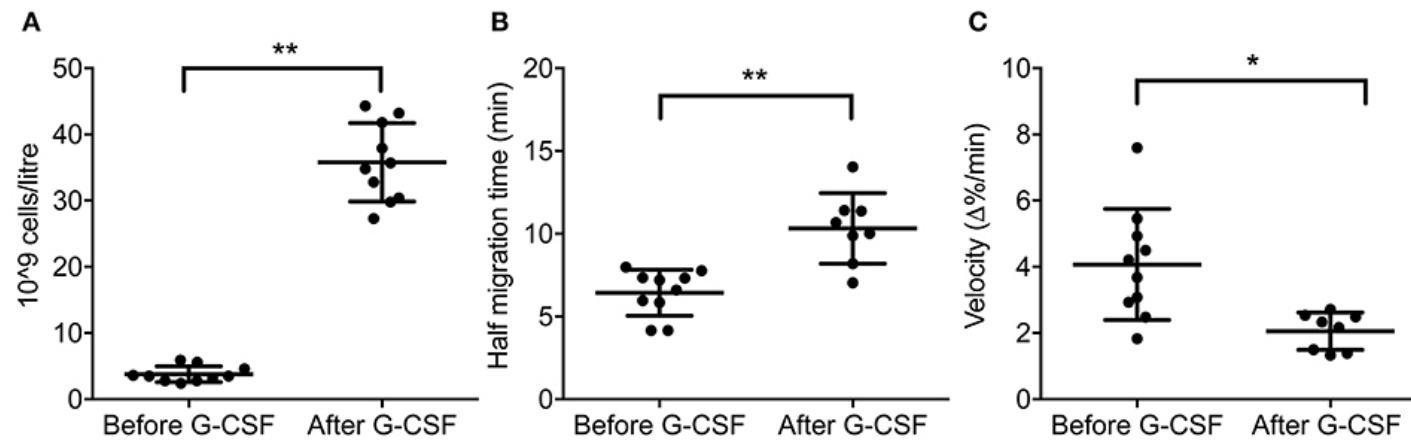


AUC



Donor no 9 after GCSF-treatment





Slutsatser av vår forskning

- G-CSF-behandling minskar neutrofilers förmåga att utföra kemotaxi in vitro
- Förmågan att utföra kemotaxi in vitro är minskad tidigt efter allogen stamcellstransplantation
- Frisättningen av cytokiner är påverkad av G-CSF-behandling
- Inga andra neutrofilfunktioner var påverkade



Constantin Urban och hans forskargrupp

Mina kollegor på hematologen

Alla patienter som har deltagit i forskningsprojekt