

# IMMUNOLOGIE

## HFD 1 Introductie: Algemene eigenschappen van immuunrespons

Immunitet = reactie op vreemde stoffen, microben en macromoleculen, ongeacht de gevolgen.  
Het immuunsysteem → verdediging tegen indringers (virussen, schimmels, bacteriën, splinters e.d.) en de eliminatie van: oude, dode of beschadigde cellen, tumor, getransplanteerd orgaan of bloedproduct, veranderde eiwitten → gericht tegen antigenen.  
(Nonimmunologische defensie: mucus, huid, tranen, defensines, peristaltiek, trilhaarepitheel, maagzuur, darm- en huidflora)

### Aangeboren en verworven afweer

Aangeboren of niet specifiek	Verworven of specifiek
Al aanwezig voor infectie Snel en destructief Geen geheugen Herkent algemene structuur microben, minder specifiek. Componenten: <ul style="list-style-type: none"><li>- fysieke en chemische barrière: epitheel, huid, antimicrobiële stoffen</li><li>- fagocyten en natural killer (NK) cellen</li><li>- bloedproteïnen (complement) en cytokines</li></ul>	Heel divers Traag Geheugen: reageert volgende blootstelling sterker Zeer specifieke herkenning van veel <u>antigenen</u> van microben en niet-microben, goede herkenning self-nonsel Sterke zelfregulatie Componenten: <ul style="list-style-type: none"><li>- lymfocyten en hun producten (antilichamen/antistof): B en T cellen</li></ul>

Aangeboren en specifiek werken samen. Twee belangrijke links: aangeboren stimuleert en beïnvloedt verworven, en verworven gebruikt effector mechanismen van aangeboren: verworven wijst doel aan, aangeboren doodt het (dus verworven verbetert aangeboren).

### Humorale en cellulaire respons

**Humoraal:** via B-cellen (B-lymfocyten) → productie antistof → herkenning antigen, neutralisatie infectiviteit en targeten voor eliminatie. Defensie tegen extracellulaire microben. Concept antistof-antigen van Ehrlich.

**Cellulair:** via T-cellen → T helper cellen (CD 4<sup>+</sup>) en cytotoxische T cellen (CD 8<sup>+</sup>) → T<sub>H</sub> → cytokines: activeert macrofagen die gefagocyteerde microben in zich moet doden + T<sub>H</sub> activeert B lymfocyten + T<sub>H</sub> stuurt T<sub>C</sub> → doodt geïnfecteerde cellen (met perforine en granzymen). Defensie tegen microben die overleven in fagocyten en elimineren van geïnfecteerde cellen.

Theorie begonnen met splinter van Metchnikoff.

### Actieve en passieve immunitet

Antistoffen of afweercellen afkomstig van patiënt of farmaceut? Vaccinaties passief/actief.

**Actief:** immunitet door blootstelling aan antigen (naïeve en immune individuen), bijv. DKTP of BMR prik.

**Passief:** immunitet door adoptieve transfer van lymfocyten of antistoffen, bijv. antistoffen via moeder naar foetus, tetanus, hondsdoelheid en slangenbeetbehandeling.

Immunitet testen door immuunproducten te bepalen (antistof in bloed) of door puur antigen toe te dienen en reactie te meten.

### Kenmerken verworven immuunrespons

- specificiteit → bepaald antigen lokt specifieke respons uit. Deel wat herkend wordt heet determinant.
- diversiteit → immuunsysteem reageert op grote variatie antigenen. Lymfocyt repertoire is extreem groot.
- geheugen → betere respons bij herhaalde blootstelling. Secundaire respons is sneller, sterker en vaak kwalitatief anders. Geheugen door memory B/T cellen en door verhoogde aanwezigheid na eerste blootstelling.
- specialisatie → optimale defensie.
- self-limitation → na respons weer terug naar basale situatie (homeostase).
- nonreactivity to self, tolerantie → geen schade aan gastheer. Storingen leiden tot auto-immuunziekten.

### Cellulaire componenten verworven immuunsysteem

→ lymfocyten, antigen-presenterende cellen en effector cellen.

- Lymfocyten: mediators van cellulaire (T) en humorale (B) immuniteit. B herkent extracellulaire antigenen, T herkent alleen antigenfragmenten op host gebonden aan MHC moleculen (intracellulaire microben). NK cellen zijn derde klasse lymfocyten.
- APC's: vangen en presenteren antigenen en stimuleren proliferatie en differentiatie lymfocyten. Meest gespecialiseerd zijn dendritische cellen.
- Effector cellen: nodig voor eliminatie van antigenen, bijv. geactiveerde T cellen en fagocyten.

#### Fasen in verworven immuunrespons

- Herkenning van antigen. Klonale selectie hypothese: lymfocyten-klonen met verschillende receptoren ( $10^7$ - $10^9$ ) ontstaan onafhankelijk van blootstelling aan antigen. Strenge selectie, bijv. eliminatie van cellen gericht tegen lichaamseigen eiwitten. 1 kloon kan maar op 1 antigen reageren.
- Activatie van lymfocyten. Two-signal hypothese: voor activatie antigen en nog een stimulus (product van microbe of aangeboren afweer) nodig. Dus geeft specifieke activatie wanneer het nodig is. Activatie: proliferatie en differentiatie.
- Effector fase: antigen eliminatie = samenspel verworven/aangeboren/nonlymfoïde effector cellen.
- Homeostase en geheugen: antigen weg, dus apoptose lymfocyten.

#### **HFD 2 Introductie: Cellen en weefsels van het immuunsysteem**

Antigenen worden geconcentreerd in perifere lymfoïde organen door APCs, waarheen naïeve lymfocyten migreren en immuunrespons beginnen. Effector en memory cellen circuleren door bloed naar perifere site van entry van antigen.

#### **Cellen**

- Lymfocyten → enige cellen die specifiek determinanten herkennen → specificiteit en geheugen
  - Morfologie: naïef = kleine lymfocyt in  $G_0$ ; na stimulatie groter en in  $G_1$  (lymfoblast)
  - Klassen: **B** lymfocyten (bursa of beenmerg), **T** lymfocyten (thymus); beiden klonaal verdeelde antigen receptoren, verschillende receptorgenen door DNA recombinaties tijdens ontwikkeling.  $T_H$  functies: stimuli voor B cel groei en differentiatie + macrofaag activatie door cytokine afgifte.  $T_C$  ong. zelfde functie als **NK** cellen: geïnfecteerde en tumorcellen doden. NK cellen andere receptoren, in aangeboren afweer werkzaam. Membraaneiwitten (CD4,CD8) zijn fenotypische markers. CD=cluster of differentiation → antilichamen cluster die specifiek marker aantonen.
  - Ontwikkeling: uit stamcellen in beenmerg → B rijping in beenmerg, T rijping in thymus → naïeve cellen in circulatie → perifere lymfoïde organen. Populatie wordt gelijk gehouden (apoptose,  $t_{1/2}$  paar jaar door zwakke herkenning van self-antigenen) of naar normaal gebracht via homeostatische proliferatie.
  - Activatie:
    1. nieuwe proteïne synthese: o.a. cytokines in T cellen en cytokine receptoren.
    2. proliferatie: klonale expansie
    3. differentiatie in effector cellen en memory cellen. Effector:  $T_H$ ,  $T_C$  en B. Sommige antistof-producerende cellen zijn plasmacellen: leven langer. Memory: B en T, overleven jaren zonder enige antigen-herkenning. Memory B herkenbaar aan Ig's, memory T aan adhesiemoleculen en CD45RO. Sommige memorycellen in lymfeknopen, anderen in bloed/mucosa.
    4. homeostase.
- APCs → functie zie hierboven. B lymfocyten functioneren als APCs voor  $T_H$  tijdens humorale respons. Plus volgende typen APCs:
  - Dendritische cellen: antigen vangen en T cel respons inductie.
  - Mononucleaire fagocyten: systeem met als functie fagocytose. Stamcel → monoblast → monocyt → **macrofaag** → activatie of differentiatie in bijv. microglia, Kupffer cellen, alveolaire macrofagen en osteoclasten. Macrofaag met opgegeten microbe laat antigen aan effector T cel zien → T activeert macrofaag om microbe te doden. Effector functie in aangeboren afweer: fagocytose en cytokine productie. Effector functie in verworven afweer: genoemde doding van gefagocyteerde microbe (cellulair) en fagocytose na opsonisatie (coating van antistoffen). Dus puinruimer, activatie en sturing afweer door cytokines en verzorgt regeneratie.

- Folliculaire dendritische cellen (FDCs): vangen antigenen en presenteren aan B lymfocyten. In lymfoïde follikels in lymfeknopen, milt, mucosa.

### Anatomie en functies lymfoïde weefsels

Primaire lymfoïde organen = waar groei en maturatie van immuuncellen plaatsvindt → beenmerg, thymus  
Perifere ”= ophoppingen van afweercellen en regulatie van immuunrespons; waar respons begint en ontwikkelt → milt, lymfeknopen, mucosa, huid.

Daarnaast zit in alle organen (vooral long en darm) lymfoïd weefsel, behalve in CZS.

- Beenmerg: ontstaan alle bloedcellen (hematopoëse) en rijping B cellen. Vooral in platte botten.  
Pluripotente stamcel → lymfoïd → B, T en NK  
myeloïd → ery's, bloedplaatjes, granulocyten, monocyten  
Proliferatie en rijping gestimuleerd door cytokines (lokaal of van actieve T cellen en macrofagen).  
Naar beenmerg migreren veel plasmacellen (produceren antistof).
- Thymus: T cel rijping, thymocyten gaan van cortex naar medulla.
- Lymfeknopen en lymfatisch systeem: respons voor lymfe-antigenen.  
Lymfe is geabsorbeerde interstitiële vloeistof, vele capillaire lymfevaten bij mogelijke ingangen voor antigenen. Antigen gevangen door dendritische cel / vrij antigen in lymfe → afferent lymfevat in → knoop (keuringsfilter) in en percolatie → efferent lymfevat naar volgende knoop, uiteindelijk bloed weer in. Lymfocyten knoop in via bloed.  
Knoop: verschillende lymfocyten zitten in verschillende zones: B in follikels (FDCs in germinal centers), daartussen in cortex T cellen en dendritische cellen, macrofagen (vangen vrije antigenen) en plasmacellen in medulla. Scheiding B en T door cytokines/chemokines → elk komt in goed contact met zijn APC + apart gehouden totdat antigen stimulatie.
- Milt: respons voor bloed-antigenen.  
Antigenen en lymfocyten beiden via bloed milt in. Door chemokines weer scheiding lymfocyten:  
Witte pulpa: T cellen in periarteriële lymfoïde sheaths (rondom arteriolen), B cellen in follikels aan T zone vast.  
Rode pulpa: ery's, macrofagen, dendritische cellen, plasmacellen.  
Milt is bloedfilter: macrofagen in rode pulpa, veel fagocytose van geopsoniseerde microben.
- Huid: fysieke barrière + lymfocyten/APCs.  
Epidermis: Langerhans cellen (onrijpe dendritische cellen) en intraepitheliale T cellen (vooral CD8<sup>+</sup>, wellicht beperkt specifieke γδ T cellen).  
Dermis: merendeel van huidlymfocyten (CD4<sup>+</sup> en CD8<sup>+</sup>, permanent of recirculerend?, macrofagen)
- Mucosa: GI tract, longen, mond-, keel- en neusholte → respons tegen gegeten en geïnhaleerde antigenen.  
GI 3 zones: intraepitheliaal (CD8<sup>+</sup> beperkt specifiek), verspreid over lamina propria (mix), platen van Peyer (follikels met B, interfolliculair minder T<sub>H</sub>, M cellen brengen antigenen? maar zijn geen APCs).  
Bijzonder aan orale immuunrespons: veel IgA antistof productie en T cel tolerantie.

### Lymfocyt recirculatie en homing

Lymfocyten circuleren door het lichaam via bloed en lymfevaten (surveillance). Homing gaat d.m.v. de selectines en integrines.

- Nut: zodat lymfocyten overal kunnen zoeken en op goede plek terecht komen.
- T cellen: naïef T recirculeert tussen perifere lymfoïde organen, effector T gaat vooral naar perifere ontstekingsplaats, memory T gaan lymfoïde organen of perifeer weefsel in.
- Recirculatie gereguleerd door homing receptoren (selectines, integrines en Ig superfamilie) op lymfocyten en verschillende addressines aan endotheelcellen in vaten.
- Homing: naïef T vooral naar lymfeknopen (1. L-selectine bindt aan addressine aan HEV endotheel cellen in knoop, 2. rollende T cel bindt sterker door chemokines, 3. knoop in en naar T zone), over milt minder bekend, bij antigenblootstelling meer bloed door lymfe, in knoop wordt T geactiveerd of gaat verder naar volgende knoop.  
Effector T activatie: meer integrines, E-selectine, P-selectine → gaan knoop uit, via lymfevat bloed in en binden perifeer, vooral aan endotheel van ontstekingsplaats waar microben zijn ← cytokines van aangeboren afweer zorgen voor addressines en chemokines, waardoor T cellen sterk binden en bloedvat uitgaan.  
Memory T: heterogeen qua adhesiemoleculen en migratieplaatsen. Bijv. naar mucosa (integrine) of naar huid of lymfeknoop (selectines).
- B cellen: zelfde idee als T cellen. Geactiveerde B cellen naar periferie, plasmacellen naar beenmerg, andere antistof producerende cellen blijven in lymfoïde organen (antistoffen bloed in).

### HFD 3 Antistoffen en antigenen (B)

Herkenning antigenen: antistoffen (Ig), MHC (hfd 4) en T cel antigenreceptoren (TCR, hfd 6).

#### Productie en verdeling antistoffen

Antistoffen = immunoglobulinen (Ig) = familie van glycoproteïnen geproduceerd door B lymfocyten, qua migratie  $\gamma$ -globulines.

[Membraangebonden  $\rightarrow$  receptoren voor herkenning antigenen  $\rightarrow$  activatie B

[Secretie  $\rightarrow$  trigger effector mechanismen (hfd 14)  $\rightarrow$  eliminatie antigen

Productie 3g/dag, waarvan 2/3 IgA, in bloed vooral IgG aanwezig.

- Verdeling: in B cel in compartimenten, op oppervlak B cel, in hele lichaam in biologische vloeistoffen (plasma, interstitiële vloeistof), op oppervlak fagocyten, NK cellen, mestcellen.
- Antiserum = vloeistof die overblijft na plasma/bloedstolling met aantoonbare hoeveelheid antistoffen die aan bepaald antigen binden.

#### Moleculaire structuur antistoffen

2 doorbraken voor structuuropheldering: bij multipel myeloma (monoclonale tumor van plasmacellen) worden grote hoeveelheden van dezelfde antistof gemaakt worden en de techniek van het maken van monoclonale antistoffen (gaf homogene populaties, HAT medium blz 46).

- Allen zelfde basistructuur, maar veel variatie in antigenbindende gebieden, ong.  $10^9$  verschillende per individu. Basis: symmetrische 'core structure' die bestaat uit twee identieke lichte (=kleinere) en twee identieke zware ketens: L-H-H-L via S-S bruggen. Units van ong. 110 aa's vouwen in **Ig domeinen** (alle moleculen met dit motief = Ig superfamilie).
- Aminoterminal variabele gebieden (V)  $\rightarrow V_L+V_H$ : antigen herkenning  $\rightarrow$  1 antigen binding site (dus 2 bij een Ig met 2H en 2L, elk Ig minstens 2).  
Carboxylterminal constante gebieden (C)  $\rightarrow C_H$ : effector functies (getriggerd door antigen binding in V) en anker voor aan membraan.  
Zwaar: V 1 Ig domein, C 3/4 Ig domeinen: bijv.  $\alpha 1$  zware keten.  
Licht: V 1 Ig domein, C 1 Ig domein:  $\kappa$  of  $\lambda$  ketens.
- **Variabele gebieden:** elk V gebied bevat 3 hypervariabele gebieden (CDRs, ong 10 aa), die van H en L samen (+framework) vormen een antigen binding site. CDRs (complementarity-determining regions) zijn reden voor specificiteit. CDR3 meeste contact en variatie.
- **Constante gebieden:** antistoffen worden geklassificeerd op basis van sequenceverschillen in  $C_H$  gebieden. Isotypen: IgA (12), IgD, IgE, IgG (1234), IgM.
  - Zware keten van IgA1 heet  $\alpha 1$  zware keten, domein bijv.  $C_{\alpha 1}$ .
  - Ieder isotype en subtype heeft andere effector functie, want  $C_H$  gebieden bepalen aan welke cel ze binden (fagocyten, NK cellen, enz). Functies hfd 14.
  - Ig's zijn flexibel door 'scharnier gebied' in zware keten.
  - Ig heeft of 2  $\kappa$  lichte ketens of 2  $\lambda$  lichte ketens  $\rightarrow$  verschillen van elkaar in C gebied sequence. Maar geen functieverschil.
  - Membraan- of secretie-Ig's: verschillen van elkaar in sequence van het carboxyterminale eind van het  $C_H$  gebied. Als secretie eindigt het geladen en hydrofiel, als membraangebonden hydrofoob (in membraan) en basisch (in cytoplasma) einde.
  - Alle membraangebonden Ig's en secretie IgE en IgG zijn monomeren (2L, 2H), secretie IgA en IgM zijn multimeren (gevormd door staartstukken en een Joining keten).
- **Verbindingen tussen H en L ketens:** covalente bindingen (S-S) zodat  $V_L$  en  $V_H$  tegenover elkaar zitten (en antigen binding sites vormen) en zodat  $C_H$  domeinen interactiesites met celoppervlakken of effector moleculen vormen (herh.) Noncovalente interacties dragen wellicht ook bij.  
Verbindingen afgeleid met proteolytische experimenten met papaïne en pepsine.
- **Synthese, assembly en expressie:** synthese Ig ketens in ribosomen van RER  $\rightarrow$  assembly in ER gereguleerd door chaperone proteïnen  $\rightarrow$  via Golgi in vesikels naar plasma membraan  $\rightarrow$  verankerd in celmembraan of secretie.  
Tijdens B cel maturatie verandert Ig expressie:
  - pre-B cel:  $\mu$  zware keten, meeste in cytoplasma (degradatie), paar vormen pre-B cel receptoren
  - onrijpe en rijpe B cellen:  $\kappa$  of  $\lambda$  lichte keten +  $\mu$  zwaar = membraan IgM
  - rijpe B cel: membraan IgM en IgD  $\rightarrow$  receptors die B cel activatie kunnen initiëren

- geactiveerde B cel → conversie van membraan- naar secretie-Ig + zware keten **isotype switching** (via switch recombinatie: alleen C verandert, V specificiteit zelfde) → Ig-secretie cel

### Binding antigen-antistof

Antigen = elke stof die specifiek gebonden wordt door Ig's of T cel receptoren.

Ig's binden van alles, suikers, lipiden, koolhydraten, proteïnen, hormonen, enz.

T cel receptoren binden peptiden ( $\alpha\beta$  TCR via MHC) of lipiden/kleine moleculen ( $\gamma\delta$  TCR).

- Immunogeen = molecuul dat immuunrespons stimuleert, ook hapteen-carrier complex.
- Antistof bindt aan bepaald deel antigen = **determinant = epitoom**. Als antigen meerdere identieke determinanten heeft = poly- of multivalentie.
  - Ruimtelijke rangschikking van de epitopen beïnvloedt de antistofbinding (veel ruimte ertussen → niet-overlappende determinanten, allosterische effecten: door binding van ene conformatieverandering wat andere binding beïnvloedt).
  - Determinanten worden gevormd door covalente structuur van een molecuul of door noncovalente vouwing (bij proteïnen en nucleïnezuren). **Lineaire** determinanten: gevormd door naast elkaar liggende aa's (soms alleen toegankelijk na denaturering). **Conformationele** determinanten: gevormd door aa's die door vouwing naast elkaar komen. **Neoantigene** determinanten: nieuw gevormd door modificaties in eiwit.
- Antigen binding sites van antistoffen kunnen conformationele determinanten van macromoleculen binden. Herkenning is noncovalent en reversibel. **Affiniteit** = sterkte van binding tussen epitoom en antigen binding site, weergegeven door  $K_d$  (kleiner is sterker). **Aviditeit** = totale bindingssterkte. IgM (pentameer) kan nl aan 10 identieke determinanten tegelijk binden. Veel lage affiniteitsbindingen kunnen samen hoge aviditeit geven. Polyvalente interacties belangrijk, want dan optimale effector triggering en in zone van equivalentie ontstaan grote immuuncomplexen, die ontstekingen kunnen geven.
- Ig kenmerken en antigenherkenning: V gebieden: specificiteit (zeer hoog, toch soms kruisreacties met self antigenen), diversiteit ( $10^9$ , antistof repertoire, random DNA recombinaties en nucleotide addities) affiniteit en aviditeit (**affiniteitsmaturing** = tijdens respons neemt door mutaties affiniteit van V toe, dit worden dan dominante B cellen).
- Ig kenmerken en effector functies: effector functies via **Fc** delen van Ig's. Alleen effector functies als antigen gebonden is (want naast elkaar gelegen Fc's nodig als trigger). Tijdens respons isotype switching, zodat beste type ontstaat. Isotype bepaalt ook weefseldistributie (IgG naar foetus).

## HFD 4 MHC

MHC = major histocompatibility complex = groot gebied met genen die coderen voor proteïnen, die antigenen die op cellen zitten presenteren aan T cellen. Dus MHC moleculen binden peptides, en dit samen op een cel (APC) wordt herkend door T cellen.

- Klasse I MHC moleculen: presenteren peptides aan CD8<sup>+</sup>
- Klasse II MHC moleculen: presenteren peptides aan CD4<sup>+</sup> (helper)

### Ontdekking en rol MHC

- Ontdekt door rol in T cel triggering wat snelle weefselreactie na transplantatie veroorzaakt. Binnen 1 muizenstrain (syngeneic) geen reactie, tussen verschillende strains wel reactie → herkenning van vreemd weefsel is erfelijk → histocompatibiliteits genen.
- MHC genen van essentieel belang in immuun respons op proteïne antigenen. Want alleen via MHC herkent T cel het antigen en kunnen helper en cytotoxische T cellen meehelpen.
- Humane MHC moleculen heten humane leukocyt antigenen (HLA). Klasse I ontdekt via alloantisera met alloantistoffen (reageren tegen alloantigenen, die op leukocyten zitten) en klasse II via de proliferatie van T cellen bij contact met alloantigenen.
- Sterk **polymorfisme**: sommige genen in MHC meer dan 250 soorten allelen in populatie. Bij een individu komen beide ouderallelen tot expressie (codominantie). Set MHC allelen op een chromosoom = MHC haplotype, 2 per heterozygoot individu dus.

### Structuur van MHC moleculen

- Klasse I: noncovalent complex van een (zware)  $\alpha$  keten en  $\beta_2$ -microglobuline (nonpolymorf polypeptide, niet gecodeerd door MHC). Proteïnen moeten gefragmenteerd worden, want past peptide in van 8-11 aa's. 6 verschillende MHC I per heterozygoot individu.
- Klasse II: noncovalent complex van  $\alpha$  en  $\beta$  keten (beide polymorf/door MHC gecodeerd). Peptiden 10-30 aa's en groter passen. De invariante keten beïnvloedt transport en plaatsing van nieuwe klasse II. 10-20 verschillende MHC II per heterozygoot individu.
- Homologie klasse I en II:
  - extracellulaire peptide-bindende kloof:
    - polymorf, wanden van 2  $\alpha$ -helices en bodem van  $\beta$ -pleated sheet (8 strengen)
    - klasse I →  $\alpha 1$  en  $\alpha 2$ , klasse II →  $\alpha 1$  en  $\beta 1$
  - 1 paar nonpolymorfe Ig-like domeinen: 1 loop vormt binding site voor T cellen. Klasse I →  $\alpha 3$  (geconserveerd), klasse II →  $\beta 2$
  - verankerd aan cel via transmembraan (hydrofoob) en cytoplasma (basisch) gebied

Peptidebinding versterkt interactie tussen ketens, en vice versa. Dus peptide nodig voor stabiele expressie (alleen functionerenden op cel).

### Binding van peptiden aan MHC moleculen

- MHC molecuul kan 1 peptide (vreemd/self) per keer binden, binding met lage affiniteit, binding blijft lang zitten voor herkenning door T cellen, die surveilleren op vreemde peptiden.
- Sommige polymorfe MHC residuen zorgen voor specificiteit voor bepaalde peptiden (pockets voor peptide anchor residuen), andere polymorfe MHC residuen vormen samen met peptide residuen een structuur die de T cel herkent.
- MHC molecuul kan veel verschillende peptiden die gemeenschappelijke structuurkenmerken hebben binden.

### Genomische organisatie van het MHC

In het MHC zitten, naast de polymorfe klasse I en II genen, genen die coderen voor complement proteïnen, cytokines, nonpolymorfe klasse-I-like moleculen en verschillende proteïnen betrokken bij antigen verwerking.

### Expressie van MHC moleculen

Klasse I op alle cellen met een kern, klasse II vooral op APCs (dendritische cellen, macrofagen, B lymfocyten) en paar celtypen zoals endotheelcellen en epitheelcellen van thymus.

Expressie bevordert door ontstekings- of immuunstimuli, zoals cytokine IFN- $\gamma$  die transcriptie van MHC genen bevordert (via CIITA = transcription activator).

## HFD 9 B cel activatie en antistof productie (B)

### Algemene kenmerken van humorale immuun respons

B lymfocyten worden geactiveerd door antigenen en gaan antistoffen afgeven om het antigen te elimineren. Voor B respons op proteïne antigenen CD4<sup>+</sup> helper T cellen nodig.

### Antigen herkenning en B cel activatie

Activatie: two-signal hypothesis (BCR complex = membraan Ig + Ig $\alpha$  en Ig $\beta$ )

1. BCR complex: IgM/IgD crosslinken door binding van multivalent antigen  $\rightarrow$  fosforylatie van Ig $\alpha$  en Ig $\beta$   $\rightarrow$  Syk (kinase) activatie  $\rightarrow$  fosforylatie PLC $\gamma$  + PLC $\gamma$  bindt aan SLP-65  $\rightarrow$  signaalcascades (PLC, Ras-MAP kinase)  $\rightarrow$  actieve enzymen  $\rightarrow$  activatie van transcriptiefactoren en de expressie van allerlei genen.
2. ook signalen van complement proteïnen nodig voor activatie: aan antigen gebonden C3d  $\rightarrow$  CR2 (complement receptor)  $\rightarrow$  o.a. PI-3 kinase activering  $\rightarrow$  versterkt wat onder 1 gebeurt.

### Antistof respons op proteïne antigenen (T cel afhankelijk)

- Activatie B  $\rightarrow$  overleving en mitose nemen toe + expressie MHC klasse II moleculen en costimulatoren B7-1/B7-2 + expressie cytokine receptoren + andere chemokine receptoren, waardoor migratie richting T zone
- Geactiveerde T migreren richting follikels  $\rightarrow$  interactie aan randen follikels  $\rightarrow$  B cellen fungeren als APC voor T<sub>H</sub>: presenteren peptide fragmenten van antigen aan klasse II MHC + **B7** costimulatie  $\rightarrow$  T<sub>H</sub> activatie: CD40L expressie + cytokine afgifte  $\rightarrow$  CD40 en cytokine receptoren op B  $\rightarrow$  stimulatie B cel **proliferatie en differentiatie**:
  - + antistof-afgevendende cellen (naar perifere lymfoïde organen en beenmerg).
  - + **isotype switching**  $\rightarrow$  productie verschillende Ig's  $\rightarrow$  verschillende effector functies. Welke Ig ontstaat is afhankelijk van welk type T<sub>H</sub> is geactiveerd (bacteriën: IgM, virussen/bacteriën: IgG, helminthic parasieten: IgE) en op welke plek (in mucosa vooral IgA).
- $\rightarrow$  na 4-7 dagen vormen prolifererende B cellen **germinal centers** (milt, lymfeknopen) in follikels  $\rightarrow$  + **affiniteitsmaturatie**: blz 5, tijdens respons neemt affiniteit van antistof toe, door somatische hypermutatie van Ig V-genen  $\rightarrow$  B cellen met membraan-Ig die met hoge affiniteit binden aan antigenen getoond door **FDCs** in germinal centers overleven, andere dood.
  - + **vorming memory B cellen**: leven lang zonder antigen stimulatie, recirculeren, bij volgende infectie snellere en krachtigere respons. **Conjugaat vaccins**: polysaccharide vaccin met proteïne eraan, zodat T<sub>H</sub> geactiveerd wordt en er wel affiniteitsmaturatie en vorming van memory B cellen optreedt.

### Antistof respons (T cel onafhankelijk)

$\rightarrow$  TI antigenen  $\rightarrow$  induceren humorale immuunrespons zonder T<sub>H</sub> cellen.

Veel TI antigenen (polysacchariden, glycolipiden, nucleïnezuren) zijn polyvalent  $\rightarrow$  binden aan meerdere membraan Ig's op B cel + activeren complement  $\rightarrow$  B cel activatie  $\rightarrow$  vooral IgM met lage affiniteit, beetje IgG (want beperkt isotype switching en geen germinal center).

### Antistof feedback: regulatie van immuunrespons door Fc receptoren

Humorale immuunrespons wordt gedownreguleerd wanneer er genoeg antistof is gemaakt en er oplosbare antistof-antigencomplexen aanwezig zijn.

Antistof-antigencomplex  $\rightarrow$  antigendeel bindt aan membraan Ig en antistofdeel bindt aan Fc receptor (Fc $\gamma$ RIIB)  $\rightarrow$  inhiberende signaalcascade geactiveerd (fosfaten weghalen)  $\rightarrow$  blokkering B cel activatie.

## HFD 6 Antigen receptoren van T lymfocyten (T)

Voor responsen van T cellen zijn nodig: specifieke antigen herkenning, stabiele adhesie tussen T en APC, en T cel activerende signalen.

### $\alpha\beta$ TCR

Klonaal verdeelde  $\alpha\beta$  TCRs herkennen peptide-MHC complexen op APC.

- Deze TCRs zijn heterodimeren, bestaan uit een  $\alpha$  en  $\beta$  polypeptideketen, verbonden door S-S. Beide ketens bestaan uit een V en C gebied.
- V gebied: 3 hypervariabele gebieden (CDRs) → herkenning [verwerkt antigen peptide-MHC] complex. TCR bindt aan peptide en aan polymorfe MHC residuen.

### $\gamma\delta$ TCR

Klonaal verdeelde  $\gamma\delta$  TCRs herkennen andere vormen van antigen, lipiden en kleine moleculen, die gepresenteerd worden door nonpolymorfe MHC-achtige moleculen.

Komen weinig voor (<10%), vooral intraepitheliaal in dieren. Functie niet echt bekend.

### TCR complex

De  $\alpha\beta$  /  $\gamma\delta$  heterodimeren zijn noncovalent verbonden aan invariante membraanproteïnen: **CD3** molecuul (bestaat uit  $\gamma$ ,  $\delta$ , en  $\epsilon$  proteïne) en een homodimere  **$\zeta$  keten**. Het TCR complex = TCR + CD3 +  $\zeta$  keten. In cytoplasma staart hebben CD3 en  $\zeta$  keten een **ITAM** = immunoreceptor tyrosine-based activation motif, wat belangrijk is voor signaalfuncties.

Als TCR bindt, zorgen CD3 en  $\zeta$  eiwitten voor signaaltransductie die leidt tot T cel activatie.

### Accessoire moleculen van T cellen

Membraanproteïnen, belangrijk voor activatie: rol in stabiliseren van adhesie of signaaltransductie.

Zijn nonpolymorf en invariant.

#### Signaal

- **CD4 en CD8**: coreceptoren die binden aan nonpolymorfe gebieden van MHC moleculen
  - CD4 op T helper cellen, bindt aan klasse II MHC ( $T_H$  produceren cytokines en functie in verdediging tegen extracellulaire microben)
  - CD8 op cytotoxische T cellen, bindt aan klasse I MHC (CTL belangrijk bij afweer tegen intracellulaire microben, virussen).Zij geven signaaltransductie die samen met signalen van TCR complex de T cel activatie beginnen. (Bevorderen ook adhesie tussen T cel en APC).
- **CD28 en CTLA-4**: receptoren voor B7 costimulatoren op APCs. CD28 geeft signaal 2 (TCR complex signaal 1; 2 signal hypothesis) dat nodig is voor T cel activatie, remt apoptose. CTLA-4 wordt geïnduceerd na T cel activatie en remt activatie.
- **CD45**: glycoproteïne met tyrosine fosfatase domein, rol in T cel activatie, mechanisme onbekend.
- **CD2**: veel voorkomend glycoproteïne met signaal- en adhesie functie.

#### Adhesie

Adhesie belangrijk voor stabiele T cel-APC interactie en voor T cel migratie naar infectiehaarden.

- **Integrines  $\beta 2$**  = LFA-1 (leukocyte function-associated antigen) en  **$\beta 1$**  = VLA-4 (very late activation) binden respectievelijk ICAMs en VCAM-1 die op oppervlak van andere cellen zitten. Integrines zorgen voor adhesie van T cellen aan APCs, endotheelcellen en extracellulaire matrixeiwitten. Aviditeit van integrines neemt sterk toe door chemokines en door TCR stimulatie. Door activatie neemt expressie van integrines toe en ligandexpressie neemt toe door ontstekingscytokines.
- **Selectines**: L-selectine reguleert de migratie van naïeve T cellen naar de lymfeknopen.
- **CD44**: retentie van T cellen in ontstoken weefsel en aan endotheel bij ontstoken plekken.

#### Effector moleculen van T cellen (later hfd)

- **CD40L**: bindt aan CD40 op B lymfocyten, macrofagen, dendritische cellen, endotheelcellen → activatie van die cellen.
- **Fas ligand**: als ligand aan Fas bindt → apoptose. Fas ligand is ook een mechanisme van T killer.
- **Cytokines en receptoren**: geactiveerde T cellen geven cytokines af en expressie van cytokine receptoren.



## HFD 7 Lymfocyt maturatie en expressie van antigeen receptor genen (alleen T)

### Beenmerg

Pluripotente stamcel → proliferatie door hoge mitotische activiteit door IL-7

↓

Thymus: rijping van thymocyten, migratie van cortex naar medulla.

Pro-T: dubbel negatief (geen CD4 en CD8) en geen TCR → antigeen receptor expressie via **antigeen receptor genrecombinatie**.

↓

Pre-T: nog steeds dubbel negatief, wel V-D-J gerecombineerde β keten genen en mRNA → pre-TCR → remt recombinitie op andere β ketenallel + stimulatie CD4 en CD8 expressie

↓

Dubbel positief: + gerecombineerde V-J α keten genen en mRNA → membraan αβ TCR → **positieve en negatieve selectie**

↓ medulla, verlies van CD4/CD8 gen of onderdrukking expressie?

Single positief = immature T cel → CD4<sup>+</sup> krijgt cytokine producerende functie, CD8<sup>+</sup> krijgt functie ↓ van dodende moleculen productie

### Perifeer lymfoïd weefsel

Naïeve T cel → activatie

↓

Effector T cel

---

### Antigeenreceptor genrecombinatie

Via somatische recombinitie worden gensegmenten die gescheiden liggen met elkaar verbonden.

Gensegmenten: L is leader, V is variabel, D is diversiteit, J is joining en C is constant.

β keten gen: eerst D-J joining, dan V-D-J joining, transcriptie, splicing → L-V-D-J-C mRNA.

α keten gen: V-J joining, transcriptie, splicing → L-V-J-C mRNA.

Gemedieerd door een recombinase complex, wat o.a. de lymfocyt specifieke proteïnen van RAG-1 en RAG-2 bevat.

Door de somatische recombinities krijgen Ig's en TCRs hun diversiteit, vooral in het derde hypervariabele gebied CDR3 (want tussen V-D D-J of V-J worden nucleotiden weggehaald of toegevoegd tijdens het verbinden).

### Positieve en negatieve selectie

Positieve selectie van CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> TCRαβ thymocyten: als ze met lage aviditeit self peptide-MHC complexen op epitheelcellen van de thymus herkennen → geen apoptose. Bij geen herkenning apoptose.

Negatieve selectie van CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> TCRαβ thymocyten: als ze met hoge aviditeit binden aan de self antigenen (in MHC complex) die in hoge concentraties in thymus zitten → apoptose.

Meeste thymocyten overleven de selecties niet.

Selectiemechanisme bij TCRγδ onbekend. Antigeenreceptor genrecombinatie verloopt op vergelijkbare wijze, maar lijnen van αβ en γδ lopen wel onafhankelijk van elkaar.

## HFD 8 Activatie van T cellen (T)

### Algemeen

Antigen herkenning + interactie accessoire moleculen → activatie van naïeve T cel → expansie van die antigen-specifieke pool + differentiatie van deze cellen in effector en memory lymfocyten → effector T geactiveerd → activatie macrofagen, B cellen / eliminatie van microbe.

Naïeve T cel geactiveerd door dendritische cel, effector T cellen kunnen door verschillende APCs geactiveerd worden.

### Functionele responsen van T cellen

Na antigeenherkenning:

- Cytokine afgifte: vooral IL-2 = groeifactor, zie hieronder...
- Proliferatie: autocrien: geeft eigen groeifactor IL-2 af + expressie van IL-2 receptoren
- Differentiatie in effector cellen: T<sub>H</sub> activeert andere cellen, T<sub>C</sub> doodt target cellen.
- Differentiatie in memory cellen
- Afname T cel respons: als antigen er niet meer is, sterven door apoptose.

### Rol van costimulatoren in T cel activatie

Best beschreven costimulator = **CD28**, wat bindt aan B7-1 en B7-2 op geactiveerde APCs. CD28 geeft signalen die overleving, cytokine productie en differentiatie verbeteren.

Expressie van costimulatoren is gereguleerd, waardoor T cel responsen op juiste moment en plaats uitgevoerd worden. De expressie wordt gereguleerd door aanwezigheid van microben, cytokines en signalen van CD40. Anders dan bij B cel activatie door T<sub>H</sub>! T cel herkent antigen zonder B7 → expressie CD40L en binding aan CD40 → APCs expressie B7 en cytokine afgifte → B7 aan CD28 en cytokines op receptoren → T cel activatie.

### Signaaltransductie door het TCR complex

Antigen herkenning → clustering van TCR complex en coreceptoren → Lck fosforyleert CD3 en ζ keten → ZAP-70 bindt aan ζ en fosforyleert adapterproteïnen → PKC / Ras-MAP kinase / calcium-calineurin routes → activatie enzymen (ERK, JNK, PKC, calcineurin) → transcriptiefactoren (NFAT, AP-1, NK-κB) → verhoogde genexpressie. Costimulatoren versterken transcriptiefactoractivatie.

### Cytokines:

Afgifte is kortdurend en zelfregulerend, effect op veel verschillende celtypes, overlappende effecten.

- **IL-2:** uit (CD4<sup>+</sup>) T cellen. Groeifactor voor antigen gestimuleerde T cellen, stimuleert proliferatie en differentiatie NK cellen, inductie apoptose geactiveerde T cellen, stimuleert groei en Ig vorming van B cellen.
- **IFN $\gamma$ :** uit NK, T<sub>H</sub>1 en CD8<sup>+</sup> T cellen. Macrofaag activatie, stimuleert isotype switching in B cellen naar opsoniserende Ig's (IgG2a), differentiatie naar **T<sub>H</sub>1** en remming differentiatie naar T<sub>H</sub>2, upregulatie MHC en costimulatoren.
- **IL-4:** uit T<sub>H</sub>2, mestcellen en basofielen. Stimuleert switching naar IgE (afweer tegen parasieten en allergenen) en neutraliserend IgG4, stimuleert groei en differentiatie **T<sub>H</sub>2** cellen, remt cellulaire respons door remming IFN $\gamma$  (inhibeert macrofaag activatie).

### Effector functies van CD4<sup>+</sup> T lymfocyten: T<sub>H</sub>1 en T<sub>H</sub>2

T<sub>H</sub>1 differentiatie gebeurt in respons op microben,

T<sub>H</sub>2 differentiatie in respons op helminthen en allergenen.

T<sub>H</sub>1 functies: - macrofaag activatie (IFN- $\gamma$ )  
- stimulatie opsoniserende Ig's (IFN- $\gamma$ )  
- activatie CD8<sup>+</sup> tot CTL (IL-2, IFN- $\gamma$ )  
- neutrofiel activatie (LT, TNF)

T<sub>H</sub>2 functies: - eosinofiel activatie (IL-5)  
- onderdrukking macrofaag activatie (IL-10, IL-4)  
- via IgE mestcel degranulatie (IL-4)  
- meer neutraliserende IgGs (IL-4).

## **HFD 12 Aangeboren afweer**

Eerste afweer tegen vreemde indringers (meestal microben). Mechanismen al aanwezig voor contact met microben. Evolutionair ouder dan specifieke immuniteit.

Samenwerking met specifieke/verworven afweer: effector mechanismen van aangeboren afweer worden ook gebruikt bij specifieke afweerreacties + aangeboren stimuleert en beïnvloedt de verworven respons (soort waarschuwing, tweede signaal):

- macrofagen (geactiveerd door microben en IFN- $\gamma$ ) produceren costimulatoren voor T cel activatie + cytokine IL-12, wat IFN- $\gamma$  productie door T<sub>H1</sub> cellen en de ontwikkeling van IFN- $\gamma$ -producerende effector T cellen stimuleert → cellulair.
- complement fragmenten (C3d) vormen 2<sup>o</sup> signaal voor B cel activatie en Ig productie → humoraal.

Respons: residente macrofagen (en NK cellen) herkennen microben en geven cytokinen IL-1 en TNF af → neutrofielen en monocytten + plasma-proteïnen (complement) gerekruteerd naar infectieplek = ontsteking! Ontsteking is beschermend bedoeld: infectie onder controle en weefsel herstellen, maar ontsteking kan ook weefsel beschadigen.

Aangeboren afweer gebruikt patroonherkenning: receptoren herkennen structuren die alleen op potentieel pathogene micro-organismen voorkomen en die vaak essentieel zijn voor overleving. Dus geen herkenning van structuren op zoogdiercellen, dus discriminatie tussen self en nonself. Minder receptoren, dus minder specifiek dan de lymfocyten (herkennen klassen van microben).

### Componenten:

- **Epitheel barrières** (huid, mucosa): fysieke barrières + defensines (breedspectrum antibiotica in huid, synthese ↑ door IL-1 en TNF $\alpha$  uit macrofagen enz bij ontstekingen), cryptocidines (natuurlijk antibiotica in darm) + intra-epitheliaal: T lymfocyten, B-1 cellen, natuurlijke Ig's, mestcellen.
- **Circulerende effector cellen**: leukocyten: fagocyten (neutrofielen, macrofagen) en NK cellen.
  - Neutrofielen en macrofagen: fagocyten die opgegeten microben doden door productie van ROI (reactive oxygen intermediates) door oxydase, NO door iNOS en *lysosomale enzymen* in fagolysosomen. Neutrofielen zijn meest aanwezige leukocyten en zijn er het eerst. Macrofagen functie ook: cytokines (TNF, IL-1) → ontsteking; IL-12 → zie ↓↑; groeifactoren → weefselremodelling. Migratie: IL-1 en TNF geven expressie adhesiemoleculen op endotheel (selectine, integrine ligand) en chemokines → migratie naar infectieplek door selectine-integrine-chemokine. Begin van ontsteking is dus de veranderingen op endotheelwanden.
  - Receptoren: fagocyten herkennen microben via:
    - Toll receptoren: CD14 TLR herkent LPS op celwand Gram-negatieve bacteriën.
    - Mannose R: bindt glycoproteïnen en -lipiden met mannose/fucose residuen (typisch microbe)
    - G-eiwit-gekoppelde receptoren (7- $\alpha$ -helix-transmembraan receptoren): herkennen microben en ontstekingsmediatoren → bevorderen migratie naar ontstekingsweefsel.
    - FcR: herkenning IgG geopsoniseerde antigenen. CR1 receptor → C3b (complement).
  - NK cellen: lymfocyten die verdedigen tegen intracellulaire microben, door geïnfecteerde cellen te doden (met perforine en granzymen) en een bron van IFN- $\gamma$  te zijn (macrofaag activatie). NK cel ervoor geactiveerd door IL-12 en IL-15 uit macrofaag. Herkenning via inhiberende en activerende receptoren: normale cellen niet gedood want inhiberende receptoren herkennen MHC I moleculen, virus-geïnfecteerde cellen wel gedood want die hebben minder MHC I (inhiberende receptorwerking weg).
- **Circulerende effector proteïnen**: complement (MBL), C-reactief proteïne
  - complement: alternatieve en lectine route → ontsteking, opsonisatie en fagocytose, cytolyse.
  - C-reactief proteïne (een pentraxine) werkt als opsonine (+ activatie klassieke complementroute)
- **Cytokines**: TNF, IL-1, chemokines, IL-12, type 1 IFNs, IFN- $\gamma$ 
  - recruterend en activerend van leukocyten: TNF, IL-1, chemokines
  - microbe-dodende activiteiten van fagocyten bevorderen/macrofaagactivatie: IFN- $\gamma$  (uit NK)
  - stimulerend van NK cel en T cel responsen: IL-12 en IL-15Bij zware infectie zoveel cytokine productie dat het gevaarlijk en zelfs dodelijk kan worden.

## HFD 14 Effector fase van humorale immuunrespons

### Antistoffen

Humorale immuniteit: via antistoffen, belangrijk voor verdediging tegen extracellulaire microben en toxines. Antilichamen worden geproduceerd door B cellen die na de eerste blootstelling nog lang blijven produceren (plasmacellen) of door memory B cellen die door een tweede blootstelling gereactiveerd worden. Productie in lymfoïde organen/beenmerg, effect in mucosa-afgifte en bloed.

Effector functies van Ig's (tabel 14-1, afh. van type Ig → isotype switching o.i.v. T<sub>H</sub>):

1. neutralisatie van microben en toxines (bloed IgG, mucosa IgA)
2. Fc-receptor-afhankelijke fagocytose van geopsoniseerde deeltjes (IgG)
3. ADCC (IgE: eosinofielen, IgG: NK en macrofagen)
4. activatie complement systeem (IgM, IgG)

### 1. Neutralisatie antigenen

Ig's binden aan microben en zorgen zo voor sterische hinder, waardoor microben niet kunnen binden aan celreceptoren. Zo wordt ook de binding van toxines aan host-cellen voorkomen.

### 2. Opsoniseren en fagocytose bevorderen

Ig's coaten/opsoniseren deeltjes, waarna het Fc deel van de Ig's bindt aan leukocyt-Fc-receptoren (IgG → FcγR), waardoor deeltje gefagocyteerd wordt en microbicidale activiteit wordt gestimuleerd. Verschillende Fc-receptoren voor verschillende Ig's.

### 3. ADCC

= antibody dependent cell-mediated cytotoxicity: NK-cellen en leukocyten binden aan geopsoniseerde cellen en vernietigen deze. Bij helminthen (groot en vrij resistent): IgE opsonisatie → eosinofielen binden via FcεRI → vernietigd door basisch eiwit uit granules.

### 4. Complement systeem

= serie plasma- en membraaneiwitten die op elkaar inwerken en op andere moleculen van het immuunsysteem. Belangrijkste effector moleculen voor aangeboren afweer en humorale afweer.

Onder normale omstandigheden inactief.

#### • Routes

Centraal: proteolyse van C3 → covalente binding van product C3b aan microbe of aan Ig op antigen.

- *Alternatieve route* (aangeboren): activatie zonder Ig's. C3 proteolyse → C3b bindt aan microbe + factor B bindt en wordt Bb → C3 convertase → maakt meer C3b → C3b-Bb-C3b = C5 convertase.

- *Klassieke route* (humoraal): activatie door bepaalde Ig's gebonden aan antigenen. C1 bindt aan: C<sub>H</sub>2 op IgG of C<sub>H</sub>3 op IgM op antigen → C4 bindt en wordt C4b + C2 bindt en wordt C2a → C4b-C2a = C3 convertase → maakt meer C3b → C4b-C2a-C3b = C5 convertase.

- *Lectine route* (aangeboren): activatie door een plasmalectine dat aan mannose-residuen op microben bindt → MBL lijkt op C1q → verder als klassiek.

*Late stappen zelfde*: C5 convertase → C5a (ontsteking) en C5b → + C6, C7 en C8 → + poly-C9 = MAC (membrane attack complex)

#### • Functies

- cytolyse: C3b bindt aan microbe → MAC vorming → osmotische lyse van microbe

- opsonisatie en fagocytose: C3b (of C4b) bindt aan microbe → opsonisatie → herkenning door fagocyt-C3b-receptor → fagocytose

- stimulatie ontstekingsreacties: C3b bindt aan microbe, afgifte van C3a + proteolyse van C5, waarna afgifte van C5a → door C3a, C4a en C5a (= anaphylotoxines) rekrutering en activering van neutrofielen + degranulatie mestcellen → vernietiging van microben door leukocyten + histamine vrij.

- verbetering humorale immuunrespons: C3d activeert B cellen.

#### • Regulatie

Sterke regulatie door eiwitten om eigen cellen te beschermen en duur te beperken.

Alle zoogdiercellen hebben complement-remmende-membraaneiwitten, microben niet, waardoor discriminatie self-nonselv mogelijk is.

- DAF (decay accelerating factor) en CR1 remmen vorming C3 convertase.

DAF vooral op endotheel en ery's. Bij deficiëntie in synthese van glycoposphatidylinositol gebonden membraaneiwitten → paroxysmale nachtelijke hemoglobininuria, door ery-afbraak door complement.

- CD59 en S-eiwit remmen MAC vorming.

- C1 inhibitor voorkomt proteolytische activiteit van C1r en C1s. Deficiëntie C1 INH → hereditair angioneurotisch oedeem.

### Mucosale immuniteit

Door IgA productie in mucosaal lymfoïd weefsel (bijv. platen van Peyer) → actief transport via poly-Ig receptor door epitheelcellen het lumen in. Grote oppervlakken → 2 g IgA/dag, zo'n 65% van totale Ig productie.

### Neonatale immuniteit

Passieve immuniteit door maternaal IgG wat de placenta kan passeren, of via melk (IgA, IgG), waarbij de IgG's het darmepitheel/placenta kunnen passeren via de gespecialiseerde neonatale receptor FcRn.

---

### **Overzichtje:**

#### Extracellulaire bacteriën:

Aangeboren: fagocyten en complement systeem (alternatieve route).

Verworven: Ig's opsoniseren bacterie en activeren complement systeem. Neutralisatie van toxines door Ig's.

#### Intracellulaire bacteriën:

Aangeboren: macrofagen (maar ze kunnen vaak in fagocyten overleven...).

Verworven: cellulaire respons: activatie van CD4<sup>+</sup> en killing door CD8<sup>+</sup>.

#### Schimmels:

Aangeboren: neutrofielen en macrofagen.

Verworven: cellulaire respons.

#### Virussen:

Aangeboren: type I IFNs en NK cellen.

Verworven: Ig's voorkomen dat virus in cellen kunnen. Bij infectie vooral cytotoxische T killing (CTLs).

#### Parasieten:

Aangeboren: zwak

Verworven: protozoa in cellen → cellulaire respons; helminthen door eosinofielen via IgE en andere leukocyten.

## **HFD 19 Overgevoelighedsreacties** = allergie of atopie.

= immuunreactie door binding van antigen aan IgE, wat al aan mestcel zat, wat leidt tot afgifte van ontstekingsmediatoren.

Stappen: blootstelling aan antigen (allergeen) →  $T_H2$  respons (IL-4 →) → IgE productie → binding van IgE aan FcεR op mestcellen (**sensitisatie**) → opnieuw allergeen → cross-linking van IgE/FcεRs door binding van multivalent allergeen → activatie mestcel: activatie intracellulaire second messengers → exocytose uit granules + synthese en secretie lipide mediators + synthese en secretie cytokines → pathologische reactie.

**Atopisch** individu heeft meer IgE in bloed en meer FcεRs/mestcel → ontvankelijk voor overgevoeligheid = genetische aanleg. Allergeen: eiwit of chemisch stofje aan eiwit (want van T cel afhankelijk), wat in normale individuen niet een IgE reactie veroorzaakt, individu wordt herhaaldelijk blootgesteld, geen aangeboren immuunrespons.

### Effectorcellen (met FcεRI)

- *Eosinofielen*: speciale klasse granulocyten. Gerekruteerd naar ontstekingsreacties door chemokines en IL-4, geactiveerd door IL-5 (van  $T_H2$ ). Het zijn de effectorcellen van IgE reacties, zo vernietigen zij parasieten (helminthen) via ADCC met major basic protein (MBP). Bij allergische reacties dragen ze bij aan de weefselschade en reacties (toxische granule proteïnen + enzymen + lipide mediators).

- *Mestcellen*: uit beenmerg, rijpen in weefsels (subtypen: bindweefsel/mucosa). Hebben hoge affiniteitsreceptoren voor IgE: FcεRI. Bevatten granules met verschillende ontstekingsmediatoren.

Verschillende subtypen maken verschillende mediators. Belangrijke beschermende rol bij aangeboren afweer tegen bacteriële infecties.

- *Basofielen*: circulerende granulocyten die qua structuur en functie op mestcellen lijken.

### Mediators

Mestcellen en basofielen geven 3 soorten mediators af:

- granule-inhoud: biogene amines (histamine)  
enzymen (proteases: tryptase, chymase) → weefselschade
- lipide mediators (PG, LT, PAF)
- cytokines (TNF, IL-4, IL-5).

*Acute reactie* (binnen minuten): door biogene amines en lipide mediators → vasodilatatie, vaatlekkage (oedeem), gladde-spiercontractie en bronchoconstrictie, wheal-and-flare bij intradermale injectie van allergeen,

*Late fase reactie* (2-4 uur later): door cytokines (en lipide mediators) → ontsteking (accumulatie van ontstekings-lymfocyten)

### Allergische ziekten

- Allergisch astma: ontstekingsziekte door herhaalde overgevoeligheid. De late fase reacties leiden in de long tot luchtwegobstructie, chronische bronchitis en bronchiale gladde-spier hypertrofie en hyperreactiviteit. Therapie: ontstekingsremmers: GCS, Na-cromoglycaat, en bronchusverwijders.
- Rhinitis = hooikoorts. Overgevoeligheid in hogere luchtwegen door inhaleren van allergenen zoals pollen en stofmijt. Therapie: antihistaminica (GCS, cromoglycaat).
- Huidreacties: urticaria (acute wheal and flare door direct contact of injectie van allergeen, therapie: antihistaminica, GCS) en eczeem (door late fase reactie op allergeen in huid, therapie: GCS).
- Voedselallergie: overgevoeligheid voor voedsel (pinda's, schaaldieren), waardoor mediatorafgifte uit darmmucosa → diarree+overgeven. Soms ernstige system. reacties. Therapie: cromoglycaat.
- Anafylaxis = systemische overgevoeligheid → oedeem in vele weefsels, bp-daling → anafylactische shock, vaak fataal. Therapie: systemisch adrenaline (antihistaminica, GCS).

### Therapie

Drug-therapie is gericht op remming van mediatorproductie en blokkeren van de effecten van mediators.

Immunotherapie heeft als doel het voorkomen of remmen van de  $T_H2$  respons op specifieke allergenen en de productie van IgE. Bijv. desensitisatie met wespengif → voorkomt acute anafylaxis.

### Regulatorische T-cellen:

$T_r$  cellen remmen effecten van  $T_H1$  en  $T_H2$  via IL-10, dus rol bij immunoregulatie en tolerantie.

## VACCINATIES

Ter voorkoming van mortaliteit en morbiditeit.

Ig respons: snel IgM, rijping naar IgG (sterke verhoging na boosters) en IgA (mucosale weefsels).

### Passief en actief

Actief: toediening micro-organisme of antigeen in geschikte vorm, al dan niet samen met adjuvans, al dan niet meermalig (boosters). Bijv. DKTP, BMR prik. Vrijwillig iedereen (RVP) of bij acuut contact.

(Adjuvantia: toevoegingen om respons tegen in vaccin aanwezige antigenen te verhogen of op te wekken, bijv. aluminiumhydroxide of fosfaat, minerale olie of paraffine, LTB).

Passief: toediening van Ig's (meestal IgG), intramusculair of oraal (moedermelk = IgA). Bijv. tetanus, hondsdolheid, slangenbeet behandeling. Voor immunogecompromitteerden of bij acuut contact.

### Soorten vaccin:

Vaccin moet minder ziekteverwekkend zijn als natuurlijke infectie, maar wel net zo goed qua respons en memory.

- Geïnactiveerd of gedood: niet replicerend ( - mindere respons / + niet meer dan toegediend, geen mutaties, geen immuunrepressie), bijv. tyfus, polio, D(K)TP
- Geattenuëerd (verzwakt): replicerend, bijv. BMR
- Gelijkende virusstammen uit dieren: + minder pathogeen voor mens / - efficiëntie, mutatie, immuunrepressie, bijv. BCG
- Subunit/componenten vaccin: niet replicerend, bijv. influenza
- Geconjugerd: ingebouwd adjuvans, + goed immunogeen, al op jonge leeftijd bescherming / - synthese
- Virale vectors +DNA: replicerend, experimenteel, bijv. HIV antigenen in kanariepokken vector

### Toedieningsroutes

- Meestal intramusculaire of subcutane/intradermale injectie: + veel ervaring, goede systemische respons / - personeel, opgelost = koud vaccin, naaldvrees, niet natuurlijke route, geen mucosale respons
- Mucosaal (nasaal, oraal, urogenitaal): + sterke mucosale IgA en systemische IgG respons, geen personeel, in poeder = ongekoeld, geen naald / - mogelijke tolerantie, verschillende mate van respons op applicatieplaats, lokale overstimulatie; nasaal beter, bijv. nasale spray.
- Gene gun: DNA-vaccinatie van op goudbolletjes gecoat DNA in weefsel via elektrische versnelling of hoge druk, + expressie (replicatie) / - experimenteel
- Eetbare vaccins

### Ziektebeelden

- Bof: virus, lichte koorts, pijn en zwelling, complicaties: menigitis, kans op miskraam
- Mazelen: virus, koorts, verkoudheid, rode uitslag, oogontsteking, complicatie: middenoorontsteking, bronchitis, longontsteking, encefalitis, nefrotisch syndroom
- Rode hond: virus, meestal goedaardig, zelden complicaties, tijdens eerste maanden zwangerschap gevaarlijk
- Tetanus: bacterieel, diepe wonden, toxine via zenuwen naar ruggenmerg en hersenen → levensbedreigende spierkrampen
- Polio: virus, zeer zelden neurologische complicaties: verlammingverschijnselen
- Pokken: virus, huiduitslag, griepklachten, tot 30% lethaal, wereld nu pokkenvrij

### RVP

= Rijks Vaccinatie Programma = vrijwillig: DKTP, Hib, BMR, Men. C

Kinderen < 1 jaar booster, want nog ontwikkelend immuunsysteem + non-live vaccin, maar wel noodzakelijk: beperkte maternale IgG bescherming, IgA moedermelk bescherming ook beperkt, wel contact met antigenen voordat je 1 bent.

Toekomst: meningokokken B, hepatitis B, waterpokken, RSV, HPV, pneumokokken, influenza. Op nog langere termijnverschuiving naar SOA's.

### Kinkhoest

In NL, Polen, keuze Frankrijk en straks in UK en Finland is het een whole cell vaccinatie (complete gedode bacteriën), in andere landen is het een acellulaire vaccinatie. Voordelen whole cell: werkt tegen veel bacteriële componenten, ook tegen het mildere parapertussus, wel adjuvans (betere repons tegen D, T en Hib componenten).

## PATHOLOGISCHE PROCESSEN

### Sepsis

= systemische ontstekingsreactie, SIRS: systemic inflammatory immune response.  
Dus als immuunrespons niet lokaal is, maar in bloedbaan.

#### Symptomen:

- diffuse intravasale stolling
- lage bloeddruk
- leukopenie (tekort) of leukocytose (teveel) en trombopenie
- massale complement activatie
- hoge koorts
- verhoogde hartslag en ademhaling

Tenslotte: Multiple Organ Failure: door de lage bloeddruk, stollingen en schade overall vallen organen uit.

#### Oorzaak:

Bacterie, schimmel, (virussen, parasieten, gisten) of resten hiervan in bloedbaan. Of als micro-organisme wel in infectiehaard blijft, kan sepsis veroorzaakt worden door toxines of cytokines/ontstekingsmediatoren. Belangrijkste doodsoorzaak is endotoxine = LPS! LPS zit in wand van Gram-negatieve bacteriën, als LPS in bloed komt → activeert CD14-Toll-like receptor en activeert zo macrofagen → circulerende cytokine productie → sepsis. LPS kan in bloedbaan komen als barrières doorbroken worden, bijv. bij leverfalen of darmlekkage.

### Leverfibrose

= chronische ontstekingsreactie, gevolgd door vorming van littekenweefsel.

#### Oorzaak:

Schade aan hepatocyten → ontstekingsreactie in lever → chronische schade leidt tot vorming littekenweefsel. Bij ontsteking stimuleren cytokines uit geactiveerde macrofagen fibroblasten en weefsel-remodelling

---

### Monoclonale antilichamen productie

1. isoleren van geïmmuniseerde (met antigen X) lymfe- of miltcellen uit muis
2. fuseren van miltcellen met myeloma cellen (die niet in HAT kan groeien)
3. mix van gefuseerde en ongefuseerde cellen in HAT medium
4. B cellen overleven niet lang, myeloma's overleven niet in HAT → alleen hybridomas groeien
5. cultiveren bij concentratie van 1 hybridoma per well
6. klonen
7. screenen op anti-X-antistof
8. positieve wells expanderen

HAT: hypoxanthine-aminopterin-thymidine

---

### Allergische astma

80% astma is **allergisch**:

Allergeen → activeert Th2 cellen → IL-4: switch naar IgE uit B cellen → IgE bindt aan mestcellen en eosinofielen (sensitisatie)  
→ IL-5 (activeert eosinofielen) en IL-4 en IL-13 (meer IgE op eosinofielen en mestcellen)

Allergeen → aan IgE aan mestcellen → mestcel geactiveerd → mediator (hist., LTC<sub>4</sub>, PAF, IL's, cytokines) afgifte → vroege respons ± eosinofiel activatie → mediator afgifte (MBP, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, PAF, LTC<sub>4</sub>) → late respons

#### Vroege respons:

- Bronchoconstrictie
- Oedeem
- Mucussecretie
- Luchtwegobstructie

#### Late respons:

- Ontsteking
- Obstructie
- Hyperreactiviteit door schade en verlies van epitheel (irritantrec. en C-vezels bloot)
- Irreversibele luchtwegremodelling (cytokines → groeifactoren)



## Therapie:

- Bronchusverwijders:
  - o  **$\beta_2$ -adrenerge agonisten**
  - o **Theofylline:** remt PDE (nonselectief)  $\rightarrow$  meer cAMP  $\rightarrow$  relaxatie (en mestcel remming, maar niet gebruikt als ontstekingsremmer)  
Alleen nog bij zeer acute ernstige astma.
  - o Anticholinergica: veel mediators, dus beperkt effectief.
- Ontstekingsremmers:
  - o Cromoglycaat: remmen mediatorvrijmaking mestcellen en ontstekingscellen?  
Beschermen tegen vroege en late reactie.
  - o **Glucocorticosteroiden:**
    - Transactivatie: bindt aan DNA
      - Remming transcriptie cytokines, iNOS, COX-2, PLA<sub>2</sub>, dus minder eosinofielen en mestcellen
      - $\beta_2$ -rec  $\uparrow$  (voorkomt desensitisatie)
      - Lipocortine  $\uparrow$  = remmer PLA<sub>2</sub>  $\rightarrow$  minder LT's, PAF en PG's
    - Transrepressie: complexvorming  $\rightarrow$  inactivatie transcriptiefactor cytokines
    - Afname vasculaire permeabiliteit (oedeem)
    - Afname mucussecretie
  - o Antileukotriënen  
Remming cysteinyl-LT's  $\rightarrow$  minder oedeem, mucus, bronchoconstrictie en eosinofiel activatie (LTC<sub>4</sub>)