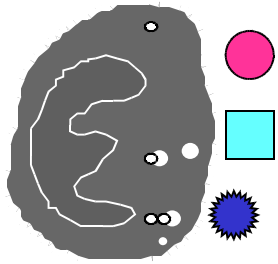


DIFFERENTS TYPES DE REPONSES IMMUNITAIRES

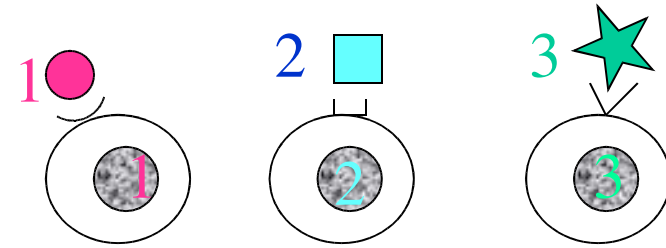
Naturelle = innée
Non spécifique



Immédiate

Barrière cutané-muqueuse
Substances bactéricides
pH
Equilibre de la flore
Interférons
Syst. Complément
Phagocytes (PN, mono)
Cellules NK
Cellules dendritiques

Adaptative
Spécifique



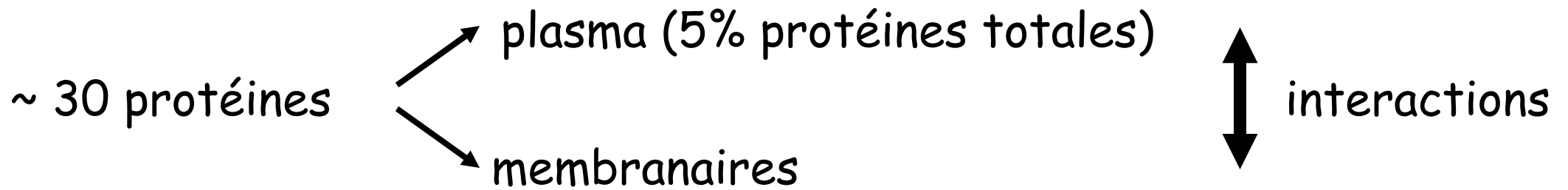
Qlqs jours
mémoire I°
+efficace lors du 2ème contact
base des vaccinations

Lymphos T
Lymphos B
Anticorps

Le système du complément

- Introduction
- Les composants
- Voie classique
- Voie alterne
- Voie des lectines
- Complexe d'attaque membranaire
- Régulation
- Conséquences biologiques
- Déficits congénitaux

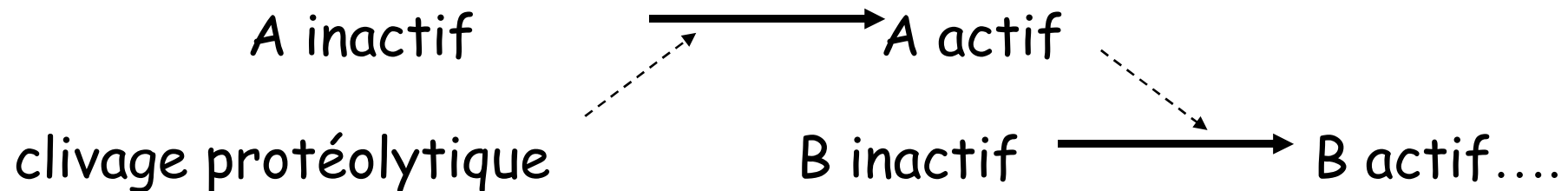
Introduction



- Capable d'intervenir rapidement et de façon localisée
 —→ « urgence »
- Régulations fines et indispensables
- Activations en cascade
- 3 voies d'activation distinctes, parallèles —→ clivage du C3
- 1 seule voie commune effectrice terminale
- Nombreux effets biologiques
 - ◀ - étapes intermédiaires
 - fin de la cascade

Les composants du complément

- Protéines synthétisées par les hépatocytes
- $\frac{1}{2}$ vie courte ~ 24h (consommation permanente)
- Défécits héréditaires de la plupart des composants
- Circulent sous forme inactive



- Fragments actifs rapidement inactivés s'ils ne réagissent pas avec le fragment suivant de la cascade

Nomenclature

- voie classique et CAM : C1.... C9
- 3 sous-unités du C1 : C1q C1r C1s
- fragment de clivage protéolytique : a, b (C3a, C3b...)
- i: molécule inactivée (C3bi...)
- voie alterne et voie des lectines : lettre majuscule (D, MBL...)
- composant : composant à activité enzymatique

VOIE CLASSIQUE

C1q

Liaison aux immuns complexes

C1r, C1s

VOIE DES LECTINES

MBL

Liaison aux carbohydrates des
surfaces microbiennes

MASP

Activation de C4 puis de C2

C4b2a

Activation de C3

C5-C9

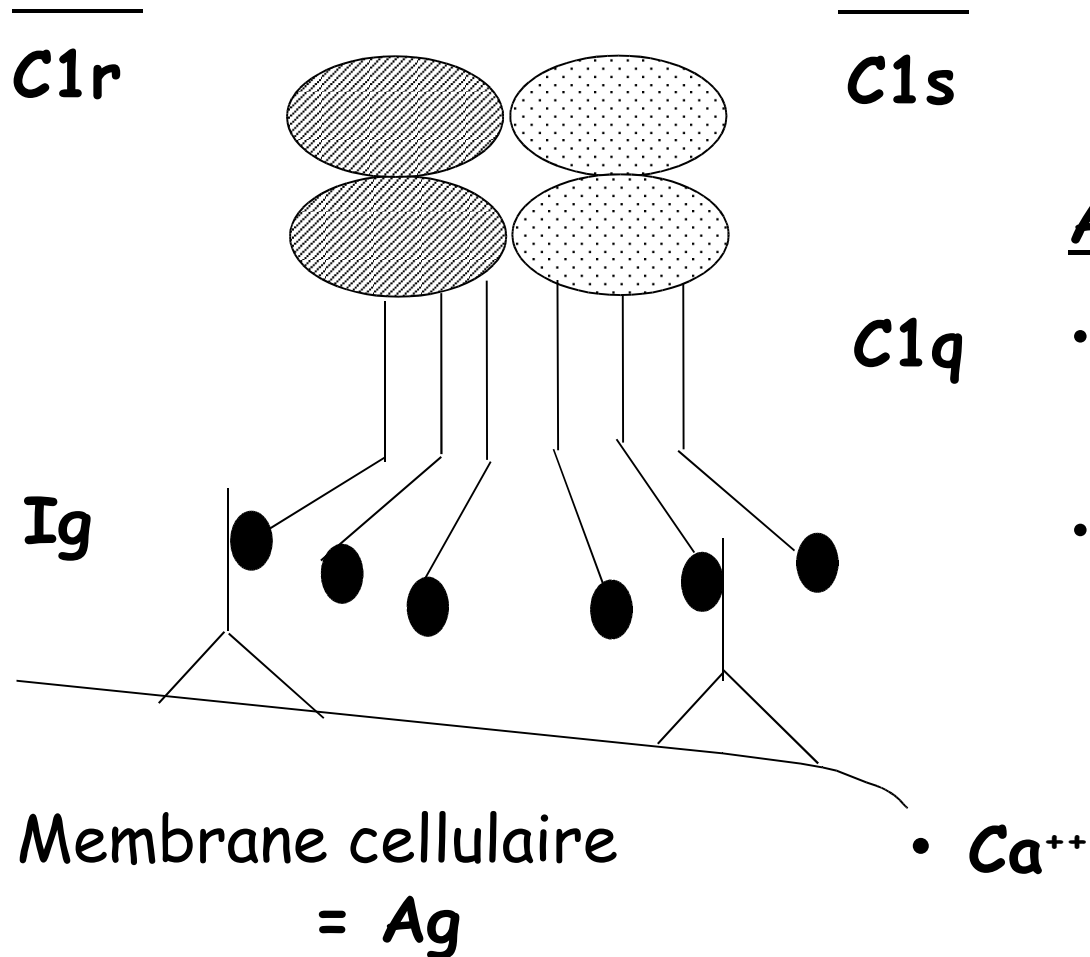
Voie finale commune

VOIE ALTERNE

C3, B, D

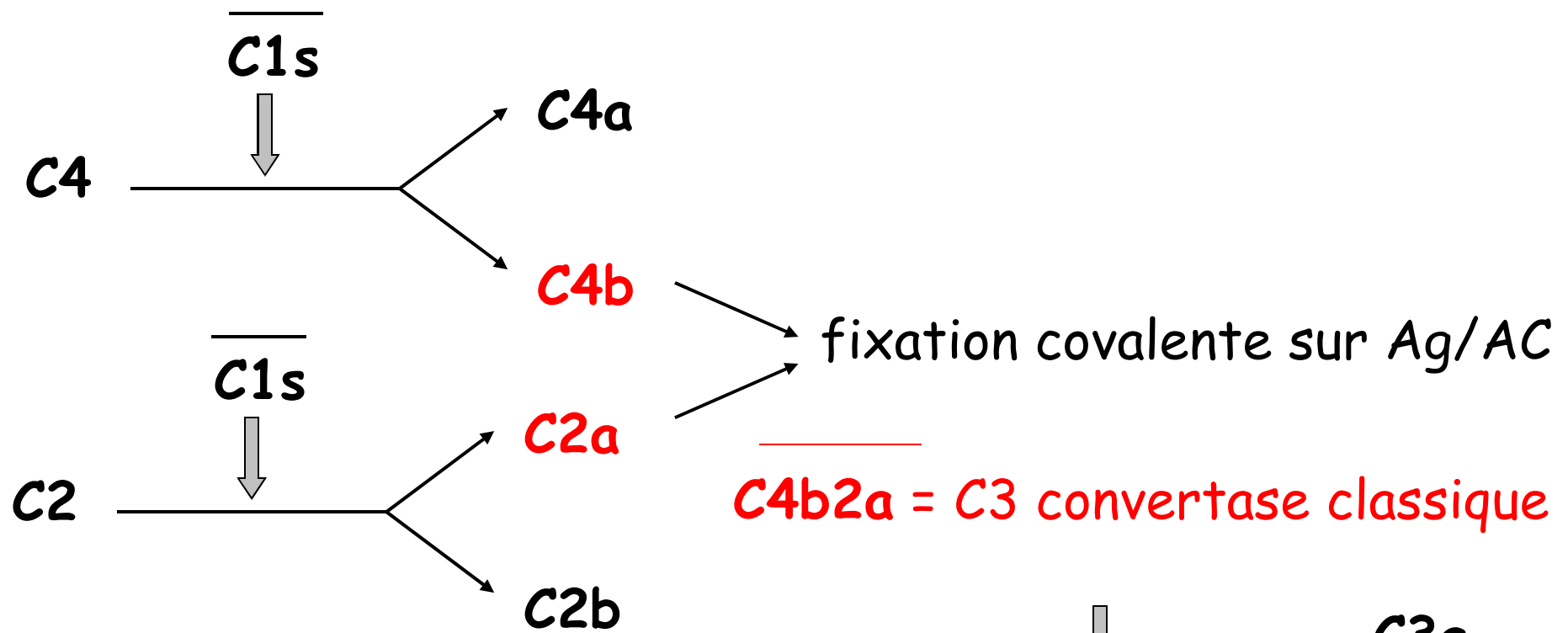
Liaison aux surface des
micro-organismes

Activation de la voie classique

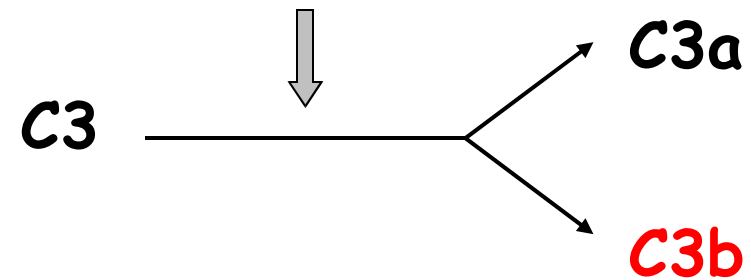


Activateurs du C1 :

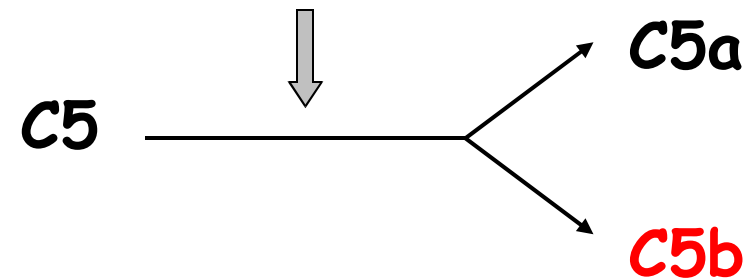
- Complexe Ag/Ac
via 2 IgG1, 2, 3 ou 1 IgM
- CRP, paroi bactérienne, LPS,
enveloppe de virus (VIH)



C4b2a = C3 convertase classique



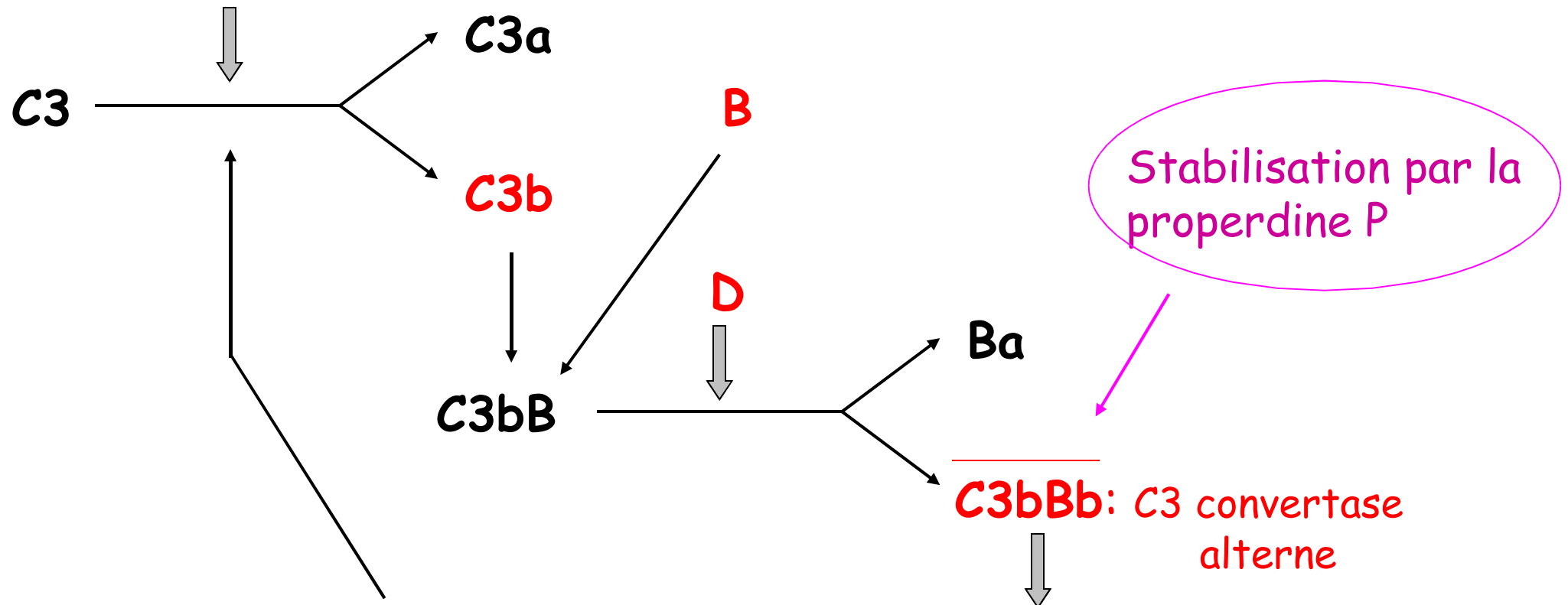
C4b2a3b = C5 convertase



Activation de la voie alterne

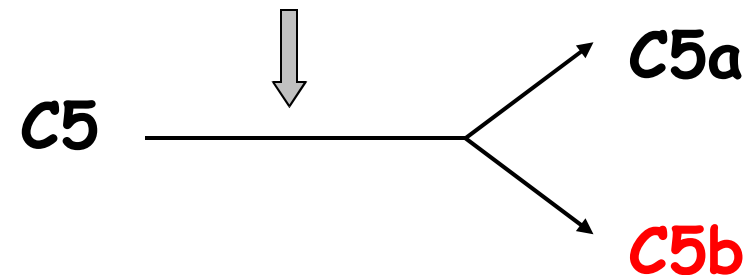
- Immunité innée : le complexe Ag/AC n'est pas nécessaire
- Système « en veille » permanente
- Boucle d'amplification de la production de C3b
- **Activateurs** : LPS, paroi des bactéries gram+ et gram-,
de levures, de parasites
Ig agrégées

Hydrolyse spontanée
de la liaison thioester



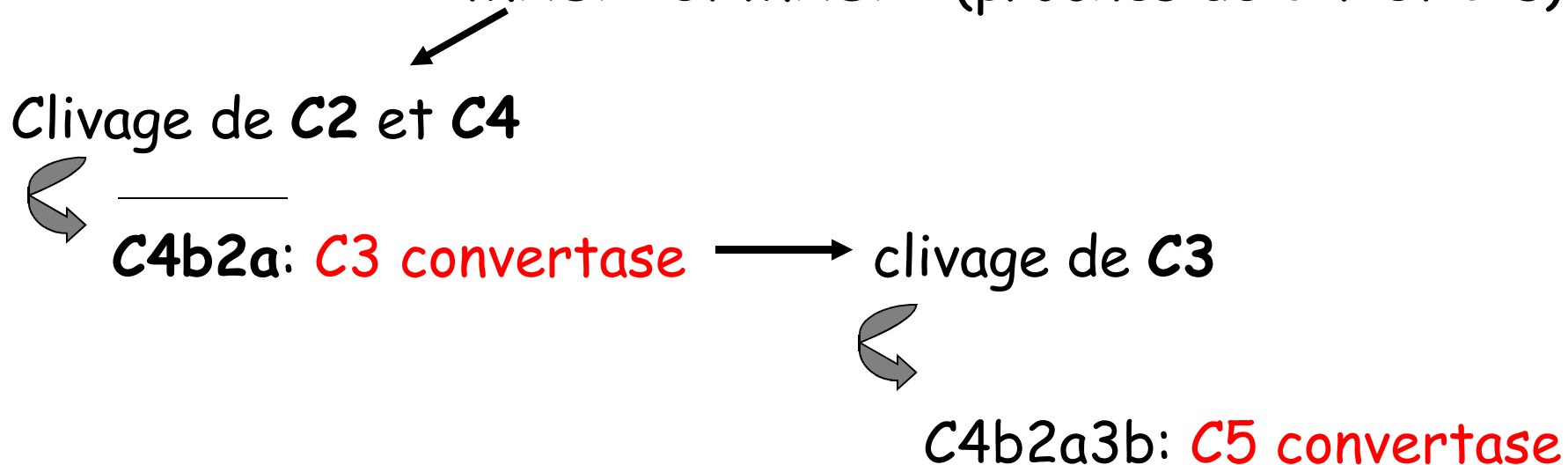
- clivage de C3, autoentretien, amplification

- Génération de **C3bB3b : C5 convertase alterne**



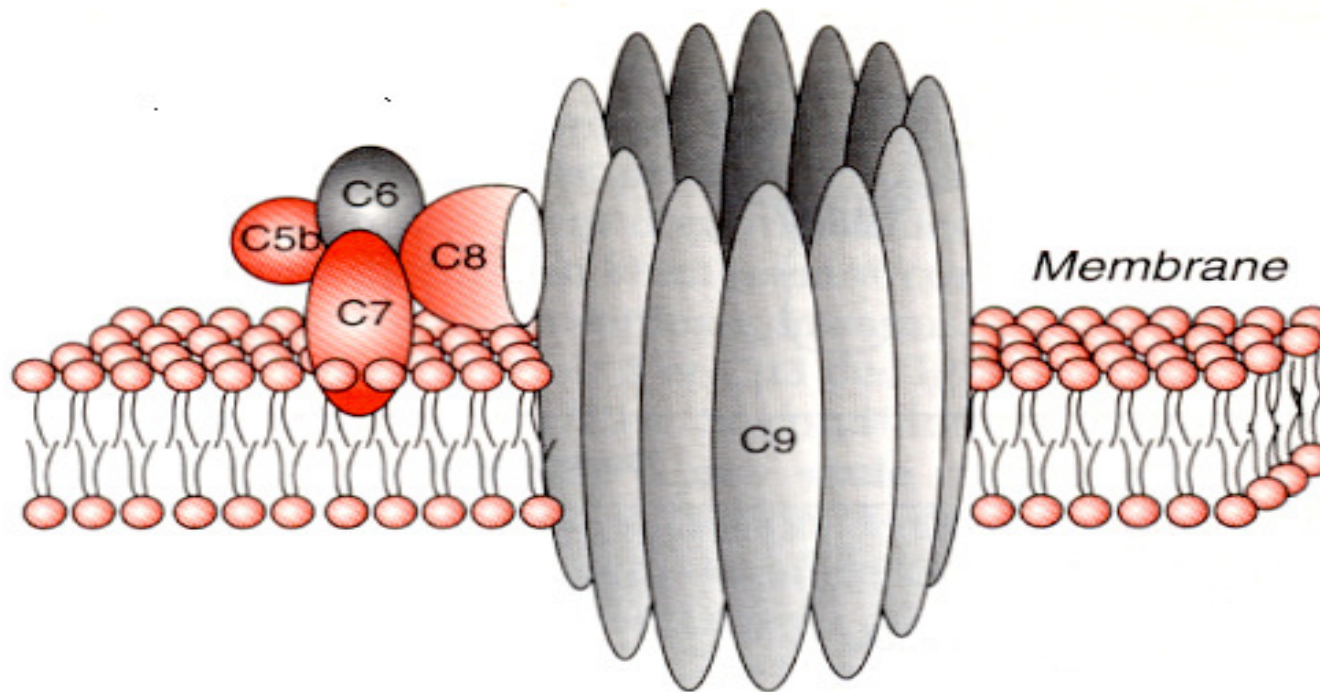
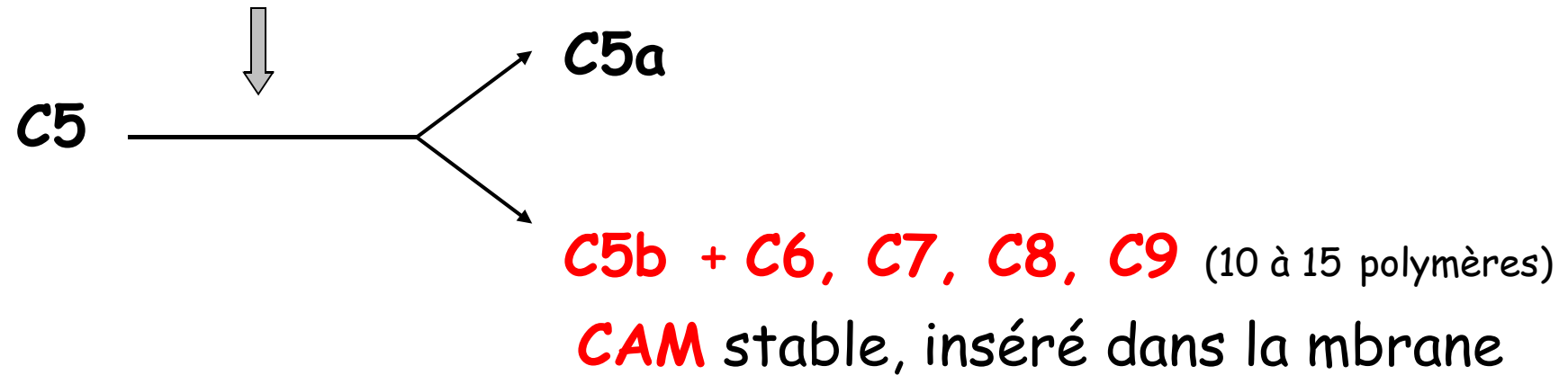
Activation par la voie des lectines

- Immunité innée (~ voie alterne) - mécanisme ~ voie classique
- Activateurs : résidus mannose de glycoprotéines ou de sucres à la surface des microorganismes
- Protéine de reconnaissance : protéine de liaison du mannose (MBP ou MBL); famille des collectines (collagène - lectine); synthétisée par le foie au cours de l'inflammation, structure proche du C1q
- Fixation de MBL $\longrightarrow$ activation de deux sérine protéases
MASP1 et MASP2 (proches de C1r et C1s)

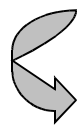


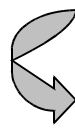
Le complexe d'attaque membranaire (CAM)

C5 convertase (classique, alterne, lectines)



Le complexe d'attaque membranaire

- 
- Création de pores (10 nm de diamètre)
 - Désorganisation de la couche lipidique mb

- 
- Destruction de la cellule cible (GR++, cellules nucléées +/-)
 - Stimulation de la libération de médiateurs

Voie classique

Ag/Ac

C1q, C1r, C1s

Voie des lectines

MBL, MASP

Voie alterne

Paroi des agents microbiens

C4

C4a

C4b

C2

C2b

C2a

C4b2a

C3a

C3

C3b

C5

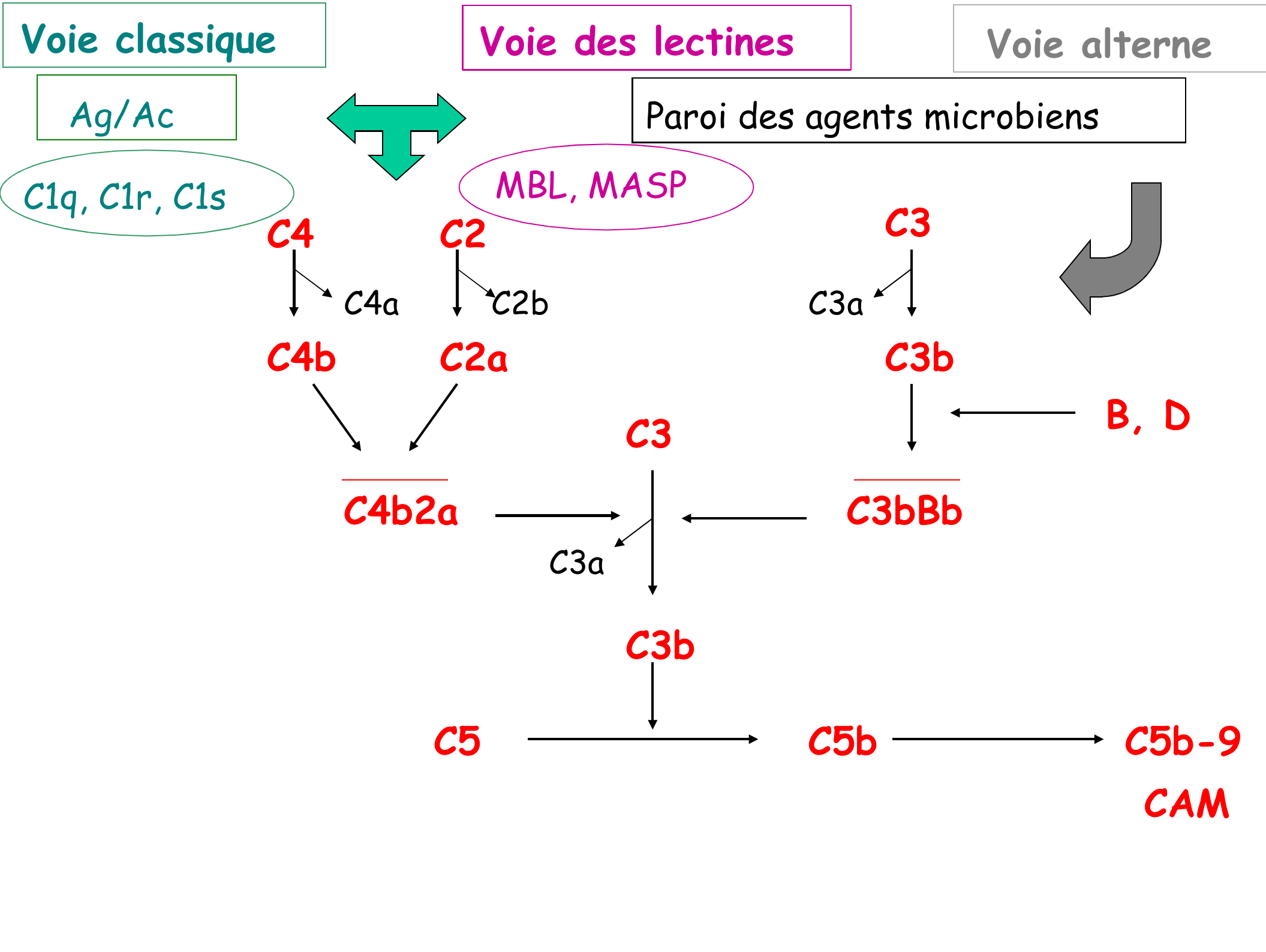
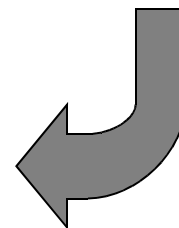
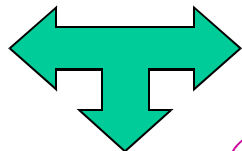
C5b

B, D

C3bBb

C5b-9

CAM



Régulation des différentes voies

Régulations fines indispensables pour éviter l'auto-entretien, l'hyperconsommation et la destruction des cellules de l'hôte.

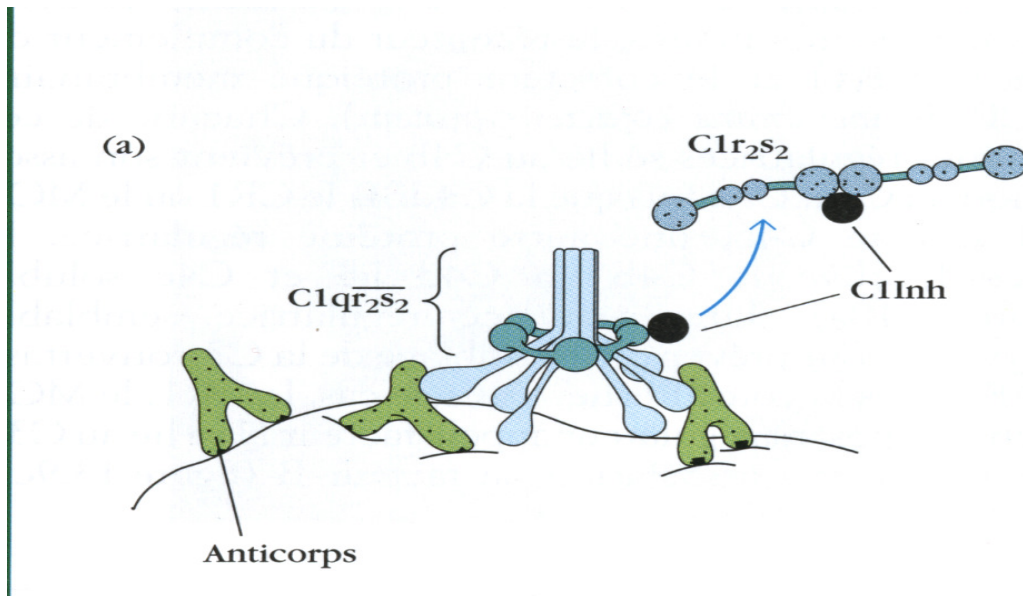
2. **Mécanisme général** : de nombreuses protéines des 3 voies d'activation sont labiles, inactivables spontanément à distance de leur cible

3. **Mécanismes spécifiques** : présence de protéines inhibitrices de différents composants (solubles ou membranaires)

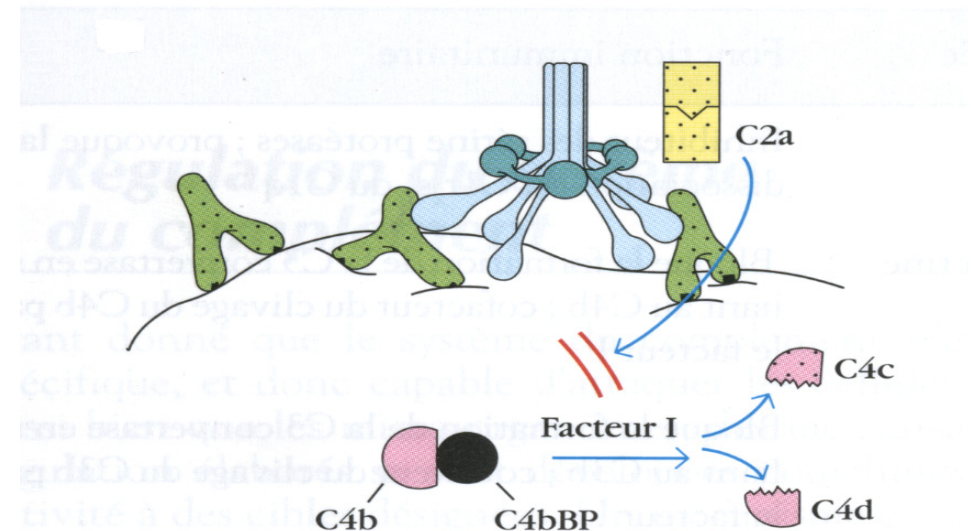
Régulation des différentes voies (1)

1. Voie classique

- **C1-Inhibiteur (C1-Inh)** : dissocie le complexe $C1rC1sC1q$



- **Protéine de liaison du C4 (C4BP)** :
se lie à C4b
empêche la formation
de la C3 convertase classique ($C4b_2a$)

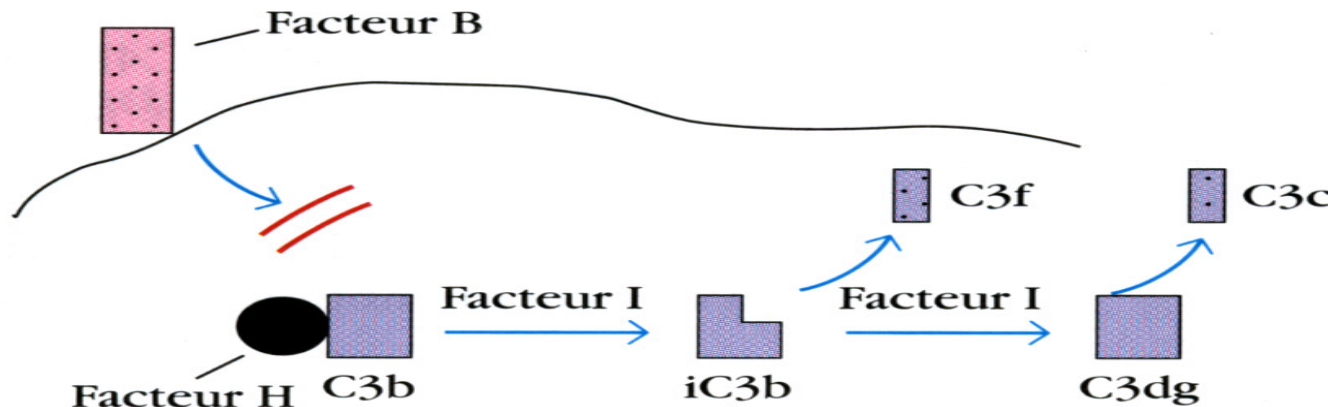


Régulation des différentes voies (2)

2. Voie alterne

- Facteur H : - se fixe au C3b et empêche la formation de la C3convertase alterne par compétition avec le facteur B
 - cofacteur du facteur I qui inactive le C3b

(c)

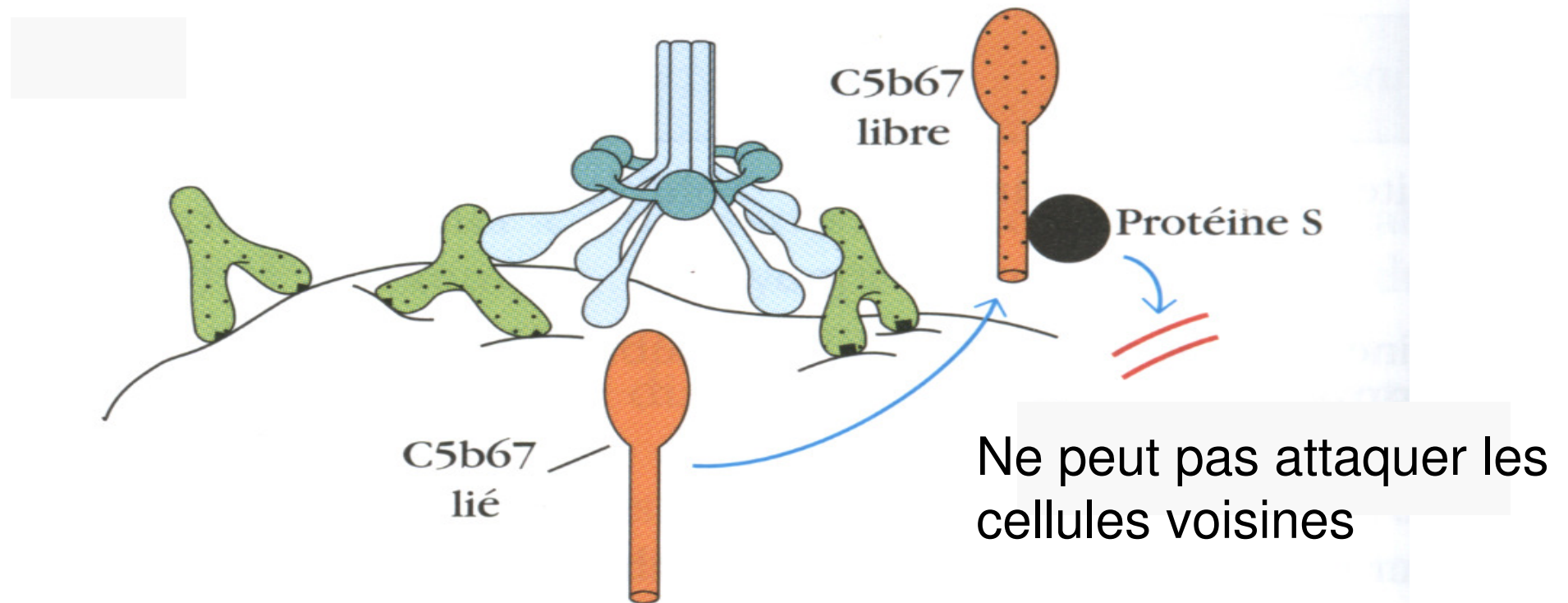


Régulation des différentes voies (3)

3. Complexe d'attaque membranaire

- Protéine S ou vitronectine
- Clusterine

Se fixent au complexe trimérique C5b-7

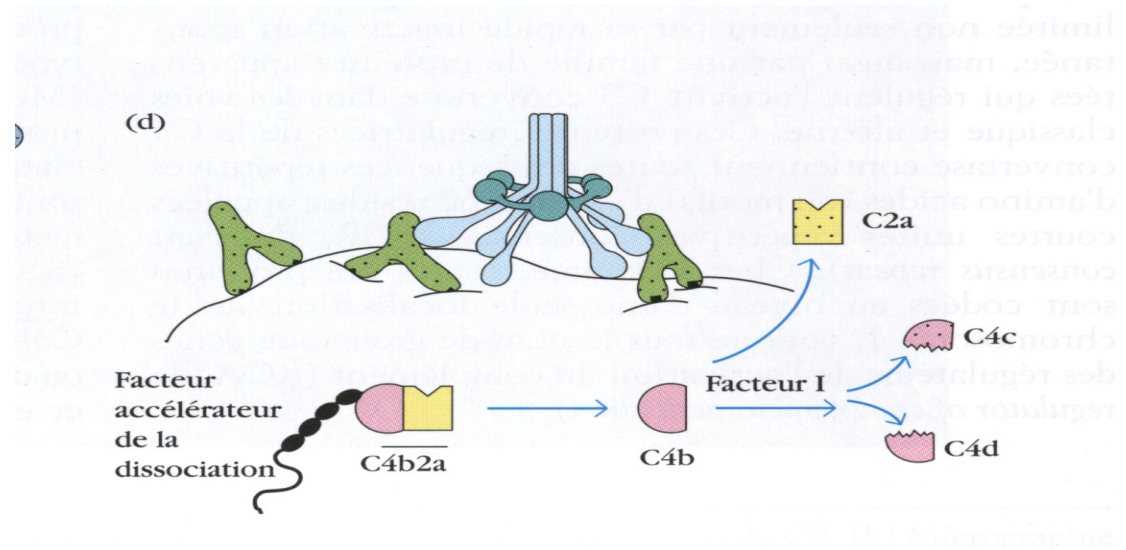


Inhibiteurs membranaires

= Capables d'inactiver les convertases et le CAM

- Decay accelerating factor (DAF) (CD55) :

→ dissocie les C3
et C5 convertases



- Membrane cofactor protein (MCP) (CD46) :

→ cofacteur dans le clivage de C4b et C3b par le facteur I

- Récepteur du complément de type 1 (CR1) (CD35) :

→ dissocie les convertases à distance

Conséquences de l'activation du complément

C5b-9

→ Lyse cellulaire,
neutralisation virale

C3a, C5a
anaphylatoxines

→ Dégranulation des mastocytes et
basophiles → libération d'histamine
perméabilité ↑ vasc

C5a

→ Chimioattractant et
activateur des phagocytes

C3bi, C3b
opsonines

→ Opsonisation et phagocytose

C4, C2

→ Modification/épuration des complexes immuns

C1q

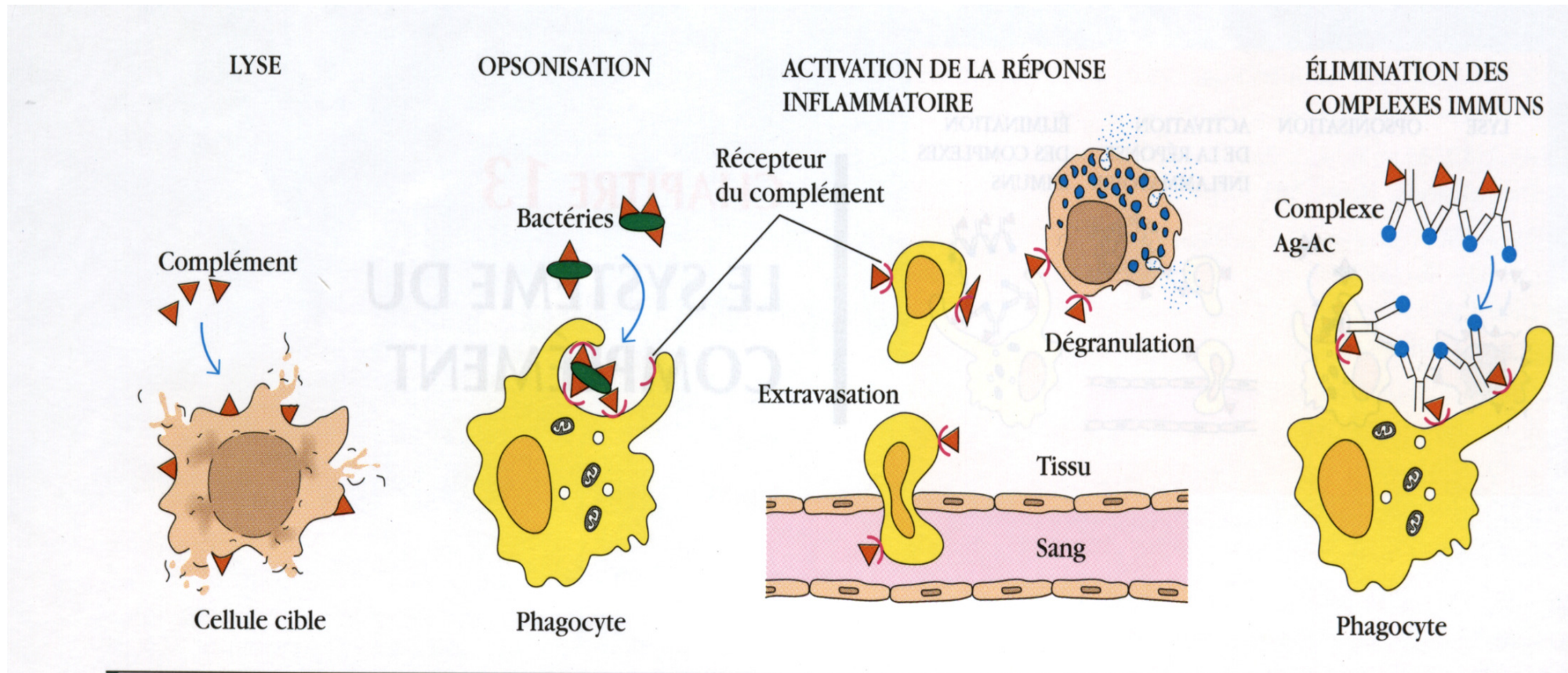
→ Elimination des cellules apoptotiques

C3b

→ Présentation de l'Ag aux L. B par les C. dendritiques

Réponse
inflammatoire

Conséquences de l'activation du complément

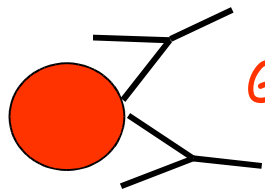


Exploration du Complément:

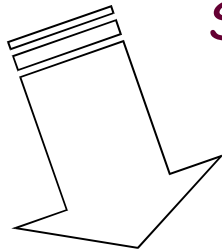
Mesure fonctionnelle CH50

Voie classique
+ CAM

Mesure des protéines
du complément



GR de mouton + Ac anti GR de mouton

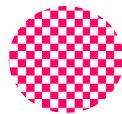


Sérum du sujet contenant le complément

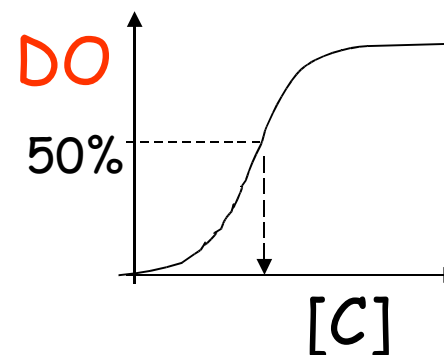
Activation de la voie classique et du
complexe terminal



Lyse du GR



Mesure de l'hémoglobine libérée



1 unité CH50 = la + petite quantité de sérum qui hémolyse 50% des GR sensibilisés par les AC anti-GR de mouton

C3- C4.: Néphélométrie
Dosage fonctionnelle

Oedème angioneurotique: déficit en C1-Inh

- **Oedèmes** localisés, à répétition de la peau et des muqueuses (larynx, intestin); notion de crises
- **Mécanisme:** pas de limitation de l'autoactivation spontanée du C1.
- **Transmission:** - Héritaire (AD) 1/50 000 naissances en France
Quantitatif (absence) ou qualitatif (non fonct)
- Acquis: Auto AC anti-C1inh
- **Diagnostic biologique**
 - Dosage du C1inh: antigénique et fonctionnel
 - Signes indirects par dosage d'autres protéines : C4, C2, CH50
 - Recherche d'autoAC
 - Etudes génétiques, familiales

Cellules phagocytaires

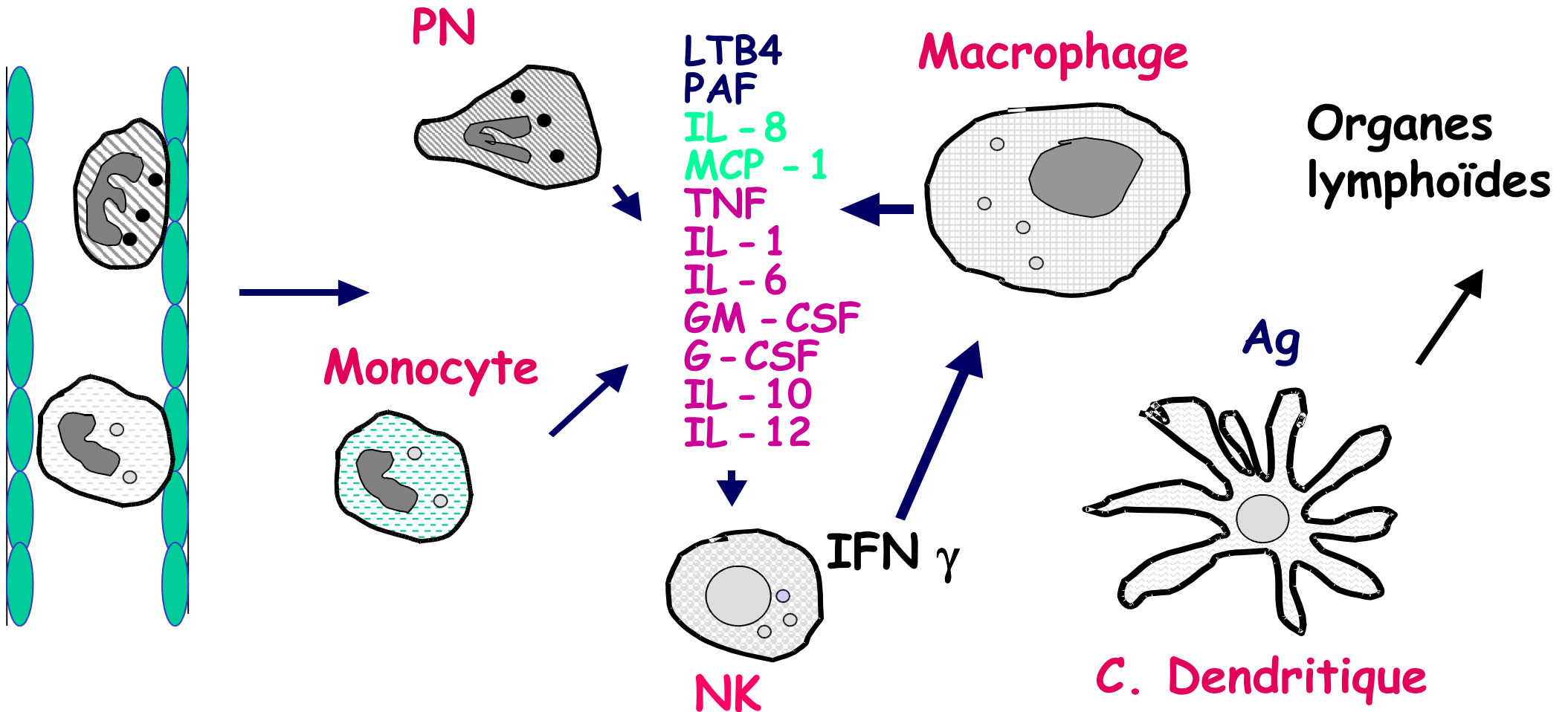
- Origine et devenir du Polynucléaire neutrophile (PN)
- Contenu des granulations du PN
- Principales étapes fonctionnelles
 - Adhérence à la cellule endothéliale
 - Migration
 - Reconnaissance de l'agent pathogène
 - Phagocytose
 - Destruction de l'agent pathogène
 - Mécanismes indépendants de l'oxygène
 - Mécanismes dépendants de l'oxygène
- Conséquences de l'activation des phagocytes
- Régulation du fonctionnement des cellules phagocytaires
 - Priming
 - Désensibilisation
- Production de cytokines par le PN

Agent Pathogène

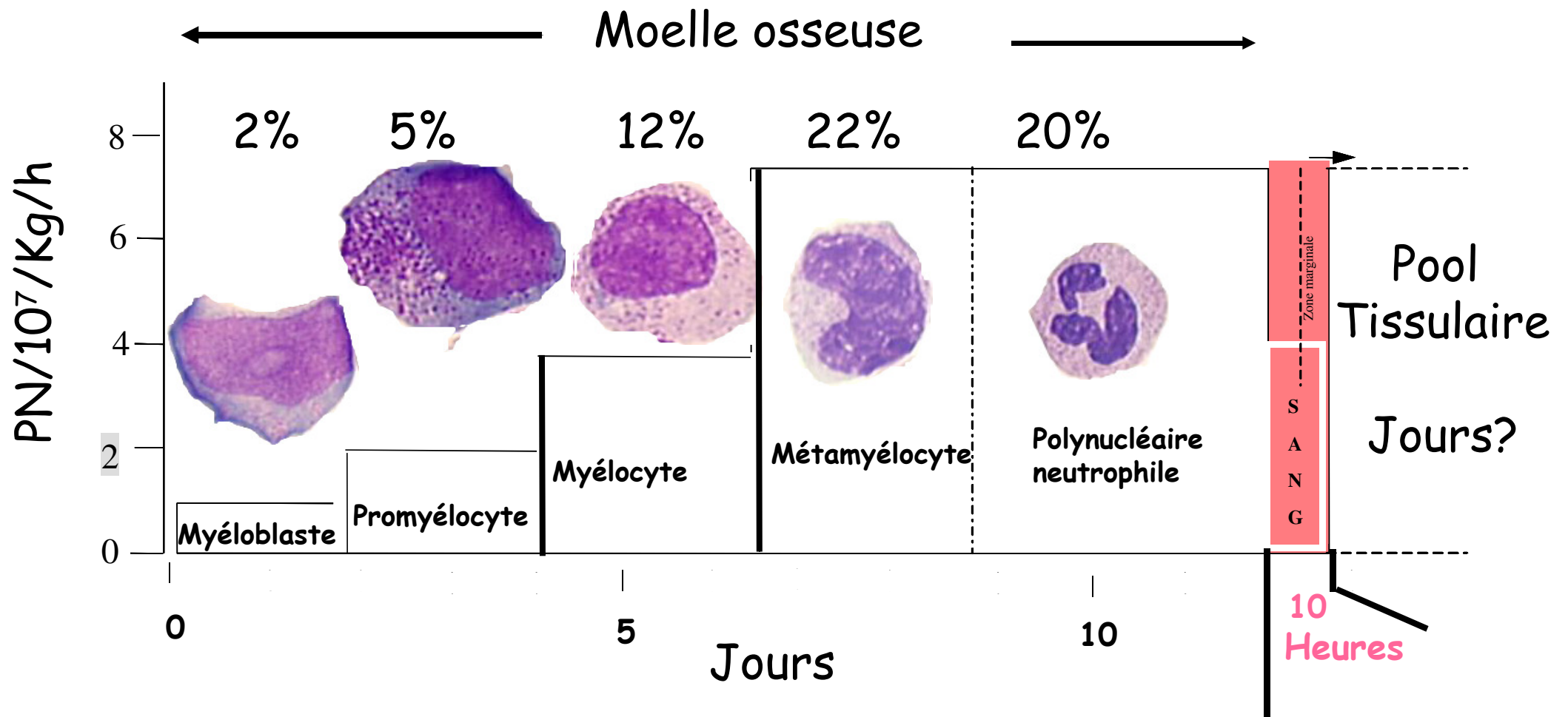
Complément
C3a C5a

N-formyl- peptides

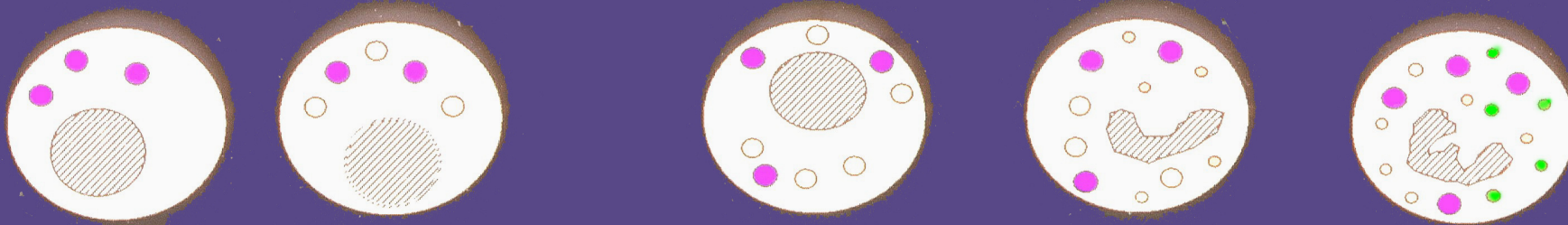
Endotoxines



GRANULOPOIESE



GRANULATIONS DES POLYNUCLÉAIRES NEUTROPHILES



CD63

Cytochrome b_{558}
CD11b/CD18 (CR3, $\alpha m\beta 2$)

Lysozyme

CD35

Myeloperoxidase

Lactoferrin
NGAL

Elastase
Cathepsin G

Gelatinase

Defensins

Peroxidase-positive granules
Azurophil granules
defensin poor : Defensin rich

Peroxidase-négative granules
Specific granules : Gelatinase granules

Secretory vesicles

CONTENU DES GRANULATIONS DU PN

Azuropiles

Spécifiques/ Gélatinase

Secrétoires

Mb

H⁺-ATPase

Cyt b 558/Rap1

Récepteurs:

fMLP-R

CR3

TNF-R

Fibronectine-R

Récepteurs

CR1

CR3

Myéloperoxydase

Lysosyme

BPI

Défensines

Elastase

Cathepsine G

Pr3

Hydrolases acides

Cytokines

Lactoferrine

Lysosyme

Collagénases

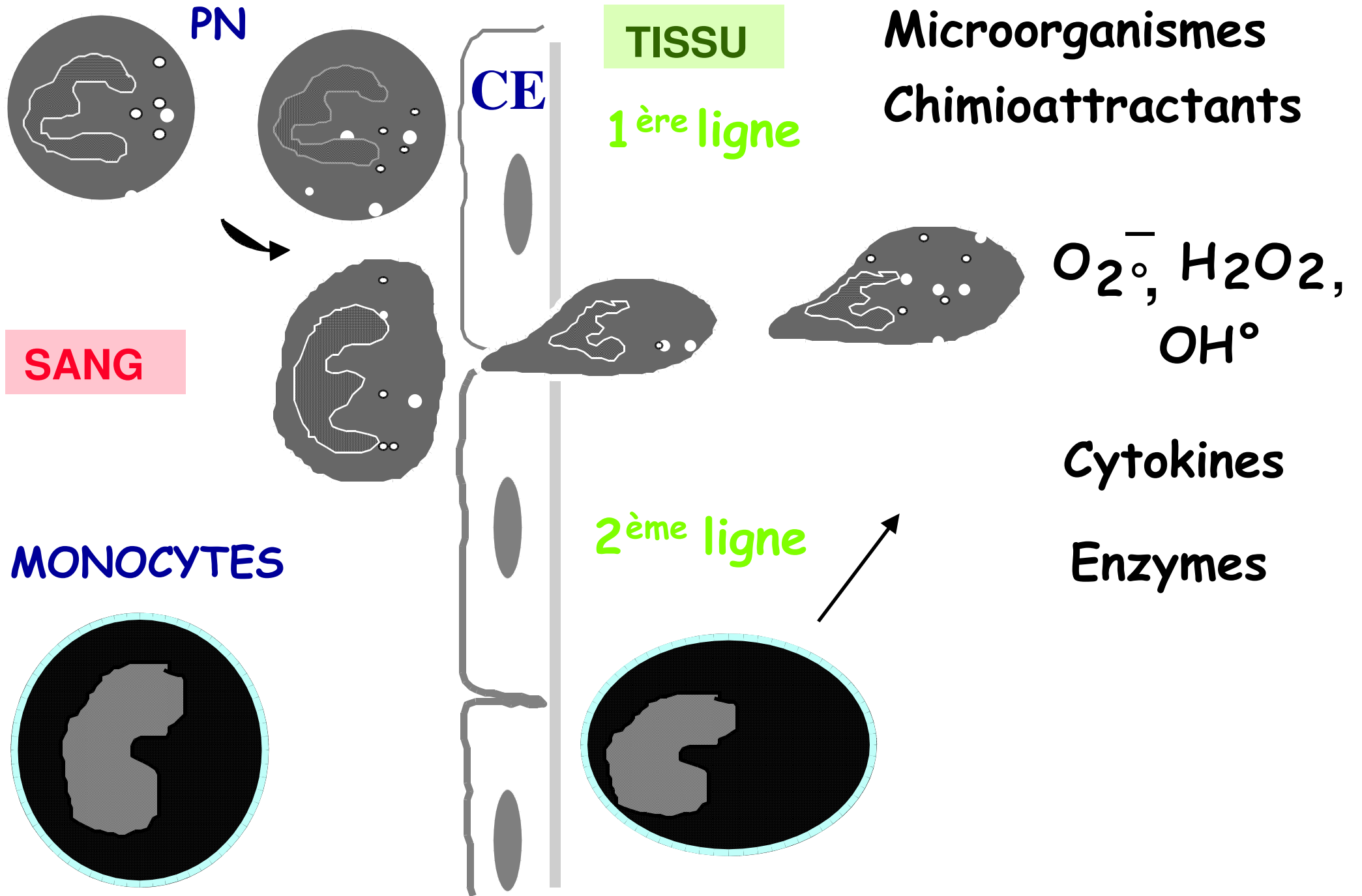
Gélatinase

Phosphatase

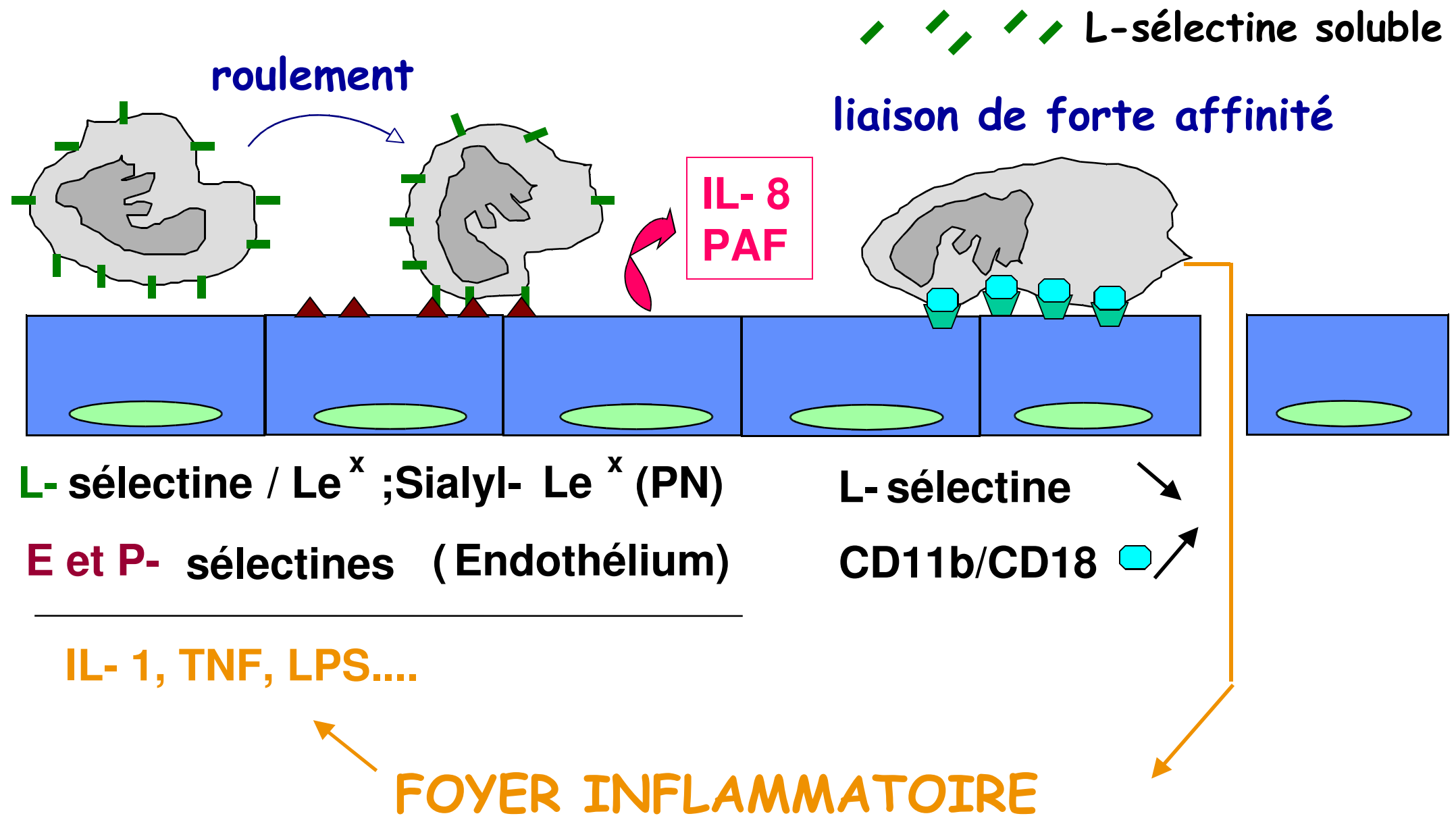
alcaline

Gélatinase

M
a
t
r
i
c
e



MIGRATION TRANSENDOTHELIALE DES PN



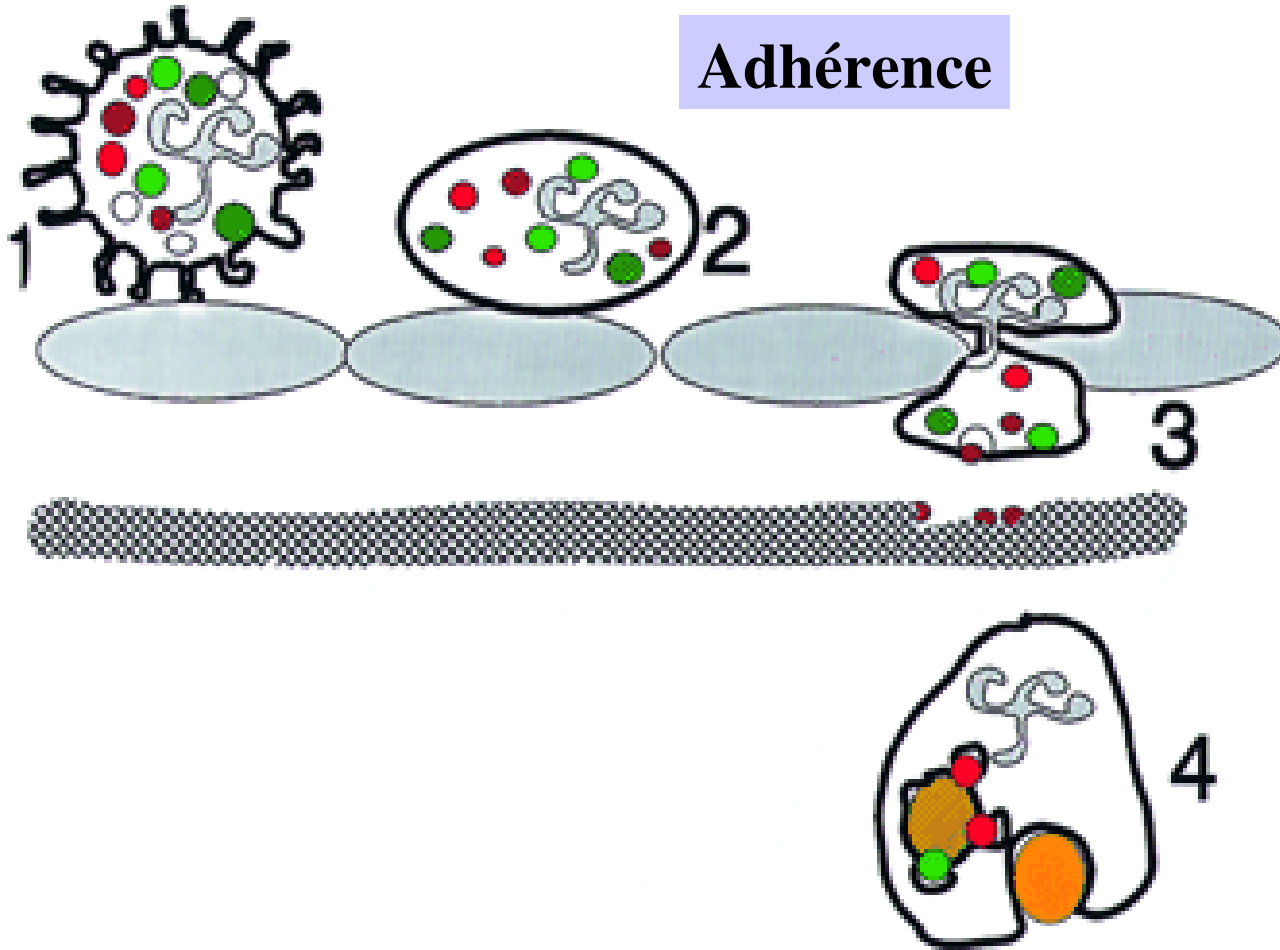
métalloprotéase

Dégranulation

Gélatinase B = MMP9

Elastase

Adhérence



Blood

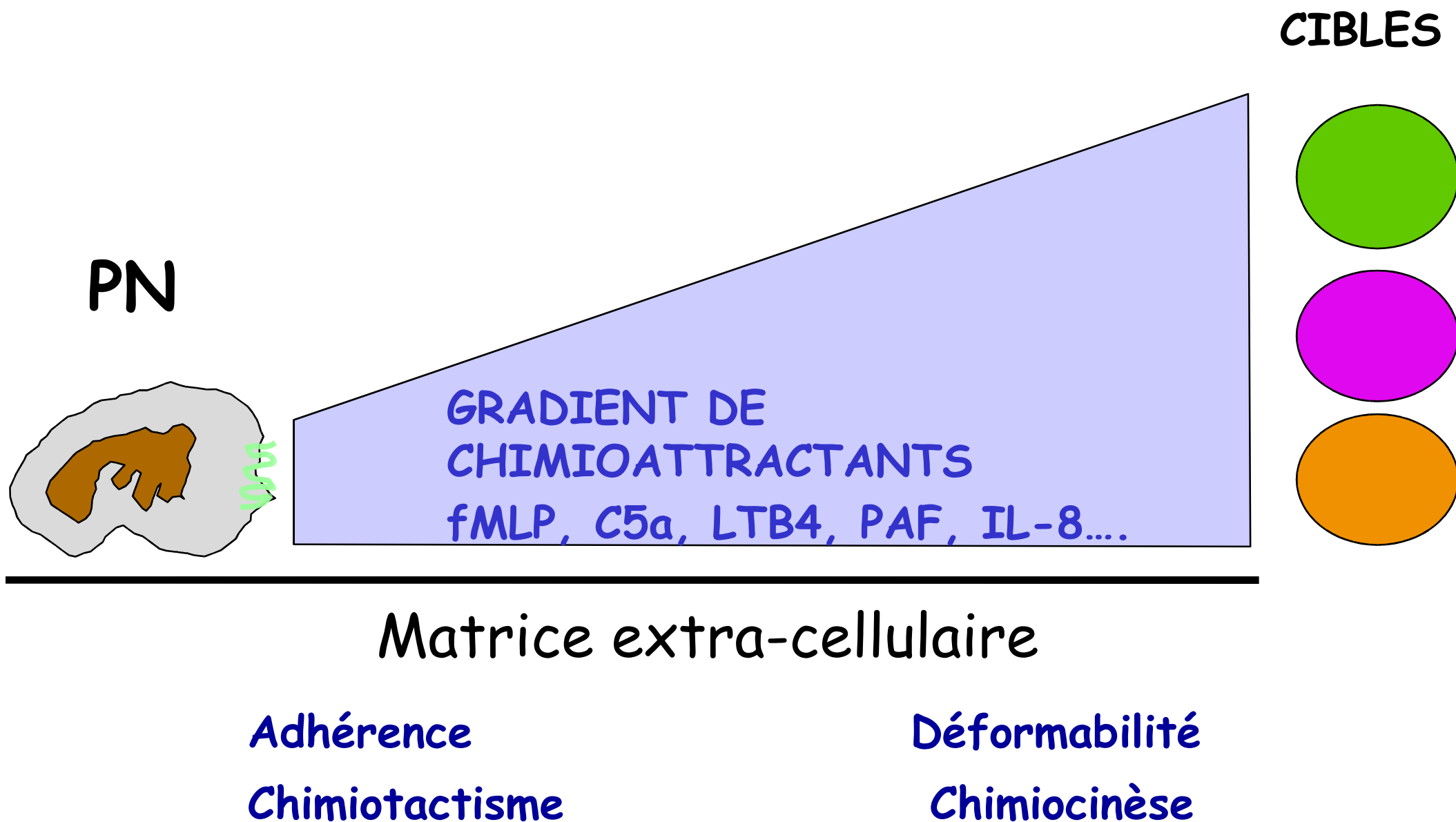
Endothelium

Basement
Membrane

Extravascular
Tissue

VE-
Cadherin

Collagène IV



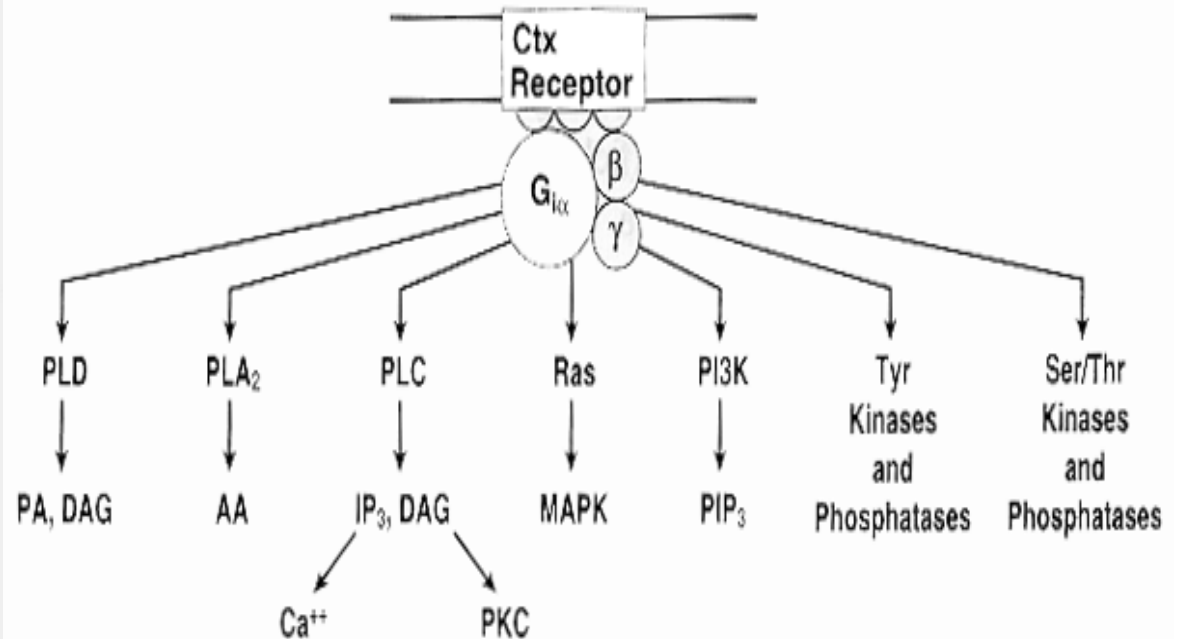
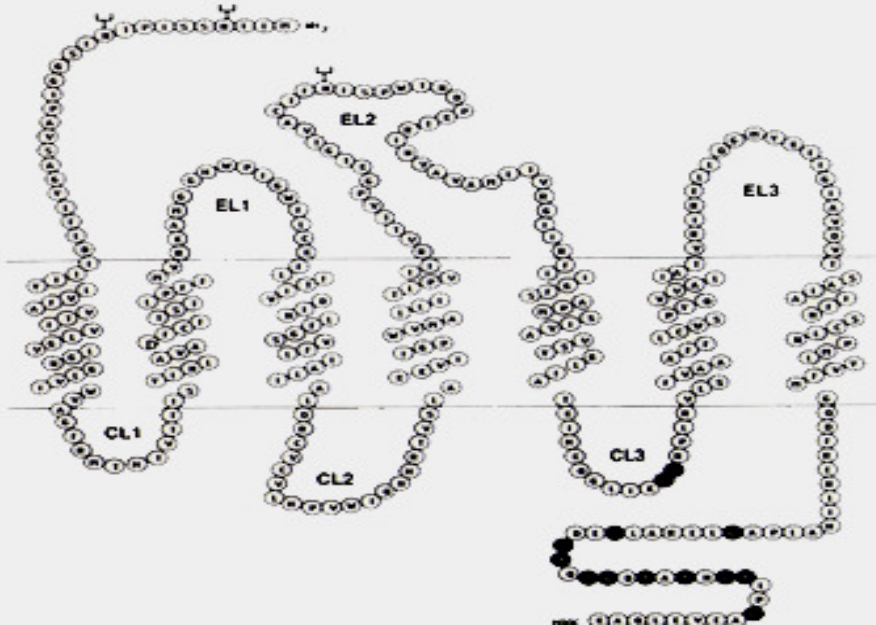
PRINCIPAUX FACTEURS CHIMIOATTRACTANTS

- **Peptides signaux des protéines bactériennes:**
N-formyl-peptides : fMLP
 - **C5a** produit par activation du complément
 - **Médiateurs** produits par les cellules du foyer inflammatoire:
 - **PAF** (C. endothéliales, PN, monocytes)
 - **Leucotriène B4** (PN, monocytes, mastocytes)
 - **Chimiokines** : IL-8, GRO, NAP-2..
(PN, mono/macroφ, CE, fibroblastes, lymphocytes...
- ↳ **amplification de la migration phagocytaire**

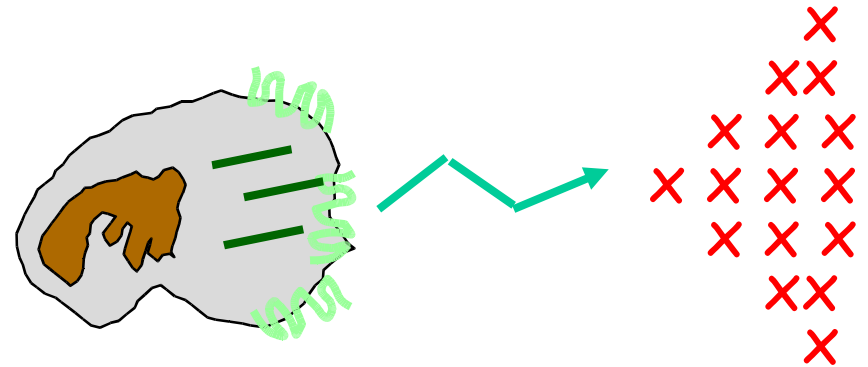
FACTEURS CHIMIOATTRACTANTS

→ Récepteur à 7 domaines transmembranaires couplé aux protéines G hétérotrimériques

Human Formylpeptide Receptor

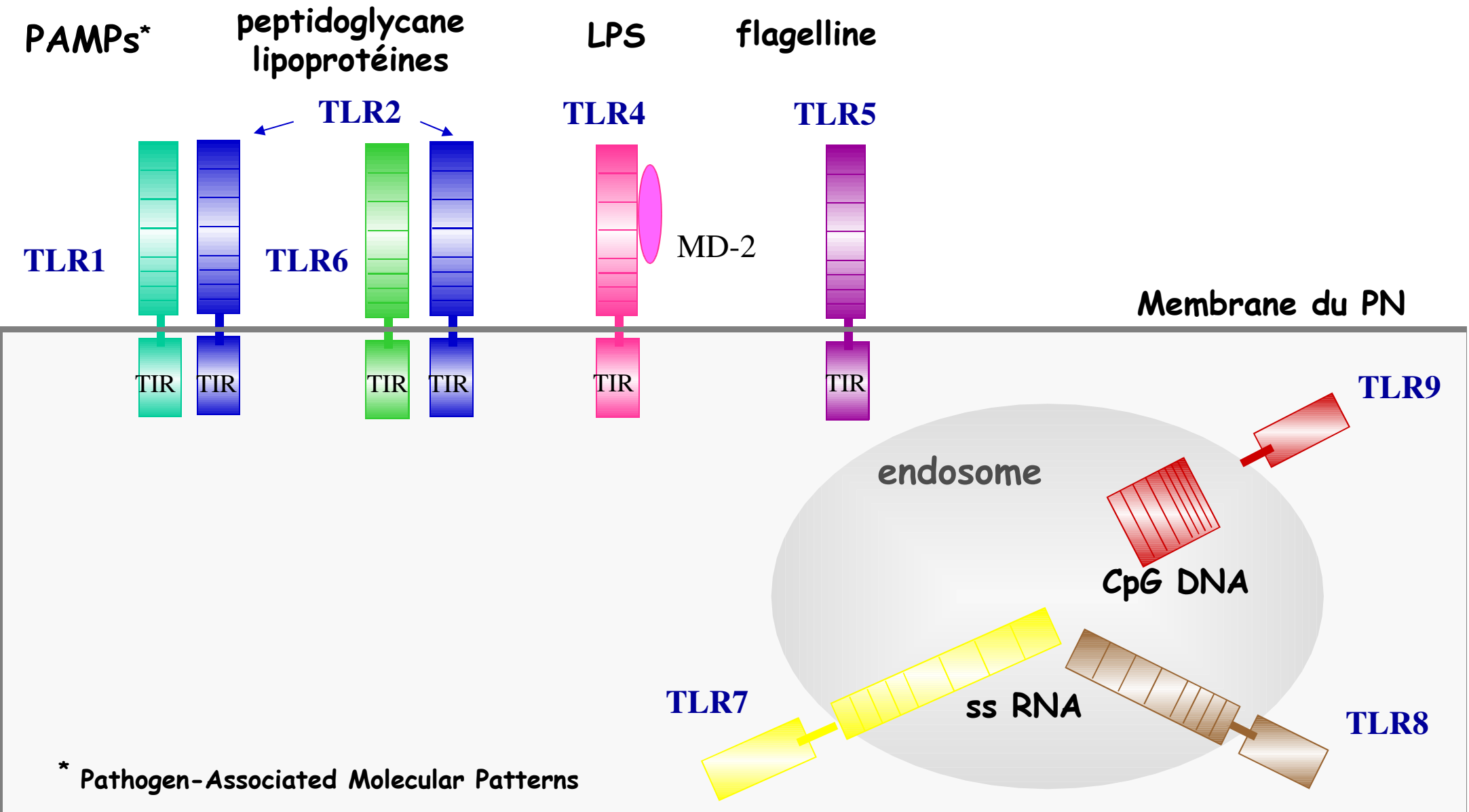


→ Modification du cytosquelette
Polymérisation/dépolymérisation
des filaments d'actine



Reconnaissance des agents pathogènes (1)

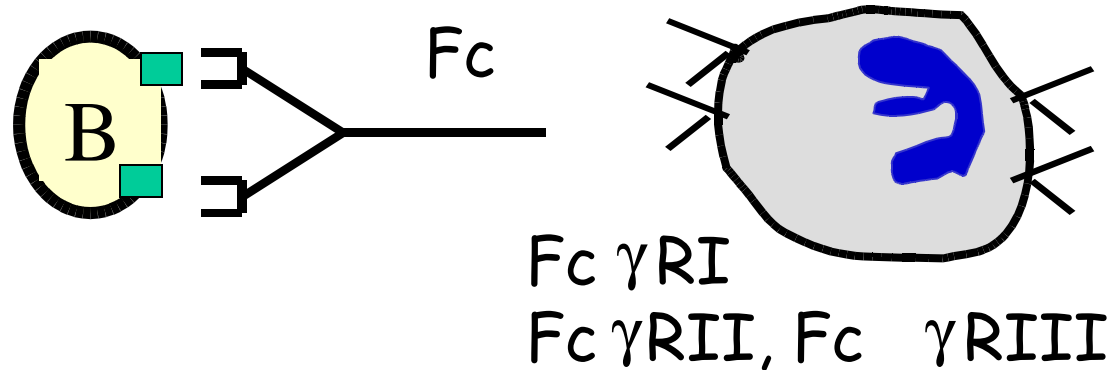
« Toll-Like-Récepteurs »



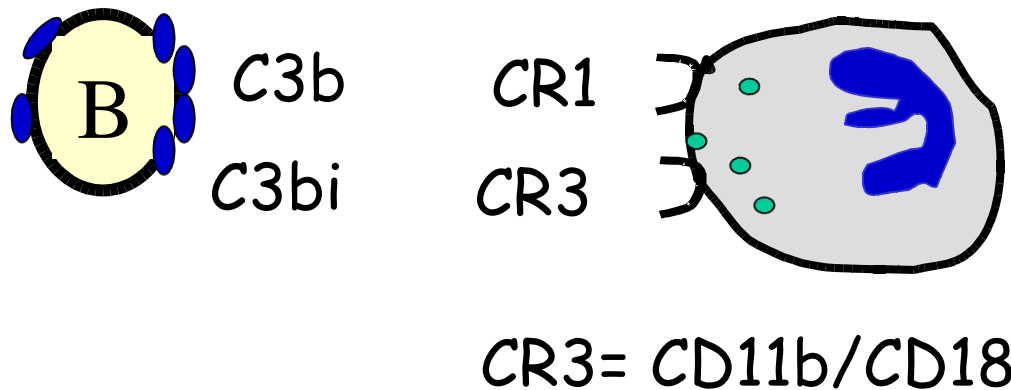
Reconnaissance des agents pathogènes (2)

Adhérence facilitée par les opsonines

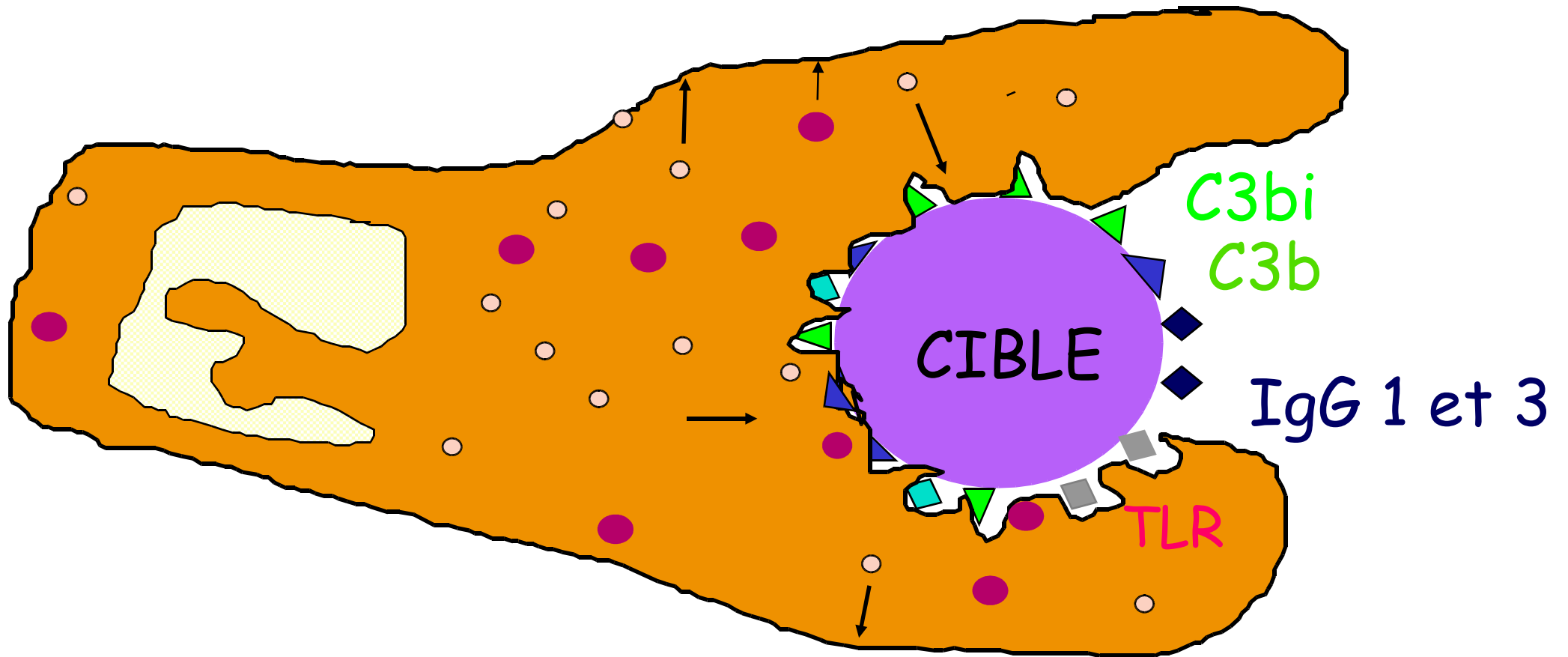
➤ Immunoglobulines de classe G (IgG1 et IgG 3)



➤ Les protéines dérivés du C3 du Complément



ADHERENCE ET ENGLOBEMENT



DESTRUCTION DE L'AGENT PATHOGENE

I- Phénomènes indépendants de l'oxygène

A- Dégranulation dans le phagosome

Enzymes : hydrolases acides

Lysosyme

Protéines cationiques à activité bactéricide

- BPI : bactericidal permeability increasing protein
- Défensines
 - Sérine protéases (élastase, PR3, cathepsine G..)

B- Dégranulation à la membrane

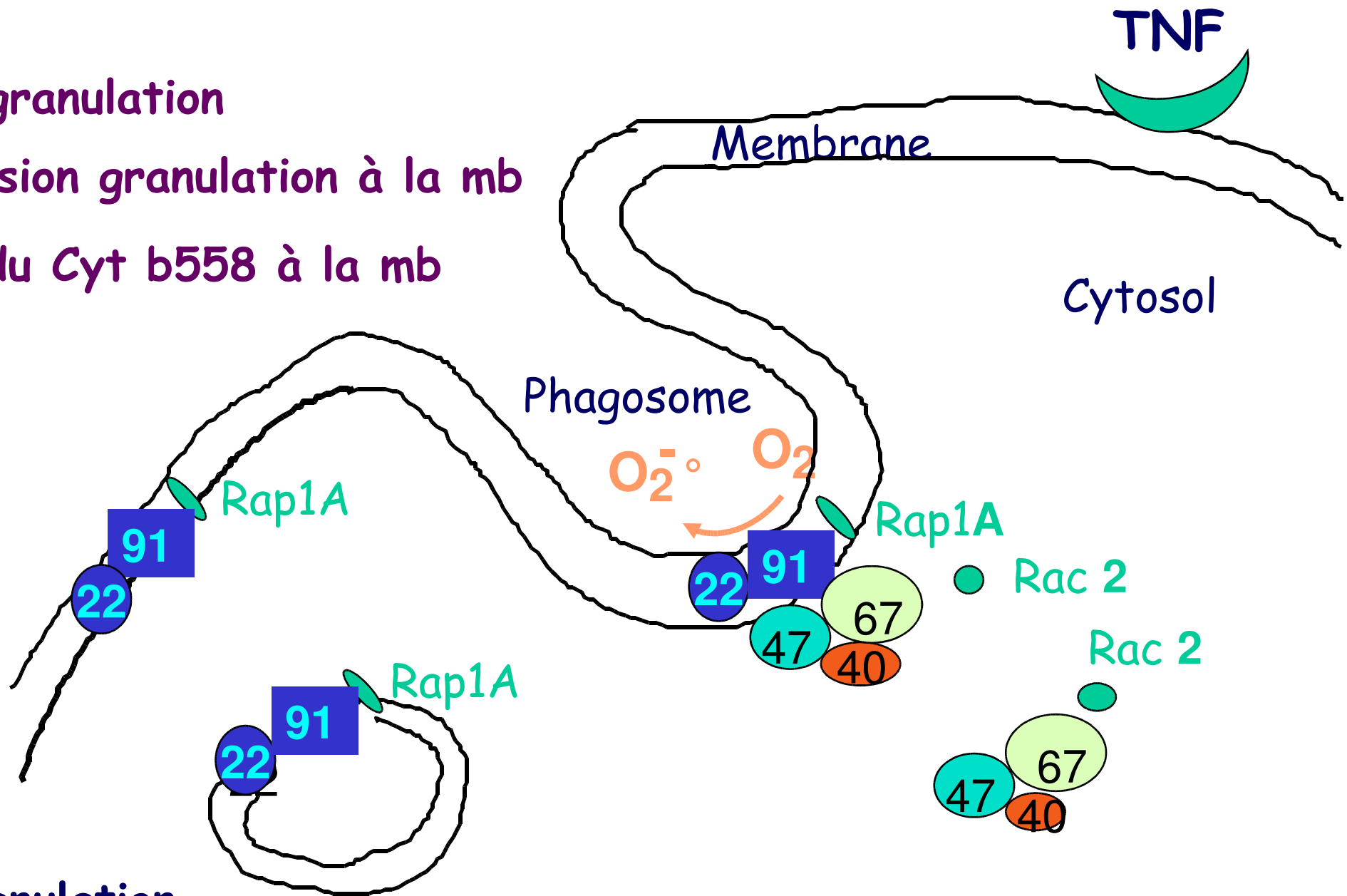


expression des récepteurs (fMLP, CD11b/CD18)

Dégranulation

Fusion granulation à la mb

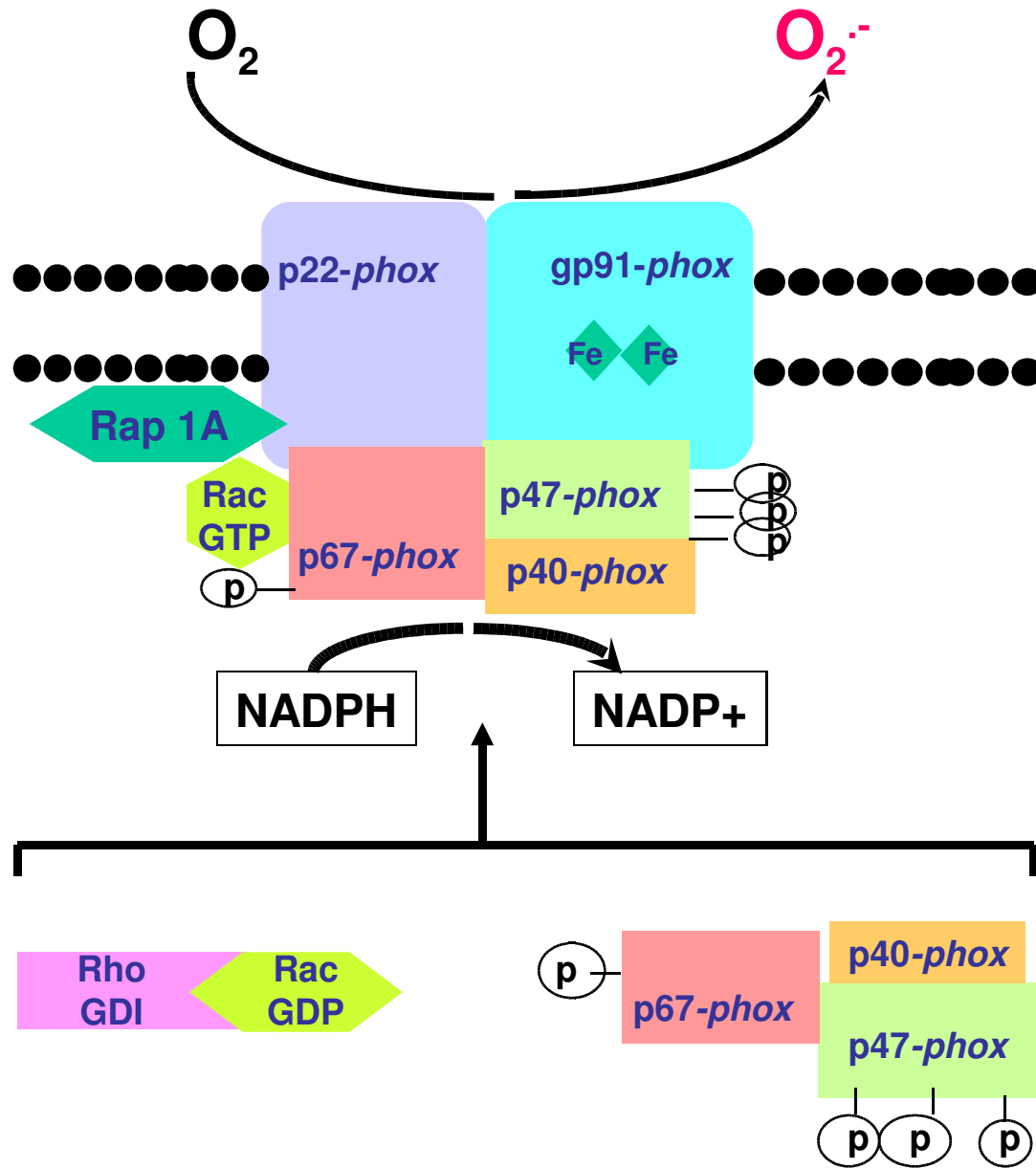
↑ du Cyt b558 à la mb



Granulation
spécifique/gélatinase

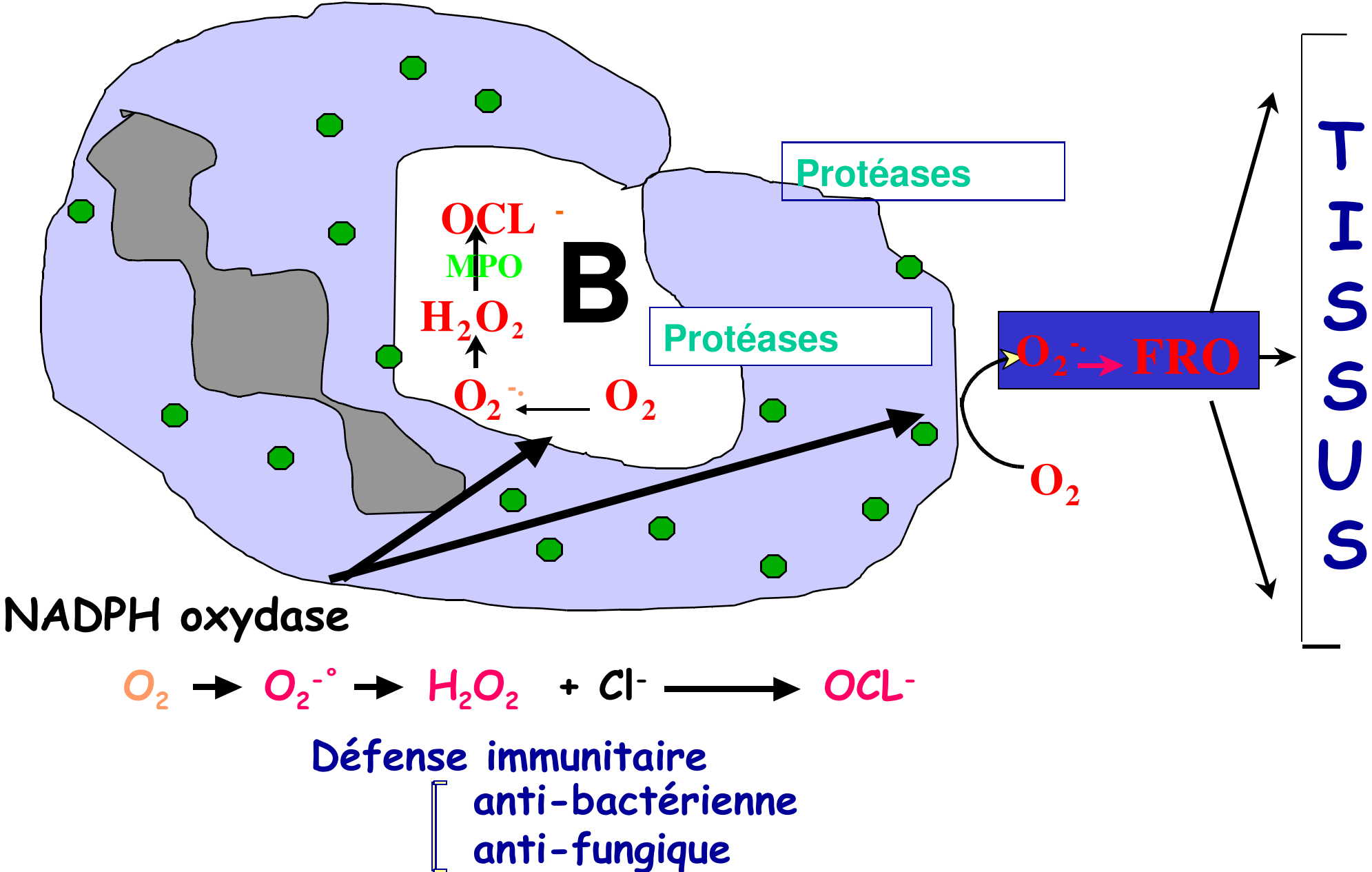
NADPH OXYDASE PHAGOCYTAIRE

Membrane



Cytoplasme

EXPLOSION OXYDATIVE DU PN



GRANULOMATOSE SEPTIQUE CHRONIQUE (CGD)

Déficits d'origine génétique
des différents composants de la NADPH oxydase

$1/2 \times 10^5$ - $1/5 \times 10^5$ naissances

Composant affecté	Gène	Transmission génétique	Fréquence
gp91phox	<i>CYBB</i>	X	70%-75%
p22 phox	<i>CYBA</i>	AR	<5%
p47 phox	<i>NCF-1</i>	AR	20%
p67 phox	<i>NCF-2</i>	AR	5%

SIGNES CLINIQUES DE LA GRANULOMATOSE SEPTIQUE CHRONIQUE

- Déficit immunitaire avec infections graves et/ou répétées à bactéries et champignons

(S Aureus, P. aeruginosa , Serratia, Nocardia, Aspergillus....

Salmonella, BCG, Mycobactéries atypiques....)

Abcès cutanés, hépatiques, pulmonaires, ostéomyélites

Lymphadénopathie, hépatomégalie, splénomégalie

Atteintes granulomateuses intestinales

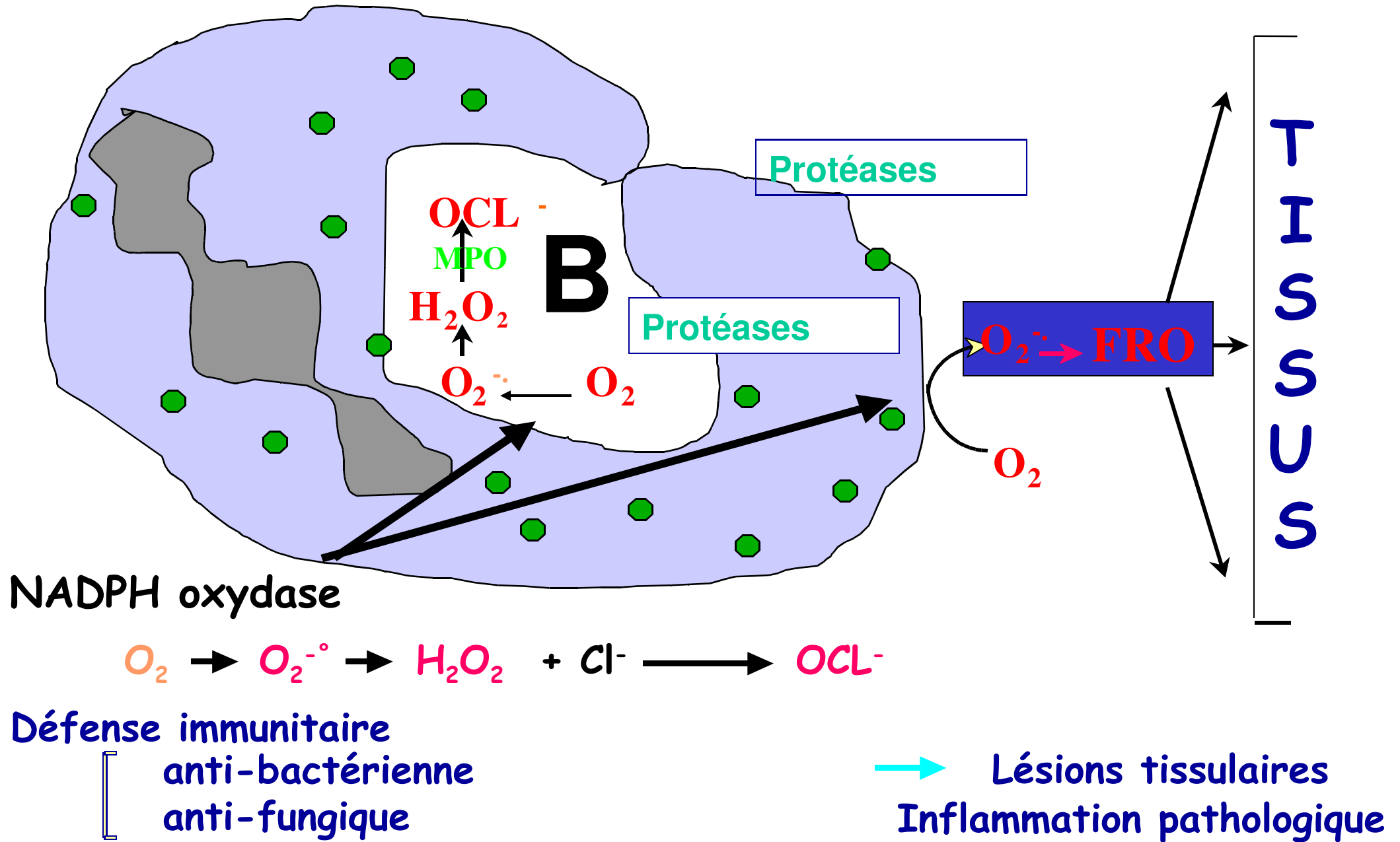
Manifestations auto-immunes : lupus systémique

ou discoïde (chez les mères vectrices)

DIAGNOSTIC DE LA GRANULOMATOSE SEPTIQUE CHRONIQUE

- Dépistage: Très faible production de formes réactives de l'O₂
- Typage:
 - Dosage spectroscopique du cytochrome b
 - Western Blot des composants de la NADPH oxydase
(gp91^{phox}, p22^{phox}, p47^{phox}, p67^{phox}, *rac2*)
 - Séquençage du gène et recherche de la mutation

EXPLOSION OXYDATIVE DU PN



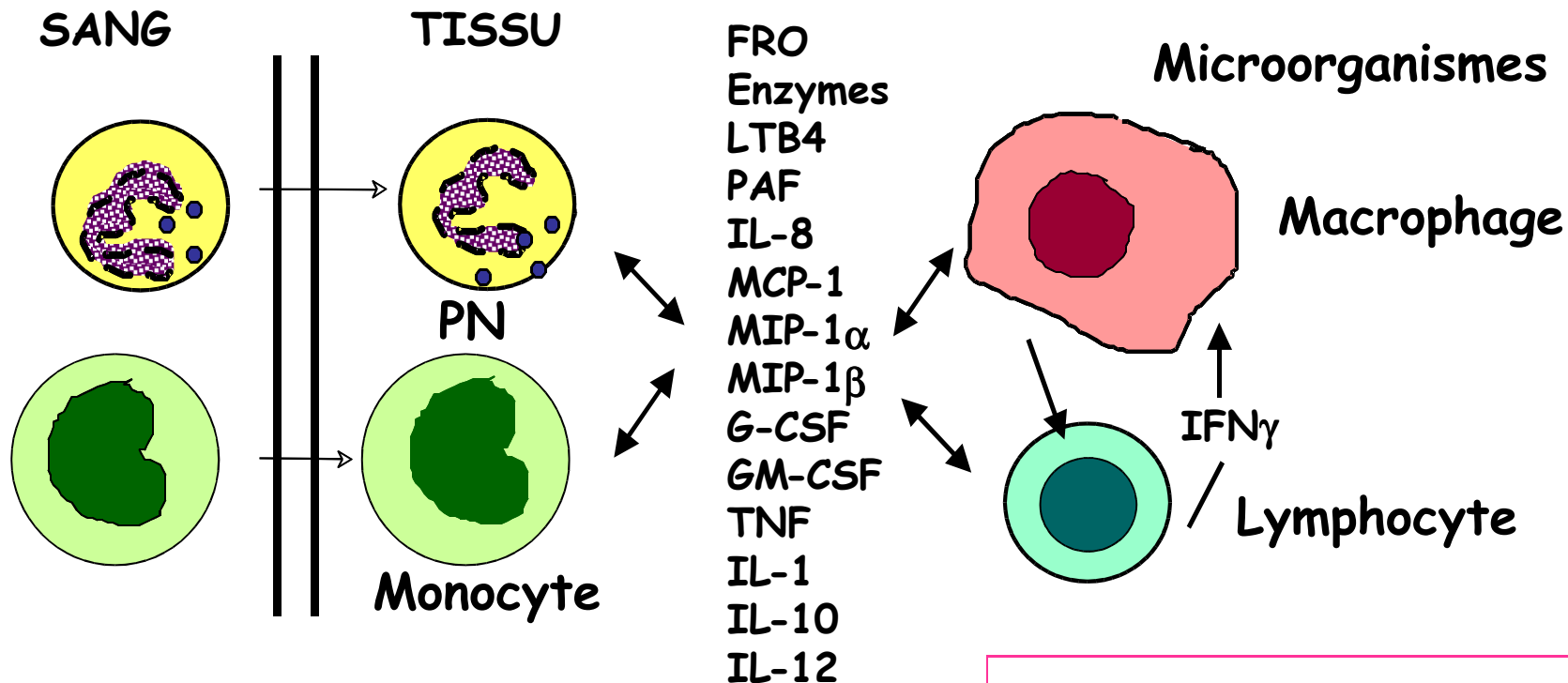
Régulation fine et précise du fonctionnement du PN

Cytokines pro- et anti-inflammatoires

Cytokines et régulation des PN

↑ Adhérence: ↑ CD11b, ↓ CD62L

Effet chimioattractant de d'IL-8



Modulation de l'apoptose
Inhibition
Induction

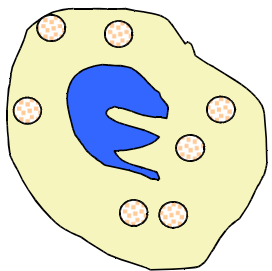
Modulation de la Production de FRO
Priming
Désensibilisation

Régulation de l'explosion oxydative des PN par les cytokines (1)

Priming

« Priming » = prétraitement par un 1^{er} agoniste
augmente la réponse à un 2^{ème} stimulus
appliqué ultérieurement.

Neutrophile



Cytokines
Proinflammatoires

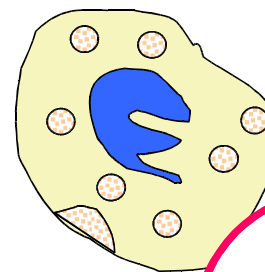
TNF α
GM-CSF
IL-8

Chimioattractants

IL-8
C5a
PAF
fMLP

sang

Tissu



O_2

$O_2^{\circ -}$

→ ROS

« Priming » = prétraitement par un 1^{er} agoniste
augmente la réponse à un 2^{ème} stimulus appliqué
ultérieurement.

→ Rôle physiologique

Régulation de l'explosion oxydative des PN par les cytokines (2)

Désensibilisation

- = Un 1^{er} contact avec un agent pharmacologique diminue la réponse ultérieure
- Action inhibitrice de certains médiateurs anti-inflammatoires: IL-10

Microorganismes

Cytokines
Pro et anti-inflammatoires

Chimioattractants

TNF α
GM-CSF

IL-10

IL-10 R

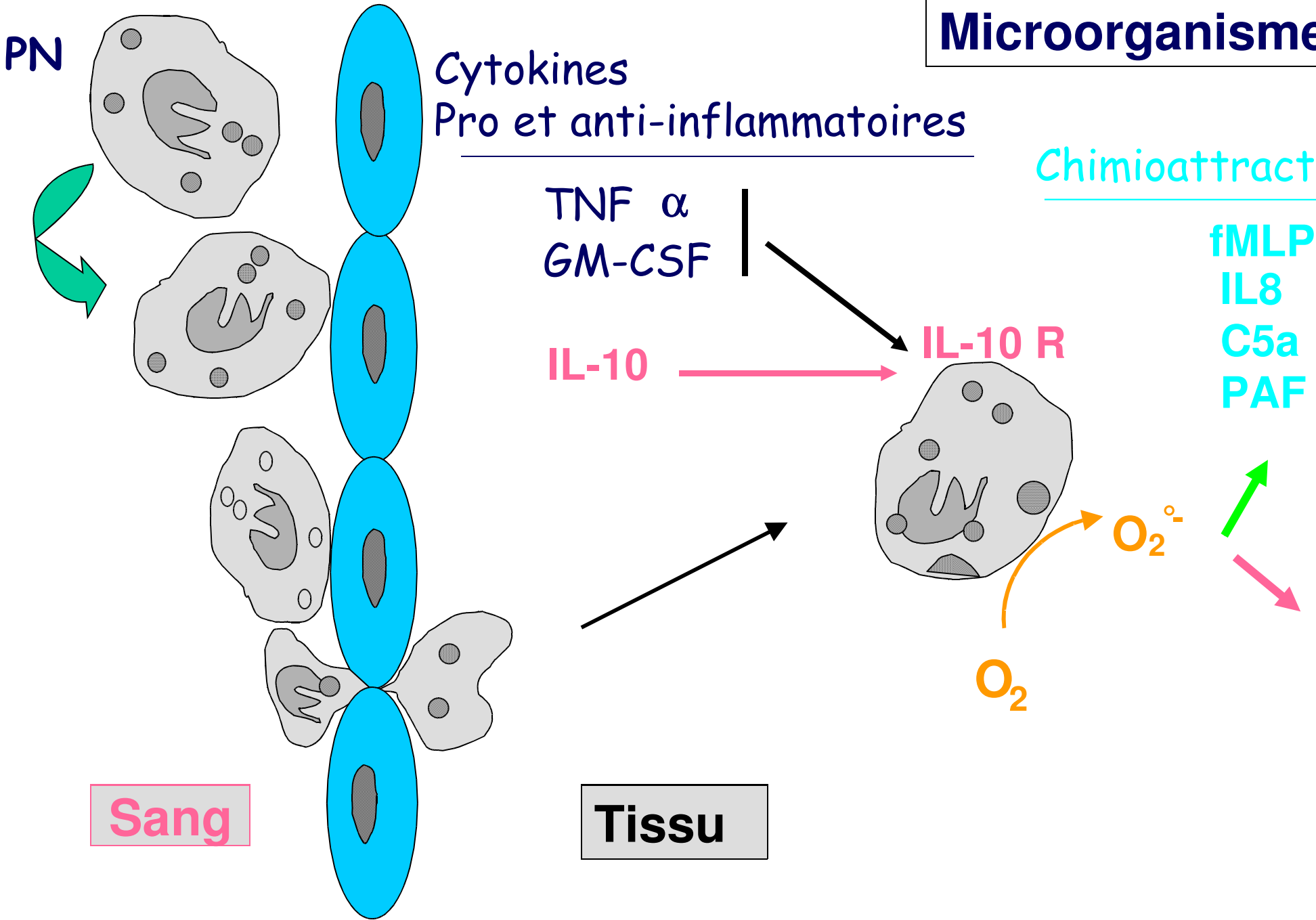
fMLP
IL8
C5a
PAF

$O_2^{\circ-}$

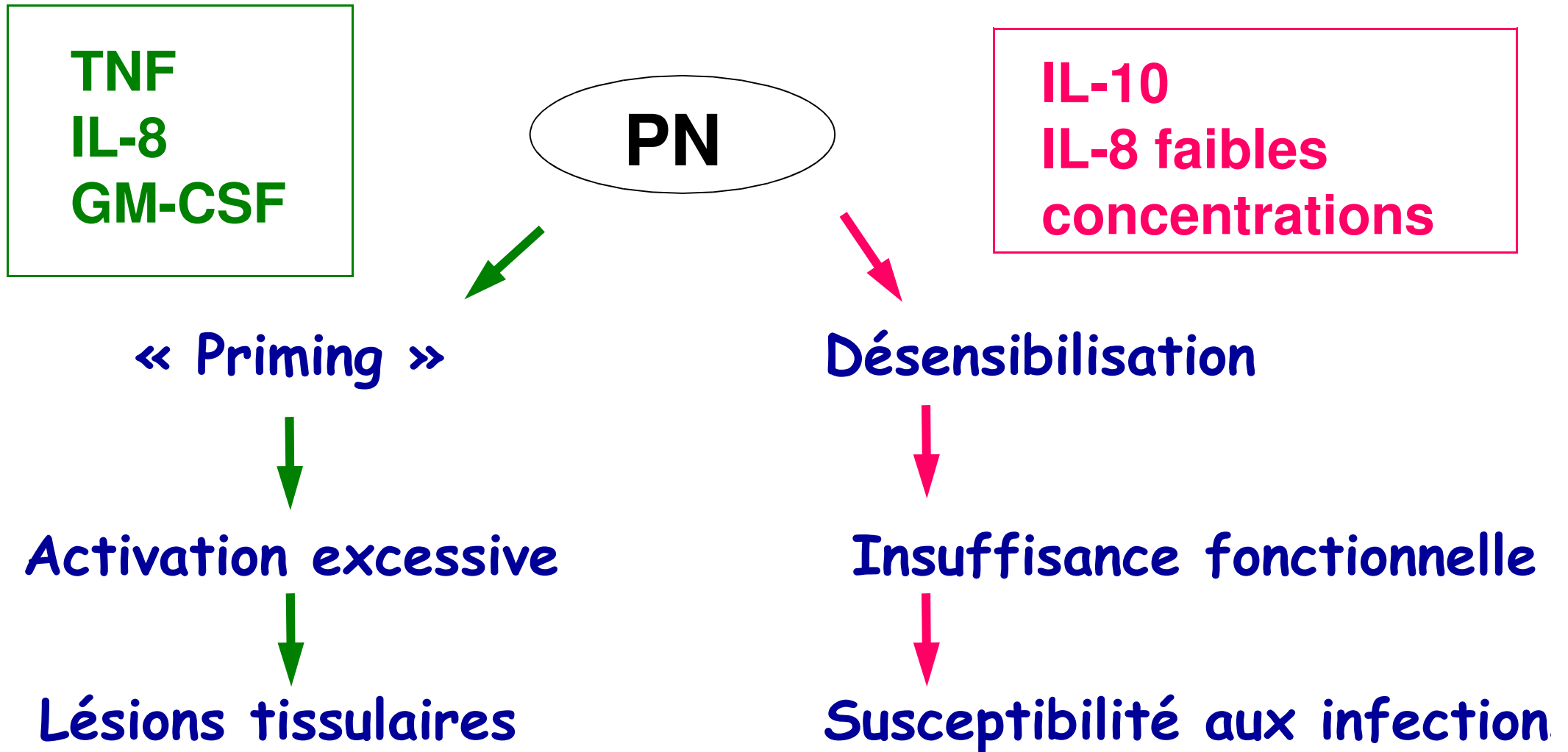
O_2

Sang

Tissu



Inter-relations cytokines/PN



PRODUCTION DE CYTOKINES ET DE LEURS RECEPTEURS PAR LE PN

- Cytokines proinflammatoires:

IL-8, $GRO\alpha$, IP10, $MIP1\alpha$ et β , MCP1, $TNF\alpha$, IL-1 β

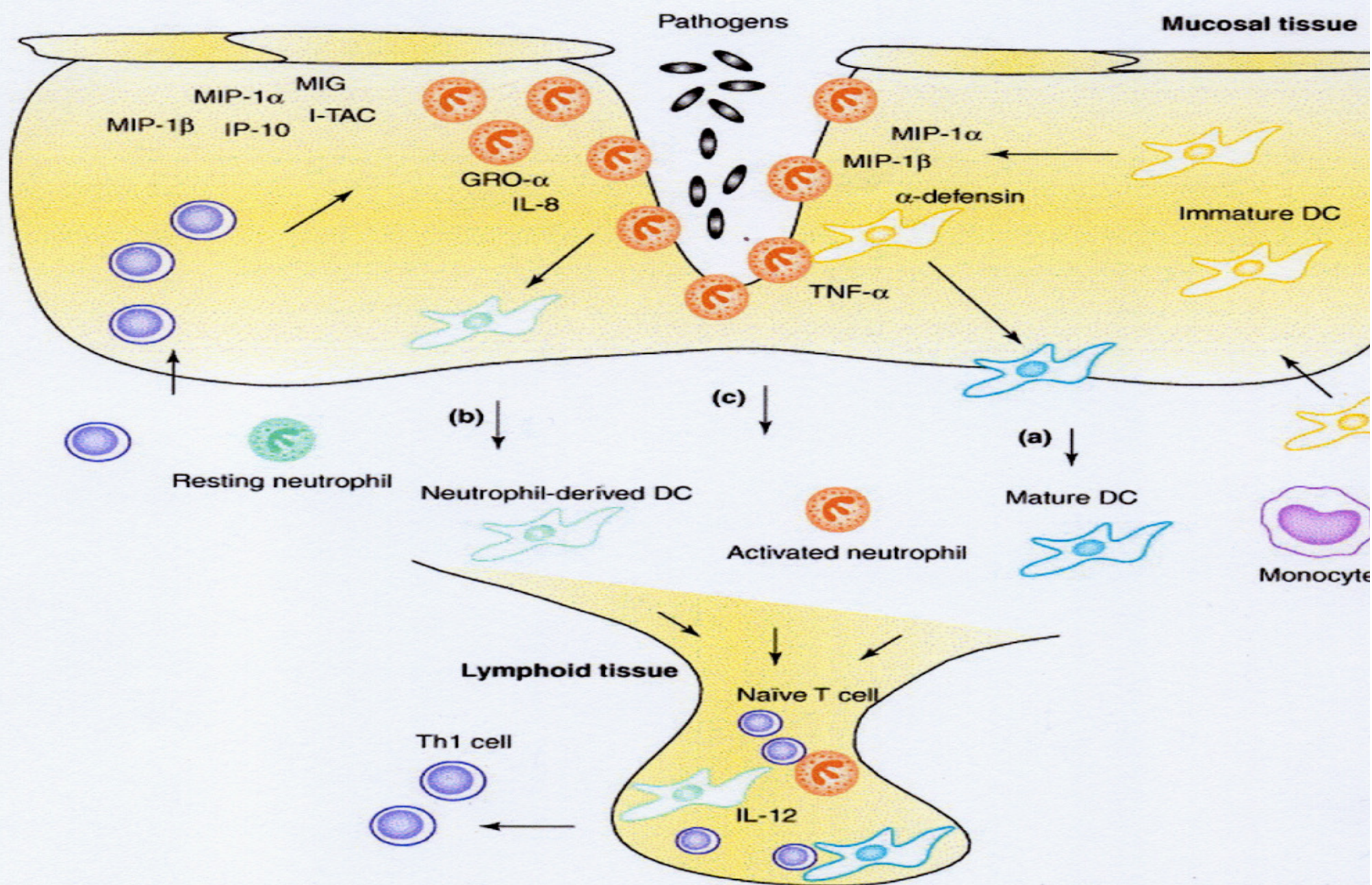
G-CSF, M-CSF, IL-3, IL-12

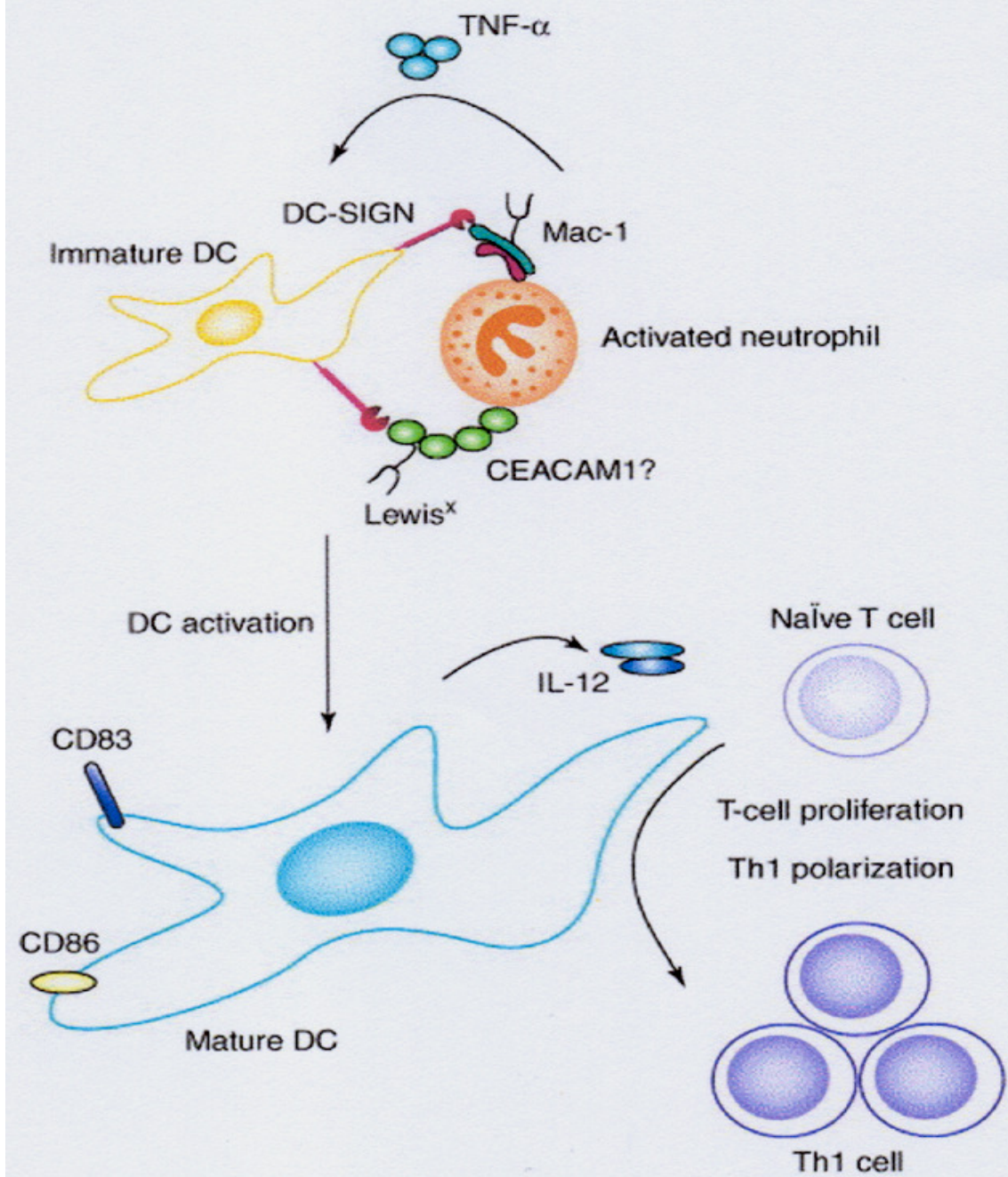
- Cytokines antiinflammatoires

IL-1 $R\alpha$, TNF R_s , TGF β

PRODUCTION DE CYTOKINES ET DE LEURS RECEPTEURS PAR LE PN

- Processus de dégranulation :
 - Libération dans le milieu extracellulaire
 - VEGF
 - Oncostatine M
 - HGF
- Relais par synthèse protéique





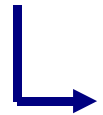
Le PN est un acteur cellulaire pivot de l'immunité innée

Rapidité d'intervention :

- Rapidité de migration sur le site infecté
- Stockage de molécules « prêtes à l'emploi » libérées très rapidement sous l'effet des stimuli:
(protéases, médiateurs lipidiques, cytokines)
- Assemblage rapide d'un système multimoléculaire:
NADPH oxydase
 - Production de FRO: Explosion oxydative
 - - Destruction de l'agent pathogène
 - Remodelage tissulaire et cicatrisation
 - Régulation de l'engagement des réponses immunitaires

Le PN est une arme à double tranchant

Stimulé de façon excessive ou dans un lieu inappropriée



Lésions tissulaires sévères dans le cadre de maladies inflammatoires aiguës ou chroniques systémiques ou d'organe

SDRA

Ischémie reperfusion

BPCO

Vascularites

Polyarthrite rhumatoïde

....