

# THEMA 1 ORGANISATIE VAN HET IMMUUNSYSTEEM

## ZSO 1 KENNISMAKING MET HET IMMUUNSYSTEEM

1. Wat zijn cytokines? Op welke wijze veroorzaken cytokines ontstekingsverschijnselen?

Cytokines zijn oplosbare eiwitten die worden uitgescheiden door cellen van het immuunsysteem om met andere cellen te communiceren.

Deze signaalmoleculen spelen o.a. een belangrijke rol bij het opwekken van de aangeboren immuunrespons. Dit doen ze door te binden aan de receptoren op het oppervlak van ontstekingscellen. Deze binding activeert intracellulaire signaalcascades die uiteindelijk o.a. kunnen leiden tot up- of down-regulatie van genen of transcriptiefactoren waardoor ze de functie van de cel kunnen beïnvloeden.

2. Wat betekent klonale selectie?

Slechts een heel klein deel van de aanwezige lymfocyten heeft receptoren die kunnen binden aan het antigeen. Tijdens de klonale selectie worden de lymfocyten met de 'juiste' receptoren gestimuleerd om te delen en te differentiëren.

3. Welke typen leukocyten zijn betrokken bij de specifieke en bij de non-specifieke immuunrespons?

Bij de specifieke immuunrespons: T-lymfocyten, B-lymfocyten, plasmacellen (gevormd uit B-lymfocyten) en geheugencellen (gevormd uit T-lymfocyten en uit B-lymfocyten).

Bij de non-specifieke immuunrespons: neutrofiële -, basofiele - en eosinofiele granulocyten, NK-cellen (= Natural killer cellen), macrofagen, dendritische cellen en mestcellen.

4. Wat is een belangrijk verschil tussen macrofagen en dendritische cellen?

Dendritische cellen migreren van periferie naar lymfeklier, terwijl macrofagen niet migreren.

5. Wat is immunologisch gezien de primaire taak van de B cellen, de ervan afgeleide plasmacellen, en het product van deze cellen?

Plasmacellen (gevormd uit B-cellen) produceren antistoffen waarmee extracellulaire micro-organismen (bacteriën) en toxines onschadelijk kunnen worden gemaakt.

6. Bestaat er een verschil in lokalisatie van het doelwit dat aangevallen wordt door antistoffen of door cytotoxische T-cellen?

Antistoffen zijn gericht tegen extracellulaire pathogenen (o.a. bacteriën, maar ook virussen buiten de cel) en toxinen die zich bevinden in lichaamsvloeistoffen.

Cytotoxische T-cellen vallen door virus geïnfecteerde cellen aan. Hierbij wordt de hele cel opgeruimd. Ook tumorcellen kunnen worden gedood door cytotoxische T-cellen.

7. Geef de belangrijkste verschillen tussen een primaire en secundaire immuunrespons.

- Bij een primaire immuunrespons duurt het enkele weken voordat de eerste antistoffen worden geproduceerd; bij een secundaire gebeurt dit vrijwel meteen.

- Bij een secundaire immuunrespons worden er veel meer antistoffen geproduceerd en effector T-cellen geactiveerd dan bij een primaire respons.

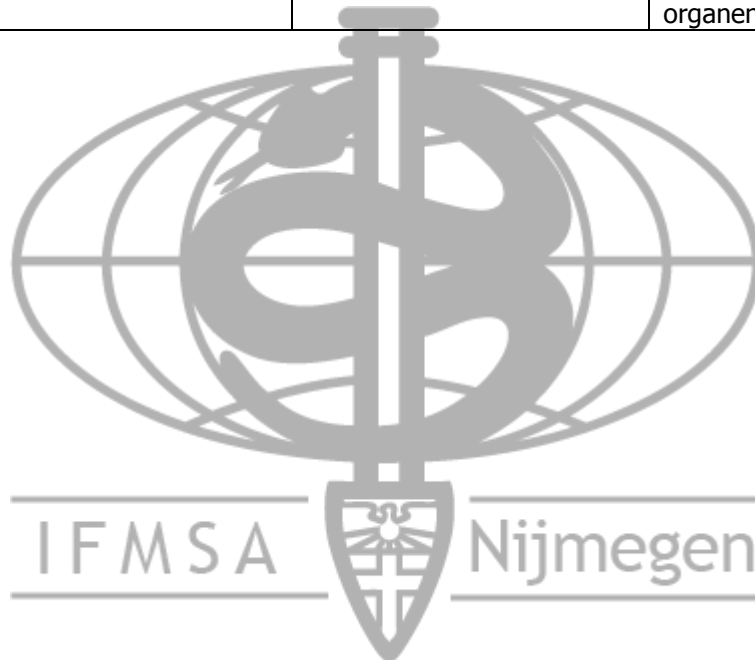
- Bij een primaire immuunrespons wordt er eerst IgM en IgD geproduceerd; bij een secundaire wordt er meteen IgG, IgA en/of IgE geproduceerd.

- Bij een secundaire immuunrespons wordt ook het aangeboren immuunsysteem sneller geactiveerd dan bij een primaire respons, o.a. doordat de vroeg optredende coating van de

pathogenen met antistoffen het aangeboren immuunsysteem activeert.

8. Noem minimaal 5 verschillen tussen de aangeboren en de verworven immuunrespons.

	<b>Aangeboren</b> (= natuurlijke)	<b>Verworven</b> (= adaptieve)
<b>Reactietijd</b>	uren	dagen
<b>Specifiek voor een antigeen</b>	nee	ja
<b>Vorming geheugencellen</b>	nee	ja
<b>Onderscheid tussen lichaamseigen en lichaamsvreemd</b>	globaal	vrijwel perfect
<b>Betrokken cellen</b>	neutrofiele -, basofiele - en eosinofiele granulocyten, NK-cellen, macrofagen, dendritische cellen, mestcellen	lymfocyten en daarvan afgeleide cellen: T-lymfocyten, B-lymfocyten, plasmacellen en geheugencellen
<b>Localisatie</b>	gehele lichaam	met name in sec. lymfoïde organen



## THEMA 2 CELLEN EN ORGANEN VAN HET IMMUNSYSTEEM

### ZSO 2.1 CELLEN VAN HET IMMUNSYSTEEM

#### 1. Leukocyten algemeen

- a. Welke cellen van het immuunsysteem stammen af van de lymfoïde progenitor en welke cellen van de myeloïde progenitor?

Van de lymfoïde progenitor: B-lymfocyten, T-lymfocyten, plasmacellen, geheugencellen en NK-cellen.

Van de myeloïde progenitor: neutrofiële, eosinofiele en basofiele granulocyten, dendritische cellen, monoccyten, macrofagen en mestcellen.

- b. Maak een indeling van de verschillende soorten lymfocyten. Zijn deze verschillende lymfocyten morfologisch van elkaar te onderscheiden?

Indeling van lymfocyten:

- Grote lymfocyten met granula: NK-cellen

- Kleine lymfocyten en daarvan afgeleide cellen: T-lymfocyten, B-lymfocyten

Plasmacellen zijn grote cellen met een excentrische kern en een perinucleaire hof.

De grote lymfocyten met granula (NK-cellen) zijn morfologisch goed te onderscheiden van de kleine lymfocyten en daarvan afgeleide cellen. De kleine lymfocyten en daarvan afgeleide cellen zijn onderling morfologisch niet te onderscheiden, maar kunnen wel worden herkend met antistoffen tegen oppervlaktmoleculen en door de cytokines die ze produceren.

- c. Wat is de procentuele leukocytsamenstelling van het perifeer bloed? Hoe verhoudt zich hier het aantal specifieke immuuncellen tot het aantal non-specifieke immuuncellen?

Zie Parham Fig. 1.15:

- neutrofielen	40-75%
- eosinofielen	1-6%
- basofielen	< 1%
- monoccyten	2-10%
- lymfocyten	20-50%

Gewoonlijk zijn er in het bloed dus meer non-specifieke dan specifieke immuuncellen aanwezig.

Aanvullend: van de lymfocyten in het bloed is een ruime meerderheid T-lymfocyten (ongeveer 80%), daarnaast ongeveer 15% B-cellen, rest NK-cellen.

Het percentage specifieke immuuncellen varieert van  $0.95$  (aandeel B- en T-cellen)  $\times 20 = 19\%$  tot  $0.95 \times 50 = 47,5\%$ .

De verhouding specifieke versus niet-specifieke immuuncellen varieert dus van  $\pm 4:1$  tot  $1:1$ .

N.B. Macrofagen en mestcellen bevinden zich uitsluitend in de weefsels, niet in de bloedbaan.

## 2. *Lymfocyten*

### 2.1 *B en T cellen*

- a. Noem twee overeenkomsten en drie verschillen tussen een B cel receptor en een T cel receptor.

Overeenkomsten:

- Beiden zijn antigeenspecifiek.
- Beiden hebben een variabel en een constant deel
- Bij beiden vindt somatische recombinitie van gensegmenten plaats.

Verschillen:

- B-cel receptoren herkennen intacte pathogenen (met allerlei biochemische structuren) terwijl T-cel receptoren alleen peptiden van het pathogeen herkennen wanneer deze zijn gebonden aan major histocompatibility complex moleculen (MHC-moleculen).
- Een B-cel receptor heeft twee antigeen-bindende plaatsen, een T-cel receptor slechts één.
- Somatische hypermutatie gebeurt alleen bij B-cellen (en zorgt daar voor een nog grotere diversiteit van de receptoren).
- B-cel receptoren hebben verschillende isotypen van de constante regio's (zodat zij verschillende typen immunoglobulinen kunnen produceren, zoals IgA, IgM, etc.), terwijl T-cel receptoren maar één soort constante regio hebben.

- b. Hoe komt de diversiteit van de B- en T-cel receptor tot stand?

Door verschillende recombinities van gensegmenten. Daarnaast vindt tijdens de recombinitie nog toevoeging of verwijdering van nucleotiden plaats.

- c. Als door somatische recombinitie een B-cel of T-cel een nieuwe genetische opmaak heeft gekregen, kan deze B-cel of T-cel dan ooit weer terug naar de oude oorspronkelijke genetische opmaak?

Nee.

- d. Waar vindt klonale selectie plaats: in de primaire of secundaire lymfoïde organen?

In de secundaire lymfoïde organen.

### 2.2 *NK-cellen*

- a. Waarin verschillen NK-cellen van T- en B-cellen?

- b. Wat is de primaire taak van de NK-cellen in de immuunrespons?

- c. Hoe kunnen NK-cellen hun target herkennen, m.a.w. ontwikkelen deze cellen antigeen-specifieke receptoren, of vindt de herkenning op andere wijze plaats?

a, b, c:

NK-cellen (Natural killer cellen) hebben geen antigeenspecifieke receptoren (TCR of membraan-Ig), en er is geen opbouw van memory.

NK-cellen kunnen m.b.v. hun Fc-receptoren cellen doden die met antistof zijn beladen (ADCC, fig. 9.43). Maar ze kunnen ook cellen doden in afwezigheid van antistof, en spelen o.a. een rol in de afweer tegen virus-geïnficeerde cellen (fig. 2.47). De daarbij betrokken receptoren zijn nog slecht gekarakteriseerd. Wel is duidelijk dat herkenning van MHC-I op de targetcel juist remmend werkt op de NK activiteit (fig. 2.49).

- d. Kunnen NK-cellen net als B- en T-cellen ook memory-cellen vormen?

Nee.

### 3. **Monocyten/macrofagen en dendritische cellen**

- a. Wat is de relatie tussen monocyten en macrofagen? Hoe verschillen ze van elkaar?

Monocyten zijn de voorlopers van macrofagen die door de bloedbaan reizen. Op een gegeven moment reizen ze de weefsels in, ontwikkelen ze zich tot macrofagen (of soms tot dendritische cellen – zie figuur 1.14 op blz. 14 van Parham) en blijven daar.

- b. Wat zijn de twee hoofdtaken van macrofagen?

- fagocytose  
- presentatie van antigenen  
Daarnaast produceren ze ook cytokines die de ontstekingsreactie stimuleren

- c. Op welke manier zijn dendritische cellen betrokken bij het op gang zetten van de adaptieve immuunrespons?

De dendritische cellen nemen de pathogenen op en presenteren hun antigenen op MHC-moleculen op het celmembraan. Vervolgens reizen ze naar de lymfeklieren om daar de naïeve T-cellen te activeren.

- d. Noem een overeenkomst en een verschil tussen macrofagen en dendritische cellen.

Overeenkomsten:

- Beide celtypen ontstaan uit monocyten.  
- Beide celtypen nemen pathogenen op en presenteren hun antigenen op MHC-moleculen op hun membraan (professionele antigen presenterende cellen)

Verskil:

- Dendritische cellen die een pathogeen hebben opgenomen reizen van het infectiegebied naar de lymfeklieren om daar de naïeve T-cellen te activeren. Macrofagen zijn niet in staat om te migreren, zij blijven dus in het infectiegebied.

### 4. **Polymorfkernigen en mestcellen**

#### 4.1 *Neutrofiële granulocyten*

- a. Wat is immunologisch gezien de primaire taak van neutrofiële granulocyten?

Fagocytose en intracellulair onschadelijk maken van micro-organismen of vreemde antigenen.

- b. Noem een overeenkomst en een verschil tussen macrofagen en neutrofiële granulocyten.

Overeenkomst: beide cellen zijn in staat tot fagocytose.

Verskil: de levensduur van neutrofiële granulocyten (wanneer deze eenmaal gemigreerd zijn naar het weefsel) is 1 á 2 dagen, de levensduur van macrofagen is veel langer (vele maanden). De diversiteit van effectormoleculen is groter voor neutrofielen dan voor macrofagen. Macrofagen kunnen antigenen presenteren, neutrofielen niet

- c. Waar worden neutrofiële granulocyten geproduceerd en hoe komen ze op de plaats van een infectie?

In het beenmerg.

Neutrofiële granulocyten migreren door de bloedbaan naar de plaats van infectie d.m.v. chemotaxis (= onder invloed van een gradiënt in de concentratie van bepaalde chemokines). Vervolgens treden ze uit de bloedbaan (zie vraag d).

d. Welke stappen worden er onderscheiden in de extravasatie van neutrofiële granulocyten?

1. Rollende adhesie aan het endotheel
2. Stevige binding aan het endotheel
3. Diapedese
4. Migratie in het weefsel

Zie figuur 2.31 op blz. 55 van Parham.

e. Hoe kunnen pathogenen worden herkend door granulocyten?

Granulocyten hebben receptoren voor allerlei microbiële structuren. Daarnaast door middel van opsonisatie: de pathogenen worden als het ware 'gecoat' met immunoglobulinen (IgG), complementfragmenten (C3b of C4b) of Mannose-bindend lectine (MBL). Granulocyten (en macrofagen) hebben receptoren op hun celoppervlak die deze coatingsmoleculen herkennen en fagocyteren.

N.B. Hoewel fagocyten geen receptoren hebben voor IgM, is IgM een goede activator van het complementsysteem, waardoor de cellen worden gecoat met C3b of C4b.

f. Welke categorieën van enzymen en mediators zitten in de granula van de granulocyt?

Algemeen gesproken geldt dat de granula een breed assortiment bevatten aan enzymen die suikers, eiwitten en vetten en nucleïnezuren splitsen/ afbreken. Verder myeloperoxidase voor generatie van zuurstofradicalen en actieve chloorverbindingen ('bleekmiddel') die toxisch zijn voor bacteriën. Daarnaast lysozym dat de celwand van sommige bacteriën aantast, lactoferrine (dat ijzer wegvangt) en nog een aantal antimicrobiële toxische kleine eiwitten zoals defensinen. Voor de vorming van zuurstofradicalen en actieve chloorverbindingen is een zuurstofrijk milieu noodzakelijk, maar via de andere mechanismen kan de neutrofiel ook uitstekend zijn werk doen in een zuurstofarm milieu.

#### 4.2 Mestcellen

a. Waar bevinden de mestcellen zich?

Mestcellen zijn aanwezig in vele weefsels. Meestal liggen ze met name rondom bloedvaten en zenuwen. De hoogste concentratie mestcellen is te vinden op de meest strategische plekken om pathogenen buiten te houden: op de grenzen tussen de buitenwereld en het interne milieu (bijvoorbeeld in de huid, de conjunctiva van de ogen, de slijmvliezen van de longen en de slijmvliezen van de mond, neus en het maagdarmkanaal).

b. Geef enkele voorbeelden van stoffen die direct vrijkomen na activering van mestcellen. Wat is de globale werking van deze stoffen?

In granula zijn o.a. histamine en heparine aanwezig, en een aantal proteolytische enzymen. TNF-alfa is ook voor een deel al opgeslagen in granula maar de meeste cytokines, chemokines en ontstekingsmediators (o.a. leukotriënen en prostaglandines) worden geproduceerd op het moment dat de mestcel wordt geactiveerd (fig. 12.3). Histamine, heparine en ook leukotriënen en prostaglandines hebben invloed op gladde spieren en op vaatpermeabiliteit, chemokines zijn chemotactisch (voor neutrofielen en macrofagen) terwijl de cytokines verschillende effecten hebben, m.n. op andere cellen van het immuunsysteem (fig. 12.5).

#### 4.3 Eosinofiele en basofiele granulocyten

a. Waar bevinden de eosinofiele granulocyten zich?

In de bloedbaan, in organen die betrokken zijn bij de afweer (thymus, lymfeklieren, milt) en in enkele andere organen (onderste deel van het maagdarmkanaal, baarmoeder, ovarium).

- b. Geef enkele voorbeelden van stoffen die direct vrijkomen na activering van eosinofiele granulocyten. Wat is de globale werking van deze stoffen?

Fig. 12.9: vanuit granula komt MBP (Major Basic Protein) vrij, en ECP (Eosinophil Cationic Protein), beide zijn toxisch voor parasieten. Daarnaast een aantal enzymen (peroxidase, collagenase). Verder worden na activatie cytokines, chemokines en ontstekingsmediatoren geproduceerd, die in belangrijke mate overlappen met de producten van mestcellen (zie vraag 4.2-b). Door de toxische effecten van de mediators kan ook gemakkelijk schade aangericht worden aan weefsel van de gastheer. Dit verklaart ook de symptomen van patiënten met hypereosinofilie.

- c. Wat is immunologisch gezien de primaire taak van eosinofiele granulocyten?

De belangrijkste taak van eosinofiele granulocyten is het onschadelijk maken van worminfecties door uitscheiden van MBP (major basic protein) en andere toxische stoffen (ECP, eosinophilic cationic protein) over het celoppervlak van de parasiet via degranulatie.

- d. Noem naast het hypereosinofiel syndroom een andere aandoening waarbij er een toename van het aantal eosinofiele granulocyten in weefsel is.

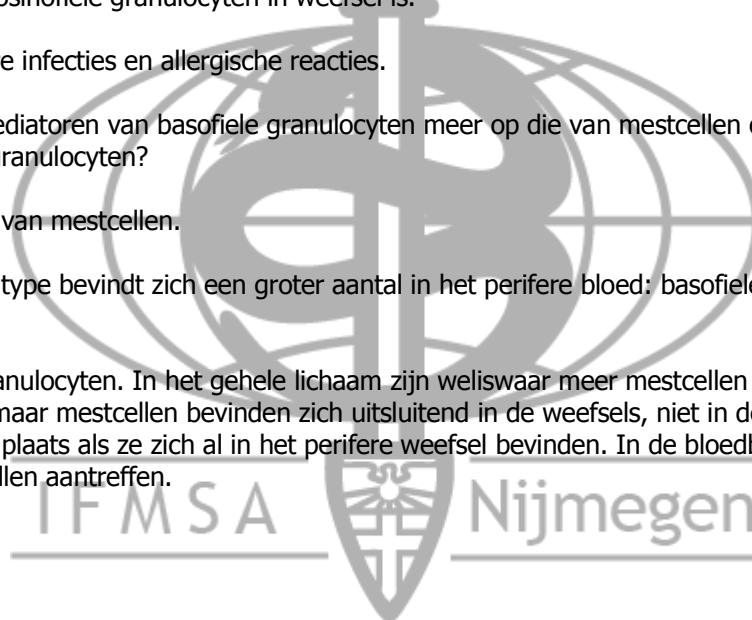
Bij parasitaire infecties en allergische reacties.

- e. Lijken de mediators van basofiele granulocyten meer op die van mestcellen of op die van eosinofiele granulocyten?

Meer op die van mestcellen.

- f. Van welk celtype bevindt zich een groter aantal in het perifere bloed: basofiele granulocyten of mestcellen?

Basofiele granulocyten. In het gehele lichaam zijn weliswaar meer mestcellen aanwezig dan basofielen, maar mestcellen bevinden zich uitsluitend in de weefsels, niet in de bloedbaan. Hun rijping vindt plaats als ze zich al in het perifere weefsel bevinden. In de bloedbaan zal je dus geen rijpe mestcellen aantreffen.



## ZSO 2.2 ORGANEN VAN HET IMMUUNSYSTEEM (ANATOMIE EN FUNCTIONELE ASPECTEN)

### 1. *Lymfeklier*

- a. Hoe komen antigenen (micro-organismen) vanuit omliggend weefsel (bijv. huid) binnen in de lymfeklier en hoe ontstaat dan een immuunrespons in de lymfeklier? Wanneer ontstaat dus lymfeklierzwellings?

Via drainage van weefselvloeistof naar afferente lymfevaten van een lymfeklier. Via transportcellen zoals de cel van Langerhans in de huid, welke hun antigenen naar de onderliggende lymfeklier transporteren. Lymfeklierzwellings is niets anders dan vergroting van de lymfeklier (hyperplasie) ten gevolge van een ongoeding immuun respons, of een chronische ontsteking. Zie Parham fig. 1.21 en 1.22.

- b. Hoe komen T cellen de lymfeklier binnen?

Naïeve T-cellen komen de lymfeklieren binnen via de high endothelial venules (HEV's). De T-cellen gaan door de dunne wandjes van deze HEV's heen naar de cortex van de lymfeklier.

- c. Maak een tekening van de lymfeklier waaruit blijkt waar de T-cellen en waar de B-cellen liggen.

Zie Parham Figuur 1.21: B-cellen in follikels/kiemcentra in de cortex, T-cellen in het paracorticale gebied.

- d. Waaruit bestaat een kiemcentrum (germinal center)?

In een kiemcentrum bevinden zich voornamelijk prolifererende B-cellen ( bezig met affiniteitsmaturing/isotype switching).

### 2. *Milt*

- a. In welk deel van de milt is de grote fagocytose capaciteit gelokaliseerd? Welke elementen worden door fagocytose verwijderd?

Rode pulpa, niet witte pulpa: macrofagen. Niet alleen verouderde erythrocyten, maar alle vreemde antigenen, microben etc.

- b. Maak een tekening van de witte pulpa van de milt en geef daarin aan waar de T cellen en waar de B cellen liggen. Hoe strikt zijn die T- en B-celgebieden van elkaar gescheiden?

Zie Parham Fig. 1.23.

Lymfocyten zijn primair verzameld in de witte pulpa van de milt. In de PALS (peri-arteriolaire lymfocytenschede) bevinden zich uitsluitend T-cellen. De follikels bevatten voornamelijk B-cellen, gemengd met een klein percentage T cellen. De marginale zone bevat beide celpopulaties. Een primaire follikel bestaat uit allemaal rustende B-cellen, terwijl een secundaire follikel een kiemcentrum bevat (helder) met delende B-cellen.

- c. Wat zijn de meest opvallende verschillen in de bouw en functie van een lymfeklier en milt?

- De milt bevat rode pulpa waar binnen de witte pulpa als follikels en PALS gebieden is gelegen. Dus geen verdeling in schors/merg; wel follikels. Bevat rijpe B- en T-cellen. Geen randsinus rondom het orgaan. De milt is i.t.t. lymfeklieren niet verbonden met het lymfatische systeem. Functie: productiestation en vermeerderingsstation van T- en B-cellen; genereren van een immuunrespons. Daarnaast fagocytose in de rode pulpa.



- De lymfeklier ligt geschakeld in de circulatiestroom van de lymfevloeistof, draineert dus weefsels. Bevat cortex en paracortex, follikels, T- en B-cellen, en een randsinus. Produceert geactiveerde T- en B-cellen, en genereert daarmee een immuunrespons.

### 3. **Mucosa geassocieerde lymfoïde systeem (MALT)**

- a. Hoe komen antigenen (micro-organismen) vanuit de darm binnen in het MALT?

Antigenen in het lumen van de darm worden via endocytose opgenomen door M-cellen (= microfold cellen, die zich tussen de enterocyten bevinden). Ze worden vrijgelaten aan de basale zijde van de M-cellen. Hier worden ze direct opgenomen door dendritische cellen van het MALT.

- b. Wat is de functie van de tonsillen?

De tonsillen vormen samen een verzameling van lymfoïde ophopingen in de mond- en keelholte op de plaats waar in voedselwegen en luchtwegen frequent pathogenen verzamelen. Doel is om lokaal antigenen te 'trappen' en er een snelle immuunreactie tegen te genereren zowel op niveau van IgA productie (transepitheel-transport en uitscheiding in speeksel) als ook op niveau van aanmaak van antigeen-specifieke T-cellen. Aanvullend (staat niet in Parham): bij tonsillen zijn er geen aanvoerende lymfevaten, de antigenen worden direct vanuit de omgeving opgepikt.

## 1 **THEMA 3 HET AANGEBOREN IMMUNUSYSTEEM**

### ZSO 3 AANGEBOREN IMMUNUSYSTEEM

1. In Figuur 2.2. wordt uitgelegd dat de effectormechanismen bij extracellulaire infecties en intracellulaire infecties verschillen. Leg uit waarom een intracellulaire virusinfectie niet goed kan worden bestreden met complement-activatie en waarom NK-cellen niet bijdragen aan de bestrijding van een infectie van extracellulaire bacteriën.

Het complementsysteem (verder afgekort als CS) is onderdeel van het (innate) **humorale** immuunsysteem.

Aldus heeft het CS effect op **extracellulaire** pathogenen. NB. Effectormechanismen zijn: - recruitering en activering van fagocyten via anafylatoxines, - opsonisering (via C3b) én - directe killing (lysis) (via MAC) van pathogenen die aan de buitenzijde een membraan hebben: dat zijn Gram-negatieve bacteriën en bijvoorbeeld (dierlijke) parasieten.

Humane cellen zijn beschermd tegen complement-attack doordat humane celmembranen beladen zijn met membraangebonden complementregulatorische eiwitten. Dit zijn MCP en DAF (helpen bij het onwerkzaam maken van C3-convertases (zie pag 36), en CD59 (= protectine) en HRF (= homologous restriction factor) (zie pag. 40) blokkeren insertie van C9 in het MAC). MAC gemedieerde cellysis zal dan ook gewoonlijk niet optreden op menselijke cellen. Ook niet als deze virus geïnfecteerd zijn!

Veel pathogenen vermijden de humorale tak van de afweer door zich intracellulair te "verstoppert". Virussen groeien sowieso intracellulair. Een virus geïnfecteerde cel kan dan ook niet door complement worden opgeruimd.

(Extra: Noem een aantal andere voorbeelden van intracellulaire pathogenen: *Malaria parasiet*, *Salmonella spp.* en *Mycobacterium tuberculosis*).

De innate afweer tegen intracellulaire virussen, dwz tegen de humane cellen die met een virus geïnfecteerd zijn, geschiedt door NK-cellen (zie par 2-21).

NK-cellen bevatten granula met daarin cytotoxische stoffen en circuleren (par 2-22) al in een "activated state". Op deze manier kan NK-cel gemedieerde cytotoxiciteit tegen virusgeïnfecteerde cellen vroeg in de loop van de infectie optreden (zie ook Fig 2.47).

De "killing capacity" van NK-cellen wordt 20-100x versterkt in de aanwezigheid van type I

interferonen en van IL-12 en TNF $\alpha$ .

NK-cellen herkennen met hun receptoren, verschillende liganden, waaronder MHC-I.

(Zie fig 10.32).

(Zie Fig 2.49 en bijna dezelfde Figuur 10.34 waarbij aangegeven is dat MHC-I een remmende receptor bindt).

De NK-cel zal niet geactiveerd worden na contact met deze liganden op een gezonde cel.

Wanneer een humane cel met een virus is geïnfecteerd, verandert de expressie van de door NK-cel herkende liganden, op de geïnfecteerde cel.

(Opm.: Vaak is dit een vermindering van de MHC-I expressie (zie pag 319). Dit principe staat verder (té) uitgebreid uitgelegd in par 10-26 en 10-27); Parham noemt in Chapter 2 verder nog de stress-related proteïns MIC-A en MIC-B die worden herkend door NKG2D, en die een activerend signaal geven).

Hierdoor wordt de NK-cel wél geactiveerd.

*(Extra: Interessant is dat het moleculaire mechanisme waarmee NK-cellen virus-geïnfecteerde cellen dood maakt (dat gebeurt o.a. met z.g. "perforines") in de verte wel lijkt op de molecuulstructuur van MAC)*

2. Stel, het is winter en de nieuwe influenza epidemie is in volle gang. Het influenza virus waart overall rond.
- a. Bespreek welke barrières het virus moet overwinnen om een mens met succes te kunnen infecteren, en welke onderdelen van het aangeboren afweersysteem in actie zullen komen tijdens infectie.

Barrières:

- Mechanische barrière: zowel de epitheelcellen van de neusholte als dat van het onderste deel van de luchtwegen bevatten trilharen en zijn bedekt met een dikke laag mucus. Het virus moet voorkomen dat het met de mucus wordt afgevoerd, uitgeniesd of opgehoest.
- Fysieke barrière: celmembraan van de lichaamscellen.
- (Voor bacteriën is er ook nog een chemische barrière: de lysozymen en defensines (antibacteriële peptiden) in de neusholte respectievelijk de longen.)
- Aangeboren afweersysteem: NK-cellen.

- b. Wat veroorzaakt de weefselschade tijdens een influenza infectie?

Het influenzavirus heeft een direct cytopathisch effect (Fig 2.1).

3. Langs welke wegen kan het complementsysteem worden geactiveerd. Wat gebeurt er met C3 wanneer er complementactivatie plaatsvindt.

Routes voor complementactivatie:

- **Alternatieve route.** Gebeurt deels "spontaan" (C3 is in staat om spontaan te hydrolyseren) maar dit wordt wanneer dit in de vrije oplossing gebeurt snel ongedaan gemaakt. Wanneer het in de buurt van een pathogeen gebeurt – waaraan C3b zich covalent kan binden met zijn reactieve thiolester – zal de AP wél door kunnen gaan (mits dit oppervlak geen complementremmende activiteit heeft (zoals bij Staphylococci) of humane complementremmers zoals factor H of C4b binding proteïne (C4BP) kan binden (zoals bij Pneumococci en Meningococci) – en dat is vaak zo bij bacteriën die dankzij deze eigenschap dus pathogeen zijn).
- **Lectine route.** Mannose Bindend Lectine ((het woord "Lectine" betekent suikerbindend) bindt aan suikergroepen (o.a. aan mannose) dat voorkomt op het oppervlak van bacteriën en schimmels. Na en door deze binding wordt er een aan het MBL-molecuul gebonden serine protease geactiveerd (het zg MASP), dat C4 kan splitsen (waardoor C4b zich covalent hecht aan het oppervlak waaraan MBL ook was gebonden – met vd Waals krachten en electrostatische krachten cq H-bruggen)
- **Klassieke route.** Antistoffen (vooral IgM, dat een pentameer is) bindt aan een specifiek antigeen op het pathogeen-oppervlak. Op dit platform kan C1q binden. Dat ondergaat hierdoor een coformationele verandering waardoor achtereenvolgens de serine-proteases C1r en C1s worden geactiveerd wat C4 kan splitsen (en dus C4b kan binden).

*(Extra: C1q kan ook aan CRP binden (dat bindt aan apoptotische celmembranen). De op deze wijze gestarte klassieke route leidt echter niet tot activatie van de terminale cascade omdat aan CRP ook FH bindt. FH is een cofactor voor FI dat C3b klieft waardoor verdere amplificatie van de klassieke route en vorming van C5-convertase wordt voorkomen).*

Alle drie de routes leiden uiteindelijk tot de klieving van C3, waardoor de terminale route op gang kan komen (behalve dus de klassieke route via CRP), .

Zie figuur 2.5 op blz. 34 van Parham.

4. Leg uit waarom complementactivatie op gezonde humane cellen dient te worden voorkomen. Hoe gebeurt dit?

Activatie van de complementcascade leidt tot:

- De formatie van Membrane attack complexen (MAC's) in de membranen van (in dit geval gezonde) cellen. Dit veroorzaakt cel lysis en dus celdood.
- Het opwekken van een ontstekingsreactie. Dit veroorzaakt chemotaxis van neutrofielen die de cellen beschadigen.
- Opsonisatie van (in dit geval gezonde cellen). Indien er een ontsteking is opgewekt, leidt dit tot de fagocytose van de geopsoniseerde cellen.

Ongewenste complement-activatie wordt voorkómen door:

1. 'Complement control proteïns' in het plasma. Drie belangrijke voorbeelden hiervan zijn:

- Factor H, een eiwit dat als co-factor fungeert voor factor I. Factor I klieft C3b waardoor geen terminale complementactivatie plaats kan vinden via de klassieke of alternatieve route)
- C4b binding protein (een eiwit dat C4 gevoelig maakt voor inactivatie door factor I).
- C1 inhibitor (een eiwit dat de klassieke complement-activatie remt door inactivatie van C1r en C1s).

*(Parham noemt C1-INH, maar eigenlijk speelt C1-INH in vivo geen rol bij de regulatie van complement-activatie. Parham is niet helemaal goed geïnformeerd! (Zie ook pag 345). C1-INH remt nl vooral andere plasma-enzymen waaronder FXIIa, plasmine en kallikreine. Patiënten met een C1-INH tekort hebben géén klachten die passen bij teveel complement-activatie; maar wél klachten die passen bij teveel bradykinine vorming (en dat is angio-oedeem). Dit staat in schril contrast met patiënten met een Factor H tekort die als uiting van de ongeremde complement-activatie o.a. een ernstig Hemolytisch Uremisch Syndroom kunnen krijgen).*

- Verder zijn er verschillende plasma-eiwitten die de terminale route remmen. Dit zijn S proteïne, clusterine en Factor J. Kennis over deze eiwitten behoort niet tot de examenstof!

2. Membraan-eiwitten, bijvoorbeeld:

- Decay-accelerating factor (DAF = CD55, een membraan-eiwit dat zorgt voor de inactivatie van C3 convertase).
- Membrane co-factor proteïne (MCP = CD46, een membraan-eiwit dat net zoals factor H dat doet in plasma, zorgt voor inactivatie van C3 convertase o.a. door te fungeren als cofactor voor Factor I).
- En dan zijn er membraan eiwitten die synthese van het MAC belemmeren. Dit zijn HRF en CD59.

5. Paul Eerlijk is onderzoeker op het lab. Hij is geïnteresseerd in fagocytose van bacteriën door macrofagen, en wil testen welke factoren hierbij van belang zijn. Hij kweekt menselijke macrofagen, en voegt aan de kweekplaat bacteriën toe. Na 24 uur meet hij hoeveel bacteriën gefagocyteerd zijn. In kweekplaat 1 met macrofagen en bacteriën voegt hij serum toe dat complementfactoren bevat. In kweekplaat 2, met dezelfde hoeveelheid macrofagen en bacteriën, voegt hij serum toe waarin de complementfactoren geïnactiveerd zijn door verhitting *(Extra vraag: Hoe zou het komen dat "verhitting" (30 minuten 58°C) het complementsysteem inactieveert? Antwoord: Hitte geeft conformationele verandering van eiwitten en maakt zo "enzymen" onwerkzaam. Merk op dat "Biotex" het ook alleen goed doet in handlauw water).*

- a. In welke kweekplaat (1: met complement of 2: zonder complement) zullen meer bacteriën gefagocyteerd zijn na 24 uur? Hoe komt dat? Wat is de naam van dat proces?

In kweekplaat 1 zijn meer bacteriën gefagocyteerd. Complement zorgt namelijk voor opsonisatie (coating met C3b) van pathogenen, waardoor ze beter worden herkend en gefagocyteerd door neutrofielen en macrofagen.

- b. Paul kan met behulp van de nieuwste moleculair biologische technieken zorgen dat bepaalde receptoren op het celoppervlak van de macrofaag niet meer tot expressie komen. Welke receptoren moet hij zo 'uitschakelen' om te zorgen dat er geen verschil meer is tussen de fagocytose met of zonder complement?

De CR1-, CR3- en CR4-receptoren.

6. Het Membrane Attack Complex zorgt uiteindelijk voor lysis van cellen. Hoe wordt in de normale situatie complement gemedieerde hemolyse van rode bloedcellen voorkomen?

Normaal gesproken wordt ongewenste activatie van het complement-systeem voorkomen door de aanwezigheid van Complement control proteins (zie vraag 4).

7. Noem ten minste 5 'innate immune receptors' op macrofagen die behulpzaam zijn bij fagocytose van pathogenen.

- Glucan receptor
- Mannose receptor
- TLRs
- CD14
- Scavenger receptoren

Zie Fig 2.19.

8. Toll-like receptoren (TLR) zijn een belangrijke groep van 'innate immune receptoren'.
- a. Wat zijn de liganden van TLR4 en TLR2?

Van TLR4: lipopolysacchariden van Gram-negatieve bacteriën.

Van TLR-2: peptidoglycanen, lipoproteïnen, lipopeptiden, porines, etc. van Grampositieve bacteriën.

- b. Leg uit waarom TLR3 en TLR9 in de wand van endosomen zitten en niet op het oppervlak van de cel.

TLR3 en TLR9 binden aan afwijkend RNA respectievelijk DNA. Dit komt vrij in de cel of het endosoom na fagocytose.

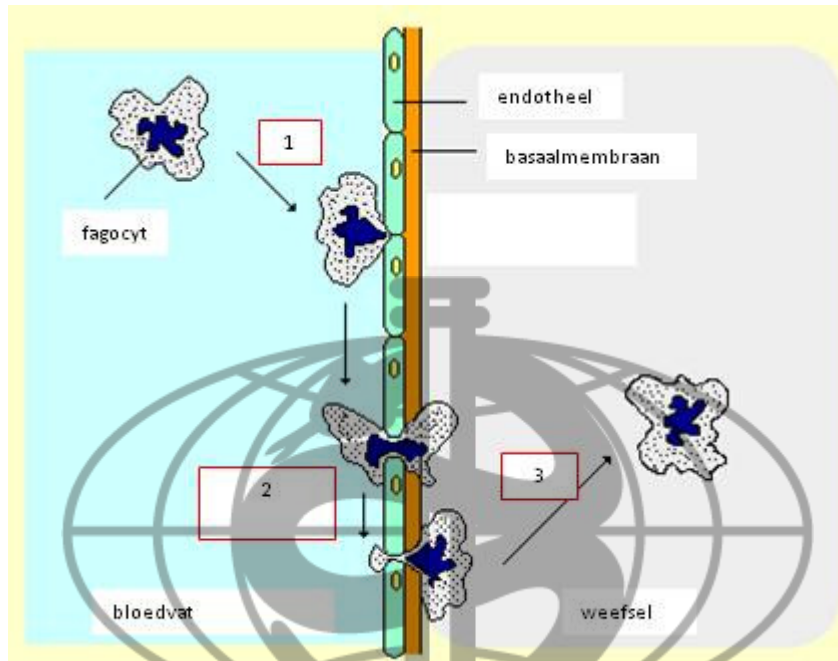
9. De activatie van macrofagen via TLRs leidt tot productie van cytokines. Sommige van deze cytokines hebben (ook) een systemisch effect. Vul de onderstaande tabel in; gebruik daarbij de volgende cytokines (kunnen in meerdere velden terugkomen): IL-1, IL-6, IL-12, CXCL8, TNF- $\alpha$

Veroorzaken koorts	IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6
Van belang bij vroege reactie tegen virusinfecties	IL-12
Stimuleren productie van acute fase eiwitten in de lever	IL-6
Trekken leukocyten aan	CXCL8

Zie figuur 2.27 op blz. 50 van Parham.

10. Wat is een acute fase reactie. Welk eiwit wordt in de dagelijkse klinische praktijk veel gebruikt om te bezien of er een acute fase reactie aan de gang is?

Een acute fase reactie is de respons die plaatsvindt vlak na de aanvang van een ontstekingsreactie / infectie. Kenmerkend is de aanmaak van "acute fase eiwitten" (o.a. CRP, MBL, en fibrinogeen) door de lever en afgifte hiervan aan het bloed. In de kliniek gebruikt men meting van de serum concentratie van CRP (C-reactive protein) om te kijken of er sprake is van een acute fase reactie (en dus van een acute ontsteking).



11. Bekijk de bovenstaande figuur, waarin een neutrofiële granulocyt de bloedbaan verlaat om naar de infectiehaard te komen. Benoem de genummerde processen die van belang zijn hierbij en de stoffen die dit induceren in de onderstaande tabel.

Proces	Naam	Inducerende stof
Nummer 1	Rolling adhesion	LTB <sub>4</sub> , C5a, TNF- $\alpha$
Nummer 2	Tight binding	TNF- $\alpha$ , CXCL8
Nummer 3	Migration	CXCL8

Zie figuur 2.31 op blz. 55 van Parham.

12. Bij Chronische Granulomateuze Ziekte (CGD) missen granulocyten het vermogen bacteriën na fagocytose te doden. Hoe komt dit?

De fagocyten (neutrofielen en macrofagen) van gezonde mensen beschikken over het enzym NADPH-oxidase. Dit enzym produceert reactive oxygen species (ROS). Deze ROS komen vrij in de cel ('respiratory burst') en leiden tot de dood van de gefagocyteerde bacteriën. Patiënten met CGD hebben een genetische afwijking waardoor het enzym NADPH-oxidase niet goed geproduceerd kan worden. De defecte vorm van dit enzym kan geen ROS produceren en de gefagocyteerde bacteriën worden niet gedood.

Zie figuur 2.34 op blz. 57 van Parham.

13. Wat zijn type I interferonen? Door welke cellen worden deze stoffen gemaakt?

Interferonen zijn cytokines (signaaleiwitten) die een belangrijke rol spelen bij de afweer tegen

virussen. De belangrijkste twee isotypen van de type I interferonen zijn IFN- $\alpha$  (interferon-alfa) en IFN- $\beta$  (interferon-bèta). Bijna alle cellen van het lichaam zijn in staat om type I interferonen te produceren. Dit doen ze als reactie op een virus-infectie. Gespecialiseerde interferon producing cells (IPC's) kunnen echter 1.000 keer zo snel type I interferonen produceren en uitscheiden als andere celtypen.

IPC's zijn leukocyten die circuleren in de bloedbaan. Ze maken minder dan 1% uit van de totale leukocytenpopulatie in het bloed.

14. NK-cellen behoren ook tot het aangeboren immuunsysteem.

a. Wat is de belangrijkste rol van NK-cellen?

NK-cellen zorgen voor de vroege afweer tegen virale infecties. Deze lymfoïde cellen werken niet antigeenspecifiek en beginnen al binnen enkele uren na de aanvang van de virusinfectie met het doden van geïnfecteerde cellen, terwijl de (antigeenspecifieke) T-cellen pas na enkele dagen in staat zijn om de geïnfecteerde cellen op grote schaal te doden.

b. Vul in de witte rechthoeken bij de pijlen in de onderstaande figuur de volgende termen in: IL-12, IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$

c. Wat doet een geactiveerde NK-cel met een virusgeïnfecteerde cel? Vul in de witte ovaal in de figuur in hoe dit heet.

Rechthoek rechtsboven van NK-cel naar Macrofaag: IFN- $\gamma$

Rechthoek van Macrofaag naar NK-cel: IL-12

Rechthoek van Virus-geïnfecteerde cel naar NK-cel: type I interferonen (IFN $\alpha$  en IFN $\beta$ )

Ovaal van NK-cel naar virus-geïnfecteerde cel: (Cell mediated) Cytotoxicity of gewoon "Killing".

## THEMA 4 HET CELLULAIRE VERWORVEN IMMUNSYSTEEM

### ZSO 4 T-CELLEN EN HUN INTERACTIES

1. Welke antigenen worden via MHC-I gepresenteerd aan T cellen en welke via MHC-II?

MHC-I: peptiden afkomstig van intracellulair geproduceerde eiwitten

MHC-II: peptiden afkomstig van extracellulaire eiwitten

2. Welke rol spelen CD4 en CD8 in de T-cel herkenning van het MHC-antigeen complex?

Het co-receptormolecuul CD4 bindt aan het  $\beta$ 2-domein van MHC-II. Het CD8 molecuul bindt aan het  $\alpha$ 3 domein van MHC-I. CD4 en CD8 herkennen niet-variabele domeinen van het MHC (en geen peptide). TCR's herkennen het antigeen in de MHC groeve, herkennen dus een variabel peptide in de context van een polymorf MHC domein.

3. Wat zijn immunologisch gezien de primaire taken van de verschillende typen T-cellen? Met welke markers onderscheidt men deze verschillende celtypen?

Antwoord staat in par. 3-8:

- cytotoxische cellen (CD8+) doden cellen die door intracellulair pathogeen (bv. virus) zijn geïnfecteerd; herkenning van peptide plus MHC klasse I
- CD4+ helper T-cellen reageren op peptide plus MHC-II en activeren macrofagen en B-cellen via cytokines of via cel-cel contact.

4. Op welke celtypen worden de 'klassieke' MHC-I respectievelijk MHC-II moleculen tot expressie

gebracht?

MHC I: alle kernhoudende cellen

MHC II: B-cellen, macrofagen en dendritische cellen. Dit zijn 'professionele antigeen presenterende cellen'. Geactiveerde endotheelcellen en T cellen kunnen soms ook MHC-II tot expressie brengen.

5. Wat is het structuurverschil tussen MHC-I en MHC-II moleculen?

Zie fig. 5.13 Parham.

MHC-I: 45 kDa zware keten die niet-covalent gebonden is met  $\beta$ 2-microglobuline (12 kDa). Deze zware keten bevat 3 domeinen ( $\alpha$ 1,2,3), een TM deel en een cytoplasmatisch deel.

MHC-II: heterodimeer van zware ( $\alpha$ -) en lichte ( $\beta$ -) eiwitketens.

6. Hoe verklaart u dat één enkele MHC-I groeve toch een groot aantal verschillende peptiden kan binden. Is dit anders voor MHC-II moleculen?

Zowel MHC-I als MHC-II kunnen meerdere peptiden binden, doordat slechts een deel van het peptide hoeft te passen op de bindingsplaats van het MHC molecuul. Het deel van het peptide dat buiten de bindingsplaats is gelegen kan dus variëren.

Ofschoon MHC-II moleculen ongeveer dezelfde 3-D structuur hebben als MHC-I moleculen, kunnen veel meer peptiden in hun bindingsgroeven gebonden worden waarbij de lengte van de peptiden kan variëren tussen 15 en 24 aminozuren (i.t.t. 9 aminozuren bij klasse I groeve). Binnen een peptide van 24 aminozuren is gemakkelijker een bindings-fit te vinden dan binnen een streng van 9 aminozuren.

7. Wat is de functie van het proteasoom in het kader van antigeenpresentatie?

Fragmenteren van eiwitten zodat er peptide fragmenten ontstaan die getransporteerd kunnen worden naar het endoplasmatisch reticulum en daar binden aan MHC-I moleculen.

8. Welke verzamelnaam wordt gebruikt voor cellen die een hoge expressie hebben van zowel MHC-I als MHC-II moleculen?

'Professionele antigeen presenterende cellen' (= professionele APC's). Hieronder vallen dus B-cellen, macrofagen en dendritische cellen (zie vraag 4).

9. Wat verstaat men onder cross-presentation?

Het mechanisme waarbij een professionele APC antigenen afkomstig van een andere cel (bijv. van een virus geïnfecteerde cel of tumorcel) presenteert in MHC-I. Hoewel extracellulaire eiwitten gewoonlijk in MHC-II worden gepresenteerd, kan op deze manier activatie van CD8+ T-cellen plaatsvinden die bijv. gericht zijn tegen tumorcellen.

10. Beschikt ieder individu over meerdere typen MHC-I moleculen, of slechts over 2 verschillende vormen (allelen) van hetzelfde type.

*Meerdere. Van ieder paternaal en ieder maternaal klasse-I gen komen er klasse-I-moleculen op het celoppervlak (2xA, 2xB, 2xC, dus totaal 6 bij heterozygotie op elk locus). De maternale en paternale haplotypen komen gelijktijdig tot expressie (=co-dominant).*

11. Wat betekent MHC-I restrictie bij cytotoxische T-cellen? Welk effect heeft dit op de afweer tegen infecties? Welke andere cytotoxische cellen kennen die MHC-I restrictie niet?

De cytotoxische T cel herkent het complex van MHC-I en peptide. Een bepaald antigeen wordt dus herkend in de context van een bepaald MHC-I molecuul. Dezelfde cytotoxische T cel zal het

antigeen in principe niet herkennen wanneer het in een ander MHC-I molecuul wordt gepresenteerd.

*NK-cellen hebben geen last van deze beperking. Overigens kunnen NK-cellen wel MHC-I herkennen, en worden dan geremd in hun functie.*

12. Hoe draagt polygenie m.b.t. MHC bij aan de overleving van een individu?

Meerdere genen dragen bij aan de codering voor verschillende MHC moleculen (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP). Ieder HLA molecuul kan weer een andere set peptiden presenteren, waardoor het individu tegen een groot aantal verschillende peptiden (mogelijk afkomstig van één pathogeen) een immuunrespons op gang kan brengen.

13. Hoe draagt MHC polymorfisme bij aan de overleving van een populatie?

Veel polymorfisme binnen een species zorgt voor 'risicospreiding'. Er zijn altijd wel individuen die over de juiste MHC moleculen beschikken om tegen bepaalde peptiden een immuunrespons (dus protectie) op te bouwen. De populatie gaat daardoor nooit volledig verloren.

14. Leg uit hoe een epidemiologische infectie een selectiedruk veroorzaakt waardoor de MHC constitutie van een bevolkingsgroep een verschuiving kan ondergaan.

Eenzijds zullen er binnen een populatie altijd individuen zijn die met een **niet** geschikte MHC set-up aan een infectie ten onder zullen gaan, terwijl anderzijds het polymorfisme waarborgt dat er ook altijd wel individuen zullen zijn die de infectie overleven. Een brede MHC-diversiteit biedt een populatie dus de mogelijkheid om te overleven. Dat deel van de populatie dat de epidemiologische infectie overleeft en zich vervolgens weer vermenigvuldigt zal een ander HLA-patroon hebben dan de oorspronkelijke populatie voordat de epidemie toesloeg (selectieproces).

15. Bij een transplantatie kunnen er verschillen zijn in de HLA moleculen tussen de ontvanger en donor. Als gevolg hiervan kunnen de T-cellen geactiveerd raken, dit noemt men ook wel allo-activatie en alloreactieve T-cellen. Hoe kan men deze T-cel activatie verklaren in het licht van positieve selectie van T-cellen voor eigen MHC zoals deze plaatsvindt in de thymus?

Kruisreactiviteit. De alloreactieve cellen binden met matige affiniteit aan eigen MHC + eigen peptide maar met hoge affiniteit aan vreemd MHC + eigen peptide of vreemd MHC + vreemd peptide of eigen MHC + vreemd peptide.

16. Hoe kunt u verklaren dat een transplantaat dat geïnfecteerd wordt door een virus makkelijker herkend wordt door het immuunsysteem van de ontvanger?

Ontstekingsmediatoren leiden tot aantrekking van immuuncellen en opregulering van HLA expressie.

17. Een zwangerschap kan aanleiding geven tot antistoffen tegen lichaamsvreemde HLA moleculen. Waardoor kunnen deze anti-HLA antistoffen ook ontstaan?

Bloedtransfusie of transplantatie waarbij de donor niet precies hetzelfde HLA-type heeft als de ontvanger.

18. Waarom wordt de thymus soms wel aangeduid als een lymfo-epitheliaal orgaan?

Lymfo-epitheliaal orgaan betekent niets meer dan een orgaan dat zowel lymfocyten als epitheelcellen bevat.

De thymus bestaat uit een netwerk van epitheelcellen ('thymic stroma') waarin thymocyten (= onrijpe T-lymfocyten) liggen.



19. Waar bevinden zich de epitheliale cellen en de dendritische cellen in de thymus, en wat is het belangrijkste functionele verschil tussen beide celtypen?

De epitheliale cellen bevinden zich met name in de cortex en zorgen voor positieve selectie. De dendritische cellen bevinden zich in het merg en de schors-merg overgang waar ze zorgen voor negatieve selectie.

20. Waarom is positieve selectie nodig?

Tijdens infecties worden peptiden afkomstig van pathogenen gepresenteerd in eigen MHC moleculen. Het is daarom belangrijk om over T cellen te beschikken waarvan de receptor 'past' op de combinatie van het (lichaamseigen) MHC-molecuul en de peptiden (afkomstig van het pathogeen) die het MHC-molecuul presenteert. De positieve selectie zorgt ervoor dat de thymocyten bij wie de receptoren goed passen op de MHC-moleculen van de betreffende persoon worden geselecteerd om zich verder te ontwikkelen. De rest van de thymocyten (= de meerderheid) sterft af door apoptose.

21. Waarom is negatieve selectie nodig

Negatieve selectie is nodig om te voorkómen dat er T-cellen ontstaan die op lichaamseigen cellen reageren (auto-immuniteit). Dit wordt gedaan door thymocyten die sterk binden aan MHC-moleculen die lichaamseigen peptiden presenteren (die aanwezig zijn in de thymus) in apoptose te laten gaan.

22. Is het selectieproces waterdicht?

Nee, negatieve selectie elimineert alleen thymocyten waarvan de receptoren binden aan lichaamseigen peptiden die aanwezig zijn in de thymus.

23. Welk mechanisme zorgt voor een nog betere selectie?

Wanneer naïeve T-cellen die de negatieve selectie overleefd hebben buiten de thymus binden aan een MHC-peptide complex zonder dat er co-stimulatie is, ontstaat er anergie (=ontbreken van reactie). Ook kunnen deze T-cellen in apoptose gaan.

24. Waarom wordt antigeen/pathogeen door een antigeen presenterende cel naar de drainerende lymfeklier getransporteerd?

Om de lymfocyten te activeren. De secundair lymfoide organen zijn de ontmoetingsplaatsen van professionele APC's en T-cellen.

25. Noem vier verschillen tussen een immature en mature dendritische cel

- Alleen immature dendritische cellen kunnen antigenen opnemen.
- Immature cellen bevinden zich in de weefsels, mature cellen in de lymfeklieren.
- Alleen mature dendritische cellen zijn in staat tot activatie van naïeve T-cellen, door een hogere expressie van MHC en costimulatie moleculen.
- de 'dendrieten' (vinger-achtige uitstulpingen) van mature cellen zijn verder ontwikkeld dan die van immature cellen.

26. Is de herkenning van antigeen door een naïeve T-cel genoeg om deze cel te activeren?

Nee, voor de activatie van naïeve T-cellen is ook costimulatie nodig, bijv. door interactie van CD80 en CD86 op APC met CD28 op T-cel (signaal 2). Daarnaast wordt de respons van de T cel bevorderd en gestuurd door cytokines (signaal 3).

27. Wat voor soort verbindingen zijn in staat om de expressie van MHC en co-stimulatiemoleculen op antigeenpresenterende cellen te verhogen?

Cytokines, met name interferon-gamma, verhogen de expressie van MHC. De expressie van co-stimulatiemoleculen (en ook MHC) op professionele APC wordt verhoogd door het waarnemen van 'gevaar' signalen door TLR's en andere receptoren van het innate immuunsysteem.

28. Wat is het gevolg van gebrek aan co-stimulatie?

Anergie. Naïeve T-cellen die wel binden aan een MHC-molecuul dat bepaalde peptiden presenteert, maar geen co-stimulatie signalen ontvangen, worden anergisch.  
N.B. Dit geldt niet voor effector T-cellen.

29. Hoe wordt na activatie de respons van de T-cel versterkt?

De T-cellen gaan cytokines produceren die de proliferatie van henzelf en ander T-cellen stimuleren.

30. Na herkenning door de T-cel van het bijbehorende antigeen wordt een scala aan mediators geproduceerd. Is het mogelijk om op basis van de productie van een bepaald cytokine te voorspellen hoe de respons gaat verlopen?

Ja.

- Als er vooral IL-12 en IFN- $\gamma$  wordt geproduceerd, dan differentieert het merendeel van de naïeve T-cellen in  $T_{H1}$ -cellen. Dit leidt tot een voornamelijk cellulaire immuunrespons, waarin macrofagen worden geactiveerd en cytotoxische T-cellen worden geactiveerd en gaan prolifereren.

- Als er vooral IL-4 wordt gemaakt, dan differentiëren de meeste T-cellen in  $T_{H2}$ -cellen.  $T_{H2}$ -cellen zorgen voor de stimulatie van de humorale immuunrespons, waardoor de B-cellen gaan prolifereren en isotype switching ondergaan.

31. Leg uit hoe T-helper cellen ondersteuning geven aan de activatie van naïeve cytotoxische T-cellen (en vaak onmisbaar zijn voor die activatie).

Interactie tussen de APC en de T-helper cel leidt tot een verhoogde expressie van costimulatiemoleculen op de APC, waardoor de cytotoxische T cel sterker wordt geactiveerd. Daarnaast kan de activatie van de cytotoxische T-cel direct verlopen via productie van IL-2 door de T-helper cel. Zie Fig. 8.22.

32. Noem een belangrijk verschil tussen een naïeve T cel en een effector T cel.

Een effector T cel heeft geen costimulatie nodig om een cel met een MHC-peptide complex dat herkend wordt te gaan doden. (Verder brengen effector T-cellen het adhesiemolecuul VLA-4 tot expressie waardoor binding aan VCAM-1 op endotheelcellen in ontstoken gebied kan optreden; zie fig. 8.25).

33. Parasieten, virussen en bacteriën doen er van alles aan om immunologische uitschakeling te voorkomen. Mycobacterium heeft een manier gevonden maar ook Leishmania. Beschrijf hoe sommige Mycobacterium species het immuunsysteem om de tuin leiden.

Mycobacterium species verhinderen de fusie van fagosomen met lysosomen (die bactericide stoffen bevatten), waardoor de macrofaag de bacterie niet kan doden. Fusies tussen fagosomen en vesikels die voedingsstoffen bevatten, worden echter niet verhinderd. Daarom kunnen de mycobacteriën uitstekend overleven in de fagosomen van de macrofagen. Wanneer er een  $Th1$  respons op gang komt wordt de macrofaag geactiveerd en kan deze de mycobacterie doden. Komt er echter een  $Th2$  respons op gang dan kan de mycobacterie in de macrofaag kan uitgroeien.

34. Stel dat u niet in staat bent Mycobacterium met systemische antibiotica te bestrijden. Met welk cytokine zou u de patiënt willen behandelen?

Met interferon-gamma en evt. IL-12 om de macrofaag te activeren en een Th1 respons op gang te brengen.

#### **CASUS 4.1 KEELPIJN**

Een nogal zwijgzame patiënt komt op het spreekuur van de huisarts en wijst op zijn keel. Het is de huisarts direct duidelijk dat de keel het aangedane lichaamsdeel is. Inspectie van de keel levert inderdaad een keelontsteking op. De oorzaak kan zowel een virus als een bacterie zijn. Hij besluit na ampele overweging dat een virale infectie waarschijnlijk is en bij gebrek aan goede antivirale therapie zal het immuunsysteem de klus alleen moeten klaren. De huisarts stuurt de patiënt naar huis om uit te zieken met het advies om zich weer te melden als de ontsteking niet overgaat.

35. Welke cellen ruimen de virus geïnfecteerde cellen op?

NK-cellen en cytotoxische T-cellen (= CD8+ T-cellen).

36. Welke MHC moleculen zijn betrokken bij de immuunreactie tegen virus geïnfecteerde cellen?

MHC moleculen van klasse I.

37. Een bepaald virus produceert na infectie slechts enkele virusspecifieke eiwitten in zeer grote hoeveelheden. De geïnfecteerde cel is in staat dit eiwit af te breken tot kleine peptiden. Nu blijkt dat er slechts een paar peptidefragmenten in staat zijn een T-cel respons op te wekken. Risicogroepen zijn inmiddels gevaccineerd tegen dit virus. Nu duikt er een virusvariant op die juist in de herkende peptidefragmenten gemuteerd is. Beredeneer of de risicogroepen nog beschermd zijn of juist niet.

*Als er een mutatie optreedt in het gedeelte van het peptide die de verankering verzorgen aan het MHC zal bindingsverlies optreden en dus verlies van immuniteit. Als er een mutatie optreedt in het gedeelte dat herkend wordt door de T-cel zal de T-cel het peptide niet meer herkennen. Als er mutaties optreden die niet het T-cel herkenningsgedeelte omvatten en ook geen invloed hebben op de verankering van het peptide aan het MHC, dan zal de respons normaal zijn.*

38. U bent in staat om een cytotoxische T-cel te isoleren, die gericht is tegen een Epstein-Barr virus geïnfecteerde cel (veroorzaker van de ziekte van Pfeiffer). Tevens bent u in staat om in het laboratorium cellen, afkomstig van diverse gezonde personen, die niet tot één familie behoren, met dit virus te infecteren. Zal de cytotoxische T-cel in staat zijn om alle virus geïnfecteerde cellen afkomstig van de diverse personen te doden? Beredeneer uw antwoord. Wat zal er gebeuren met een virus geïnfecteerde cel?

Nee, herkenning van virusgeïnfecteerde cellen door een bepaalde T-cel kan alleen als de T-celreceptor 'past' op de combinatie van het MHC-molecuul en het gepresenteerde peptide. Bij mensen met een ander HLA-type dan dat van de geïsoleerde T-cel, zullen de virusgeïnfecteerde cellen niet worden herkend door de toegediende T-cellen. Een gedode cel zal door fagocyterende cellen worden opgenomen, en verwerkt worden. De verwerkte viruseiwitten zullen een antistof respons opwekken. Na een doorgemaakte virusinfectie wordt men daardoor 'seropositief'.

#### **CASUS 4.2 NOG STEEDS KEELPIJN**

De patiënt uit casus 3.1 is na enkele dagen ietwat boos en nog steeds zwijgzaam weer op het spreekuur verschenen. De keel is nog steeds ontstoken. Het immuunsysteem heeft de klus niet helemaal geklaard en de conclusie van de huisarts is dat er nu sprake is van een bacteriële infectie. De patiënt gaat naar huis met een recept voor een antibioticum.

39. Welke T-lymfocyten zijn betrokken bij de afweer tegen een bacteriële infectie.

T-helpercellen. Vooral  $T_{H2}$ -cellen stimuleren de activatie van B-cellen.

40. Beschrijf op welke manier het cellulaire immuunsysteem betrokken is in de bestrijding van een bacteriële infectie.

De T-helper cellen herkennen de bacteriële antigenen die gepresenteerd worden door antigeen presenterende cellen. Als gevolg daarvan produceren zij cytokinen die B-cellen maar ook T-cellen laten delen (versterking van de response door de inzet van meer cellen). T-helper 2 cellen geven hulp aan B-cellen waardoor deze switchen naar IgG producerende cellen. T-helper 1 cellen bieden via cytokines hulp aan macrofagen bij het doden van intracellulaire bacteriën.

41. Na herkenning van antigeen door de T-cel receptor moet de geactiveerde T-cel hulp geven aan een B-cel. Kan een door een dendritische cel geactiveerde T-cel elke B-cel activeren?

Nee, de geactiveerde T-cel kan alleen een B-cel activeren die hetzelfde antigeen herkent als de T cel. Na binding aan de B-cel receptor wordt dit antigeen opgenomen en verwerkt en worden peptiden gepresenteerd in een MHC-II molecuul. De interactie tussen de T-cel en B-cel komt tot stand doordat de T cel dit MHC-peptide complex herkent.

42. De cellulaire immuunrespons is een adequaat wapen tegen pathogenen. Echter om ontsporingen te voorkomen dient de respons gereguleerd te worden. Zijn regulatoire T-cellen specifiek voor één antigeen of hebben deze cellen een dempend effect op alle immuunresponsen?

De activatie van regulatoire T-cellen is antigeen-specifiek. In de effectorfase zijn deze cellen minder specifiek. Hun werking berust in een aantal gevallen op cel-cel contact, maar ze kunnen ook remmende cytokines produceren zoals IL-10.

## **THEMA 5 HET HUMORALE VERWORVEN IMMUNSYSTEEM**

### **ZSO 5 HUMORALE IMMUNITEIT**

1. Leg uit dat *alle* cellen van het aangeboren immuunsysteem een volledig identieke '*germline encoded*' genetische opmaak hebben, terwijl *alle* cellen van het verworven immuunsysteem (dat zijn de B-cellen en de T-cellen) allemaal genetisch verschillend zijn.

Bij de ontwikkeling tot immuuncellen van het aangeboren systeem wordt er, net zoals bij de ontwikkeling van de meeste andere lichaamscellen, niets veranderd aan het DNA zoals dat van zaadcel en eicel afkomstig is.

(N.B. Minieme afwijkingen t.g.v. replicatiefouten laten we hier buiten beschouwing).

Met de cellen van het verworven immuunsysteem is iets bijzonders aan de hand. Zij herschikken hun gensegmenten tijdens hun ontwikkeling. Deze 'somatische recombinatie' (d.w.z. niet in cellen van de kiemlijn) is voor een deel gebaseerd op toeval en verloopt voor elke lymfocyt anders (zie figuur 3.4 op blz. 75 van Parham).

In mature B-cellen (maar niet in T-cellen) vindt er vervolgens ook nog klasse-switch plaats door verwijdering van gensegmenten en somatische hypermutatie door nucleotiden-veranderingen (punt-mutaties).

2. Als er  $\pm 150$  verschillende mogelijkheden zijn voor het variabele deel van de lichte keten, en er zijn  $\pm 6000$  verschillende mogelijkheden voor het variabele deel van de zware keten, hoeveel (theoretisch) mogelijke Fab delen kan één immuunglobuline dan hebben? Bereken dit voor IgM (is een pentameer van 2 lichte en 2 zware ketens) en voor IgG (is monomeer van 2 lichte en 2 zware ketens).

IgG bevat twee identieke lichte ketens en twee identieke zware ketens; het Fab deel bevat twee identieke bindingsplaatsen. Dus:  $150 \times 6000 = 900.000$  mogelijkheden voor combinatie van zware en lichte keten.

IgM is een pentameer waarvan alle Fab delen hetzelfde zijn; dus ook 900.000 mogelijkheden.

3. Wat is het verschil tussen een antigeen en een epitoom?

Een epitoom is dat deel van het antigeenmolecuul dat een adaptieve immuunrespons oproept. Antigenen kunnen dus meerdere (dezelfde óf verschillende) epitopen hebben.

Zie figuur 4.10 op blz. 100 van Parham.

4. De immature en de mature B-cel brengen op hun oppervlak IgM én IgD tot expressie. Hoe komt het dat beide moleculen precies dezelfde antigenen binden?

Naïeve B-cellen kunnen zowel IgM als IgD maken door alternatieve RNA splicing. (RNA splicing is het wegknippen van intronen en het weer verbinden van de overgebleven exonen.)

Als gevolg van splicing op twee verschillende manieren ontstaan er twee verschillende soorten immunoglobulinen. Deze verschillen alleen in hun C-regio, niet in hun antigeenspecifieke (VDJ-) regio.

N.B. Hoewel isotype switching naar de andere soort immunoglobulinen (IgA, IgM, IgE) niet gebeurt door alternatieve RNA splicing maar door DNA-recombinatie, geldt ook hier dat er niets verandert aan de antigeenspecifieke regio.

5. Wat is het verschil tussen affiniteit en aviditeit van de binding van een antilichaam met een antigeen?

Affiniteit beschrijft de sterkte van één afzonderlijke binding. Aviditeit beschrijft de gecombineerde sterkte die meerdere bindingen samen opleveren. Zo kan IgM door meerdere bindingsplaatsen een hoge aviditeit voor een antigen hebben terwijl de affiniteit van de afzonderlijke bindingsplaatsen laag is.

6. Bij het proces van centrale tolerantie inductie kan de B-cel die een BCR heeft gericht tegen autoantigenen, anergisch worden, in apoptose gaan óf door middel van receptor editing een nieuwe BCR krijgen. Wat is receptor editing? Waarom kan dit niet meer bij het perifere tolerantie-proces optreden?

Receptor editing is herschikking van de V- en J-segmenten in het gen voor de lichte keten door immature (onrijpe) B-cellen totdat er een BCR ontstaat die niet auto-reactief is. In de periferie kan herschikking van gensegmenten niet meer optreden omdat de RAG genen (Recombinant activating genes) dan zijn 'uitgezet'.

7. Centroblasten en centrocyten zijn cellen in een lymfeklier. Wat voor soort cellen zijn dit?

'Centroblast' en 'centrocyt' zijn beide termen voor B-lymfocyten in een bepaald stadium van hun maturatie (rijping).

Centroblasten zijn grote B-cellen die op dat moment verblijven in de kiemcentra van de lymfeklieren. Ze delen nog en ondergaan somatische hypermutatie.

Centrocyten zijn B-cellen in kiemcentra in een later stadium. Zij hebben al isotype switching en somatische hypermutatie ondergaan en zij kunnen niet meer delen.

8. De interactie van het molecuul CD40-ligand op een T-cel en het molecuul CD40 op de B-cel leidt een proces in dat er voor zorgt dat de B-cel verder prolifereert en dat er somatische hypermutatie en isotype switching optreedt.
- a. Wat is somatische hypermutatie en waar dient het toe?

Somatische hypermutatie is het optreden van willekeurige (punt-)mutaties in de V-regio's van het DNA van B-cellen op zeer grote schaal (d.w.z. meer dan een miljoen keer zo vaak dan tijdens een 'normale' celdeling).

Dit proces leidt tot 'affinity maturation', ofwel tot het ontstaan van B-celreceptoren met een hogere affiniteit voor het antigeen. Sommige mutaties zullen er namelijk (puur toevallig) toe leiden dat de antigeen bindingplaats nog beter 'past' op het antigeen. De B-cellen waarbij dit het geval is hebben een hogere kans om te overleven (zie vraag 9).

- b. Wat is isotype-switching, hoe verloopt dat en waar dient het voor?

Isotype switching is de verandering van de productie van de 'oorspronkelijke' isotypen (IgM en IgD) van de immunoglobulines naar de productie van 'nieuwe' isotypen (IgA, IgG of IgE). Dit gebeurt d.m.v. somatische recombinatie. N.B. Hierbij wordt er niets veranderd aan de antigeenspecifieke regio.

In de eerste fase van de immuunrespons is het handig om IgM te hebben omdat de affiniteitsmaturatie nog niet compleet is, en met vijf bindingsplaatsen dan toch goede aviditeit bereikt kan worden. Bovendien is IgM een goede complementactivator. Later in de respons zijn twee bindingsplaatsen voldoende voor binding van hoog-affiene IgG antistoffen. IgG is kleiner en daarmee flexibeler dan IgM waardoor het op meer plaatsen kan komen, m.n. ook buiten de circulatie.

- c. Hoe komt het eigenlijk dat er – in principe - maar één B-cel op deze wijze door een T-helper cel wordt geactiveerd?

Een helper T-cel herkent specifiek één bepaald MHC-II-peptide complex op de B-cel. Dit peptide is afkomstig van het antigeen waar de B-cel een receptor voor heeft. Dat is dus het antigeen waartegen de B-cel als plasmacel antistoffen gaat produceren (zie ook par. 8-18).

9. Beschrijf hoe affinity maturation leidt tot beter bindende antistoffen. Wat gebeurt er met de B-cellen die tijdens dit proces slecht(er) bindende antistoffen maken?

Somatische hypermutatie leidt tot willekeurige puntmutaties in de antigeenspecifieke V-regio's. Hierdoor zal de affiniteit van de antigeenspecifieke regio voor het betreffende antigeen voor een klein deel van de B-cellen verbeteren, terwijl het voor een groot deel van de B-cellen verslechtert. In de kiemcentra zijn 'folliculaire dendritische cellen' (FDC's) aanwezig met uitlopers waaraan antigenen zijn gebonden. De B-cellen met de hoogste affiniteit voor deze antigenen ontvangen 'overlevingssignalen'. De rest van de B-cellen gaat dood.

10. Hoe komt het dat bij een beginnende infectie er eerst antistoffen tegen het pathogeen komen van de IgM klasse en pas later van de IgG klasse?

Naïeve B-cellen kunnen alleen IgM en IgD maken. Nadat deze B-cellen antigeen herkend hebben kunnen ze al uitrijpen tot plasmacellen die voornamelijk IgM maken. Een groot deel van de B-cellen verhuist naar het kiemcentrum, waar na intensieve interactie met T-cellen isotype switching optreedt. De dan gevormde plasmacellen gaan IgG (en/of IgA en/of IgE) maken.

11. Hoe komt het dat de affiniteit voor een bepaald antigeen van IgM lager is dan van IgG?

Een IgM producerende B-cel heeft nog geen somatische hypermutatie - die leidt tot affinity-maturation - ondergaan.

Is er klasse-switch opgetreden, en maakt de B-cel reeds IgG, dan is er ook sprake geweest van affinity maturation (par. 4-14 en 6-15).

12. Hoe dragen cytokines bij aan de differentiatie van mature B-cellen naar plasmacellen of naar memory B-cellen?

B-cellen nemen antigenen die ze herkennen met de BCR op en presenteren stukjes (peptiden) van deze antigenen op de MHC II complexen op hun celmembranen. Indien een T-helper cel dit MHC-peptide complex herkent, zal hij cytokines gaan uitscheiden. Deze cytokines zorgen ervoor dat de B-cel aanvankelijk vooral differentieert tot een plasmablast (o.i.v. IL-10) en later in een geheugencel (o.i.v. IL-4). Plasmablasten kunnen heel snel delen en differentiëren vervolgens tot plasmacellen.

13. Bij een jongetje met een X-linked hyper IgM syndroom heeft een defect in het gen dat codeert voor CD40-ligand. Bij deze patiëntjes ontvangen de B-cellen dus geen goede 'hulp'. Hoe denkt U dat de lymfeklieren er bij deze patiënt uitzien?

De B-cellen kunnen niet goed worden geactiveerd en de lymfeklieren bevatten daardoor geen kiemcentra. Er wordt vrijwel geen IgG en IgA geproduceerd.

14. Hoe komt het dat een plasmacel niet meer reageert, en zelfs niet meer kán reageren, op de aan- of afwezigheid van een antigeen?

In tegenstelling tot B-cellen, hebben plasmacellen geen immunoglobulinen gebonden aan hun celmembranen. Hierdoor zijn ze niet in staat om antigenen te binden, laat staan om ze op te nemen.

15. Hoe komt het dat bij een secundaire respons op een antigeen er geen IgM respons meer is (maar wel een sterke IgG respons)?

De geheugen-B-cellen, die zorgen voor de secundaire immuunrespons, hebben al isotype switching ondergaan. Zij produceren dus IgG, IgA en/of IgE, geen IgM of IgD.

16. Wanneer we bij een patiënt alle B-cellen weghalen met bijvoorbeeld een cytostaticum of met het middel rituximab (dat alle CD20 bevattende B-cellen 'opruiimt'; zie ook par. 4-6), zal de plasma concentratie van immuunglobulines desondanks niet tot nul dalen. Hoe komt dit?

CD20 wordt tot expressie gebracht op B-lymfocyten, maar niet op plasmablasten en plasmacellen. De plasmablasten en plasmacellen die op het moment van de toediening van het cytostaticum of rituximab al aanwezig zijn worden dus niet opgeruimd. Tevens worden antistoffen die al rondcirculeren in de bloedbaan niet opgeruimd.

17. Neutralisatie is één van de effectormechanismen van immuunglobulines.

a. Wat zijn de andere effectormechanismen?

- Complement gemedieerde kill
- Opsonisatie gevolgd door fagocytose al of niet FcR of complement receptor gemedieerd.
- FcR gemedieerde release van toxinen van mestcellen/eosinofielen (m.n. bij IgE)
- ADCC

Er staan in het leerboek verschillende voorbeelden van ieder mechanisme genoemd

Neutralisatie:

Definitie van neutralisatie: 'inactivatie van pathogeen of toxine doordat interactie met een humane cel of een humaan molecuul wordt belemmerd'.

1a. Binding van immuunglobuline aan virale glycoproteïnes en daardoor belemmering binding van virus aan / en binnengaan in de humane cel (Par 4-16, 2e alinea, of pag. 249, 2e alinea). Voorbeeld anti-haemagglutinine antilichamen, gericht tegen delen van het influenzavirus (Par 3-12, pag. 84 2e alinea, en Fig 9.25).

1b. Binding van Ig aan bacteriële adhesines, bijvoorbeeld van bacteriën in tractus digestivus, tr. respir., tr. urop., tr. genit. Hierdoor belemmeren van 'entry' van bacterie (Par 9-15, pag. 270).

2. Neutralisering van toxines (Par 9-16, ter illustratie fig 9.27 en 9-28). Bijvoorbeeld antilichamen die beschermen tegen difterie-toxine (dat giftig is voor luchtweg-epitheelcellen) of tegen tetanus-toxine (gericht tegen zenuwcellen) (zie verder bij vaccinatie). Of anti-slangengif antilichamen (zie verder bij passieve immunisatie).

#### Complement-gemedieerde kill:

Algemeen: zie onderste stuk Fig 2.5. Voorts Par 9-17, m.n. Fig 9.30)

1. Klassieke route-activatie: C3b-fixatie waardoor opsonofagocytose (Par 2-5).
2. Klassieke route-activatie (gevolgd door terminale route): MAC-vorming waardoor bacteriolysis (par 2-6).
3. Klassieke route-activatie: Recruitering van ontstekingscellen (m.n. neutrofiële granulocyten) door anafylatoxines (C3a, C5a) (Par 2-7).

#### Opsonisatie gevolgd door fagocytose (al of niet FcR of complement receptor gemedieerd):

1. Klassieke route geeft (via C1q-C4 en C2 binding) complement-C3b fixatie waarna fagocytose via C3b-receptor (= CR1 (is ook een complement regulerend eiwit), en CR3 en CR4 (dit zijn integrines) bevattende fagocyten.
2. Fagocytose door Fc $\gamma$ -receptor (bijvoorbeeld Fc $\gamma$ RI) bevattende fagocyten (monocyten, macrofagen, dendritische cellen, én op plaats van ontsteking, neutrofiële en eosinofiele granulocyten) (Fig 9.41).

#### FcR gemedieerde release van toxinen van mestcellen/eosinofielen (m.n. bij IgE):

1. Na contact met een parasiet (of allergeen) dat herkend wordt door IgE (dat via de Fc $\epsilon$ RI is gebonden) op de mestcel treedt release op van o.a. histamine waardoor vaatverwijding, vaatlekkage en contractie van glad spierweefsel optreedt. Dit draagt bij aan 'verwijdering' van de parasiet (Par 9-24, fig 9.44).
2. Na infectie met een grotere parasiet (zoals Schistosoma) gaat de eosinofiele granulocyt (die op dezelfde wijze is beladen met IgE moleculen als de mestcel), tegen de worm aanliggen en scheidt vervolgens voor de worm toxische stoffen uit (Fig 9.45).

#### ADCC (Antibody-dependent cellular cytotoxicity):

1. Influenza virus geïnfecteerde cellen brengen op hun oppervlak bepaalde virus-glycoproteïnes tot expressie. Hiertegen gerichte IgG1 en IgG3 antilichamen binden aan deze antigenen én, met het Fc-deel, aan de Fc $\gamma$ RIII op NK-cellen. Zo wordt de virus-geïnfecteerde cel, door de NK-cel, gedood (Fig 9.43).
2. De werking van het geneesmiddel Rituximab, dat is een monoklonaal anti-CD20 antilichaam, kan zo worden begrepen (Par 9-23, pag. 281 2e deel 2e alinea).

b. Welk werkingsmechanisme is gericht op eradicatie (direct of indirect) van extracellulaire pathogenen, en welk werkingsmechanisme zal dit niet doen?

- MAC-vorming (bij complement gemedieerde kill)
- Opsonisatie gevolgd door fagocytose
- Productie van toxines die giftig zijn voor parasieten door eosinofielen
- Neutralisatie. (Hierbij worden de pathogenen niet gedood, maar wordt er voorkómen dat ze verdere schade aan kunnen richten).

ADCC is gericht tegen cellen, en niet tegen extracellulaire pathogenen.



18. Hoe draagt IgA bij aan de eradictie van pathogenen die leven op de mucosa van luchtwegen of darmen?

Via neutralisatie c.q. blokkade van polysacchariden of glycoproteïnen die betrokken zijn bij adhesie aan (en invasie in) mucosa cellen. Het gaat hierbij overigens om uitgescheiden (= dimerisch) IgA (Fig 9.25 en 9.22).

19. Hoe draagt IgE bij aan de afweer tegen pathogeen? Bij welke pathogenen is dit effectief?

IgE speelt een rol in de afweer tegen parasieten. Effectorcellen zijn mestcellen en eosinofiele granulocyten. Het werkzame IgE zit hierbij gebonden aan de mestcel of eosinofiel via een IgE-receptor op die cel. Ligering van meerdere IgE-receptoren zorgt voor clustering en activatie van de mestcel of eosinofiele granulocyt.

20. Hoe komt het dat activatie van complement via de klassieke route eerder en makkelijker verloopt na binding van IgM dan na binding van IgG aan het antigeen?

Het C1q-molecuul (Fig 2.42) heeft de vorm van een bloemenboekje. Het wordt pas geactiveerd, en start pas de klassieke route van complement-activatie, wanneer meerdere 'bloemen' tegelijk worden gebonden.

IgM heeft, als het niet is gebonden aan een Ag, een platte vorm (Par 9-17). Deze vorm kan C1q niet binden / activeren. Echter, zodra IgM aan een Ag is gebonden neemt het een 'shuttle' vorm aan en kan het C1q wél binden en activeren. Aldus is voor activatie van C1q, één IgM-molecuul genoeg (zie ook Fig 9.30).

Een IgG-molecuul heeft maar één bindingsplaats voor één 'bloem' C1q. Dit is onvoldoende om C1q te activeren. Pas wanneer er aan één Ag meerdere IgG-moleculen zijn gebonden, kan C1q, gebonden aan meerdere IgG moleculen tegelijk, geactiveerd worden. Aldus is er pas C1q-activatie na binding van meerdere IgG moleculen in elkaars nabijheid. Zie Fig 9.34.

21. Hoe komt het dat kleine baby's een hogere IgG spiegel maar een lagere IgM concentratie hebben dan baby's van 6 maanden.

Tijdens de zwangerschap ontvangt de foetus IgG van de moeder via de placenta ('passieve immunisatie'). Er vindt geen IgM transport over de placenta plaats. In de maanden na de geboorte wordt het IgG geleidelijk aan afgebroken. Doordat het kind in contact komt met antigenen, gaat het zelf ook immunoglobulinen produceren. De productie van IgG komt, in tegenstelling tot de productie van IgM, maar zeer langzaam op gang.

Overigens bevat moedermelk IgA. Dit is een van de redenen dat het geven van borstvoeding de gezondheid van de baby kan bevorderen.

22. Bij de ziekte van Kahler is er sprake van kwaadaardige doorgroei van één plasmacel. Deze ene plasmacel maakt één immuunglobuline. De immuunglobuline concentratie in het bloed van patiënten met deze ziekte kan normaal maar ook sterk verhoogd zijn. Toch hebben deze patiënten grote kans op het krijgen van infecties met extracellulair groeiende bacteriën. Verklaar dit.

De immunoglobuline die de maligne plasmacel produceert kan in zeer hoge concentraties voorkomen, maar het bindt maar aan één soort antigeen. Daarnaast nemen de kwaadaardige plasmacellen veel plaats in waardoor ze de productie van andere immunoglobulines belemmeren. N.B. De ziekte van Kahler wordt ook vaak 'Multiple myeloma' genoemd.

23. Op welke manier zijn erythrocyten betrokken bij de verwijdering van immuuncomplexen uit de circulatie?

Als de immuuncomplexen zijn gecoat met C3b, dan kunnen ze worden gebonden aan de CR1-receptoren op erythrocyten. De erythrocyten transporteren de immuuncomplexen dan naar fagocyten (bijv. in de milt of in de lever).

## THEMA 6 DE IMMUNRESPONS BIJ EEN INFECTIE

### ZSO 6 INFECTIES

1. Een steenpuist is een infectie door *Staphylococcus aureus* van een haarwortelzakje. Beschrijf de klinische verschijnselen van deze infectie aan de hand van de kenmerken van ontsteking en geef de pathofysiologische verklaring voor ieder van deze verschijnselen.

Par 1-4

Rubor: verhoogde bloeddorstrooming (tgv vasodilatatie)

Calor: verhoogde bloeddorstrooming (tgv vasodilatatie) lokaal.

Dolor: effect van cytokinen en andere mediators op nociceptoren.

Tumor: verhoogde vaatpermeabiliteit, extravasatie van vocht en leukocyten

Functio laesa: het lichaamsdeel waarop de steenpuist zit wordt minder gebruikt .

Ook wordt het verworven immuunsysteem geactiveerd door de bacterie. De activatie van B- en T-cellen kan zorgen voor gezwollen lymfeklieren in het stroomgebied.

2. In een steenpuist zit 'pus'; wat is dat en hoe ontstaat dat?

Paragraaf 1-7, figuur 1.16, par 2-14.

Pus is een witgelige, gele of geelbruine substantie die bestaat uit resten (cel débris) van vele dode leukocyten (vooral neutrofiële granulocyten), enkele dode bacteriën en soms ook dode weefselcellen. Pus ontstaat bij bacteriële infecties die langer duren en een hevige respons van neutrofielen oproepen. Neutrofielen die naar het weefsel zijn gemigreerd hebben namelijk slechts een levensduur van 1 à 2 dagen.

3. Een stafylokokkensepsis is een ernstig ziektebeeld dat in korte tijd tot de dood kan leiden. Beschrijf de klinische verschijnselen van sepsis eveneens aan de hand van de pathofysiologie die ten grondslag ligt aan de kenmerken van ontsteking.

Paragraaf 2-13, 2-17. Zie ook figuur 2.29 op blz. 52 van Parham.

Koorts: verhoging van het temperatuur setpoint in de hypothalamus (dit gebeurt met name door IL-1, IL-6 en TNF- $\alpha$ )

Endotheelcellen reageren op cytokines met de productie van 'platelet activating factor' (PAF) en vooral (dat staat niet goed in Parham) van tissue factor (TF) het startpunt van de extrinsieke stollingsroute. Dit stimuleert de vorming van trombine en dus stolling. Het gevolg is dat er thrombi ontstaan die de bloedvaten afsluiten (Disseminated Intravascular Coagulation, ofwel DIC).

Daarnaast veroorzaken de cytokines verwijding van de bloedvaten en een verhoogde permeabiliteit van de vaatwanden. Hierdoor treedt het plasma massaal uit de vaten. De bloeddruk daalt en de patiënt kan in shock raken.

4. Zou het wel, niet, of misschien, helpen als een patiënt met een steenpuist extra gammaglobuline krijgt toegediend? Verklaar uw antwoord.

Het *zou* misschien kunnen helpen, uitgaande van de veronderstelling dat exotoxines en enzymen zoals hyaluronidase een rol spelen in de pathogenese. Immers gammaglobuline kan eventueel zorgen voor de neutralisatie van deze toxines. Echter als de patiënt zelf antistoffen kan maken, dan heeft het toedienen van gammaglobulines geen extra effect.

De praktijk leert echter dat immuunglobulines nauwelijks een rol spelen bij het voorkómen van steenpuisten. Patiënten met een agammaglobulinaemie hebben eigenlijk niet vaker steenpuisten dan gewone immunocompetente patiënten. Vandaar dat in de praktijk er geen gammaglobulines gegeven worden.

5. In fig. 1.4 op p. 7 staat scarlet fever als ziekte genoemd bij *Streptococcus pneumoniae*. Of het gaat om een drukfout óf de auteur is in de war; de meest algemene verwekker van longontsteking ('Pneumonia') is *Streptococcus pneumoniae* (ook wel pneumokok). Deze bacterie veroorzaakt o.a. pneumonie maar geen scarlet fever (roodvonk)! Niettemin, de pneumokok is een extracellulair groeiende Grampositieve bacterie. Leg uit dat zowel complement als antistoffen belangrijk zijn in de afweer tegen deze bacterie.

Het complementsysteem zorgt voor opsonisatie (met C3b) en activatie van leukocyten (via anafylatoxines) waardoor de bacterie wordt herkend en gefagocyteerd door neutrofielen en macrofagen.

Antistoffen:

- Neutraliseren (met name IgA op het mucosale oppervlak van de long)
- Opsoniseren via Fc- en Fc-receptor gemiddelde opsonofagocytose (in het bloed via Kupfercellen in de lever en in de milt)
- Stimuleren de klassieke route van complement-activatie (zie hierboven) (in het bloed speelt deze opsonofagocytose zich vooral in de milt af). Dit bekenent dat mensen zonder milt baat hebben bij antistoffen! (c.q. vaccinatie).

*Uit de inleiding van deze ZSO:*

Voorbeeld B. *Neisseria meningitidis*, herkenning c.q. niet-herkenning door TLR4

PAMP-receptoren herkennen 'strangers' i.c. PAMPs (par. 2-10). TLR4 is de PAMP-receptor voor lipopolysaccharide (LPS) (fig. 2.23). LPS, ook wel endotoxine, zit in de buitenmembranen van alle Gramnegatieve bacteriën. Binding van LPS aan TLR4 op een monocyt of macrofaag leidt tot productie van inflammatoire cytokines. Deze cytokines activeren endotheel en andere immuuncellen en brengen zo de immunrespons op gang (par. 2-11). Aldus gaat signalering van Gramnegatieve bacteriën door TLR4, vooraf aan de start van de beschermende adaptieve respons. Overmatige systemische cytokineproductie, gestimuleerd door hoge concentraties LPS afkomstig van zich snel vermenigvuldigende Gramnegatieve bacteriën in de bloedbaan, leidt tot septische shock (fig. 2.29). Een voorbeeld hiervan is shock veroorzaakt door *Neisseria meningitidis* (meningokok). Dit is een zéér ernstig ziektebeeld met shock en uitgebreide stimulatie van de stolling (Disseminated Intravascular Coagulation (DIC) (par. 2-13; NB. op pag. 53 staat een drukfout "DAC").

Merkwaardigerwijs hebben niet alle mensen met *Neisseria meningitidis* in het bloed dit ernstige beloop. Tot voor kort begreep men niet hoe dat mogelijk was. Recent is er een studie verschenen waarin is aangetoond dat bij patiënten met deze minder ernstige vorm, de bacterie een mutatie heeft ondergaan in het gen dat codeert voor LPS. Bij deze mutant heeft het LPS-molecuul geen 6 maar 5 vetzuurstaarten (Fransen et al. PLoS Pathog 2009; Apr 5(4):e1000396). Hierdoor herkent TLR4 het molecuul niet, en volgt er vrijwel geen cytokineproductie. Overigens was al eerder aangetoond dat in aanwezigheid van dergelijk LPS (toegevoegd aan een vaccin), er ook minder antistoffen worden gevormd.

6. De in bovenstaand voorbeeld B genoemde meningokokken met een gemuteerd LPS-molecuul geven ook een slechtere antistofrespons. Geef hiervoor een verklaring.

Zie figuur 2.27 op blz. 50 van Parham.

De cytokines die worden geproduceerd als reactie van de macrofagen op LPS zorgen ook voor stimulatie van de verworven immunrespons.

Bijvoorbeeld:

- IL-1 $\beta$  zorgt voor activatie van lymfocyten.
- TNF- $\alpha$  zorgt voor een betere influx van IgG (door verhoging van de vaatpermeabiliteit).
- IL-6 activeert de lymfocyten en stimuleert de productie van antistoffen
- CXCL8 is chemotactisch, ook voor lymfocyten.
- IL-12 zorgt voor de differentiatie van CD4 T-cellen in T-helper cellen.

In het algemeen is het zo dat een nieuwe meningococcestam, eenmaal in de neus aangekomen en daar als "dragerstam" aanwezig, binnen 1-2 weken zorgt voor een specifieke respons i.c. de inductie van voldoende titers van beschermende antistoffen. In het kort: dragerschap werkt immuniserend!

Acute ziekte ontstaat als de bacterie invasief wordt vóóordat de specifieke respons voldoende is ontwikkeld. Dus meestal binnen enkele dagen na acquisitie van de dragerstam.

7. Alle virusinfecties zijn intracellulaire infecties. Hoe komt het dat antistoffen, de effector moleculen van de humorale immuniteit, dan toch beschermend kunnen werken?

Voordat een virus een nieuwe gastheer cel infecteert, bevindt hij zich tijdelijk extracellulair; antistofbinding kan dan voorkómen dat het virus de cel kan binnendringen (paragraaf 9-15) Daarnaast worden virusgeïnfecteerde cellen die gecoat zijn met IgG gedood door NK-cellen (zie ADCC, fig 9.43).

8. Hoe komt het dat er bij een tweede contact met bijvoorbeeld waterpokken virus, geen ziektegevoel meer ontstaat?

Door de aanwezigheid van geheugencellen kan het immuunsysteem veel sneller en sterker reageren. Daarom wordt het virus al uitgeschakeld wanneer het nog nauwelijks de kans heeft gehad om cellen te infecteren en weefselschade aan te richten, waardoor het geen symptomen geeft.

9. Hoe komt het dat er bij een tweede contact (enkele jaren later) met bijvoorbeeld het waterpokken virus geen IgM meer ontstaat?

Par 10-14 t/m 10-17.

De geheugen-B-cellen, die zorgen voor de secundaire immunerespons, hebben al isotype switching ondergaan. Zij produceren dus IgG, IgA en/of IgE, geen IgM of IgD.

10. Geef ten minste twee redenen waardoor memory B-cellen sneller reageren dan naïeve B-cellen.

Par 10-15; Fig 10-21 en 10-22

Memory B-cellen (vergeleken met naïeve B-cellen)

- zijn nazaten van B-cellen die reeds hoog affiene antilichamen maken
- zijn in grotere aantallen aanwezig (dan naïeve B-cellen met dezelfde antigenspecificiteit)
- worden gemakkelijker geactiveerd door TH2-cellen (door hogere expressie van MHC-II en co-stimulatoire moleculen)

Uiteindelijk zal er binnen 4 dagen al een effectieve secundaire respons zijn (voor een primaire respons duurt dit zeker 8 dagen).

11. De afweer tegen *Cryptococcus neoformans* en Mycobacteriën is gestoord bij AIDS. Hoe kunt u verklaren dat m.n. deze micro-organismen moeilijk bestreden kunnen worden? Kan het afweersysteem op een bepaalde manier geholpen worden? Gebruik bij uw beantwoording o.a. fig. 2.2, 8.27 en 8.36.

Bij AIDS ontwikkelt zich een CD4-lymfopenie.

Zowel Cryptococci als Mycobacteriën zijn intracellulair groeiende microorganismen (vesiculair, zie figuur 2.2). Normaal gesproken worden ze bestreden door macrofagen. Die macrofagen worden geactiveerd door cytokines die worden uitgescheiden door T<sub>H1</sub>-cellen (en ook wel NK-cellen). Als er bij AIDS een gebrek aan T-helpercellen ontstaat, worden de macrofagen onvoldoende geactiveerd en kunnen de bacteriën niet goed worden bestreden.

Te helpen door:

- HAART (in de hoop CD4 cellen te doen stijgen);
- [en antibiotica/antimycotica]
- en evt. toedienen IFN $\gamma$ .

# THEMA 7 TUMORIMMUNOLOGIE

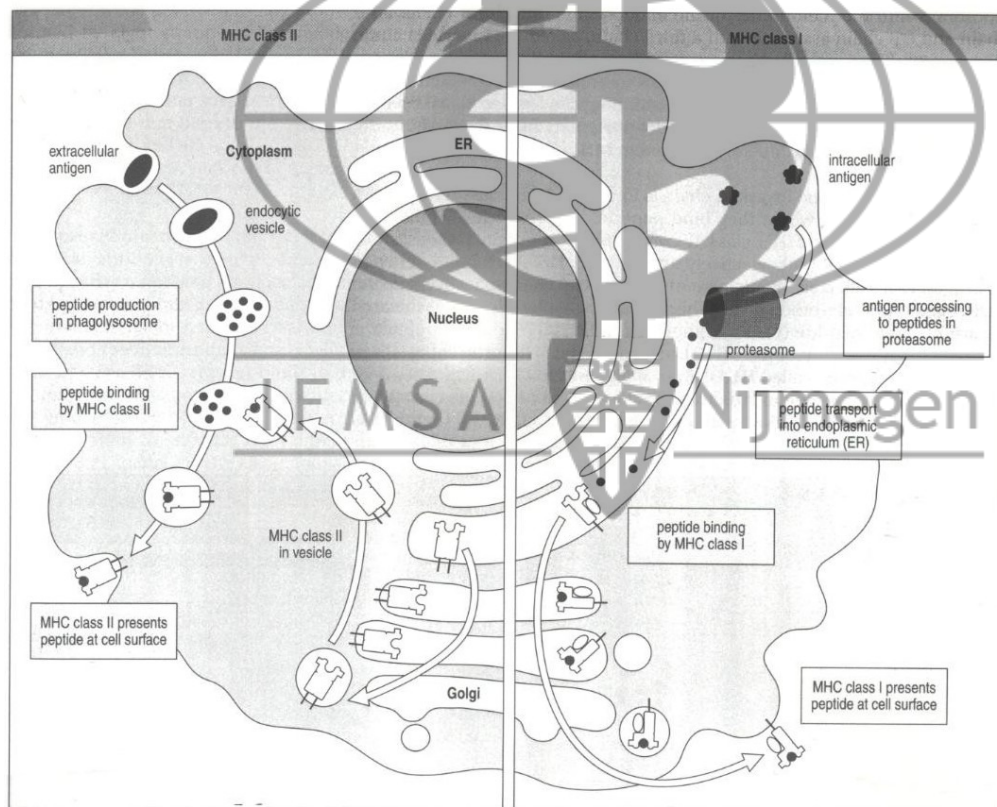
## ZSO 7 TUMORIMMUNOLOGIE

1. Leg uit waarom antigeen presenterende cellen een centrale rol spelen in de afweer tegen tumor cellen.

Tumorcellen ontstaan door mutaties in normale weefselcellen. In principe lijken zij dus erg op normale weefselcellen. Gelukkig leiden sommige mutaties tot de expressie van andere moleculen op het celmembraan. Alleen indien deze moleculen worden herkend als afwijkend door antigeen presenterende cellen (APC's), wordt het immuunsysteem geactiveerd. Of de tumorcellen überhaupt kunnen worden bestreden is dus in de eerste plaats afhankelijk van herkenning door APC's.

2. Een bepaalde tumor heeft als kenmerk dat een intracellulair eiwit op 2 plaatsen is gemuteerd. In de thema's cellulaire immuniteit en antigeen presentatie hebt u bestudeerd hoe intracellulaire eiwitten geprocessed worden, aangeboden worden aan het immuunsysteem, en T-cel activatie plaats vindt. Geef in dit proces plaatsen aan die een tumor zou kunnen gebruiken om eliminatie door het immuunsysteem te *voorkómen*.

Zie fig. 5.20:



- i. Downregulatie MHC class I moleculen waardoor interactie met cytotoxische T-cellen niet kan optreden.
- ii. Productie van lege MHC moleculen door defecten op het niveau van het transport van de antigene eiwitten naar het endoplasmatisch reticulum (Transporter associated with antigen presentation: TAP1 en TAP2).
- iii. Antigeen shedding door tumorcellen.
- iv. Productie van immunosuppressieve factoren door tumoren zoals transforming growth factor bèta (TGF- $\beta$ ), interleukine-10 etc.

- v. Antigeen presentatie in de context van MHC class I en II op de tumorcel bij het ontbreken van een adequaat costimulatie-sigitaal te weten B7 (CD80 en CD86) en CD28 interactie waardoor juist tolerantie tegen dit gepresenteerde tumorantigeen wordt geïnduceerd.
- vi. Verlies van antigenen tijdens het proces van tumorprogressie.

3. Beredeneer waarom op basis van variabiliteit in het MHC bepaalde tumoren in bepaalde gebieden op aarde meer voorkomen dan in andere gebieden.

Het HLA systeem bepaalt in belangrijke mate de reactiviteit van het immuunsysteem. Sommige antigenen, en dus ook tumor geassocieerde of specifieke antigenen, worden bijvoorbeeld met name in de context van HLA-A1 gepresenteerd aan de T cel receptor. Indien optimale binding niet op kan treden op basis van het feit dat het peptide niet 'past' in het beschikbare HLA repertoire dan zal presentatie niet geschieden en het antigeen ontsnappen aan het immuunsysteem. Dit houdt in dat personen die dit MHC haplotype niet bezitten geen of een verminderde reactiviteit hebben en daardoor de ontwikkeling van dergelijke tumoren een kans geven.

4. Geef aan wat de belangrijkste overeenkomsten en verschillen zijn tussen de herkenning zoals die kan plaats vinden bij bijvoorbeeld virale infecties en tumorcellen? Welke cellen dragen bij aan het opruimen van de tumor nadat een specifieke immunrespons is opgetreden? Geef tevens globaal het mechanisme aan.

Een virus infecteert de mens doordat na binnenkomst en hechting, via bepaalde receptoren aan de targetcel, het virale RNA of DNA in de cel wordt opgenomen. Het genetische materiaal blijft gehandhaafd in het cytoplasma of wordt geïncorporeerd in het genoom (retrovirussen). Kanker inducerende virussen volgen dezelfde weg en worden ook immunologisch op dezelfde manier herkend en al of niet effectief geneutraliseerd. Voorbeelden van virus geïnduceerde vormen van kanker zijn het hepatocellulair carcinoom (hepatitis-B virus), nasofarynx carcinoom (Epstein Barr virus), cervix carcinoom (Humana papilloma virus). Het virale antigeen dat door T-cellen gezien wordt, wordt gepresenteerd in de groeve van de MHC class I moleculen. Voor een aantal tumorantigenen dat door T-cellen gezien wordt geldt precies dezelfde weg (bijv. differentiatie antigenen). Het immunogene karakter van virale peptiden is over het algemeen groot, de peptiden afkomstig van veranderde of zelfs niet veranderde eiwitten in de tumor zijn vaak veel minder immunogeen. Daarnaast bestaat voor tumor geassocieerde antigenen de mogelijkheid dat deze door antigeen presenterende cellen in de context van MHC class II worden gepresenteerd. Dit geldt ook voor virale antigenen wanneer virusdeeltjes van buiten de cel worden opgenomen. Langs deze weg wordt eveneens een humorale respons geïnduceerd.

5. Welke oorzaken kunt u aangeven waarom tumorcellen niet door het immuunsysteem gezien en/of opgeruimd kunnen worden?

- a. Geen herkenbare antigene structuur op het oppervlak van de cel.
- b. De veranderde en potentieel antigene determinanten zijn onvoldoende immunogeen.
- c. Immunogene antigene structuren worden wel herkend, maar door de aanwezigheid van immunosuppressieve factoren en/of cellen treedt geen effectieve immunrespons op.
- d. Gegenereerde T-cellen kunnen een defecte T-cel receptor hebben ten gevolge van tumorfactoren.
- e. Inductie van tolerantie.
- f. De antigene structuur gaat na herkenning verloren.
- g. Afscherming van tumor specifieke antigenen door antistoffen.
- h. Shedding van zeer grote aantallen antigenen.
- i. Verlies van MHC class I expressie op de tumorcellen.

6. Leg uit hoe tumorcellen actief het immuunsysteem kunnen remmen.

Productie van immunosuppressieve factoren (TGF $\beta$ , IL-10) door tumorcellen. Remming van CD8+ T cellen en NK cellen en activatie van Treg en MDSC -> inductie van tolerantie.

7. Welke cellen van het immuunsysteem *stimuleren* tumorgroei en hoe doen ze dit?

- Treg: remmen effector T cellen; IL-10, TGF $\beta$  productie (Parham Fig. 16.15)
- Myeloid-derived suppressor cells (MDSC): remmen effector T cellen (depletie van aminozuren (arg, tryp, cys) die nodig zijn voor T cel functie), inductie Treg.
- Maar ook DC, M2 (een subtype) macrofagen en neutrofielen kunnen direct tumor stimulerende groeifactoren maken (IL-6, IL-23, VEGF) die celdeling en angiogenese stimuleren.

8. Op welke wijze kan een tumorantigeen aan het immuunsysteem worden aangeboden om te komen tot een specifieke immunorespons? Probeer de voor- of nadelen van deze methoden naast elkaar te zetten.

APC kunnen het tumorantigeen presenteren in groeve van MHC-II aan CD4+ T cellen. Deze T helper cellen stimuleren ook de humorale immuniteit. Voordeel: digestie van antigene structuren in de fago-lysosoom waardoor in principe in ieder HLA haplotype 1 of meer antigenen gepresenteerd kunnen worden

Via cross-presentatie antigene peptiden binding in MHC-I en activatie CD8+ T cellen (CTL). Voordeel: CTL kunnen direct tumorcellen killen. Nadeel: per haplotype is de variatie aan peptiden die gepresenteerd kunnen worden kleiner.

*Lees de volgende casus zorgvuldig door en beantwoord de bijbehorende vragen (Zie ook Parham par. 16-3).*

#### **CASUS 8.1 Rode vlekken**

Een man geboren in 1963 had een blanco voorgeschiedenis tot 2010, toen hij de huisarts consulteerde omdat hij onbegrepen koorts, moeheid, gewichtsverlies en nachtzweeten vertoonde. Hij werd doorverwezen naar een internist, die rode papillaire huid vlekken constateerde. Cytologisch onderzoek toonde maligne cellen passend bij Kaposi sarcoom. Kaposi sarcoom een zeldzame kanker die uitgaat van de binnenbekleding van bloedvaten van de huid en van de slijmvliezen van de mond en neus. Bloedonderzoek wees op een sterk verlaagd aantal CD4 T-cellen en de aanwezigheid van Hiv-specifieke antilichamen. Tevens werd humaan herpes virus-8 en mucosale candida infectie vastgesteld.

9. Hoe is de immunestatus van deze patiënt?

Patiënt is immuungecompromitteerd (immuun systeem is sterk verzwakt), wat blijkt uit het lage CD4 T cel aantal en de aanwezigheid van opportunistische infecties (herpes, candida). HIV infectie leidt ook vaak tot verminderde CD8+ T cel en APC functie.

10. Hangen al deze symptomen met elkaar samen en wat is de uiteindelijke diagnose van deze patiënt?

Ja, patiënt heeft AIDS en als gevolg van het verzwakte immuunsysteem additionele infecties (herpes, candida).

11. Wat zijn de oorzaken van de vorming van het Kaposi sarcoom? Is hier sprake van 'tumor immune evasion' en leg uit hoe tumorcellen kunnen ontsnappen aan het immuunsysteem.

HHV8 is een tumorvirus dat bij gezonde mensen onder controle wordt gehouden door het immuunsysteem. Bij immuundeficiënte personen (HIV, transplantatie) kan dit virus pathologie induceren. Het virus infecteert endotheel en immuuncellen (lymfocyten en monocyten). Het endotheel ondergaat hierdoor mutaties en het virus stimuleert proliferatie, transformatie en sarcoma inductie. De tumor cellen ontsnappen aan het immuun systeem door:  
- het feit dat het immuun systeem sterk verzwakt is als gevolg van HIV

- HHV8 stimuleert direct tumor immune evasion door downregulatie van MHC-I op de tumorcellen.

12. Verwacht U dat er bij deze patiënt een verhoogd aantal regulatoire T-cellen aanwezig is?

Omdat het aantal CD4+ T cellen sterk verlaagd is bij deze patiënt verwacht je in principe geen verhoogd aantal regulatoire T-cellen. Echter, door onderdrukking van de activerende cellen van het immuunsysteem (de effector T-cellen en de APC) en de immuun 'onbalans', zijn toenames van Treg aantallen mogelijk bij HIV patiënten met een progressief ziektebeeld.

13. Komt deze patiënt in aanmerking voor immunotherapie?

Immunotherapie voor HIV patiënten is nog in experimentele fase en zal naar verwachting een toevoeging kunnen zijn aan bestaande antivirale therapie. T cel stimulerende cytokines (IL-2, IL-7, IL-15 en IL-21) zijn in ontwikkeling voor klinische trials. Therapeutische vaccinatie met humane DC om een CD8+ T-cel respons tegen HIV te induceren is een alternatieve immunotherapie. Antagonisten van de chemokine receptor CCR5 (de receptor voor HIV) is inmiddels een geregistreerde immunotherapie.

14. Wat wordt bedoeld met de 'tumor micro-environment' en welke immunologische processen kunnen daar plaats vinden?

De tumorcellen, bloedvaten, lymfevaten, stromacellen, immuuncellen en oplosbare mediators worden in z'n geheel de 'tumor micro-environment' genoemd. De interactie tussen al deze verschillende componenten bepaalt of een tumor in regressie gaat (suppression) of ontsnapt aan het immuunsysteem en groeit (evasion). De immunologische mechanismen beschreven onder vraag 6,7,8 kunnen allen plaatsvinden.

15. Geef voorbeelden van patiënten die kanker hebben gekregen *als gevolg van* een slecht functionerend afweersysteem.

Immuundeficiënte patiënten (meestal secundair (t.g.v. transplantatie, HIV), soms primair t.g.v. genetisch defect (bv. TAP-deficiëntie)) hebben een verhoogde kans om kanker te ontwikkelen. Dit kan indirect zijn (als gevolg van infectie met onco-virus zoals HHV-8/EBV; zie ook Parham Fig. 16.4) of direct (t.g.v. de afwezigheid van tumor immune surveillance). Voorbeelden: patiënten die een niertransplantatie gehad hebben, hebben 2-10x meer kans om melanoom te ontwikkelen. Een immuundeficiënte patiënt die EBV (Epstein Barr Virus) infectie krijgt, heeft een verhoogde kans op het ontwikkelen van B cel lymfoom.

## THEMA 8 OVERGEVOELIGHEIDSREACTIES

### ZSO 8 IMMUNOLOGISCHE OVERGEVOELIGHEIDSREACTIES

#### Type-I allergie

##### **CASUS 8.1 EEN WESPENSTEK MET ERNSTIGE GEVOLGEN**

Een 46 jarige gezonde dame werd in haar tuin door een wesp gestoken in haar arm. Ze was in haar jeugd wel eens vaker gestoken door een wesp zonder noemenswaardige klachten afgezien van een jeukende bult rond de steekplaats. Dit keer echter ontstaat na de steek meteen jeuk in de handpalmen, onder de voeten en op haar hoofd. Ze voelt zich plots erg duizelig en misselijk. Ze begint flink te zweten en ze wordt benauwd. Ze heeft het gevoel dat haar keel wordt dichtgesnoerd. Haar echtgenoot ziet het gebeuren en belt het alarmnummer 112. Terwijl hij angstig bij zijn echtgenote wacht op hulp valt zijn vrouw flauw en is ze korte tijd niet aanspreekbaar; hij merkt dat ze haar urine heeft laten lopen.

De ambulance verpleegkundige is snel ter plaatse. Ze ziet een dame die weer een beetje aanspreekbaar is, met gezwollen oogleden en lippen, met een lage bloeddruk (85/40 mm Hg). De dame heeft geen pijn op de borst en kan haar ledematen goed bewegen.



De verpleegkundige dient onmiddellijk adrenaline toe (0,3 cc van een 1/1000 oplossing per automatische injectiepen) in de zijkant van haar bovenbeen (regio m. vastus lateralis). Tevens krijgt ze een intramusculaire injectie met een antihistaminicum. Daarna snel per ambulance naar de SEH van het UMC St. Radboud. Al in de ambulance herstelt de dame zich snel. Ze is minder benauwd en weer goed aanspreekbaar. Op de SEH is er nog zwelling zichtbaar in het gezicht en nu zijn er ook galbulten op de rest van haar lichaam. De huidverschijnselen trekken binnen 2 uur geleidelijk weg. Na nog een paar uur observatie mag ze naar huis. Er wordt een afspraak gemaakt bij de allergoloog voor verder onderzoek en behandeling. Dat onderzoek blijkt pas zinvol 6 weken na het overgevoelheidsincident. De dame in kwestie had nooit eerder een dergelijke reactie gehad. Zij heeft nooit last gehad van astma, allergische rhinitis, voedselallergie of atopische dermatitis. De huidtest en de RAST zijn sterk positief voor wespengif. Er wordt besloten haar te behandelen met wespengif-specifieke immunotherapie. De eerste subcutane injecties vinden plaats bij de allergoloog en de vervolgkuur van 4 jaar mag bij de huisarts. De prikkuur verloopt probleemloos en 2 jaar later wordt de dame opnieuw gestoken door een wesp maar nu, zoals verwacht, zonder vervelende/gevaarlijke overgevoelheidsreactie.

1. Welk type allergie is hierboven beschreven?

Type 1 (IgE gemedieerde) allergie, omdat:

- Klachten en verschijnselen zeer snel optreden na blootstelling aan prikkel (bijengif)
- Klachten en verschijnselen zijn verklaarbaar als histaminerge respons
- Specifieke IgE antistoffen tegen bijengif worden aangetoond met huidtest

2. Bij het ontstaan van een allergische reactie spelen B-cellen en mestcellen een rol. Leg uit in welke fase van het proces beide cellen betrokken zijn. Op welke wijze verschillen B-cellen en mestcellen m.b.t. specificiteit en snelheid van respons bij herkenning van een antigen?

De type I allergische reactie is in te delen in 3 fasen:

- sensitisatie-fase
- effector-fase
- chronische ontsteking

De B-cellen spelen een rol in de sensitisatie-fase en de mestcellen in de effector-fase. De B-cellen zijn specifiek voor een enkel antigen, maar het IgE op de mestcellen heeft een grote variëteit (dus niet specifiek voor een antigen). Binding van het antigen aan IgE aan een mestcel induceert direct een respons (degranulatie), terwijl de bijdrage van de B-cellen (IgE productie) pas merkbaar wordt na een fase van proliferatie en differentiatie.

3. Hoewel het nog niet helemaal duidelijk is waarom het ene eiwit wel een allergie opwekt en het andere niet, is een aantal eigenschappen karakteristiek voor geïnhaleerde allergenen. Welke zijn dit?

Zie figuur 12.13 op blz. 375 van Parham.

Het merendeel van de allergenen voldoet aan de volgende kenmerken:

- het zijn eiwitten (dit omdat alleen eiwitten een T-cel respons kunnen opwekken)
- het zijn proteasen
- ze zijn aanwezig in een lage dosis (dit stimuleert de ontwikkeling van Th<sub>0</sub>-cellen in Th<sub>2</sub>-cel)
- ze hebben een laag moleculair gewicht (zodat het allergeen de slijmlaag in kan diffunderen)
- ze zijn goed oplosbaar
- ze zijn zeer stabiel
- ze bevatten peptiden die kunnen binden aan MHC klasse II-moleculen (dit is nodig voor Th-cel priming)

4. Benoem de drie belangrijkste routes van allergeen expositie. Geef voor iedere route aan wat de klinische verschijnselen zijn van een allergische reactie en door welke effectormechanismen deze verschijnselen worden veroorzaakt.

Zie fig. 12.18 op blz. 378. Belangrijkste routes zijn maag-darmkanaal, luchtwegen, en bloed en

bindweefsel (hier onder één kopje genoemd). Symptomen: zie onderste regel fig. 12.18. Effectormechanismen: mestceldegranulatie en aantrekken van eosinofielen die vervolgens ook toxische stoffen, prostaglandines, leukotrienen en cytokines afscheiden.

5. Wat zijn de klinische verschijnselen van (systemische) anafylaxie en hoe worden deze veroorzaakt? Waaruit bestaat de behandeling?

Anafylaxie is een algemene allergische reactie van het lichaam die binnen enkele minuten kan ontstaan. Er kunnen meerdere organen bij deze, in principe levensbedreigende, reactie betrokken zijn. De allergische reactie treedt in de meeste gevallen op in het eerste uur na de uitlokkende gebeurtenis. Hoe sneller de reactie optreedt, des te ernstiger is het beloop. De meest voorkomende oorzaken van anafylaxie in Nederland zijn:

- insectensteken (wesp, bij, hommelmot)
- voedselbestanddelen (vooral pinda en noten)
- natuurrubberlatex
- geneesmiddelen (niet-steroïde anti-inflammatoire drugs - NSAID's, penicilline, anesthesie-mediatie, röntgencontrastmiddelen).

De klachten en verschijnselen worden veroorzaakt door het massaal vrijkomen van mediators (vooral histamine) na mestceldegranulatie.

Het klinische beeld wordt ingedeeld naar mate van ernst van de reactie:

1. Jeuk, vaak met uitgebreide roodheid van de huid en galbulten.
2. Zwelling van oogleden, lippen, keel, handen of elders.
3. Maagklachten: buikpijn, misselijkheid, braken, diarree.
4. Ademhalingsproblemen: druk op de borst, piepende ademhaling, kortademigheid, blauwe lippen, heesheid, moeite met praten en slikken.
5. Duizeligheid, verminderd aanspreekbaar zijn, wegraking.

Voor de therapie ervan is adrenaline het middel van eerste keus, daarna dienen anti-histaminica en corticosteroiden te worden gegeven. Voor de thuis- of schoolsituatie bestaat er een auto-injector, een adrenalinepen voor eenmalig gebruik. Voor anafylaxie is er daarnaast effectieve behandeling noodzakelijk met allergeenspecifieke immunotherapie (desensibilisering).

6. Hoe stelt u een allergie vast en hoe kan een patiënt worden gedesensibiliseerd?

De specifieke anamnese vormt de basis van elk allergie onderzoek. Vervolgens vindt IgE detectie plaats middels huidtest en/of bloedtest (RAST = radio-allergosorbent test). De klinische relevantie van aangetoond specifiek IgE (sensibilisatie) moet soms onderzocht worden met een provocatie test.

De bepaling van het totale IgE-gehalte in het bloed heeft geen plaats meer bij routine allergie diagnostiek

Voor de behandeling van sommige allergieën, waaronder bijengifallergie, kan tolerantie inductie worden verkregen door hooggeconcentreerde allergenen in stapsgewijs (aanvankelijk weken, later maanden) oplopende dosering (zeer geringe starthoeveelheid) toe te dienen gedurende lange tijd (gemiddeld 4 jaar). Dit wordt allergeenspecifieke immunotherapie (IT) genoemd (in Parham: desensitization). De toediening van het allergeen vindt plaats door subcutane injecties. Een effectieve bijengifbehandeling is meetbaar aan een toename van specifieke bijengif-specifieke IgG<sub>4</sub> antistoffen. Deze werken als blokkerende antistoffen omdat ze de allergene gifcomponenten wegvangen voordat die de binding met IgE kunnen aangaan. Verder heeft IgG<sub>4</sub> zelf geen effectorfunctie zoals complementactivatie. Naast de toename van bijengif-specifiek IgG<sub>4</sub> wordt een succesvolle IT immunologisch gekenmerkt door stijging van IL-10 en Tregs en een afname van Th<sub>2</sub> cel cytokines. Tenslotte is het probleemloos verdragen van een veldsteek of proefsteek door een honingbij in de vervolgfase van de behandeling een teken van effectiviteit van de behandeling.

7. Waar ligt de eigenlijke bron van een type-I allergie? Immers, het cytokinepatroon bepaalt welke

T-cel subset wordt gevormd uit TH<sub>0</sub>-cellen en daardoor ook welke immuunglobulines de B-cellen zullen gaan produceren. Raadpleeg nog eens par. 8-10, 9-9 en 12-6 uit Parham.

Bij type I allergie zijn de allergenen meestal kleine, goed oplosbare oligopeptides die in minieme hoeveelheid het immuunsysteem bereiken. Bij het eerste contact met het afweersysteem, wordt het allergeen opgenomen en verwerkt door een APC. Wanneer de APC het allergene deeltje presenteert aan de naïeve (CD4+) T-helpercel in het bijzijn van IL-4 (afkomstig van geactiveerde basofielen), ontwikkelt de naïeve Th-cel zich tot Th<sub>2</sub>-cel. Deze produceert meer IL-4 en andere cytokines, die op hun beurt en ook met fysiek contact de B-cel aanzetten tot ontwikkeling naar IgE producerende plasmacel. De aard, de plaats, de hoeveelheid en de duur van de allergeenblootstelling vormen naast de aanwezigheid van IL-4, belangrijke elementen bij de routing van antigeen naar allergeen.

8. Noem een karakteristiek kenmerk van allergische patiënten.

Mensen met type I allergieën zijn vaak van Caucasische afkomst. Zij hebben vaker een genetisch profiel dat leidt tot hogere concentraties circulerende eosinofielen en IgE dan mensen zonder type I allergie.

### Type-II allergie

#### **CASUS 8.2 ACUTE GLOMERULONEFRITIS MET LONGBLOEDINGEN**

Onderzoek van een nierbiopt bij een patiënt met een acute nierinsufficiëntie bracht een glomerulonefritis aan het licht met deposities van IgG langs de glomerulaire basaalmembraan (GBM) (zie Parham fig. 13.4). In het serum van de patiënt werden anti-GBM antistoffen aangetoond. Op grond van een bijkomende longbloeding werd de diagnose syndroom van Goodpasture gesteld. De patiënt werd opgenomen en behandeld met corticosteroiden, cyclofosfamide en plasmaferese om de anti-GBM antistoffen te verwijderen. De anti-GBM titer daalde en de patiënt genas. De auto-anti-GBM antistoffen zijn gericht tegen de α3 keten van collageen type-IV dat veel voorkomt in de basaalmembraan van nier en longalveoli.

9. Wat is het mechanisme dat verantwoordelijk is voor de beschadiging van de long en nier? Met andere woorden, tegen welk soort antigenen is de immunreactie gericht; en welke rol spelen complement en leukocyten hierbij?

Goodpasture syndroom. Antistoffen tegen basaalmembraan (ook in de long). Complement activatie gevolgd door neutrofielen/macrofaag activatie leidend tot een ontstekingsreactie. Zie ook Parham pagina 405-406 en fig. 13-4.

10. Geef ten minste nog één ander voorbeeld van een type-II reactie tegen weefselantigenen en leg in dat voorbeeld uit hoe de weefselschade is ontstaan en hoe deze immunreactie is geïnitieerd.

Voorbeeld: bij pemphigus vulgaris zijn er antistoffen tegen epidermaal cadherine, betrokken bij intercellulaire verbindingen. Binding van antistoffen zorgt voor complementactivatie en aantrekking van leukocyten via chemotactische complementproducten. Fc-gedeeltes van de antistoffen zorgen ook voor stimulatie van leukocyten en NK-cellen. Uiteindelijk treedt blaarvorming op. Parham pagina 430, fig. 13.2 en fig. 13-35.

11. Hoe stelt u een type-II reactie vast?

Aantonen van antistoffen tegen weefselantigenen vrij in het serum of gebonden aan antigenen in een weefselbiopt.

### Type-III allergie

### **CASUS 8.3 EEN ONGEWONE REACTIE OP PENICILLINE**

Gerdy wordt opgenomen met een pneumonie en wordt aanvankelijk behandeld met amoxicilline. Na 4 dagen wordt bekend dat uit het sputum een *Streptococcus pneumoniae* is gekweekt, en wordt amoxicilline vervangen door penicilline. Op dag 10 had zij naar huis gemogen, ware het niet dat ze plotseling koorts krijgt gepaard gaande met dikke gezwollen ogen en urticaria.

Ondanks het onmiddellijk toedienen van antihistaminica en het stoppen met de penicillinekuur nemen de klinische verschijnselen toe met roodheid over het hele lichaam, lymfeklierzwellen en splenomegalie, terwijl het leukocytegehalte weer is gestegen tot  $20 \times 10^9/l$ . Van een van de purpura wordt een huidbiopt genomen. Na een kuur met antihistaminica, ontstekingsremmers (naprosyne) en prednison nemen de klachten (gewrichtszwelling, splenomegalie) af.

12. Wat betekent in dit verband de term 'serum sickness'.

Antigenen komen in grote concentraties voor in het serum. De antilichaam reactie zal in het serum plaatsvinden. Eerst veel antigeen vervolgens immuuncomplexen en vervolgens overmaat aan antilichamen. Parham fig. 12-31 en 12-34

13. Leg uit welke cellen en welke immuunreacties verantwoordelijk zijn voor de klinische verschijnselen in de boven beschreven casuïstiek.

Complementactivatie met chemotaxie van de afbraakproducten van complement waardoor influx neutrofielen/macrofagen. Daarnaast degranulatie van mestcellen waardoor urticaria. Parham fig. 12.32 en 12.33.

14. Wat denkt u in de huidbiopten aan te treffen?

Oedeem en influx van neutrofielen en macrofagen. Evt. intravasale stolling.

15. Leg uit hoe weefselbeschadiging wordt veroorzaakt bij een lokale Arthus reactie.

Intradermaal antigeen reageert met antilichamen tot immuuncomplexen. Complement wordt geactiveerd en bloedplaatjes maken vasoactieve aminen. Ontstekingsreactie wordt verergerd door lysosomale enzymen uitgescheiden door neutrofielen.

16. Toen Gerdy enkele maanden later op controle kwam voor een huidtest om een directe immunologische overgevoeligheid voor penicilline te meten via intradermale injectie van penicilline bleek die huidtest negatief. Betekent dit nu dat er een verkeerde diagnose gesteld was bij haar en dat ze geen 'serum sickness' had gehad t.g.v. de penicillinebehandeling?

Nee, type III kun je niet met huidtest aantonen, wel met aanwezigheid van immuuncomplexen en complement-verbruik.

17. Leg uit wat een boerenlong is en waardoor deze wordt veroorzaakt.

Aspergillus is een schimmel die met name groeit in hooi, graan en uitwerpselen van vogels. De sporen van deze schimmels worden dagelijks ingeademd door veel boeren en duivenhouders. Deze sporen kunnen een type III overgevoeligheidsreactie opwekken in de longen. Als dit dagelijks blijft gebeuren, leidt dit uiteindelijk tot irreversibele longschade.

18. Wat is het verschil m.b.t. het antigeen in een type-III versus een type-II overgevoeligheidsreactie?

Type III overgevoeligheidsreacties worden uitgelokt door oplosbare antigenen. Dit leidt tot de vorming van immuuncomplexen. Type II overgevoeligheidsreacties worden uitgelokt door verandering van oppervlakte-componenten (receptoren of antigenen op het celmembraan) van lichaamseigen cellen met daarop depositie van antistoffen. Zie figuur 12.2 op blz. 367 van

Parham.

### Type-IV allergie

#### **CASUS 8.4 DE DURE OORBELLEN**

Truus (25 jaar) krijgt voor haar verjaardag van haar vriend een paar oorbellen. Gekocht bij de juwelier; echt goud; heel duur. Truus draagt de oorbellen een week en merkt dan dat haar oorlellen ontsteken. Ze laat de oorbellen uit maar de ontstekingen van beide oorlellen worden steeds uitgebreider. Na 10 dagen zit haar hele gezicht onder het eczeem.

Het eczeem in het gezicht ziet er net zo uit als de eczeemplek vroeger op haar buikhuid onder de navel. Dat kwam toen door de metalen jeansknoop. Truus was er eerder voor bij de dermatoloog geweest. Die deed een plaktest en ze bleek allergisch te zijn voor nikkel. Ze mocht geen nikkel meer op haar huid. De huisarts behandelt Truus met een hormoonzalfje (dermatocorticosteroid) voor het eczeem.

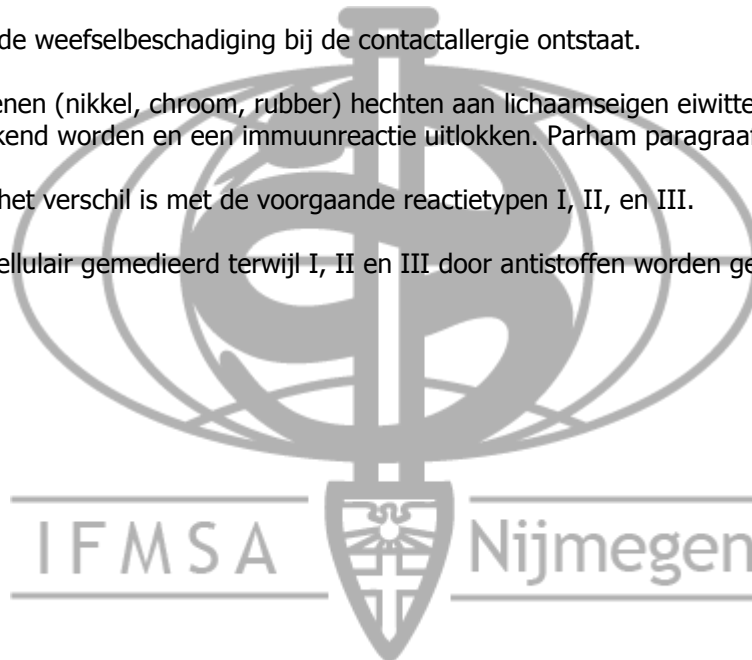
De vriend van Truus heeft inmiddels opgebiecht dat de oorbellen gekocht waren bij een marktkraam voor 'een prikkie'. Na 2 weken is het eczeem weg, en de vriend ook.

19. Leg uit hoe de weefselbeschadiging bij de contactallergie ontstaat.

Kleine haptenen (nikkel, chroom, rubber) hechten aan lichaamseigen eiwitten die daardoor als vreemd herkend worden en een immuunreactie uitlokken. Parham paragraaf 12-22.

20. Leg uit wat het verschil is met de voorgaande reactietypen I, II, en III.

Type IV is cellulair gemedieerd terwijl I, II en III door antistoffen worden gemedieerd.



## Samenvattend

Vul in onderstaande tabel in (met + en -) welke van de genoemde immunologische verschijnselen van toepassing zijn bij welk type immunologische overgevoeligsreactie.

1.1.1.1 Immunologisch verschijnsel	Type-I-reactie	Type-II-reactie	Type-III-reactie	Type-IV-reactie
IgE geïnduceerde degranulatie van mestcellen	++	--	--	--
Lysis van met antistoffen beladen erythrocyten door complement	--	++	--	--
C3a- en C5a- gemedieerde mestcel degranulatie	--	+	++	--
Chemotaxis van neutrofiële granulocyten	++	++	++	-/+
Activatie van macrofagen door IFN-gamma	--	--	--	+
Depositie van antigeen-antistof complexen op de basaal membraan van capillairen	--	--	++	--
Plotselinge dood t.g.v. vaatcollaps (shock) meteen na inspuiten of opnemen van antigeen	++	--	--	--

## THEMA 9 AUTO-IMMUNITEIT

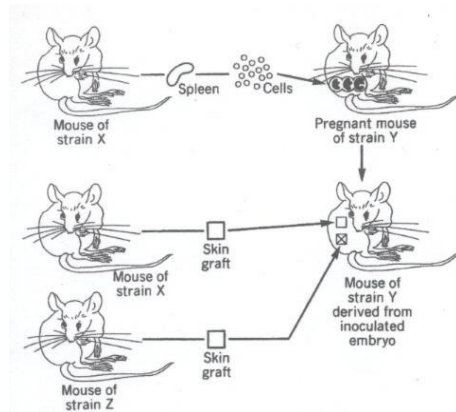
### ZSO 9 TOLERANTIE EN AUTO-IMMUNITEIT

#### ILLUSTRATIE 1

De eerste aanwijzing dat tolerantie een verworven eigenschap was van het immuunsysteem werd gevonden in kalveren. Soms worden kalveren geboren als tweelingen, zowel eeneiig als twee-eiig. Vanzelfsprekend zijn eeneiige tweelingen altijd van hetzelfde geslacht, terwijl twee-eiige tweelingen hetzelfde geslacht kunnen hebben of een verschillend geslacht.

Nu was het bij veehouders allang bekend dat bij tweelingen met een verschillend geslacht de mannelijke kalveren volledig normaal waren, terwijl de vrouwelijke kalveren mannelijke kenmerken (masculinisatie) konden vertonen. Een dergelijk vrouwelijk kalf met mannelijke kenmerken (een zgn. 'kween') was infertiel. Men ontdekte op basis van deze observatie dat de placenta's van een dergelijke twee-eiige tweeling tijdens de foetale fase gefuseerd waren. Hierdoor konden mannelijke geslachtshormonen, geproduceerd door het mannelijke kalf, via de gefuseerde placenta in de circulatie komen van het vrouwelijke kalf, en dit leidde vervolgens tot de masculinisatie. Wat heeft dit nu met immunologie en tolerantie te maken? In 1945 ontdekten Owen op grond van bloedgroepyperingen bij kalveren dat veel dieren werden getypeerd als eeneiige tweelingen, terwijl ze van een verschillend geslacht waren. Dit kon dus niet! Deze schijnbare contradictie leidde tot de gedachte dat ook rode bloedcellen van het ene kalf terecht zouden kunnen komen in de circulatie van het andere kalf zoals ook gebeurde met de mannelijke geslachtshormonen. Om dit verder te onderzoeken werden huidtransplantaten uitgewisseld tussen deze dieren, waarbij werd gevonden dat deze huidtransplantaten niet werden afgestoten, terwijl er toch sprake was van twee genetisch verschillende kalveren (twee-eiige tweeling). Het niet afstoten van huidtransplantaten is normaal voor een eeneiige tweeling, maar niet voor een twee-eiige tweeling. Blijkbaar waren de vrouwelijke kalveren tijdens de foetale fase tolerant geworden voor de histocompatibiliteits-antigenen (=MHC) van het mannelijke kalf en omgekeerd. Gebaseerd op deze en aanvullende experimenten werd in 1949 door Burnett de eerste hypothese m.b.t. tolerantie geformuleerd. Deze hypothese hield in, dat (eventueel zelfs vreemde) antigenen, gepresenteerd tijdens de foetale fase, worden beschouwd als 'zelf'. Dit leidt tot een verandering c.q. adaptatie van het immuunsysteem en de ontwikkeling van immunologische tolerantie. Om deze

hypothese te testen werd het experiment uitgevoerd dat staat aangegeven in fig. 9.1. Vermeldenswaard is dat dit experiment de basis was voor de Nobelprijs die werd toegekend aan Peter Medawar.



Billingham, Brent en Medawar injecteerden een mengsel van stam X miltcellen in stam Y foetussen. Nadat deze muizen volwassen waren geworden, werden ze getransplanteerd met twee huidtransplantaten, een afkomstig van stam X en een afkomstig van een niet verwante stam Z. Het transplantaat van stam X werd niet afgestoten, terwijl het transplantaat van stam Z wel werd afgestoten. Door het contact met de MHC antigenen van stam X tijdens de foetale fase was de ontvanger tolerant geworden voor deze antigenen. Deze tolerantie was specifiek want het huidtransplantaat van stam Z werd normaal afgestoten.

**Fig. 9.1**

Gelden deze mechanismen nu ook voor mensen?

## ILLUSTRATIE 2

Infectie van de moeder met rubellavirus tijdens de zwangerschap kan leiden tot de ontwikkeling van het zgn. congenitale rubellasyndroom bij het kind. Afhankelijk van het moment van de infectie tijdens de zwangerschap kan dit leiden tot ernstige geboortedefecten. Maar daarnaast is bekend dat bij deze kinderen, na de geboorte een persisterende rubellavirusinfectie kan worden aangetoond. Het kind is blijkbaar niet in staat geweest het virus te elimineren. Immunologisch onderzoek van deze kinderen toont aan dat hun immunrespons tegen het rubellavirus verminderd en soms zelfs afwezig is. Ook hier heeft het contact met het rubellavirus tijdens de foetale fase blijkbaar geleid tot de inductie van tolerantie voor het virus en daarmee het voorkomen van een effectieve immunrespons en viruseliminatie.

### 1. Welke overeenkomsten vallen u op?

De overeenkomst tussen illustratie 1 en 2 wordt gevormd door het feit dat het immuunsysteem tijdens de embryonale fase werd blootgesteld aan een 'vreemd' antigeen. Deze blootstelling tijdens deze embryonale fase leidde ertoe, dat het immuunsysteem deze vreemde antigenen is gaan beschouwen als autoantigenen. Dit leidde tot een klonale en/ of functionele deletie van T-cel klonen voor deze vreemde antigenen. Daardoor ontstond er een gat in het repertoire.

### 2. Beschrijf hoe autoreactieve B-cellen in het beenmerg kunnen worden uitgeschakeld.

Autoreactieve B-cellen (dus met een B-cel receptor voor autoantigenen) kunnen op een aantal manieren uitgeschakeld worden:

- i. contact met multivalente autoantigenen die tot expressie komen op het oppervlakte van cellen leidt in het beenmerg tot een stilstand in de verdere uitrijping van de B-cel. De B-cel krijgt vervolgens de gelegenheid tot receptor-editing: herschikking van de V- en J-segmenten in het gen voor de lichte keten totdat er een BCR ontstaat die niet auto-reactief is. Wanneer het door receptor-editing niet lukt om een BCR te verkrijgen die niet auto-reactief is gaat de immature B-cel in apoptose. (In de periferie kan herschikking van gensegmenten niet meer optreden omdat de RAG genen (Recombinant activating genes) dan zijn 'uitgezet').
- ii. contact met oplosbare monovalente antigenen leidt tot anergie (= functionele deletie). Dit proces kan zowel in het beenmerg als daarbuiten plaatsvinden en komt tot stand door internalisatie van de IgM BCR in het cytoplasma.

Een B-cel die niet wordt uitgeschakeld door bovenstaande selectiemechanisme rijpt uit tot een naïeve mature B-cel. Voor een verdere ontwikkeling tot plasmacel is contact vereist met antigeen en hulp van CD4<sup>+</sup> T-cellen in de secundaire lymfoïde organen. Wanneer deze autoreactieve T-cel afwezig is (T-cel selectie), vindt geen verdere stimulatie plaats en gaat de betreffende B-cel in apoptose (fig. 13.19 op pag. 418).

3. Beschrijf hoe de T-cel selectie plaatsvindt in de thymus.

In de thymus worden immature CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T-cellen aan 2 selectieprocessen onderworpen:

- i. positieve selectie: T-cellen die kunnen binden aan eigen MHC klasse II differentiëren verder als CD4<sup>+</sup> cellen, terwijl T-cellen die kunnen binden aan MHC klasse I differentiëren naar CD8<sup>+</sup> T-cellen.
- ii. negatieve selectie: T-cellen die binden aan MHC moleculen met autoantigenen die tot expressie komen op dendritische cellen, macrofagen en medullaire epitheliale cellen, ondergaan apoptose en worden daarmee verwijderd. Op deze manier vindt er eliminatie plaats van zelf-reactieve T-cellen. Voorwaarde voor deze selectie is wel dat deze autoantigenen in de thymus tot expressie komen.

4. Beschrijf hoe autoreactieve T-cellen die aan de centrale selectie in de thymus ontsnappen toch onschadelijk gemaakt worden.

Perifere tolerantie kan worden geïnduceerd door sequestratie van autoantigenen, d.w.z. de auto-antigenen bevinden zich op een plaats waar het immuunsysteem hen niet kan bereiken, of door inductie van klonale anergie. Dit laatste proces vindt vooral plaats wanneer het autoantigeen op een niet-immunogene manier wordt gepresenteerd aan de T-cel. Belangrijke co-stimulatoire signalen ontbreken hier, zodat er geen stimulatie ontstaat. Bekend voorbeeld van zo'n co-stimulatoir signaal is de CD80/CD86-CD28 interactie. Daarnaast kunnen auto-reactieve T-cellen onderdrukt worden door regulatoire T-cellen (Treg).

5. Wat is de functie van regulatoire T cellen?

Regulatoire T cellen (CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, FoxP3<sup>+</sup>) worden geactiveerd na contact met auto-antigeen en kunnen andere cellen (CD4<sup>+</sup> cellen, CD8<sup>+</sup> cellen en DC) remmen door cel-cel contact of de productie van cytokines (m.n. TGF-beta en IL-10). Een congenitale deficiëntie van FoxP3 (IPEX) leidt tot een fatale auto-immuunziekte. Uit dezelfde precursor als de Treg kunnen Th17 cellen ontstaan na stimulatie met TGF-beta en IL-6. Verder is IL-23 belangrijk voor de differentiatie van deze cellen. Th17 cellen zijn pro-inflammatoir, trekken via IL-17 productie neutrofielen aan en spelen een rol bij auto-immuunziekten en chronische ontstekingen (pag. 420).

6. Door welk mechanisme worden autoreactieve B-cellen apoptotisch in de secundair lymfoïde organen?

Zie vraag 2.

7. Maak een samenvatting van de door u gevonden mechanismen voor inactivatie van autoreactieve T-cellen en B-cellen door het onderstaande schema in te vullen:

	T-cellen	B-cellen
<b>Centraal</b>	- Negatieve selectie in thymus → deletie (fig. 7.16, 7.17, 7.18 en fig.7.21)	- Contact met celgebonden auto-ag → klonale deletie in beenmerg (fig. 6.17) - Contact met oplosbaar auto-ag → anergie (fig. 6.19)
<b>Perifeer</b>	- Niet immunogeen contact met autoantigeen op cel zonder co-stimulatie → anergie (fig. 8.18)	- Contact met oplosbaar auto-ag → anergie (fig. 6.19) - Ontbreken van T-cel hulp in sec. lymfoïde



	- Suppressie door regulatoire T-cellen (fig. 7.19 en 13.22)	organen (fig. 13.19)
--	---	----------------------

8. Beschrijf de mechanismen die kunnen leiden tot doorbraak van tolerantie voor zelf en tot het ontstaan van auto-immuunziekten.

Er zijn meerdere mechanismen die kunnen leiden tot doorbraak van zelf-tolerantie:

- i. onvoldoende expressie van autoantigenen in de thymus (deficiëntie van de transcriptie-factor AIRE die de expressie regelt van weefsel-specifieke eiwitten in de thymus, par. 7.12 pag. 202).
  - ii. verminderde productie van CTLA-4 dat met CD28 competeert voor de binding aan B7 (CD80 en CD86); CTLA-4 binding aan B7 voorkomt activatie van de betreffende T-cel (of geeft zelfs een negatief signaal).
  - iii. te weinig onderdrukking van de auto-immuun respons door regulatoire T-cellen.
- Daarnaast is er nog een aantal omgevingsfactoren dat kan bijdragen aan het ontstaan van auto-immuniteit, m.n. via infecties (zie antwoorden vraag 11 en 12).

9. Op welke andere subset van T cellen vindt u Th17 cellen qua functie het meest lijken?

Th17 cellen behoren tot de groep van T helper cellen en vertonen als zodanig een overeenkomst met Th1 en Th2 cellen. Ze vertonen qua functie geen overeenkomst met Treg, hoewel ze wel een ontogenetische verwantschap hebben.

10. Beschrijf hoe het HLA systeem betrokken is bij het ontstaan van auto-immuniteit.

HLA is de sterkste genetische determinant voor het ontstaan van auto-immuunziekten. Zowel binnen families als in populatiestudies worden sterke associaties gevonden met HLA (Fig. 13.23, Fig. 13.24). Zoals afgebeeld in Fig. 13.26 bepalen één of 2 aminozuursubstituties de gevoeligheid voor IDDM die zowel beschermend kan zijn of tot een verhoogd risico leidt. Aangenomen wordt dat deze AA substituties bepalen of een bepaald peptide (afkomstig van een micro-organisme met eventueel moleculaire mimicry met een autoantigen) gepresenteerd kan worden via HLA klasse I of II aan T-cellen. Daarnaast kan een bepaald MHC klasse II polymorfisme bepalen wat de specificiteit van de auto-immuun respons is (bijv. voor SLE: HLA-DR3: anti RNP response; HLA-DR2: anti-dsDNA response; HLA-DR5: anti-spliceosoom bijv. Sm, SS-A of SS-B).

11. Noem twee voorbeelden van omgevingsfactoren die kunnen bijdragen aan het ontstaan van auto-immuunziekten.

- i. roken bij het syndroom van Goodpasture. Bij deze ziekte worden autoantistoffen gevormd tegen het NC1 domein van collageen  $\alpha 3$  aanwezig in de glomerulaire basaalmembraan (GBM). Deze veroorzaken anti-GBM nefritis. Dit antigeen komt ook voor in de basaalmembraan van alveoli. Normaliter is dit antigeen slecht bereikbaar. Roken verandert de alveoli zodanig dat het antigeen wel bereikbaar wordt. Dit leidt tot binding van deze antistoffen met longbloedingen als gevolg (=syndroom van Goodpasture: =anti-GBM nefritis + longbloedingen).
- ii. doorbreken van anatomische barrières. In het lichaam zijn bepaalde plaatsen niet bereikbaar voor het immuunsysteem (bijv. oog, hersenen, testis). Dit wordt sequestratie van auto-antigenen genoemd. Een voorbeeld is de 'sympathische ophthalmie'. Een trauma van het ene oog kan leiden tot een auto-immuun reactie tegen het andere oog (fig. 13.28).
- iii. Bij RA bestaat er een interactie tussen roken en DRB1\*04 (fig. 13.30; pag. 427) Aangenomen wordt dat roken leidt tot activatie van peptidyl arginine de-aminase (PAD). PAD zet arginine om tot citrulline. DRB1\*04 is een klasse II molecuul dat heel goed gecitrullineerde peptiden kan presenteren aan T cellen.

12. Waarom kunnen infectieziekten onder bepaalde omstandigheden auto-immuniteit veroorzaken?

Epidemiologische studies suggereren een relatie tussen infectieziekten en het ontstaan van bepaalde auto-immuunziekten. Voorbeelden:

- i. infectie met streptococci kan leiden tot acuut reuma. Antistoffen tegen de streptococci kruis-reageren met autoantigenen aanwezig in bijv. endocard. De overeenkomst tussen microbiële antigenen en autoantigenen wordt 'molecular mimicry' genoemd (Fig. 13.31)
- ii. Reiter syndroom / reactieve arthritis na infectie met Chlamydia, Shigella, Salmonella, Yersinia en Campylobacter (Fig. 13.32)
- iii. IDDM na infectie met o.a. Coxsackie virus.

Daarnaast kan door een infectie de balans tussen tolerantie en auto-immuniteit verstoord worden. Mechanismen:

- i. Activatie van (anergische) autoreactieve T-cellen door de inflammatoire respons (o.a. cytokine release) geïnduceerd door de infectie.
- ii. Kruisreactiviteit van T-cel receptoren, initieel geactiveerd door een peptide afkomstig van een micro-organisme, met een peptide afkomstig van een autoantigeen (zie fig. 13.33). Dit is een voorbeeld van moleculaire mimicry op T-cel niveau (overeenkomstig de moleculaire mimicry zoals eerder beschreven voor antistoffen).
- iii. Infectie van een cel leidt tot een verhoogde expressie van MHC klasse I en II moleculen op het oppervlak. Hierdoor ontstaat er een grotere dichtheid van MHC moleculen die peptide presenteren (inclusief peptiden afkomstig van autoantigeen). Door deze verhoogde expressie kan de drempel overschreden worden voor activatie van T-cellen (die niet werden getriggerd door de oorspronkelijke lagere expressie). Met name de expressie van MHC klasse II door IFN- $\gamma$  op niet lymfoïde cellen (schildklier-, pancreas bèta-, zenuw- en microglia cellen) kan leiden tot een T-cel activatie (fig. 13.34).
- iv. Infectie kan leiden tot apoptose van weefselcellen. Tijdens apoptose kunnen autoantigenen veranderd worden. Deze gemodificeerde autoantigenen kunnen vervolgens worden opgenomen door dendritische cellen die deze gemodificeerde autoantigenen (waarvoor geen tolerantie bestaat) immunogeen presenteren op MHC klasse II aan T-cellen, die vervolgens geactiveerd worden. Via 'epitope spreading' kunnen vervolgens ook T-cellen worden geactiveerd die niet-gemodificeerde autoantigenen herkennen.

13. In thema 8 hebt u kennis gemaakt met de vier verschillende typen immunologische overgevoeligheid. Op basis van deze kennis geeft u voor onderstaande voorbeelden van auto-immuunziekten aan via welk van deze vier immunologische reactiepatronen ziekteverschijnselen tot stand komen. Onder het hoofd mediators geeft u aan welke immunologische effectormechanismen (bijv. antistoffen, complement, macrofagen, cytotoxische T-cellen) leiden tot de orgaanschade.

Ziekte	Mechanisme	Mediatoren
Myasthenia gravis	Type II	autoantistoffen tegen acetylcholine receptor
Syndroom van Goodpasture	Type II	antistoffen tegen de glomerulaire basaalmembran
Multiple sclerose	Type IV	T-cellen die aanleiding geven tot een demyelinisatie
SLE glomerulonefritis	Type III	immuuncomplexen
Auto-immuun hemolytische anemie	Type II	antistoffen tegen rode bloedcellen

Insuline-afhankelijke diabetes mellitus (type I)	Type IV	cytotoxische T-cellen die aanleiding geven tot destructie van insuline producerende bètacellen
Ziekte van Graves	Type II	stimulatie van de TSH receptor via antistoffen tegen de TSH receptor

14. Beschrijf het belangrijkste verschil tussen een orgaanspecifieke en systemische auto-immuunziekte.

Systemische auto-immuunziekten worden vooral gekenmerkt door afwijkingen in de nieren, de huid en in de gewrichten, terwijl de orgaanspecifieke vooral symptomen geven afhankelijk van het orgaan dat is aangedaan. Bij de systemische auto-immuunziekten is de auto-immuunrespons gericht tegen een systemisch voorkomend autoantigeen, dat vaak circuleert, terwijl de auto-immuunrespons bij een orgaanspecifieke auto-immuunziekte vooral gericht is tegen een op het celoppervlak aanwezige determinant.

Bij de orgaanspecifieke auto-immuunziekten zullen de ziekteverschijnselen vooral tot stand komen via een type II of type IV reactie, terwijl bij de systemische auto-immuunziekten dit vooral zal gebeuren door een type III reactie, waarbij er deposities ontstaan van circulerende autoantigeen-autoantistof complexen.

15. Bij een auto-immuun hemolytische anemie worden erythrocyten vernietigd. Beschrijf via welke mechanismen deze eliminatie tot stand kan komen?

Bij auto-immuun hemolytische anemie hebben de erythrocyten andere oppervlakte-componenten dan normaal. Hierdoor wordt het humorale verworven immuunsysteem geactiveerd. Er wordt IgM en IgG geproduceerd dat gaat binden aan de 'epitopen' op het oppervlak van de erythrocyten. Dit geeft opsonisatie en leidt tot activatie van het complementsysteem (via de klassieke route). De complementactivatie leidt eveneens tot opsonisatie (coating van de erythrocyten met C3b en C4b), en tot de vorming van membrane attack complexen (MAC's) en tot lysis van de erythrocyten ('hemolyse').

16. Welke immunologische mechanismen kunnen leiden tot een dysfunctie van de schildklier?

Er zijn verschillende auto-immuunziekten van de schildklier. Parham bespreekt er twee:

1. De ziekte van Hashimoto. Hierbij gaat het lichaam antistoffen produceren tegen thyroïd peroxidase en/of thyroglobuline. Daarnaast wordt de schildklier geïnfiltrated door T-lymfocyten. Beide processen leiden tot destructie van de schildklier. Hierdoor wordt er onvoldoende schildklierhormoon (T4) geproduceerd en krijgt de patiënt symptomen van hypothyreoïdie.
2. De ziekte van Graves. Hierbij wordt er een auto-immuunrespons opgeroepen tegen de TSH-receptoren van de schildklier. Als er antistoffen aan de TSH-receptoren worden gebonden, dan leidt dit tot hetzelfde effect als binding van het TSH zelf. Bij de ziekte van Graves 'denkt' de schildklier daarom dat hij continu gestimuleerd wordt door TSH om meer T4 te gaan produceren. Dit leidt tot hyperthyreoïdie.

17. Leg uit hoe een auto-immuunrespons bij de zwangere moeder kan leiden tot auto-immuunverschijnselen bij een pasgeboren baby.

Tijdens de zwangerschap ontvangt de foetus IgG van de moeder via de placenta. De pasgeboren baby heeft dus IgG tegen dezelfde antigenen als de moeder. Dus als de moeder symptomen heeft van een auto-immuunziekte waarbij IgG is gericht tegen lichaamseigen stoffen, dan krijgt de pasgeboren baby deze symptomen ook. Het IgG wordt na de geboorte in de loop van maanden geleidelijk afgebroken.

18. Beschrijf de immunologische mechanismen die kunnen leiden tot type 1 diabetes.

Patiënten met type 1 diabetes hebben een T-cel respons tegen de bèta-cellen van de eilandjes van Langerhans (in de pancreas) en maken antistoffen tegen de eiwitten in deze eilandjes (o.a. tegen insuline en glutaminezuur decarboxylase). Hierdoor ontstaat dysfunctie van de bètacellen en neemt de insuline-productie steeds verder af.

19. Verklaar waarom autoantistoffen kunnen leiden tot spierzwakte bij myasthenia gravis?

Bij myasthenia gravis worden er antistoffen gevormd tegen de acetylcholinereceptoren op spiercellen. Dit leidt tot afname van het aantal receptoren en blokkade van hun functie. Hierdoor reageren de spiercellen onvoldoende op de signalen van de zenuwen. Dit leidt tot spierzwakte.

### **CASUS 9.1 SLE GLOMERULONEFRITIS**

Een 23-jarige vrouw bezoekt de polikliniek Inwendige Ziekten i.v.m. spierpijn en arthralgieën. Tevens heeft zij sinds een week een rode uitslag in het gezicht, niet jeukend, en temperatuursverhoging tot 38 °C. Bij onderzoek moeilijk lopend i.v.m. de arthritis van de knieën, vliedervormig exantheem in het gezicht, en daarnaast een systolische soufflé graad 2/6, maximaal 4<sup>e</sup> intercostaalruimte links. Bij laboratoriumonderzoek (alleen afwijkende bevindingen worden vermeld): bezinking 106 mm/eerste uur; hemoglobine 6,1 mmol/l; leukocyten 3,0 x 10<sup>9</sup>/l; Coombs test positief; antinucleaire antistoffen 4 + positief, homogeen; anti-dsDNA positief; C3 559 mg/l (verlaagd); C4 99 mg/l (verlaagd); eiwituitscheiding in de urine: 2,8 g/24h; urinesediment meerdere erythrocytencilinders. Echocardiogram: mitralisklepinsufficiëntie. Nierbiopsie: diffuus proliferatieve glomerulonefritis met verse lisenecrose in 40% van de glomeruli. Bij immunofluorescentie onderzoek: grove neerslagen van IgG, IgM en IgA langs de capillaire lisenwanden van de glomerulus en in het mesangium. Uitgebreide deposities van C3 en C1q zowel langs de lisenwanden en in het mesangium. Op grond van anamnese, lichamelijk onderzoek, laboratoriumonderzoek en nierbiopsie wordt de diagnose systemische lupus erythematoses met glomerulonefritis gesteld. Uit aanvullende anamnese blijkt dan dat een oudere zus van patiënte bekend is met gewrichtsklachten op basis van SLE. Na het stellen van de diagnose wordt behandeling gestart met prednison 60 mg/dag, en cyclofosfamide 150 mg/dag. De gewrichtsklachten verdwijnen, de proteïnurie wordt geleidelijk minder, en de spiegels van de complementfactoren worden normaal binnen 3 maanden.

20. Welke predisponerende factoren kunt u aangeven in deze ziektegeschiedenis voor het ontstaan van de auto-immuunziekte?

De patiënte is een vrouw (vrouwelijke hormonen bevorderen het ontstaan van SLE) en heeft een positieve familiegeschiedenis (erfelijke aanleg).

21. Op grond van welke criteria is de diagnose SLE gesteld?

De diagnose SLE wordt gesteld als de patiënt ten minste 4 van de volgende 11 symptomen of verschijnselen heeft en/of heeft gehad:

1. Vliedervormige huiduitslag in het gezicht
2. Schijfvormige (discoïde) huidafwijkingen
3. Overgevoeligheid voor zonlicht (ongebruikelijke uitslag van aan zonlicht blootgestelde huid)
4. Zweetjes in mond of neus
5. Ontsteking van twee of meer gewrichten (arthritis)
6. Ontsteking van het hartzakje (pericarditis) of het longvlies (pleuritis)
7. Nierafwijkingen: meer dan 0,5 gram eiwit in de urine per dag en/of de aanwezigheid van celcilinders in de urine
8. Neurologische afwijkingen: toevallen (epilepsie) of psychose
9. Afwijkingen in het bloedbeeld: bloedarmoede ten gevolge van versterkte afbraak van rode bloedcellen; tekort aan witte bloedcellen; tekort aan bloedplaatjes

10. Aanwezigheid van bepaalde antistoffen in het bloed (bijvoorbeeld anti-dsDNA of anti-Sm antistoffen; antifosfolipide antistoffen (een vals-positieve syfilis test); anti-cardiolipine antistoffen; lupus anti-coagulant)
11. Aanwezigheid van antinucleaire antistoffen (ANA)

Deze patiënt had vlindervormige huiduitslag in het gezicht, artritis, anemie, leukopenie, anti-dsDNA en ANA.

N.B. De reden dat er gebruik wordt gemaakt van zoveel criteria is dat geen van deze verschijnselen (ook het ANF niet) specifiek zijn voor SLE.

22. Waarom zijn er in de nierbiopsie deposities aanwezig van immuunglobulines en complementfactoren? Via welk mechanisme zijn deze tot stand gekomen?

Patiënten met SLE maken antistoffen tegen eiwitten in de celkernen van lichaamseigen cellen (bijv. ANA, anti-dsDNA). Dit leidt tot een type III overgevoeligheidsreactie omdat er zeer veel antigenen aanwezig zijn. Er worden kleine immuuncomplexen gevormd, die geen complement binden en die zeer slecht worden geklaard uit de bloedbaan. De immuuncomplexen slaan neer in kleine bloedvaten, gewrichten en in de glomeruli van de nieren. Als deze immuuncomplexen zijn neergeslagen, leiden ze tot de activatie van het complementsysteem en depositie van complementeiwitten.

23. Hoe is de necrose ontstaan in de glomerulus?

De immuuncomplex deposities activeren het complement systeem. De anafylatoxines (C3a en C5a) die hierbij worden geproduceerd veroorzaken een ontstekingsreactie. Zoals bij alle ontstekingsreacties, worden hier niet alleen de boosdoeners (immuuncomplexen) beschadigd, maar ook het omringende weefsel (zie mechanisme van Arthusreactie).

24. Wat is de verklaring voor de verlaagde complementspiegels in het serum?

De complementfactoren worden verbruikt door de activatie van het complementsysteem in de glomeruli.

25. Waarom behoort de auto-immuunziekte van patiënte tot de groep van systemische auto-immuunziekten?

Er zijn meerdere organen aangedaan doordat de auto-antistoffen niet orgaanspecifiek zijn. In dit geval ervaart de patiënt symptomen van de huid, de gewrichten en de nieren.

26. Waarom is de behandeling met prednison en cyclofosfamide werkzaam bij deze patiënte?

Beide middelen remmen de activiteit van het immuunsysteem. Hierdoor nemen de productie van antistoffen, de activatie van het complementsysteem en de hevigheid van de ontstekingsreactie af.

27. Waarom normaliseren de complementspiegels?

Het verbruik van complementfactoren in de glomerulus neemt af. De aanmaak in de lever zorgt voor het weer op peil brengen van de complementspiegels.

28. Wat gebeurt er met de autoantistoffen in de fase dat de patiënte hersteld is?

Als de ziekte tot rust komt gaat dit meestal gepaard met een afname van de productie van de auto-antistoffen. Deze productie wordt geremd door de immunosuppressieve therapie.

## 2 THEMA 10 TRANSPLANTATIE-IMMUNOLOGIE

### ZSO 10 TRANSPLANTATIE

#### **CASUS 10.1 NIERTRANSPLANTATIE**

Een patiënte met een SLE-nefritis ontwikkelt ondanks immunosuppressieve behandeling na 3 jaar een blijvende nierinsufficiëntie waarvoor behandeling met dialyse wordt gestart. Enkele maanden na de start van de dialysebehandeling biedt de moeder van patiënte een nier aan. In het eerste oriënterende gesprek met de moeder blijkt dat deze haar aanbod zeer goed heeft overwogen. De eerste voorbereiding bestaat uit het bepalen van de bloedgroep van donor en ontvanger. Deze blijkt gelukkig identiek te zijn: er is sprake van bloedgroep O. Zoals te verwachten zijn de HLA-kenmerken van de moeder voor 50% identiek met de dochter. De HLA-typering van de moeder is: A2,A24;B8,B27;DR3, DR5. De HLA-typering van de dochter is: A2,A2;B8,B18;DR2,DR3. Vervolgens vindt er een kruisproef plaats, waarbij lymfocyten van de moeder in een buisje worden samengebracht met serum van de dochter. Uit deze test blijkt, dat de dochter geen antistoffen heeft tegen de moeder. Er is dus sprake van een negatieve kruisproef. Na dit voorbereidend laboratoriumonderzoek vindt er een uitgebreid medisch onderzoek plaats bij de moeder, waarbij blijkt dat zij een normale bloeddruk heeft, 2 gezonde en goed functionerende nieren, die allebei van bloed voorzien worden door elk één nierarterie. Vervolgens wordt de transplantatie gepland en wordt met succes de rechter nier getransplanteerd naar de dochter. Zoals vrijwel altijd bij een familietransplantatie functioneert de getransplanteerde nier onmiddellijk en verbetert de nierfunctie snel. Vanaf het moment van de transplantatie wordt de ontvanger behandeld met prednison, tacrolimus en mycofenolaat mofetil. De ontvanger herstelt snel van de transplantatie en kan 14 dagen na de transplantatie in zeer goede conditie uit het ziekenhuis ontslagen worden. Echter één maand na de transplantatie blijkt bij poliklinische controle dat het serumcreatinine plotseling met 30% gestegen is. Na uitsluiting van andere oorzaken voor deze achteruitgang van de transplantaatfunctie, wordt bij patiënte een transplantaatnierbiopsie verricht. Deze biopsie toont in de cortex van de transplantaatnier een uitgebreid mononucleair celfiltraat en interstitieel oedeem. Immunofenotypering van deze mononucleaire cellen toont een grote hoeveelheid CD8 positieve en in iets mindere mate CD4 positieve T-cellen. Daarnaast is er sprake van een toegenomen aanwezigheid van macrofagen. De diagnose op basis van deze transplantaatbiopsie luidt: acute transplantaatafstoting. Op grond hiervan wordt patiënte behandeld met intraveneuze giften van antithymocytenglobuline (ATG). Dit leidt zoals vrijwel altijd tijdens de eerste infusie tot een koude rilling en temperatuurstijging, die van voorbijgaande aard is. In totaal ontvangt zij 7 giften in een periode van 2 weken. Deze behandeling wordt zonder problemen verdragen. Als gevolg van deze behandeling ontstaat er een daling van het serumcreatinine naar de oorspronkelijke waarde. Nadien hebben zich geen problemen meer voorgedaan en heeft patiënte nu 4,5 jaar na transplantatie een uitstekende transplantaatfunctie.

1. Beredeneer hoe gerealiseerd kan worden dat er een zo groot mogelijke overeenkomst bereikt wordt voor HLA kenmerken tussen donor en ontvanger, m.n. voor postmortale donoren.

Vanwege het zeer sterke polymorfisme van de verschillende HLA-antigenen kan een zo goed mogelijke overeenkomst voor HLA-kenmerken tussen donor en ontvanger alleen maar gerealiseerd worden, indien men beschikt over een groot aantal donoren. Dit kan alleen bereikt worden door een groot internationaal samenwerkingsverband zoals Eurotransplant, waarbij de beschikbare donornieren worden getypeerd en worden gematched met de best passende ontvanger.

2. Bij de voorbereiding van de familietransplantatie werd ook de HLA-typering verricht bij de zussen van patiënte. Van één zus was de typering: A1, A24; B8, B27; DR3, DR5. Wat was de typering van de vader?

De typering van de vader is A1,A2; B8,B18; DR2,DR3.

3. Hoe wordt een kruisproef uitgevoerd? Wat kan men met een dergelijke kruisproef vaststellen?

Bij een kruisproef worden lymfocyten van de donor toegevoegd aan het serum van de ontvanger. Tevens wordt vers serum toegevoegd als complementbron. Indien er in het serum antistoffen aanwezig zijn die donorantigenen herkennen, zullen deze binden aan de lymfocyten en complement activeren. Dit leidt tot cellysis van de donorlymfocyten en men spreekt dan van een positieve kruisproef.

4. Wat zijn minor histocompatibility antigenen?

Minor histocompatibility antigenen zijn polymorfe non-MHC eiwitten, voor welke de donor en de ontvanger verschillende allotypes hebben. Peptiden afkomstig van deze niet-identieke polymorfe eiwitten worden via ontvanger APC's gepresenteerd aan ontvanger T-cellen en kunnen op deze manier een cellulaire immuunrespons induceren (fig. 15.31).

5. Wat is het verschil tussen een hyperacute, een acute en een chronische afstoting?

Er wordt van een hyperacute afstoting gesproken indien de afstoting ontstaat onmiddellijk na het vrijgeven van de circulatie in het getransplanteerde orgaan. Een dergelijke hyperacute afstoting berust op de aanwezigheid van circulerende reeds aanwezige antistoffen. Bij een acute afstoting is er sprake van een T-cel gemedieerde reactie (vooral CD8<sup>+</sup> maar ook CD4<sup>+</sup> T-cellen) in het transplantaat (fig. 15.7). Een voorbeeld van een type IV reactie. Bij een chronische afstoting is er sprake van een geleidelijke achteruitgang van de transplantaatfunctie, die vooral gekenmerkt wordt door vasculaire afwijkingen (intimafibrose e.d., fig. 15.10). Waarschijnlijk spelen daarbij vooral antistoffen een belangrijke rol.

6. Waardoor zijn alloreactieve T-cel responsen veel sterker dan een T-cel respons tegen microbiële antigenen?

Vreemde MHC-peptide complexen kunnen op een directe wijze door alloreactieve ontvanger T-cellen worden herkend. Wanneer donor en ontvanger niet gematched zijn voor MHC, is er een groot repertoire van T-cel klonen die een vreemd MHC-peptide complex kunnen herkennen (par. 15-7). De frequentie van alloreactieve cellen is daardoor veel hoger dan van T-cellen die een of enkele specifieke microbiële antigenen in de context van eigen MHC ('indirecte presentatie') herkennen.

7. Waarom wordt er toch immunosuppressie gegeven na het verrichten van een HLA-identieke transplantatie tussen bijv. broer en zus? Wat is anders in deze situatie dan bij transplantatie tussen een eeneïge tweelingen.

Een HLA-identieke transplantatie tussen broer en zus is verschillend van een HLA-identieke transplantatie tussen een eeneïge tweeling, omdat deze eeneïge tweeling ook overeenkomt voor de minor histocompatibility antigenen. Een verschil in minor antigenen, gelegen buiten het HLA, heeft invloed op de transplantaatoverleving. Daarom wordt er ook na een HLA-identieke transplantatie tussen broer en zus altijd immunosuppressie gegeven.

8. Welke wijze van antigeenpresentatie (direct of indirect) en welke effectormechanismen zijn betrokken bij chronische resectie?

Bij het induceren van chronische resectie speelt de presentatie van donor-antigenen door lichaamseigen APC (indirecte presentatie) de belangrijkste rol. Er wordt naast een T-cel respons ook een B-cel respons met productie van anti-HLA-antilichamen in gang gezet (par. 15-9).

9. Beredeneer wat de gevolgen zijn indien een transplantatie wordt uitgevoerd bij een positieve kruisproef tussen donor en ontvanger? Wat zou er gebeuren indien een nier van een donor met bloedgroep A wordt getransplanteerd naar een ontvanger met bloedgroep B?

Indien een transplantatie wordt uitgevoerd over een positieve kruisproef zullen de aanwezige reeds gevormde antistoffen zich onmiddellijk binden aan de antigenen in het transplantaat. Dit zal leiden tot een directe complementactivatie en cytotoxie met een hyperacute afstoting als

gevolg. Een soortgelijke situatie zal zich voordoen bij een transplantatie over een bloedgroepbarrière, omdat een ontvanger met een bloedgroep B anti-A antistoffen heeft, die zullen reageren met de in het transplantaat aanwezige bloedgroepantigenen A.

10. Beschrijf chronologisch welke immunologische effecten er ontstaan indien een orgaan wordt getransplanteerd zonder immunosuppressie.

Afhankelijk van de antigenen verschillen tussen donor en ontvanger en de immunocompetentie van de ontvanger (bij niertransplantatie is er bijv. sprake van een algemene verminderde immunoreactiviteit bij dialysepatiënten), zal er een primaire immunerespons optreden, waarbij de MHC klasse II antigenen vooral aanleiding geven tot een generatie van T helper cellen en de MHC klasse I verschillen vooral aanleiding geven tot CD8 positieve cytotoxische T-cellen. Dit leidt tot een cellulair gemedieerde CD4 positieve en CD8 positieve immunerespons in het transplantaat, welke wanneer die niet wordt gecoupeerd aanleiding zou geven tot een uitgebreide type IV reactie met influx van macrofagen en andere ontstekingscellen. Dit zal behalve in het interstitium ook plaatsvinden in bloedvaten met daardoor een afname van de perfusie en ischemie van het transplantaat. Afhankelijk van de snelheid van dit proces kan na ± enkele dagen ook een antistofgemedieerde afstoting hierbij nog een rol spelen.

11. Bespreek aan de hand van fig. 10.1 de verschillende manieren waarop u de immunerespons na de transplantatie kunt beïnvloeden om afstoting te voorkomen.

Voorbeelden van hoe de immunerespons kan worden geremd:

- remming van calcineurine
- blokkade van de T-cel receptor voor IL-2 of van signaaltransductie na activering van de IL2-R
- blokkade van het co-stimulatoire signaal
- remmen van DNA-synthese in de celcyclus

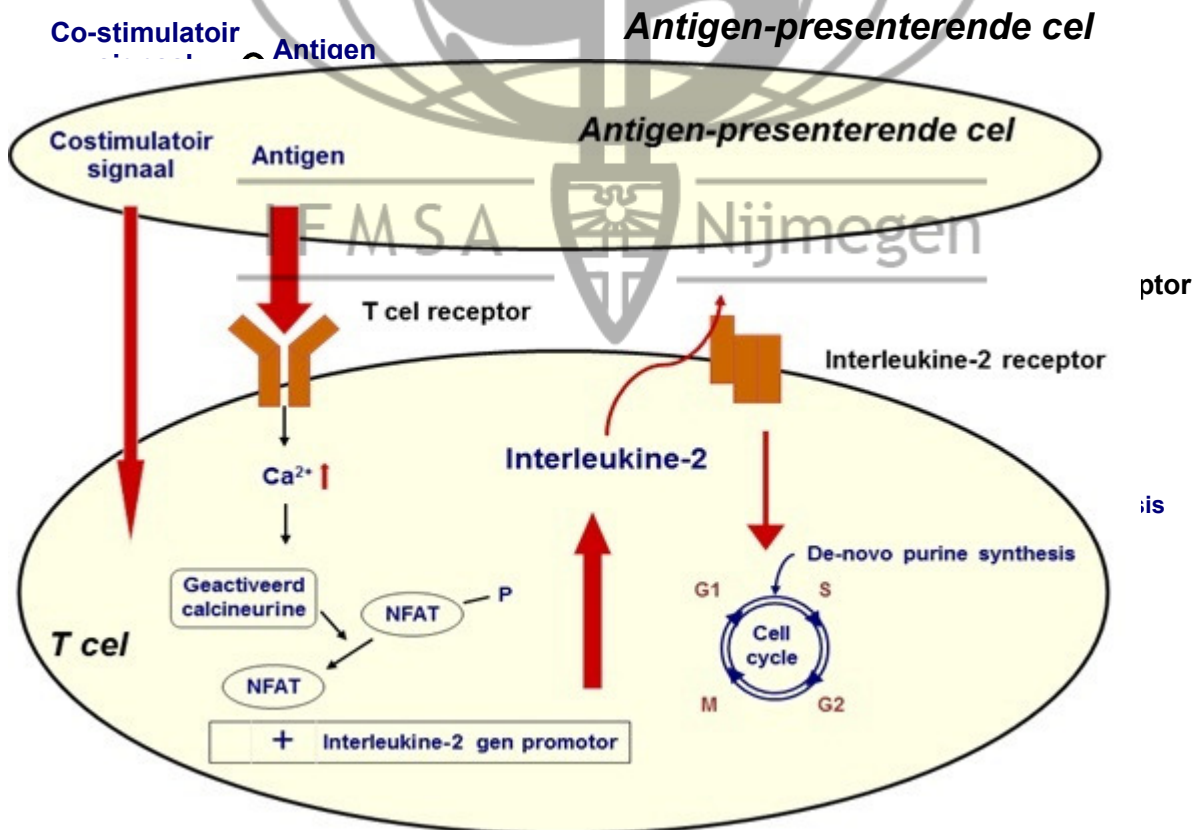


Fig. 10.1 Schema immunerespons tegen transplantaat



12. Geef een wezenlijk verschil tussen de werkingsmechanismen van azathioprine en mycofenolaat mofetil enerzijds en cyclosporine en tacrolimus anderzijds. Waarom denkt u worden dezelfde immunosuppressiva gebruikt bij bepaalde auto-immuunziekten en na transplantatie?

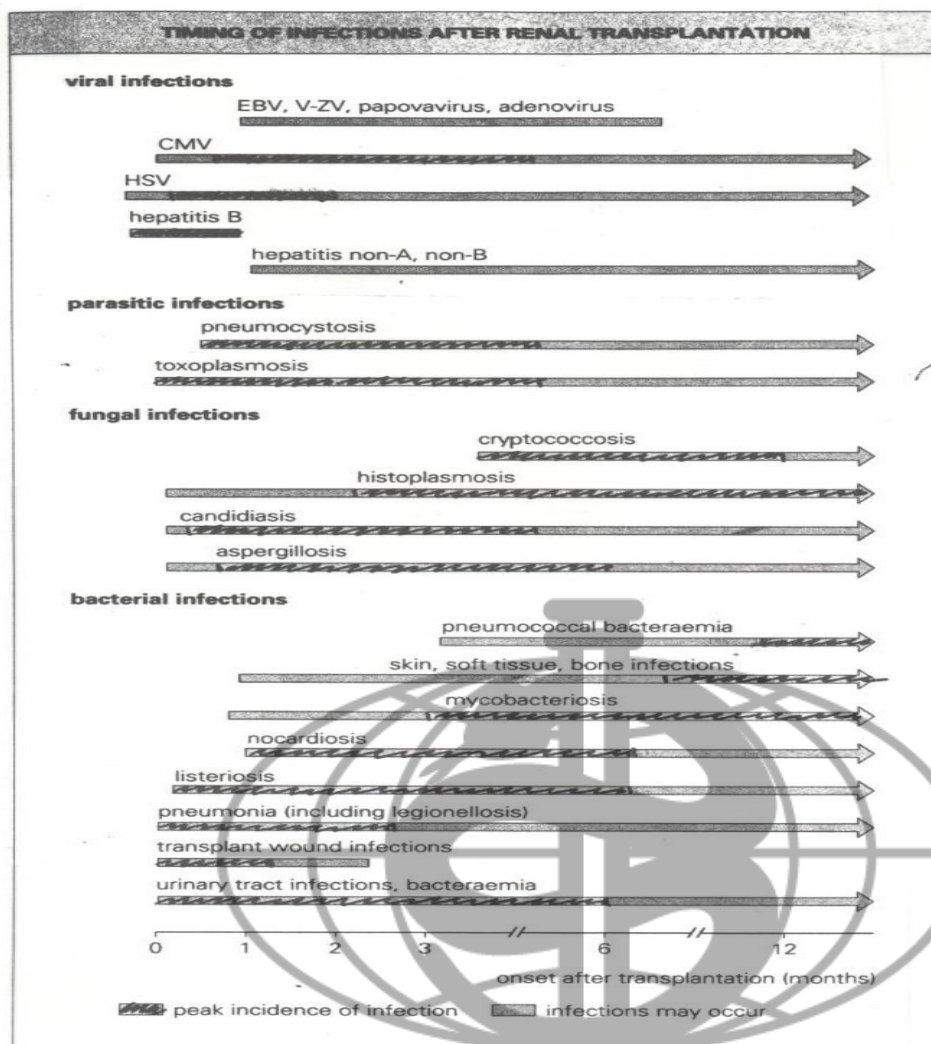
Azathioprine wordt na inname in het lichaam omgezet in 6-mercaptopurine. De metabooliet van 6-mercaptopurine (6-thioinosinezuur) remt de purinesynthese, waardoor de DNA-replicatie wordt verstoord. Dit effect van azathioprine zal dus in principe plaatsvinden bij alle celdelingen. Cyclosporine (en tacrolimus) daarentegen remt selectief de productie van IL-2, hetgeen alleen gemaakt wordt door geactiveerde T-cellen. Het zal daarom geen effect hebben op andere sneldelende weefsels, zoals beenmerg en dergelijke. Zowel bij transplantaatafstoting als bij auto-immuniteit is er sprake van een ongewenste immuunreactiviteit, die weliswaar verschillend van oorsprong is. Om die reden kunnen dus immunosuppressieve medicijnen zowel bij auto-immuunziekten als bij transplantatie worden gebruikt. De keuze van het middel hangt ook af van de relatieve bijdrage van B en T cellen aan de ongewenste immuunrespons.

13. De patiënt werd behandeld met ATG. Wat is de ratio achter deze therapie? Wat zijn de onderliggende werkingsmechanismen?

De ratio achter de behandeling met anti-thymocytenoglobuline (ATG) is dat bij een acute cellulaire afstoting veel T-cellen voorkomen in het infiltraat in het transplantaat. Tevens zijn deze T-cellen natuurlijk cruciaal bij de instandhouding van de afstotingsreactie. Het werkingsmechanisme van ATG berust op het fysiek of functioneel elimineren van T-cellen. Dit kan op een aantal manieren gebeuren: lysis na complementactivatie, fagocytose via Fc receptoren of blokkade van membraanreceptoren, belangrijk voor functionele eigenschappen van de T-cel. Als gevolg van deze werking treedt er een snelle daling van het aantal T-cellen op. De eerste toediening van ATG geeft koude rillingen en koorts, omdat op dat moment er cytokines vrijkomen, enerzijds door lysis en anderzijds door activatie en proliferatie van T-cellen. Als gevolg van deze behandeling daalt het aantal T-cellen zeer sterk, zodat een tweede toediening dit effect niet meer heeft. ATG is een polykloonaal preparaat; vergelijkbare effecten kunnen worden bereikt met monoklonale preparaten zoals alemtuzumab (anti-CD52).

14. Welke infectieziekten komen vooral voor na transplantatie. Maak daarbij een indeling naar bacteriën, virussen en protozoa. Een soortgelijk patroon van infectieziekten komt ook voor bij Aids-patiënten. Hoe zou dit te verklaren zijn?

Zie de figuur op de volgende bladzijde.



Het feit dat bij Aidspatiënten soortgelijke infecties voorkomen, kan worden verklaard doordat bij Aids de immuunreactiviteit, en met name de cellulaire afweer, ook is verminderd (zie ook fig. 11.30).

15. Het langdurig gebruik van immunosuppressiva is geassocieerd met het frequenter optreden van allerlei tumoren, maar vooral met een verhoogde incidentie van lymfomen en huidcarcinomen. Waarom treden juist deze maligniteiten vaker op?

Bij de pathogenese van deze tumoren zijn virussen betrokken (resp. Epstein-Barr virus en humaan papillomavirus). Door de immunosuppressie is de afweer tegen deze virussen en tegen de hierdoor geïnduceerde maligniteiten gestoord (zie fig. 11.30 en fig. 16.4).

## THEMA 11 PRIMAIRE IMMUUNDEFICIËNTIES

### ZSO 11 IMMUUNDEFICIËNTIES

1. Veel ziekten, zoals malaria, tuberculose, suikerziekte en polio, zijn al eeuwenlang herkend door dokters. Hoe komt het dat de primaire immuundeficiënties pas vanaf de jaren '50 van de 20<sup>ste</sup> eeuw herkend en benoemd zijn?

Zie pagina 338 – Gebruik van antibiotica is pas begonnen in de jaren '40 van de 20<sup>ste</sup> eeuw, daarvoor overleden kinderen met een afweerstoornis op jonge leeftijd, terwijl de kindersterfte algemeen (ook aan infecties) toch groot was, dus viel niet zo op.

2. Vul de lege vakken in onderstaande tabel in; noem in de 2<sup>e</sup> kolom 1 of 2 voorbeelden van aangeboren ziekten (primaire immunodeficiënties) in de groep. Kruis de andere velden aan, als bij het defect meer infecties met het betreffende micro-organisme gevonden worden.

Defect	Voorbeeld van ziekte met zo'n defect	Bacterie (extracellulair)	Mycobacterie (intracellulair)	Virus
<b>IFN-gamma receptor</b>	§11-10 Interferon-gamma receptor deficiency		x	
<b>Aanmaak antistoffen</b>	§11-11, 11-12 X-linked agammaglobulinemia (XLA), X-linked hyper-IgM syndrome	x		x
<b>Complement</b>	§11-13 – C3-deficientie	x		
<b>Neutrofiel</b>	§11-14 Leukocyte adhesion deficiency, Chédiak-Higashi syndrome chronische granulomateuze ziekte (CGD)	x	x	
<b>T-cel</b>	§11-15 Severe combined immune deficiency (SCID), Wiskott-Aldrich syndrome (WAS)	x	x	x

3. Dhr. van der Boom, 48 jaar, heeft als kind meerdere longontstekingen per jaar doorgemaakt en vele antibiotica gebruikt. Toen hij 15 jaar oud was, ontdekte de kinderarts bij bloedonderzoek dat er geen IgG, IgA en IgM aantoonbaar was, en dat het aantal B-cellen onmeetbaar laag was. De diagnose XLA werd gesteld, en bevestigd met DNA-onderzoek: hij heeft een mutatie in het *Btk* gen. Vanaf zijn 15<sup>e</sup> jaar krijgt hij maandelijks een infusie met gammaglobulines, en sindsdien gaat het goed.

- a. Hoe verwacht U dat de lymfeklieren er uit zien bij een patiënt met XLA?

Klein, want de B-cellen groeien en differentiëren niet. Dus geen actieve kiemcentra – dus bij een bovenste luchtweginfectie opvallend afwezige lymfadenopathie en afwezige tonsilzwelling.

- b. Voordat gammaglobulines voor therapie beschikbaar waren, overleden patiënten met XLA vaak voor hun 20<sup>ste</sup> jaar, aan infecties of aan bepaalde orgaanschade. Welk orgaan loopt het meeste schade op bij XLA, en wat voor schade?

De long. pagina 343 bovenaan: frequente infecties van de longen kunnen leiden tot permanente weefselschade, door alle proteases die vrijkomen van bacteriën en fagocyten. Dit veroorzaakt bronchiectasieën en chronische longziekte.

- c. De dochter van dhr. van der Boom (22 jaar) moet drager zijn van de ziekte. Leg uit wat dragerschap van XLA voor haar betekent.

Pagina 342. De dochter zelf merkt er niets van. Tijdens de embryonale fase hebben alle lichaamcellen willekeurig één van de twee X-chromosomen geïnactiveerd. Dit betekent dat de ontwikkeling van de B-cellen in 50 % van de gevallen (namelijk die waarbij het

defecte gen is geïnactiveerd) normaal verloopt. Dit is genoeg voor een normale immuunrespons.

Wel heeft de vrouw 50% kans om het defecte gen door te geven aan haar kinderen.

Haar eventuele zonen hebben 50% kans om aan XLA te lijden.

Haar eventuele dochters hebben 50% kans om XLA-drager te zijn, maar 0% kans om de ziekte te krijgen (tenzij de vader XLA-patiënt is of de dochter aan de ziekte van Turner met maar één X-chromosoom lijdt).

4. Een jongen van 4 jaar oud wordt verwezen naar de kinderarts omdat hij net een ernstige sepsis heeft doorgemaakt met een *Staphylococcus aureus*. Vanaf de leeftijd van 6 maanden maakt hij regelmatig longontstekingen door. Daarbij is al twee keer een *H. influenzae* gekweekt uit het sputum. Daarnaast heeft hij vaak last van ontstoken tandvlees en blaren in de mond. Bloedonderzoek toont een zeer laag IgG en IgA, maar een hoog IgM en een normaal aantal B-cellen. Wat is hier aan de hand: wat is er mis in de ontwikkeling van de B-cellen? Waar zou het genetische defect kunnen liggen?

Deze jongen zou kunnen lijden aan het X-linked hyper-IgM syndroom. Als dit het geval is, dan heeft deze jongen een mutatie op zijn X-chromosoom waardoor het CD40 ligand (dat normaal gesproken op de membranen van T-cellen aanwezig is) ontbreekt of niet goed functioneert. Hierdoor kunnen de T-cellen de B-cellen niet stimuleren om isotype switching te ondergaan. Het gevolg is dat de B-cellen IgM (en IgD) blijven produceren, maar niet switchen naar de productie van IgG, IgA en IgE. (paragraaf 11-12, pg 343).

5. Een patiënt die zelf geen gammaglobuline maakt, bijvoorbeeld omdat hij geen B-cellen heeft, kan goed geholpen worden met infusies met een preparaat waarin IgG zit van een groot aantal donoren. Toch heeft zo'n patiënt nog vaak infecties van de neusbijholtes (met allerlei bacteriën) en van de darmen (met *Giardia lamblia*). Hoe zou dat komen?

In het mengsel van IgG van donoren zitten alleen IgG's tegen antigenen die die donoren zijn tegen gekomen. Je geeft dus liefst IgG-preparaat van donoren die uit dezelfde omgeving komen als de patient (en dus dezelfde 'exposure' hebben). Maar er zullen altijd micro-organismen zijn die in de gezonde bevolking te weinig voorkomen, en waar dus niet genoeg specifiek IgG voor in het preparaat zit. Bovendien bevat het preparaat geen IgA dat nodig is voor een eerste respons tegen bacteriën op slijmvliezen.

6. Welke complement deficiënties geven een hogere kans op infecties met *Neisseria*?

Alle complement deficiënties (maar niet de deficiëntie van inhiberende/regulerende factoren!). Deze bacterie wordt namelijk met name bestreden door de vorming van membrane attack complexen (C5-C9). Aangezien dit de laatste stap is in de complementcascade, zijn alle complementfactoren hierbij betrokken. Figuur 11.12 en pag. 344.

7. Neutrofiele granulocyten zijn zeer efficiënt in het doden van bacteriën. We weten tegenwoordig veel over hoe ze dat doen, vooral door de verschillende primaire immuundeficiënties die gevonden zijn. Leg uit welke factoren in de werking van de neutrofiel van belang zijn, aan de hand van de verschillende immuundeficiënties.

Zie figuur 11.14 op blz. 346 in Parham.

8. De naam 'severe combined immunodeficiency' (SCID) wordt gebruikt als er sprake is van zowel een defecte B-cel ontwikkeling als T-cel ontwikkeling. Er bestaan vele muismodellen voor SCID, die een ernstige deficiëntie van B- en T-cellen hebben. Omdat ze gehouden worden in een zogenaamd 'pathogeen-vrije' omgeving, waarin ze zo min mogelijk bloot staan aan micro-organismen, kunnen ze overleven.

a. Wat verwacht je van de concentratie van IgG bij deze muizen?

Laag, IgG kan alleen worden geproduceerd als de B-cellen isotype switching hebben ondergaan. Isotype switching vindt pas plaats als de B-cellen het grootste deel van hun ontwikkeling al achter de rug hebben én als ze worden gestimuleerd door T-cellen.

b. Wat verwacht je van de thymus van deze muizen?

De thymus is onderontwikkeld.

c. Welk deel van het immuunsysteem is wel intact bij een SCID-muis?

Het aangeboren immuunsysteem.

9. In het Middellandse Zeegebied worden alle kinderen op de leeftijd van 1 jaar gevaccineerd tegen tuberculose met het zogenaamde 'BCG-vaccin'. Dit vaccin bevat levende *Mycobacterium bovis* in sterk verzwakte vorm. Sommige kinderen krijgen na deze vaccinatie een ernstige infectie met *Mycobacterium bovis*, waar ze aan kunnen overlijden. Geef een verklaring.

Waarschijnlijk lijden deze kinderen aan Interferon-gamma receptor deficiëntie of aan IL-12 receptor deficiëntie.

Om de mycobacterie te bestrijden hebben de macrofagen IFN- $\gamma$  nodig (o.a. voor de activatie van lysosomen en voor de antigeenpresentatie). Om dit IFN- $\gamma$  te ontvangen, moeten de macrofagen zelf IL-12 produceren. Deze interleukine activeert de secretie van IFN- $\gamma$  door NK-cellen, CD4 T-cellen en CD8 T-cellen. Indien er een defect is in de receptor voor IL-12 of IFN- $\gamma$ , kunnen de macrofagen hun werk niet doen en verspreidt de mycobacterie zich door het hele lichaam (paragraaf 11-16, pg 348-9).

### 3 THEMA 12 MODULATIE VAN HET IMMUNSYSTEEM

#### 3.1 ZSO 12.1 VACCINATIE

1. Waaruit bestaat een vaccin en wat is de rol van de verschillende componenten? (zie ook par. 2-11 en 2-13)

Antigen en vaak ook een adjuvans. Het antigen zorgt voor de specificiteit van de adaptieve immuunrespons. Zie onderstaande tabel voor de diverse antigenen. Het adjuvans zorgt voor een staat van ontsteking waardoor het aangeboren immuunsysteem wordt geactiveerd en een effectieve immuunrespons op gang komt. Afhankelijk van het type vaccin heeft het antigen van zichzelf al voldoende immunogene werking om een respons op te wekken (bijv. het toxoid van de *Bordetella Pertussis*) maar bij subunit vaccins van gezuiverde eiwitten is de immunogeniciteit vaak onvoldoende.

Overzicht van types vaccin die momenteel in gebruik zijn

Soort vaccin	Voordelen	Nadelen	Momenteel in gebruik tegen de ziektes:
Geïnactiveerd(e) virus / bacterie	veilig	grote hoeveelheden pathogeen virus nodig voor de productie	- viraal: influenza en rabiës - bacterieel: kinkhoest
Levend-verzwakt(e) virus / bacterie	goede en langdurige immuniteit	- kans op mutaties waardoor het virus weer pathogeen wordt - patiënten met een verzwakt immuunsysteem kunnen erg ziek worden	- viraal: mazelen, bof en gele koorts - bacterieel: tuberculose, buiktyfus

Subunits van virus / bacterie (toxine) kapsel van bacterie	veilig	- immunisatie lukt niet bij iedereen	- viraal: Hepatitis B - bacterieel: buiktyfus
Polysaccharide kapsel van bacterie		- ineffectief bij kleine kinderen en ouderen - geen memory respons	- pneumokokken
Geconjugeerde vaccins (stukjes kapsel geconjugerd aan 'carrier proteins')	Ook effectief bij kleine kinderen en ouderen Opbouw memoryrespons		- bacterieel: meningitis door H. influenza

2. Welke (type) adjuvantia zijn er op dit moment in gebruik en wat zijn de voor- en nadelen van ieder type?

Aluminium hydroxide en MF59. Voordeel: Zorgen voor een vertraagde release van het antigeen (depotwerking). Aluminium hydroxide versterkt de opname door macrofagen maar is minder effectief in stimuleren Th1 en CD8 responsen (nadeel). Meest effectief is Freund's complete adjuvans. Dit bevat dode mycobacteriën en zorgt voor een effectieve activatie van de aangeboren immuunrespons via TLR-achtige receptoren (NOD receptoren, fig 10.15). Het ontstekings-effect is echter zo hevig dat dit vaccin niet is toegestaan voor humaan gebruik.

Door het inzicht in de receptoren en cytokines/chemokines die betrokken zijn bij de activatie van de aangeboren immuunrespons, wordt er bij het design van nieuwe vaccins gekeken hoe deze componenten "specifieker" kunnen worden gestimuleerd.

3. Wat zijn de risico's van vaccinatie en beredeneer of er extra risico's verbonden zijn aan het combineren van verschillende vaccins.

Het risico van vaccinatie met een levend-verzwakt virus of bacterie (of met een 'onschuldig' gerelateerd virus) is dat het virus of de bacterie zo muteert dat hij weer pathogeen wordt. Ook zonder dat dit gebeurt, kan het verzwakte micro-organisme soms een probleem opleveren bij patiënten met een immuundeficiëntie.

Daarnaast is het zo dat iedere immuunrespons neveneffecten kan hebben. In veruit de meeste gevallen zal dat bestaan uit een lichte roodheid en zwelling, een lokale ontstekingsreactie dus, eventueel gepaard gaande met koorts.

Het lichaam is in staat op een enorme veelheid aan pathogenen te reageren. Vanuit immunologisch oogpunt is er dus geen directe reden om dit niet te doen. Het kan echter wel zo zijn dat de dosis in een dergelijk geval aangepast zou moeten worden om een effectieve respons op een specifiek antigeen te induceren. Voordat de vaccins kunnen worden gecombineerd zal het gecombineerde vaccin dus ook eerst weer getest moeten worden. Er zijn inmiddels al een groot aantal combinatie vaccins beschikbaar, denk aan het DTP vaccin.

4. Wat is een geconjugerd vaccin en op welk immunologisch principe is dit gebaseerd (zie ook par. 8-18)?

Een geconjugerd vaccin bestaat uit een stukje bacterie-kapsel dat is geconjugerd aan een 'carrier protein' die antigeen is en een T-cel respons oproept. Dit wordt gedaan omdat kleine kinderen en ouderen geen goede (T-cel onafhankelijke) respons hebben tegen antigenen van polysacchariden (waaruit het bacteriekapsel bestaat). Tevens zorgt de T-cel help voor het opbouwen van een effectieve memory respons.

5. Wat zijn de voor- en nadelen van vaccins die levend verzwakte virussen of bacteriën bevatten?

Voordelen:

- Beste immuniteit tegen het pathogeen
- Kan cellen infecteren en zal dus in cytosol en MHC klasse I terecht komen (virus of intracellulaire bacterie)
- Replicatie dus langer een hogere dosis antigenen

Nadelen:

- Risico op mutatie waardoor het micro-organisme weer pathogeen wordt
- Gevaarlijk bij mensen met een verzwakt immuunsysteem (bijv. patiënten met primaire immuundeficiënties, Aidspatiënten, patiënten die immunosuppressiva gebruiken, ondervoede mensen)

6. Welke groep patiënten loopt een risico bij vaccinatie met een dergelijk vaccin?

Patiënten met een verzwakt immuunsysteem (zie vraag 5).

7. Hoe kunt u vaccinatie voor bijv. Pneumococci gebruiken om te bepalen of iemand een effectieve immuunrespons kan opbouwen?

Als er na vaccinatie met een polysaccharide vaccin na een aantal maanden in het bloed antistoffen zijn tegen de diverse componenten van het vaccin, weet men dat er een effectieve immuunrespons is.

8. Leg uit waarom het van belang is om na een splenectomie patiënten extra te vaccineren en waarom dit vaccins tegen gekapselde bacteriën betreft (zie ook par. 1-10).

De milt werkt als secundair lymfoid orgaan (witte pulpa) en als filter (rode pulpa) om oude en abnormale rode bloedcellen en micro-organismen uit het bloed te halen. Gekapselde bacteriën zijn moeilijker door fagocytose te verwijderen en de opruiming is daarom afhankelijk van een goede opsonisatie. De opsonisatie door complement kan bovendien bemoeilijkt zijn bij gekapselde bacteriën. De milt is nog het beste in staat om niet goed geopsoniseerde gekapselde bacteriën te verwijderen uit de circulatie. Na een splenectomie is het risico op infecties met deze bacteriën daarom verhoogd. Door via vaccinatie te zorgen voor goede antistoftiters kan de opsonisatie (klassieke complementactivatie door gebonden antistoffen → opsonisatie met C3b) geoptimaliseerd worden en kunnen Kupffer cellen in de lever de bacteriën fagocyteren.

3.2

### 3.3 ZSO 12.2 CELLULAIRE IMMUNOTHERAPIE

1. Welke twee doelen probeert men te bereiken met een stamceltransplantatie voor de behandeling van leukemie? Waarin verschilt dit van een SCT in het kader van een immuundeficiëntie?

Doelen:

1. De patiënt een nieuw en gezond hematopoëtisch systeem geven
2. Een anti-tumor effect (Graft-versus-Leukemia). De alloreactieve T-cellen uit het transplantaat zijn namelijk in staat om resterende kankercellen te elimineren.

Bij SCT in het kader van een immuundeficiëntie gaat het alleen om het eerste doel.

2. Welke cellen spelen een rol in het anti-leukemisch effect na SCT en welke cellen spelen een rol in graft versus host disease?

De (alloreactieve) donor T-cellen van het transplantaat en in sommige gevallen ook de NK-cellen spelen een rol bij het anti-leukemisch effect. Bij GVHD zijn het de T-cellen.

3. Er is een groot verschil in de duur van immunosuppressieve therapie na een allogene stamcel transplantatie en een orgaantransplantatie. Waarom is men in het ene geval langer afhankelijk van immunosuppressiva dan in het andere geval?

Bij orgaantransplantatie moet je immunosuppressiva gebruiken om te voorkómen dat het lichaam het orgaan afstoot. Bij een allogene stamcel transplantatie moet je zien te voorkómen dat het allogene beenmerg een immuunreactie tegen het hele lichaam begint. Deze immuunrespons is veel uitgebreider dan een immuunrespons die alleen tegen één orgaan is gericht. Echter na repopulatie ondergaan nieuwe T-cellen hun negatieve selectie in de patiënten thymus en daardoor zal tolerantie in het 'nieuwe' immuunsysteem ontstaan. Bij een orgaantransplantatie blijven de T-cellen in principe het orgaan als vreemd zien. Er zijn echter ook patiënten beschreven die wel tolerant werden voor hun nier maar het exacte mechanisme hierachter is nog niet duidelijk en dus ook niet waarom de één wel en de ander niet tolerant wordt.

4. Aanvullende cellulaire therapie wordt meestal pas op zijn vroegst 3 maanden na een allogene SCT toegepast. Wat is hier de reden van?

Als gevolg van de chemo- en radiotherapie is er weefselschade ontstaan en een sterke ontstekingsreactie op gang gebracht. In combinatie met het transplantaat (m.n. T-cellen) ontstaat er een storm van ontstekingsmediatoren (ook wel cytokinestorm genoemd). Pas wanneer deze inflammatoire respons enigszins geluwd is, start men met de therapie omdat er anders een grote kans dat de cellulaire therapie ernstige Graft versus host disease (GVHD) uitlokt.

5. De huidige behandelmethode is gericht op het minimaliseren van het risico van SCT en vervolgens additionele therapie om graft versus leukemia effect te induceren. Welke types cellulaire therapie (noem er minstens twee) kunnen daarbij worden toegepast en wat zijn hiervan de voor- en nadelen?

- Het toedienen van donor lymfocyten enkele maanden na de stamceltransplantatie bij patiënten die geen GVHD hebben ontwikkeld. De T-cellen zorgen voor een versterkt Graft versus leukemia (GVL) effect. Het nadeel is dat er toch alsnog Graft versus host disease (GVHD) kan optreden.
- Het toedienen van dendritische cellen beladen met tumor antigenen om de respons te versterken. Voordeel: DC's zijn effectief in het opwekken van een immuunrespons. Nadeel is dat je een tumor specifiek antigeen moet hebben omdat je anders ook GVHD zult induceren.
- Experimenteel: Het toedienen van NK cellen. Zijn met name betrokken bij antileukemische respons. Nadeel: voor activatie van de NK cellen is een HLA verschil nodig. Te veel HLA verschillen verhogen ook het risico op GVHD.

6. Noem drie verschillende benaderingen om de balans tussen effector T-cellen en regulatoire T-cellen te beïnvloeden.

Deze balans kan worden beïnvloed door verandering van:

- de functie/hoeveelheid effector T-cellen reduceren (anti-TNF-alfa)
- de hoeveelheid regulatoire T-cellen doen toenemen door bijv. ex vivo expansie.
- de activiteit van de regulatoire T-cellen versterken door bijv. CTLA-4 agonist of cytokines die regulatoire T-cellen stimuleren, of specifieke subsets van DC's toedienen die Treg activiteit stimuleren.

7. Wat zijn de risico's van het toedienen van regulatoire T-cellen.

- Aspecifieke onderdrukking (systemische immuunsuppressie) en dus verhoogd risico op infecties
- Langdurige lymfopenie



8. Bedenk een therapie waarbij u gebruik maakt van regulatoire T-cellen om de kans op rejectie na orgaantransplantatie te reduceren. Houd hierbij rekening met timing, type donor, en bron van de cellen.

Isoleer regulatoire T-cellen uit de patiënt (CD4+/CD25+) met behulp van magnetische beads of flowcytometrische sorting. Kweek deze ex vivo in aanwezigheid van bijv. leukocyten van de nierdonor (zie figuur 3b) waardoor er expansie plaatsvindt van antigenspecifieke Tregs. Deze geëxpandeerde Tregs kunnen dan worden toegediend aan de patiënt. Dit is alleen mogelijk bij levende donatie omdat de ex vivo generatie van de cellen al voor de transplantatie moet plaatsvinden.

9. Therapie met regulatoire T cellen kan worden toegepast met polyklonale regulatoire T-cellen of met antigen-specifieke regulatoire T-cellen. Wat is het verschil en waarom zou u voor de ene of de andere therapie kiezen?

Antigeenspecifieke regulatoire T-cellen worden alleen geactiveerd bij ontstekingen waarbij het betreffende antigeen betrokken is. Dit is dus handig als het lichaam een auto-immunreactie tegen een bepaald orgaan begint, omdat één eiwit van dit orgaan door het lichaam wordt gezien als antigeen.

Polyklonale regulatoire T-cellen verminderen ongewenste immunoreacties tegen verschillende antigenen. Dit is handig als je een (auto-)immunreactie tegen meerdere lichaamseigen eiwitten of tegen een transplantaat wilt tegengaan.

N.B. Natuurlijk worden alleen de T-cellen die specifiek zijn voor de betreffende antigenen geactiveerd.

10. Ook in een antitumor respons spelen regulatoire T-cellen een rol (zie ook thema 9). Hoe zou u in dit geval de regulatoire T cel respons willen beïnvloeden. Noem drie mogelijke manieren om dat doel te bereiken.

Hier wil je de regulatoire T cel respons afremmen. Dit kan bijvoorbeeld door:

- remmen van cytokines die specifiek regulatoire T-cellen stimuleren (TGF-beta en IL-10)
- sturen van de respons met behulp van DC's die T effector cellen genereren
- toediening van antistoffen die de CTLA-4 receptor op regulatoire T-cellen blokkeren

### 3.4 ZSO 12.3 FARMACOTHERAPIE

1. Wat is het verschil tussen een monoklonaal antilichaam en een polykloonaal antilichaam? Wat zijn de voor- en nadelen bij het gebruik als biological?

Monoklonale antilichamen zijn antistoffen die zijn geproduceerd door één kloon B-cellen. Dit betekent dat ze allemaal dezelfde antigeenspecifieke regio hebben en dus specifiek zijn voor één stukje van het antigeen ('epitoom').

Polyklonale antilichamen zijn antistoffen die geproduceerd zijn door verschillende B-cellen. Dit is bijvoorbeeld het geval bij een immunorespons tegen een pathogeen, waarbij de B-cellen tegen verschillende epitopen van het pathogeen zijn gericht.

Voordelen van polyklonale antilichamen t.o.v. monoklonale antilichamen (= nadelen van monoklonale antistoffen):

- relatief makkelijk te produceren
- ook werkzaam indien het antigeen een klein beetje verandert
- ook bruikbaar als de aard van het antigeen (nog) niet bekend is

Nadelen:

- grotere kans op cross-reactiviteit
- levert telkens andere antistoffen op – standaardisatie van de therapie (handig voor trials) is niet mogelijk

2. Wat is het verschil tussen gehumaniseerde en chimere monoklonale antilichamen?

Chimere monoklonale antilichamen zijn antilichamen waarbij de variabele regio afkomstig is van de muis en de constante regio van de mens.

Gehumaniseerde monoklonale antilichamen zijn antistoffen waarbij alleen de CDR loops afkomstig zijn van de muis, en de rest van het antilichaam afkomstig is van de mens.

(Zie figuur 4.15 op blz. 104 in Parham.)

3. Welke bijwerkingen kunnen optreden bij het toedienen van antilichamen en waardoor worden deze veroorzaakt?

Koorts

Veranderingen in hartslag en bloeddruk

Jeuk en roodheid

Overgeven, diarree

Release van cytokines t.g.v. leukocyten activatie. In de meeste gevallen duren deze symptomen een aantal uren en verdwijnen dan. De kans op het optreden verschilt per antilichaam.

Bij pre-existente antistoffen tegen de therapeutische antistoffen kan er ook een anafylactische reactie ontstaan of serum sickness. Bijv. patiënten met anti-IgA antistoffen die IVIg ontvangen.

4. Welke problemen kunnen optreden na langdurig gebruik van een niet gehumaniseerd antilichaam?

De patiënt gaat antistoffen produceren tegen de niet-humane antistoffen. De niet-humane antistoffen worden geneutraliseerd en hebben geen effect meer. Daarnaast kunnen er overgevoeligheidsreacties optreden. Dit kan tot verschillende symptomen leiden, van huiduitslag tot serum sickness en anafylaxie.

5. Er is inmiddels een grote diversiteit aan 'biologicals' die elk een ander aangrijpingspunt hebben in het immuunsysteem. Geef een voorbeeld van een 'biological' die aangrijpt op de aangeboren immuunrespons, één die aangrijpt op de verworven immuunrespons, één die aangrijpt op een oplosbare factor en één die aangrijpt op een cel van het immuunsysteem. Voor de beantwoording kunnen de volgende bronnen worden geraadpleegd.

a. Harrison's online, hoofdstuk 314, de sectie 'immunotherapy'.

b. Het artikel 'monoklonale antilichamen' uit het geneesmiddelen bulletin (<http://gebu.artsennet.nl/Archief/Tijdschriftartikel/Monoklonale-antilichamen.htm>)

c. Het farmacotherapeutisch kompas (<http://www.fk.cvz.nl/>)

Voorbeelden van biologicals:

- Adalimumab. Dit is een biological die aangrijpt op een oplosbare factor van het aangeboren immuunsysteem. Deze monoklonale antistof bindt zich aan TNF- $\alpha$ , waardoor het TNF- $\alpha$  niet meer kan binden aan de receptor, en dus zijn functie niet meer kan uitoefenen. Adalimumab wordt gebruikt om de ontstekingsreactie bij auto-immuunziekten te remmen. Zo wordt het bijvoorbeeld gegeven aan patiënten met reumatoïde artritis, colitis ulcerosa of psoriatische artritis.

- Abatacept. Dit is een biological die aangrijpt op een cel van het verworven immuunsysteem. Dit fusie-eiwit wordt geproduceerd d.m.v. recombinante-DNA-technieken. Abatacept remt de co-stimulatie van T-lymfocyten waardoor deze niet volledig worden geactiveerd. Het wordt gegeven aan patiënten met reumatoïde artritis.

- Eculizumab. Dit is een biological die aangrijpt op een oplosbare factor van het aangeboren immuunsysteem. Deze monoklonale antistof bindt aan complementfactor C5 en voorkomt vorming van het terminale complement complex (MAC). Het wordt gebruikt bij patiënten met nachtelijke paroxysmale hemoglobulinurie en patiënten met hemolytisch uremisch syndroom (HUS).

- Daclizumab. Dit is een biological die aangrijpt op een cel van het verworven immuunsysteem. Deze monoklonale antistof blokkeert de IL-2 receptor van T-lymfocyten, waardoor deze niet

meer gestimuleerd kunnen worden door IL-2. Daclizumab wordt preventief gegeven bij niertransplantatie om acute afstoting te voorkómen.

