

DES de Biologie Médicale
Enseignement d'Immunologie



CM6.2 Introduction à l'Immunopathologie

Phnom Penh
Septembre 2009

Michelle Rosenzweig
Service de Biothérapies/UPMC CNRS
UMR7211 INSERM U959
Pitié-Salpêtrière - Paris - France
michelle.rosenzweig@upmc.fr

Tous les mécanismes immunitaires étudiés vont intervenir dans la défense de l'organisme contre des attaques extérieures (pathogènes; allergénicité) ou intérieures (tumeurs). Ces mécanismes sont également impliqués dans le maintien de la tolérance au soi ou non soi

Ces réponses immunitaires peuvent être perturbées ou déficientes dans:

- Hypersensibilités
- Autoimmunité
- Déficits immunitaires
- Lymphoproliférations

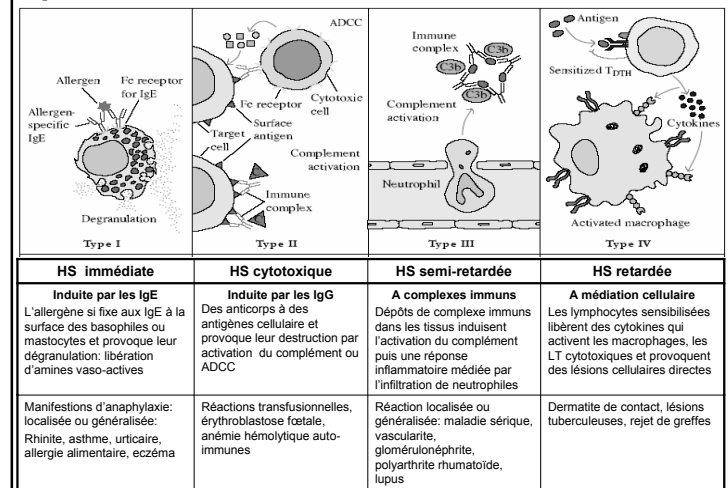
Les hypersensibilités

Traduction clinique de l'exacerbation ou des défauts du fonctionnement immunitaire

Classification **Gell et Coombs** en 4 types d'hypersensibilité:

- I: immédiate : anaphylactique (IgE)
- II: Cytotoxique (IgG)
- III: Semi-Retardée (complexes immuns)
- IV: Retardée (médiation cellulaire)

Classification de Gell et Coombs



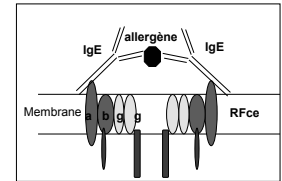
Hypersensibilité type I: Allergie immédiate

- Réaction immune et inflammatoire rapide, anormale et excessive de certains sujets (atopiques): notion de terrain génétique
- Aux Allergènes:
 - = nano- ou micro-particules:
 - Naturelles issues des plantes: pollens, poils animaux, présentes dans les poussières
 - polluants atmosphériques, parfums, cosmétiques, pesticides....
 - = faibles quantités d'allergènes suffisent à induire
- Production d'anticorps IgE à forte spécificité et affinité => très actifs à faibles quantités

Séquence d'évènements conduisant à l'allergie :

Production de faibles quantités d'Ac IgE en réponse à l'allergène =>

- Liaison stable des IgE aux récepteurs de forte affinité aux Fc des IgE sur les membranes des mastocytes
- Agrégation (pontage) des IgE - Récepteurs lors de la ré-introduction de l'allergène
 - ⇒ Signal majeur, immédiat de dégranulation des Mastocytes
 - ⇒ Libération d'Histamine
- Réaction rapide, anormale et excessive
- des muscles lisses et des vaisseaux
- induite par la triade anticorps IgE, mastocytes, histamine, et est souvent suivie d'une inflammation



Hypersensibilité type I : Allergie immédiate

Effets cliniques:

Allergie = 2 réactions associées, immédiate et retardée

- Réaction immédiate due à histamine, PGE2, médiateurs rapidement synthétisés → perméabilité vasculaire et contraction des muscles lisses
- Réaction retardée due à relargage de médiateurs synthétisés par les mastocytes activés (leukotriènes, chimiokines, cytokines) → recrutement de leucocytes (éosinophiles) et induction d'une réponse Th2

Allergie = quand réexposition à un allergène donné

Causes: pollens, acariens, poils, moisissures, aliments, venins, latex

Effets = là où mastocytes dégranulent

Allergène inhalé = rhinite, asthme

Allergie de la peau = urticaire

Allergène dans circulation sanguine ou absorbé VO: anaphylaxie systémique, choc anaphylactique, œdème de Quinck

Hypersensibilité type II: Cytotoxique

- Quand certains médicaments se fixent à la surface des cellules → cytotoxicité à Anticorps (IgG ou IgM) → activation du complément et ADCC
- Médicaments = antibiotiques (pénicilline), anti-arythmie cardiaque (quinidine, méthylropa).....
- Destruction des tissus: Hépatites immuno-allergiques, thyroïdites, néphrites, incompatibilité foeto-maternelle.....

Hypersensibilité de type III: semi-retardée

• Normalement, des complexes immuns se forment un permanence et sont éliminés par les phagocytes du foie, de la rate et des poumons

• Dans certaines conditions, les complexes immuns vont se déposer au niveau des vaisseaux → vascularite

Exemple: angine à streptocoque compliquée de glomérulonéphrite, endocardites, hépatites virales

• **Maladie sérieuse**: après contact avec certaines protéines étrangères (sérum hétérologues, médicaments), il se forme des complexes immuns avec des IgM ou IgG qui activent le complément → inflammation+ dépôts dans les tissus

• **Alvéolites allergiques extrinsèques**: exposition régulière à un pneumallergène → complexes immuns au niveau de la membrane alvéolo-capillaire → inflammation locale

exemples: poumon du fermier, maladie des éleveurs d'oiseaux, mal. des bois exotiques....

Type IV: Hypersensibilité retardée

survient 24h ou plus après l'exposition à l'antigène

• médiée par des lymphocytes T CD4 et CD8 (et NON par IgE)

• = Eczéma de contact, toxidermies médicamenteuses...

Due à de petites molécules organiques ou métaux (haptènes)

- se fixant sur les molécules du CMH des cellules (épiderme, épithelia)
- les rendent antigéniques = cibles des cellules T.
- Responsables d'infiltrats cellulaires, cytotoxicité...

• Exemple: Hypersensibilité à l'Abacavir (antirétroviral anti-VIH):

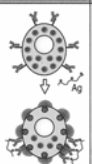
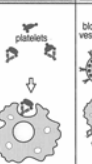
= Toxidermie sévère: 5% des cas de traitements

– liée à HLA B-57 (& allèles associés):

=> Nécessité d'un typage HLA avant traitement / Abacavir

LES HYPERSENSIBILITES

Classées en 4 types I, II, III et IV

	Type I	Type II	Type III	Type IV		
Immune reactant	IgE	IgG	IgG	T _H 1 cells	T _H 2 cells	CTL
Antigen	Soluble antigen	Cell- or matrix-associated antigen	Soluble antigen	Soluble antigen	Soluble antigen	Cell-associated antigen
Effector mechanism	Mast-cell activation	FCR ⁺ cells (phagocytes, NK cells)	FCR ⁺ cells Complement	Macrophage activation	Eosinophil activation	Cytotoxicity
						
Example of hypersensitivity reaction	Allergic rhinitis, asthma, systemic anaphylaxis	Some drug allergies (e.g., penicillin)	Serum sickness, Arthus reaction	Contact dermatitis, tuberculin reaction	Chronic asthma, chronic allergic rhinitis	Contact dermatitis

Immunobiology 5: Janeway C, Travers P, Walport M, Shlomchik M

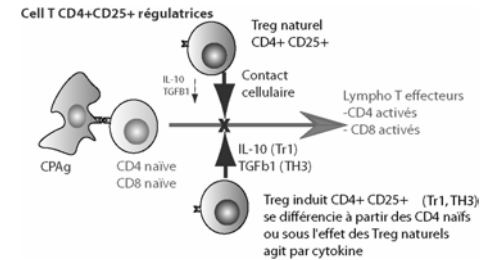
AUTO-IMMUNITE

Auto-Immunité

- **Réactivité anormale** du système immunitaire contre le « soi »
- = absence de rétrocontrôle par rupture de la tolérance immunitaire:
- Tolérance immunitaire:
 - Centrale
 - Lors de la délétion clonale au cours de la sélection thymique
 - Pendant la différenciation des cellules T: thymus ou B: moelle
 - Périphérique
 - Après rencontre avec l'antigène
 - Il existe des mécanismes régulateurs
 - Cytokines: IL-10, TGF-beta
 - Cellules: Lymphocytes T régulateurs

Auto-Immunité et rupture de Tolérance périphérique

Perte de régulation négative des réponses immunitaires exercée par les **lymphocytes T régulateurs**.



Réactivité croisée dirigée contre des antigènes extérieurs au soi similaires à des séquences du « soi ».

Auto-anticorps et auto-antigènes

Plus de 200 auto-anticorps dirigés contre des auto-antigènes:

- **spécifiques d'organes** : dirigés contre des **molécules propres** des tissus : thyroglobuline, récepteur de l'acétyl choline....
- **non spécifiques** dirigés contre les **constituants communs** du noyau (ADN, histones...) ou cytoplasme
- **Auto-Ac naturels**
 - physiologiques produits par lymphocyte B auto-réactifs d'un individu normal,
 - généralement non pathogènes (Ac anti-DNA, Ig monoclonale bénigne...)
- **Auto-Ac pathogènes**
 - Ac anti-DNA, thyroglobuline, mitochondrie...
 - **responsables des manifestations cliniques** par mécanismes
 - directs : destruction, blocage ou stimulation de la cellule cible,
 - indirect via des complexes immuns, complément...

Ac non spécifique d'organe:

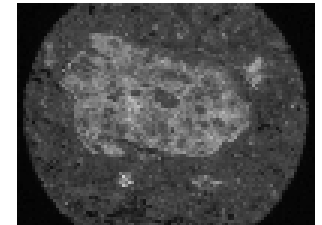
ex: Ac antinucléaire
marqueur diagnostique des
connectivites

(IFI sur cellules Hep-2, aspect
moucheté)

Ac spécifique d'organe

ex: Ac anti-îlot de langerhans
marqueur diagnostique du DID

(IFI sur pancréas humain)



Maladies auto-immunes (MAI)

- Fréquentes (5 à 7% de la population mais surtout les femmes),
- Multifactorielles
- Caractérisées par :
 - **Réponses auto-immunes**,
Ac ou cellulaires vis à vis d'Ag du soi
 - **Lésions** immunologiques **caractéristiques**
(infiltration de lymphocytes, dépôts d'Ac, de complexes immuns, de complément)
 - Amélioration des symptômes par **traitement immunosuppresseur**
 - **Induction expérimentale** par transfert passif (sérum ou lymphocytes) du sujet atteint à un sujet indemne.
 - **Terrain** favorisant associant d'autres MAI, certains haplotypes HLA ou d'autres traits génétiques.

Terrain favorisant associant d'autres MAI, certains haplotypes HLA ou d'autres traits génétiques

Différents individus dans une même famille peuvent développer des maladies autoimmunes différentes (thyroïdite et diabète, LED et maladie de Gougerot-Sjögren.....)

Importance du génotype HLA dans ces maladies car implication de la réponse des lymphocytes T (association répertoire des T et MHC)

Exemples:

- spondylarthrite ankylosante = prédominance HLA B27,
- sclérose en plaque = DR2,
- myasthénie gravis = DR3,
- diabète type I = DR3/DR4,
- polyarthrite rhumatoïde = DR4,
- thyroïdite d'Hashimoto = DR5

Maladies auto-immunes (MAI)

- **d'organe** :
 - Auto-antigènes contre lesquels est dirigée la réaction immunitaire sont exprimés dans un seul organe :
 - Exemples :
 - diabète,
 - thyroïdites,
 - polyarthrite rhumatoïde, spondylarthrite ankylosante,
 - anémie auto-immune
- **sytémiques** :
 - Auto-antigènes sont exprimés de façon ubiquitaire
 - Exemples:
 - Lupus érythémateux disséminé (LED),
 - Sclérodermie
 - certaines vascularites.....

MAI caractérisées par:

- la survenue de manifestations cliniques
- la production d'auto-anticorps spécifiques d'un antigène du soi

L'exploration biologique de l'auto-immunité consiste à rechercher ces AUTO-ANTICORPS

Auto-anticorps

Auto-Ac les plus recherchés en pratique médicale courante:

Ac antinucléaires totaux +++	connectivites
Ac anti-ADNnatif	lupus
Ac antinucléaire solubles	connectivites
Facteurs rhumatoïdes	PR
Ac anti-tissus	hépatopathies
Ac anti-thyroïdien	thyroïdite, basedow
Ac anti-ilots de Langerhans	Diabète Insulino Dépendant
Ac anti-transglutaminase, endomysium, gliadine	Maladie coeliaque

Exemple des Ac antinucléaires

ils constituent un groupe hétérogène d'auto-Ac dirigés contre les constituants du noyau des cellules: ADNn, nucléoplasme, nucléole, membrane nucléaire

CONNECTIVITES

Les Ac antinucléaires sont recherchés en première intention lors d'une suspicion de connectivité

on peut les observer dans d'autres situations:

**MALADIES
AUTOIMMUNES**

**MALADIES
INFECTIEUSES**

CANCER

MEDICAMENTS

SUJETS SAINS

Toutefois, dans ces situations, la spécificité des Ac est différente de celle des connectivites.

Ac antinucléaires: stratégie de détection

Examens en cascades

DEPISTAGE

*Immunofluorescence
Cellules Hep2*

Si recherche +

IDENTIFICATION

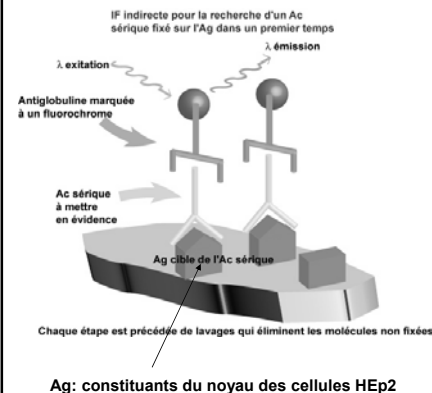
- Anti-ADNn
- anti-antigènes nucléaires solubles (ENA)

*Caractérisation des
Cibles Antigéniques*

Elisa, Western blot, dot blot, RIA...

Ac antinucléaires: dépistage

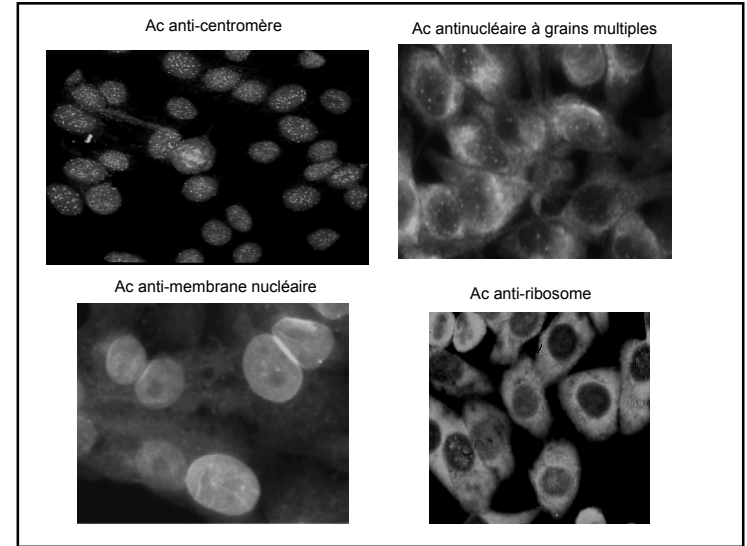
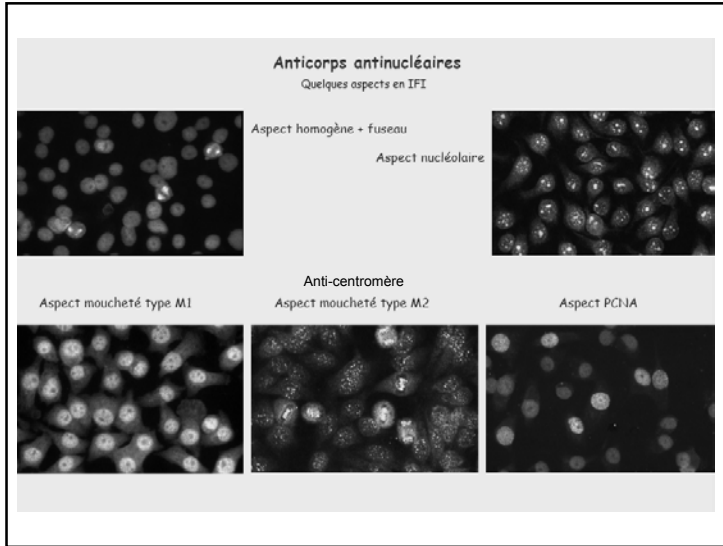
immunofluorescence indirecte sur cellules HEp2



Résultat:

- titre: 1/80 constitue le seuil de positivité (mais tenir compte de l'âge du patient). Au dessus de 1/1280 rendu > 1/1280
- aspect de la fluorescence:
 - homogène: anti-ADNn,
 - moucheté: anti-centromère, anti-nucléaires solubles,
 - nucléolaire: anti-Pmscl

Absence d'Ac antinucléaires ou titre faible rend très improbable le diagnostic de connectivité



Maladies tumorales du système immunitaire

Maladies tumorales du système immunitaire

- **Processus oncogène** de transformation, le plus souvent malin,
- lié à:
 - une **translocation** chromosomique
 - un **réarrangement** accidentel
 - lors d'une **activation** ou prolifération immune,
 - mettant en contact dans le cytosol ou le noyau cellulaire
 - un **oncogène** (issu d'un virus [EBV: Ly B, HTLV: Ly T], ou agent chimique [benzène])...
 - et des **molécules activatrices normales** de ces cellules
- Affectant les **cellules lymphoïdes ou myéloïdes**
 - à une étape particulière du développement cellulaire : blocage de différenciation.
 - De façon clonale le plus souvent

Maladies tumorales du système immunitaire

classées en fonction :

- de la **nature** de la cellule : **Lymphoïde (B)**, le plus souvent, **T** ou **myéloïde**
- des modalités : **aigue** (leucémies) ou **chronique** (leucémies, lymphomes),
- du **stade de différenciation** :
 - **immature (lympho/myélo-blastique)**: aigues, rapides, graves : (LAL, LAM...)
 - **mature** : plus souvent chronique, souvent moins sévères (LLC, LMC)
 - chaque stade confère une spécificité phénotypique, immunochimique et clinique
- du **site et de la diffusion** de la prolifération :
 - localisé à un organe lymphoïde : **lymphomes**, pouvant évoluer vers :
 - diffus
 - atteinte des sites de lympho/myélopoïèse médullaire et passage +/- massif de cellules malignes dans la circulation : les **leucémies**,
 - limitée à la moelle osseuse : **myélomes** touchant les plasmocytes

Diagnostic des lympho proliférations

Repose:

- L'aspect cytologique (sang/ponction) ou anatomopathologique (biopsie)
- La recherche d'une immunoglobuline monoclonale: immunoelectrophorèse
- Le profil phénotypique: cytométrie
- La recherche d'anomalie chromosomique: caryotype
- L'analyse de la **clonalité: biologie moléculaire (PCR)**
 - **T : réarrangements des gènes du TCR**
 - **B : réarrangements des gènes des Ig**

Déficits Immunitaires

Peuvent toucher l'ensemble des éléments du système immunitaire :

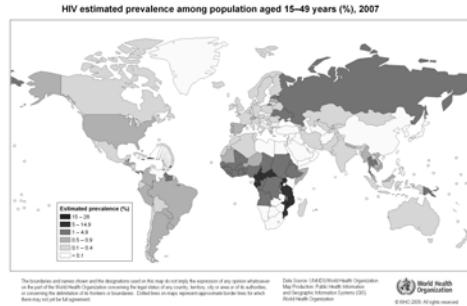
- **Acquis** à tout âge, dus essentiellement à des déficits **T** secondaires à :
 - des **infections**, en particulier virales :
 - **VIH** (virus d'immunodéficience humaine) responsable d'un syndrome d'immunodéficience acquise (**SIDA**) léthal
 - Mais aussi rougeole, ou autres infections
 - des **traitements immunosuppresseurs** systémiques administrés pour:
 - des **pathologies inflammatoires** chroniques ou auto-immunes sévères
 - des **greffes d'organes**
- **Primitifs**:
induisant des défauts **isolés T** (DiGeorge) ou **B** (Bruton) ou **PN** ou **Complément mixtes T et B** : **DICS, DICV**
 - dès l'enfance: d'origine **génétique**, souvent très sévères, de mieux en mieux caractérisés
 - chez l'adulte, souvent moins sévères, vraisemblablement génétiques

Le SIDA

- Maladie apparue au début des années 80
- Caractérisé à l'origine par un effondrement progressif des lymphocytes CD4+ et l'apparition d'infections opportunistes de sarcome de kaposi et de lymphomes viro-induits
- 1985: mise en évidence du VIH (rétrovirus) et mis au point de tests sérologiques pour détecter les anticorps (séropositivité)

Aujourd'hui

- 40 millions de séropositifs soit 1,2% de la population mondiale âgée de 15 à 49 ans
- 4,8 millions nouvelles contaminations chaque année, soit 14 000 par jour et 10 par minute
- 2 000 enfants sont contaminés par jour



MODES DE TRANSMISSION DU VIH

■ voie sanguine

- transfusion sang et dérivés sanguins
- injection de drogues
- inoculation parentérale (plus rare)

MODES DE TRANSMISSION DU VIH

■ voie sexuelle

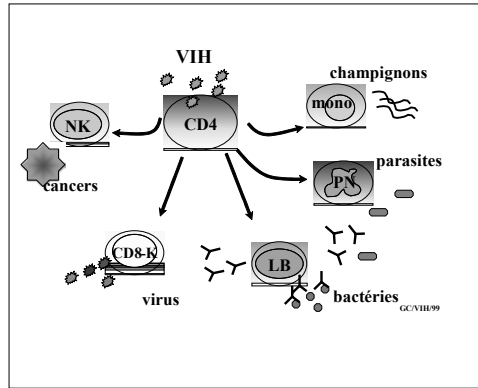
- nombre de partenaires
- pratiques sexuelles
- infectivité du partenaire
- degré de susceptibilité du partenaire non infecté

MODES DE TRANSMISSION DU VIH

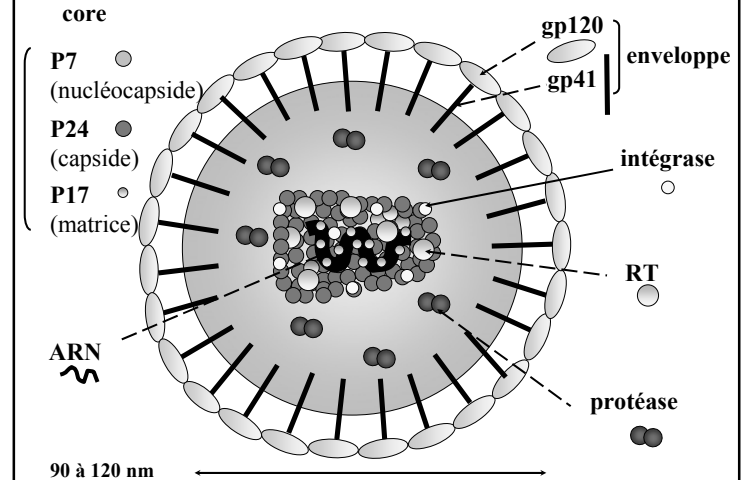
■ transmission périnatale

- transplacentaire fin grossesse ou accouchement
- allaitement
- sans traitement = 20% France
- ➤ +++ sous traitement
- ➤ âge, degré d'immunodépression

SIDA : infection élective des lymphocytes CD4 et macrophages conduisant à la survenue de déficits fonctionnels de l'ensemble du système immunitaire

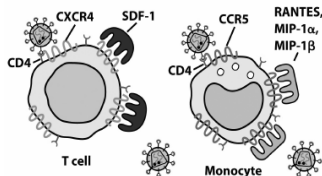


STRUCTURE DU VIH

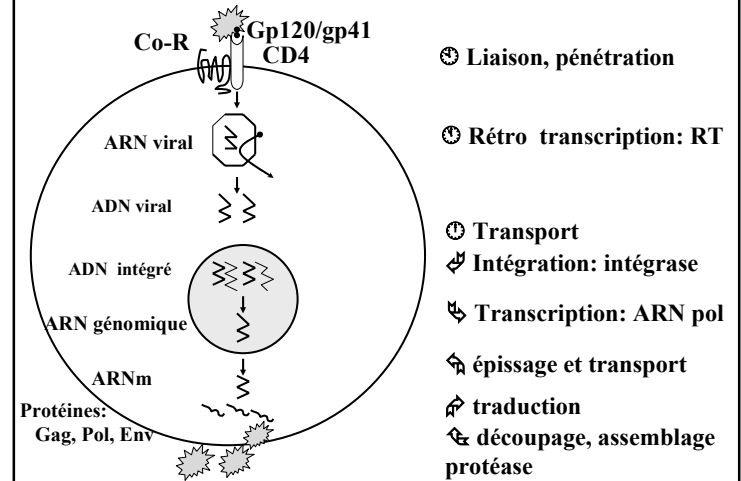


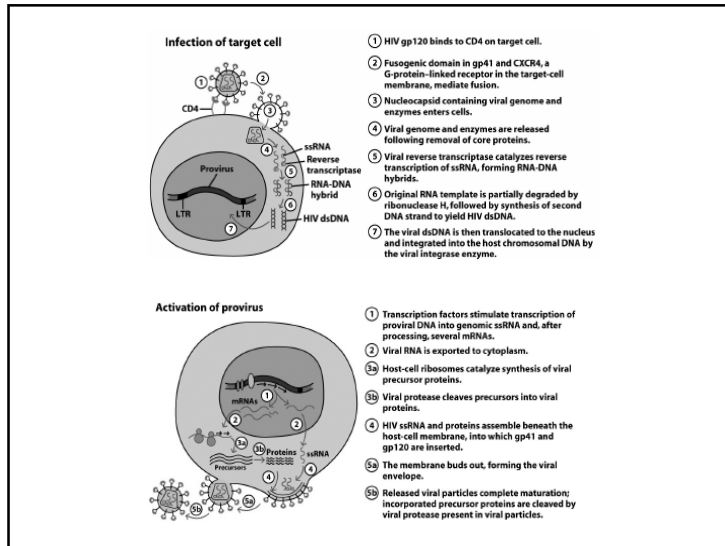
Cellules Cibles Récepteur/Corécepteurs

- Le virus infecte les T CD4, les cellules dendritiques et les monocytes/macrophages
- Pour entrer dans la cellule hôte:
 - par les gp120 et gp41 sur CD4 + co-récepteur (CCR5 ou CXCR4 qui sont des récepteurs aux chimiokines)



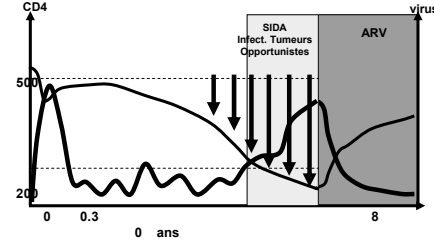
CYCLE REPLICATIF DU VIH





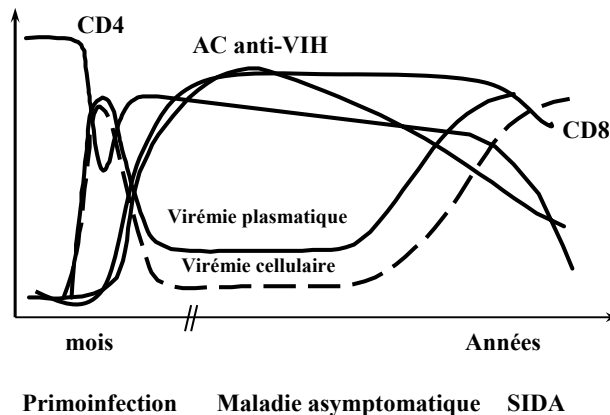
SIDA

- Profond déficit quantitatif, progressif en Ly T CD4
- Perte du contrôle immunitaire d'**infections et tumeurs opportunistes** (normalement présentes et contrôlées par le système immunitaire)

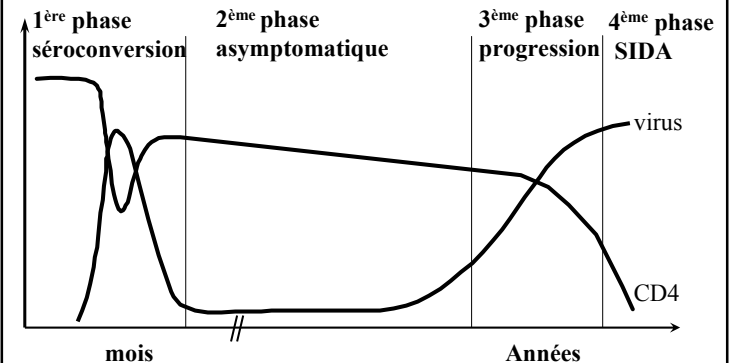


- 3 phases
- Primo-infection
- Phase asymptomatique
- SIDA

HISTOIRE NATURELLE DE LA MALADIE



LA LYMPHOPENIE CD4



MECANISMES DE LA LYMPHOPENIE CD4

En moyenne 50 CD4/mm³/j → 10⁹ /j

1/2 vie CD4 infecté = 2 js

Plusieurs mécanismes possibles

- réplication virale
- effet cytopathogène
- destruction par les CD8
- activation chronique/anergie/mort
- déficience de régénération

MODIFICATIONS QUALITATIVES

Les cellules CD4+ deviennent



Anormalement activées



Majoritairement mémoires



Moins fonctionnelles

→ {
 ↘ cytokines
 ↘ prolifération

Les cellules CD8+ deviennent



Anormalement activées

CONSEQUENCES CLINIQUES

1) Taux CD4 *déficit progressif, cibles principales du virus*

Fonctions CD4+ *dysfonctionnement progressif*

→ Etat d'immunodépression = SIDA

→ favorisant les infections opportunistes
 et les processus tumoraux

2) réponses CD8 *hyperstimulation / hyperactivation*

→ Phénomènes d'immunopathologie

LE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE : ELISA

★ contact avec le serum dilué

⊙ contact avec un chromogène

AC anti-VIH



AC non spécifique

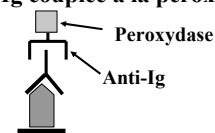
Ag = protéines
 virales purifiées,
 recombinantes,
 synthétiques

Modification de couleur

Lecture par
 spectrophotométrie

★ détection des complexes ag-AC

par une anti-Ig couplée à la peroxydase



INTERPRETATION DE CE TEST DE DEPISTAGE

Double test ELISA

2 méthodes différentes dont un de spécificité mixte VIH-1/2

Dissociation ou positifs



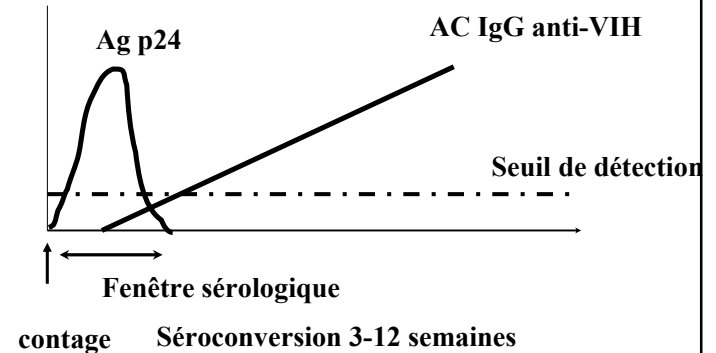
2ème prélèvement
ELISA
WESTERN BLOT

négatifs



rien
si doute ++ contage
↓
ag p24
refaire ELISA 3mois

CINETIQUE D'APPARITION DES ANTICORPS ANTI-VIH



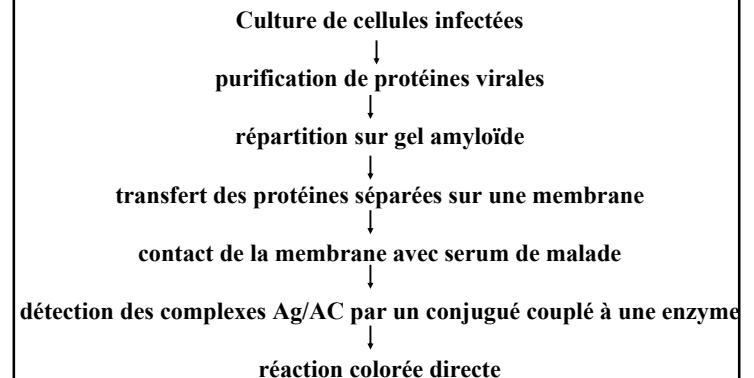
ELISA: FAUX POSITIFS

Avant de conclure à une réactivité non spécifique
rechercher ++++

- une séroconversion (ag p24)
- une infection par VIH-2

Les tests dits indéterminés le sont de façon stable
3 mois d'intervalle

LE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE : WESTERN BLOT



AUTRES METHODES DIAGNOSTIQUES

■ Ag p24

- ELISA
- 5 à 10 premiers jours
- recherche sérologique 6 semaines plus tard

■ Isolement viral

- culture
- identification de la souche

■ PCR

- lymphocytes ou plasma
- charge virus, enfant né mère +, séro confuses
(- suivi des patients)