

## TP20. Les mécanismes de la réaction immunitaire innée

La réaction inflammatoire aigüe (RIA) en est un mécanisme essentiel de l'immunité innée. Quatre symptômes stéréotypés accompagnent cette réaction : rougeur, chaleur, gonflement, douleur.

On va :

1 - Réaliser un schéma des étapes de la RIA à partir des différents documents fournis./ utiliser le concepteur de carte mentale Xmind ou de dessin draw. : point de départ : la contamination par un micro-organisme.

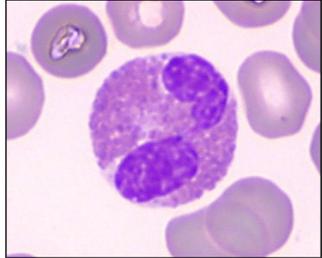
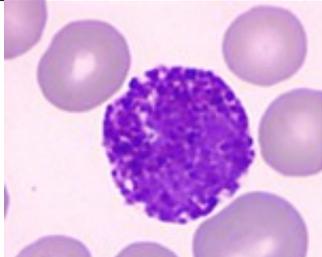
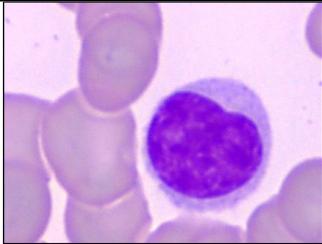
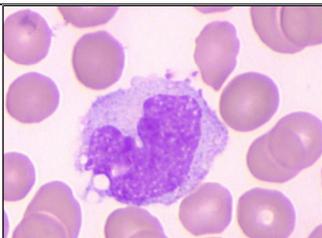
2- Repérer les différents leucocytes sanguins/ microscopie / lame de sang humain.

3- Réaliser l'ECE une fois le processus de RIA compris et synthétisé.

... Le temps est donc compté...

### Doc 1 : Les différents leucocytes sanguins et leurs caractéristiques

Dans le sang, les principaux leucocytes visibles sont les granulocytes (70 % des leucocytes du sang), les lymphocytes (25 %) et les monocytes (5 %).

Leucocyte	Microphotographie	Diamètre moyen	Rôles principaux
<b>GRANULOCYTES NEUTROPHILES</b> <i>50 à 75% des leucocytes sanguins</i>		10 à 14 $\mu\text{m}$ Leur noyau a de 2 à 5 lobes	Phagocytose Sécrétion de médiateurs chimiques de l'inflammation
<b>GRANULOCYTES EOSINOPHILES</b> <i>1 à 5% des leucocytes sanguins</i>		10 à 15 $\mu\text{m}$ , comportant un noyau à 2 lobes	Phagocytose Sécrétion de médiateurs chimiques de l'inflammation
<b>GRANULOCYTES BASOPHILES (mastocyte dans les tissus)</b> <i>moins de 1 % des leucocytes sanguins</i>		8 à 20 $\mu\text{m}$	Sécrétion d'histamine et de prostaglandines
<b>LYMPHOCYTE</b> <i>25 à 40 % des leucocytes sanguins chez l'adulte</i>		6 à 15 $\mu\text{m}$	Réponse immunitaire adaptative (production d'anticorps, destruction de cellules infectées...)
<b>MONOCYTE (macrophage dans les tissus)</b> <i>2 à 10 % des leucocytes sanguins</i>		30 à 60 $\mu\text{m}$	Phagocytose Sécrétion de médiateurs chimiques de l'inflammation

### Document 2 : Les éléments déclencheurs :

**1- Les marqueurs « antigènes » :** Suite à une blessure, un pathogène pénètre dans l'organisme via la peau ou les muqueuses. Dès son entrée, il est reconnu par les cellules de l'immunité innée comme les cellules dendritiques, les macrophages, les granulocytes, les mastocytes.

Il existe des motifs moléculaires caractéristiques des micro-organismes : Les PAMP

Les PAMP (*Pathogen Associated Molecular Pattern*) sont des molécules accessibles et souvent très représentées sur les micro-organismes. Ils sont très conservés au cours de l'évolution car indispensables à la survie des micro-organismes et ils n'existent pas sur les cellules humaines

saines. Chaque groupe de micro-organismes possède un certain nombre de PAMP caractéristiques. Par exemple, un ARN double brin ou des fragments d'ADN non méthylés sont caractéristiques des virus, les mannanes sont des constituants importants des champignons, le lipopolysaccharide (LPS) est typique des parois des bactéries Gram négatif.

**2- Traumatismes, réactions** à des substances inertes irritatives endogènes ou exogènes, agents physiques (brûlures)...

### **Document 3 : les remparts corporels :**

***La barrière cutané-muqueuse est en contact avec les virus, parasites et bactéries. Elle empêche leurs adhésions par des mécanismes mécaniques, chimiques ou biologiques, et comporte deux éléments : la peau et les muqueuses.***

#### 1) La peau

La peau est un **épithélium multi-stratifié kératinisé** entourant toute la surface externe de l'Homme et qui est une barrière très efficace contre des intrusions de tout type ; elle joue ainsi le rôle de :

- **Barrière mécanique** au développement bactérien, virale et parasitaire, grâce à une faible perméabilité et à la desquamation de la peau.
- **Barrière chimiques** présentant des protéines et des peptides antimicrobiens. Les peptides ont trois modes d'actions, en effet ils peuvent entraîner : une rupture mécanique des membranes bactériennes, une déstructuration enzymatique des membranes bactériennes et une séquestration de nutriment.
- **Barrières biologiques** présentant une flore commensale qui est un ensemble de bactéries se situant sur la peau et les muqueuses et jouant un rôle important de barrière.

#### 2) Les muqueuses

Les muqueuses possèdent un **épithélium uni- ou multi-stratifié non kératinisé** et sont donc plus sensibles aux différentes attaques infectieuses. Elles ont donc dûes développer un moyen de défense supplémentaire : le mucus.

Le **mucus** contient des sucres, que l'on appelle des **leures**, étant donné que ce sont des récepteurs bactériens solubles. Il joue également un rôle de barrière mécanique dans le sens où il forme une substance visqueuse emprisonnant les éléments étrangers et qui sera ensuite éliminée par expectoration. Finalement le mucus contient des substances antimicrobiennes tout comme la peau.

### **Documents 4 : Les réponses initiales :**

*Les cellules immunitaires de type dendritiques, mastocytes, macrophages et granulocytes sont capables de reconnaître les PAMP :*

*En 1989, l'immunologiste Charles Janeway Jr a proposé les termes de PRR (Pattern Recognition Receptor) pour les récepteurs cellulaires capables de reconnaître des motifs moléculaires caractéristiques des pathogènes appelés les PAMP (Pathogen Associated Molecular Pattern).*

Les PRR sont exprimés par toutes les cellules de l'immunité innée et chaque type cellulaire en possède un certain jeu. Tous les PRR ne sont pas membranaires, certains sont dans la cellule. Ces localisations différentes et le nombre important de récepteurs permettent de contrer une grande partie des stratégies d'évitement développées par les micro-organismes. Au niveau fonctionnel, on distingue ceux qui permettent la phagocytose et ceux qui permettent l'activation des cellules. Les PRR sont très divers et on en décrit chaque année de nouveaux.

Si un PRR et un PAMP s'associent : cela engendre deux phénomènes principaux :

### 1- La phagocytose :

Les **phagocytes** ou **cellules phagocytaires** sont les éboueurs de l'organisme, capables d'endocyter des bactéries et des cellules mortes ; on parle de **phagocytose**. La phagocytose est un phénomène induit qui peut se faire de deux manières différentes, suivant la résistance de la bactérie considérée :

- **sans opsonisation**, on est alors face à une interaction directe entre le récepteur et l'antigène. La reconnaissance se fait grâce aux PRR membranaires.
- **avec opsonisation**, l'interaction nécessite cette fois-ci une molécule intermédiaire qui joue le rôle d'adaptateur, on les appelle des **opsonines**.

### 2- La réaction inflammatoire

#### a) La libération d'histamine :

Un des quatre types de récepteurs histaminiques			
Type		Localisation	Fonction
H <sub>1</sub>		muscles lisses	contraction des muscles lisses, bronchoconstriction
		endothélium	vasodilatation, séparation des cellules endothéliales, responsable de l'urticaire et des douleurs dues aux piqûres d'insectes
		système nerveux central	maintien de l'état de veille

#### b) Libération des cytokines

**Ce sont des molécules** qui permettent une communication entre les cellules (au même titre que les très connues « hormones » et « neurotransmetteurs », leur différence est d'agir sur un grand nombre de cibles différentes et d'engendrer des effets très variés) et notamment le recrutement de cellules au site de l'inflammation :

- Les **cytokines pro-inflammatoires** : le TNF- $\alpha$ , les chimiokines et les interleukines IL-1, IL-6, IL-12 et IL18.
- Les **substances vasodilatatrices** : le monoxyde d'azote (NO) et les prostanoides (dont les PROSTAGLANDINES).

- Les **cytokines anti-inflammatoires** : l'interleukine-10 et le TNF- $\beta$ , jouant un rôle de régulation de la réaction inflammatoire, permettant ainsi qu'elle ne devienne pas exagérée et donc pathologique.

### c) Conséquences de la libération des cytokines(quelques exemples)

**Chimiokines** : leur rôle : activer les cellules immunitaires, ainsi que de les recruter au site de l'inflammation.

**Le TNF- $\alpha$**  est la plus importante des cytokines pro-inflammatoires. Elle agit entre autre au niveau de l'endothélium vasculaire en induisant la synthèse de protéines membranaires qui seront indispensable à la diapédèse des cellules immunitaires.

L'**IL-1** est une cytokine pro-inflammatoire qui va agir au niveau de l'hypothalamus lors d'une infection, afin d'induire la synthèse de **prostaglandine** qui sera à l'origine de la fièvre

**Les interférons** sont des cytokines dont la production est induite suite à une infection virale, une infection bactérienne, une infection parasitaire ou à la présence de cellule tumorales, et ceci en réponse à la présence d'acide nucléique étranger à l'organisme. Ils ont pour action principale d'interférer avec la réplication virale, mais ils ont également une action antibactérienne, antiproliférative et d'activation d'autres cellules immunitaire telles que les cellules NK, les macrophages et les lymphocytes.

**Les conséquences sont de différents types :**

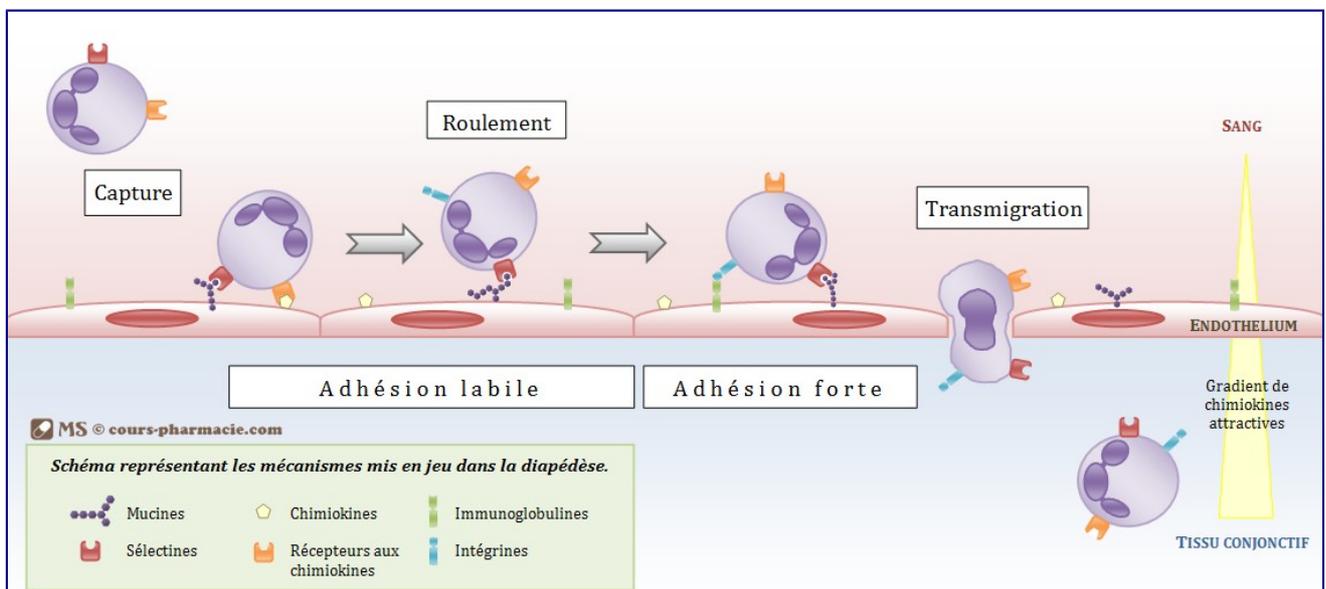
- **Vasodilatation**, permettant une augmentation de la perméabilité vasculaire.
- **Expression de molécules d'adhésion** facilitant ainsi la diapédèse.
- **Coagulation**
- **Activation de la phase de réponse aiguë de l'inflammation :**
  - **IL-1** va agir au niveau de l'**hypothalamus**, induisant la synthèse de prostaglandine à l'origine de la fièvre.
  - Au niveau de la **moelle osseuse** il y aura induction de la synthèse de facteurs de croissance.
  - La production de protéine qui jouent le rôle d'opsonine en se fixant sur les microorganismes pathogènes.
- **Recrutement de cellules phagocytaires** par chimiotactisme grâce aux **chimiokines**. En effet ce sont les macrophages et les cellules résidentes qui rentreront généralement en premier en contact avec l'agent pathogène. Il y aura ainsi recrutement des autres cellules immunitaires et particulièrement des cellules dendritiques qui jouent un rôle essentiel dans l'activation de la réponse immunitaire adaptative, mais ça, c'est pour plus tard.
- La **douleur** générée une accentuation de la sensibilité aux stimuli douloureux du fait de certaines **prostaglandines** et de l'action d'un autre médiateur moléculaire : la **bradykinine**.

#### d) La diapédèse

La diapédèse correspond au passage des cellules immunitaires sanguines vers différents tissus cibles. Les polynucléaires et monocytes passeront généralement vers les tissus conjonctifs.

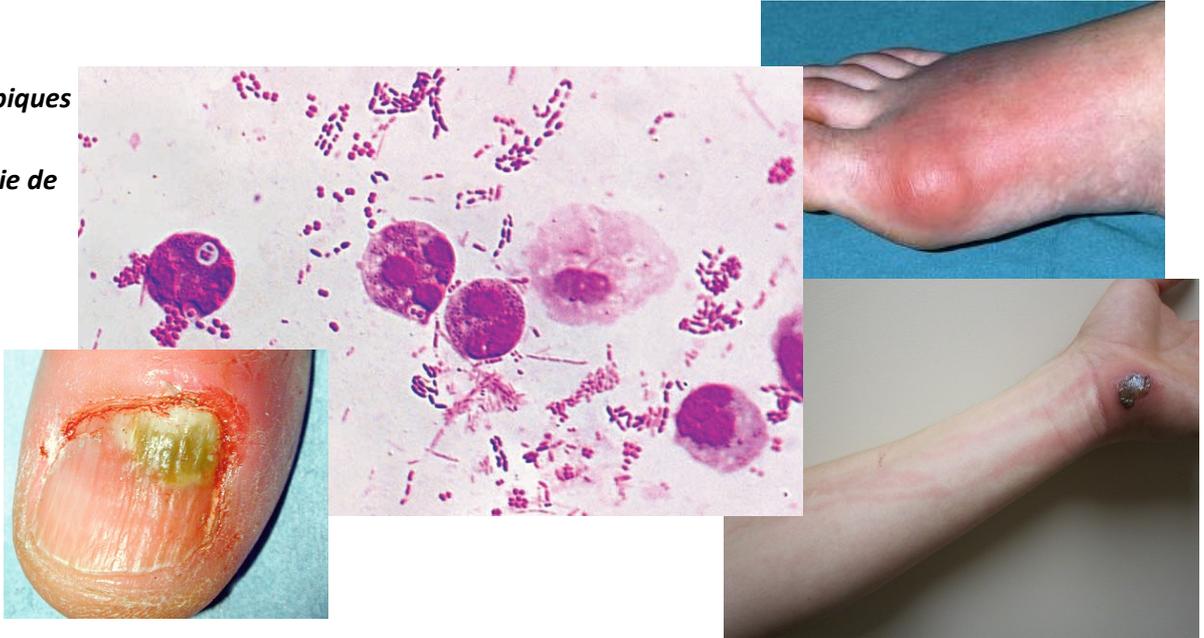
Elle se fait en plusieurs phases :

1. La **phase de capture** correspond au rapprochement de la cellule vers l'endothélium.
2. La **phase d'adhésion labile et de roulement** (ou **rolling**) est due à des liaisons entre des **sélectines** exprimées par les cellules immunitaires et des protéines présentées à la surface de l'endothélium. Ces interactions permettent encore à la cellule d'effectuer des roulements à la surface de la membrane endothéliale.
3. La **phase d'adhésion forte** bloque la phase de roulement et est permise par des interactions supplémentaires entre des **intégrines** présentes à la surface des cellules phagocytaires ou des lymphocytes, et des **immunoglobulines** présentes à la surface de l'endothélium. Mais les intégrines rentrant en jeu dans cette liaison sont en temps normal sous forme inactive, et passent sous forme active uniquement après interaction entre des chimiokines exprimées de manière constitutive dans la membrane l'endothélium et leurs récepteurs présents à la surface des cellules voulant passer l'endothélium.
4. La **phase de transmigration** correspond au passage de la cellule immunitaire à travers deux cellules endothéliales par dissociation locale des jonctions intercellulaires. Au niveau de la moelle osseuse les cellules peuvent traverser l'endothélium vers le sang par des mailles présentes au niveau du tissu endothélial.



**Document 5 : Les symptômes : Ajoutez y un peu d'expérience personnelle...**

3 vues  
macroscopiques  
et une  
microscopie de  
pus.



**Document 6 : la chaîne de biosynthèse des prostaglandines**

Les prostaglandines sont fabriquées par une succession de réactions chimiques catalysées par des enzymes (document a ). Les enzymes sont des protéines qui accélèrent les transformations chimiques, leur action nécessite la fixation de la molécule à transformer au niveau de certains acides aminés (ou site actif) de l'enzyme.

La réaction est catalysée par la Tyrosine en position 385 dans le site actif. L'acide arachidonique s'introduit dans ce site actif par un canal.

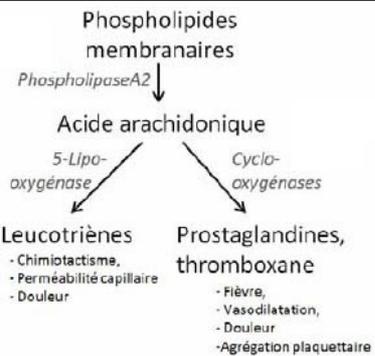
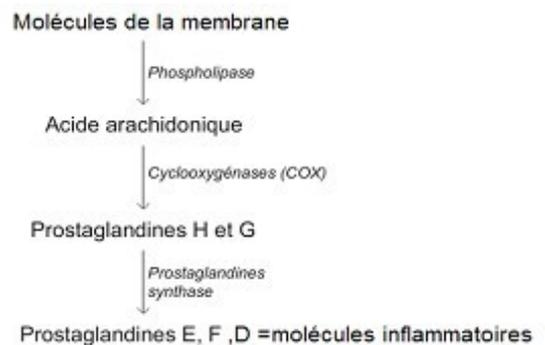


Figure 1 : Voies de synthèse des éicosanoïdes



**Document 7 : les conditions de synthèse de la cyclo-oxygénase (COX) dans les monocytes ou granulocytes**

Des chercheurs travaillant sur la réaction inflammatoire se sont intéressés à l'enzyme COX.

EXPERIENCE : On fait incuber un nombre défini de monocytes et de granulocytes en présence d'une concentration de 10 µg/mL de LPS (molécule de la paroi de nombreuses bactéries) pendant différents temps : 0, 1, 2,5 et 4,5 heures. On traite ensuite la culture de manière à récupérer le cytoplasme des

cellules, et on effectue une électrophorèse destinée à séparer les molécules de COX des autres protéines cytoplasmiques. La coloration des protéines COX donne les résultats suivants :

*Séparation des enzymes COX du cytoplasme de granulocytes et de monocytes après action du LPS à 10 µg/ml pendant différentes durées*

	Temps en heures			
	0	1	2,5	4,5
<b>COX isolée : sa quantité est proportionnelle à la dimension et à l'intensité des taches colorées .</b>				

D'après <http://www.futura-sciences.com>

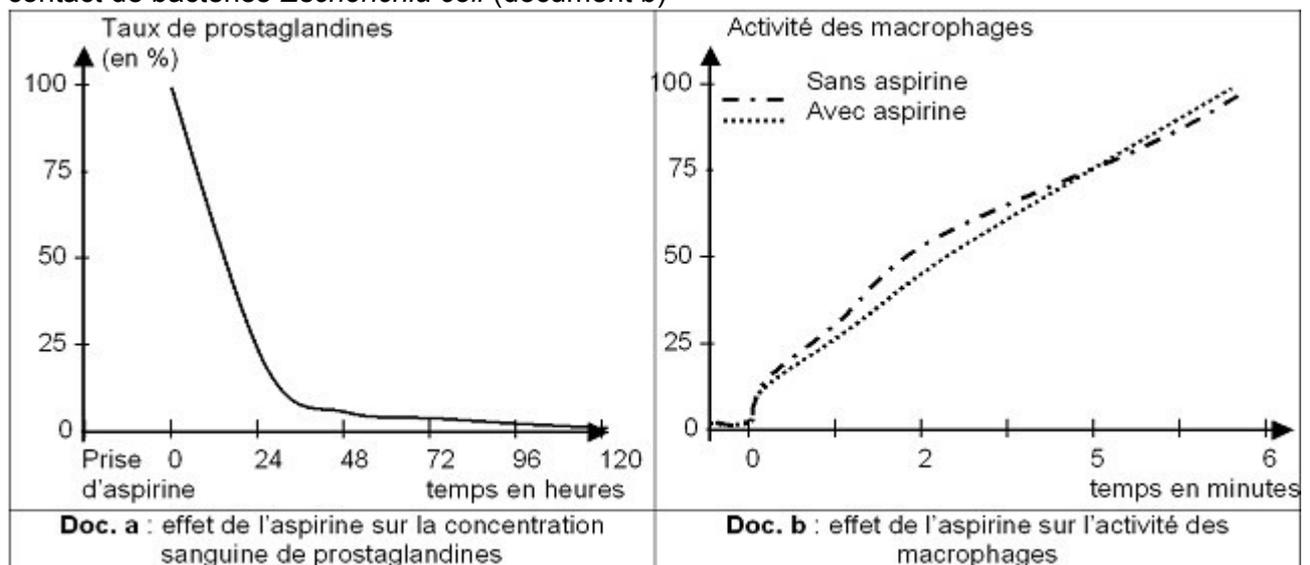
**Pré ECE :**

**A partir de l'étude des documents et des connaissances, expliquer l'intérêt de l'aspirine.**

Effet de l'administration d'aspirine

Afin d'étudier l'effet de l'aspirine sur le taux de synthèse d'un médiateur de l'inflammation comme les prostaglandines :

- on administre à des sujets infectés par le virus de la grippe 120 mg d'aspirine puis on suit la concentration sanguine en médiateur de l'inflammation au cours du temps (document a).
- on étudie, chez des individus sains, l'effet de l'aspirine sur l'activité de macrophages mis en contact de bactéries *Escherichia coli* (document b)



### Petit + sur les cytokines :

Le virus H5N1 de la grippe aviaire, hautement pathogène, et le H1N1, responsable de la grippe espagnole de 1918-1919, déclenchent chez l'homme (non vacciné ni immunisé) comme chez l'animal (non vacciné ni immunisé) une réaction anormalement vive du système immunitaire. La sécrétion de cytokines est si brutale et importante qu'au lieu de réguler l'inflammation, elle provoque des défaillances organiques parfois mortelles.

Cela arrive également lors de certaines « gripes malignes » où une production très abondante de cytokines provoque par exemple un œdème aigu du poumon, lequel perd alors de son élasticité et donc de sa fonctionnalité. L'expression « tempête de cytokines (en) » décrit ce phénomène.

Début 2003, l'équipe de Robert Webster a montré que le H5N1 déjouait une des fonctions du système immunitaire, qui est la « réponse cytokine ».

S. H. Seo *et al.* ont montré en 2004 que la résistance du virus A(H5N1)HP à l'activité antivirale des cytokines était liée à la présence du gène NS1 et, plus précisément, à l'acide glutamique en position 92 de la séquence d'acides aminés. Des porcs expérimentalement infectés avec un virus recombinant reconstitué par génétique inverse, porteur du gène de la protéine non structurale (NS1) du virus A(H5N1) isolé à Hong Kong, ont développé une grippe cliniquement plus sévère que lors d'une infection par le virus « sauvage ». De plus, les études *in vitro* sur culture de cellules pulmonaires porcines infectées montrent que l'adjonction, au milieu de culture, d'interféron alpha, gamma et de facteur nécrose tumorale alpha n'altère pas la réplication du virus A(H5N1) [réf. souhaitée].

En 2007, l'autopsie d'un fœtus (atteint par le H5N1) d'une Chinoise de 24 ans, morte du H5N1 HP neuf jours après les premiers symptômes, a révélé la présence de virus H5N1 dans le placenta et le foie du fœtus, mais surtout dans ses poumons, où il a cependant provoqué moins de dégâts que dans ceux de la mère. L'étude suggère que ces *faibles* dommages pourraient s'expliquer par l'immaturation du système immunitaire du fœtus, qui n'a pas produit de *tempête de cytokines et chimiokines* face au virus1.

Il semble exister néanmoins des oiseaux (par exemple des canards) porteurs asymptomatiques chez lesquels le virus ne déclenche pas ce choc cytokinique. Il serait intéressant de comprendre comment ils s'en protègent.

Chez l'homme, ce phénomène semble toucher plus particulièrement les jeunes et les adultes dans la pleine force de l'âge, ce qui expliquerait que les enfants et les personnes âgées aient été moins touchés par la grippe espagnole et le sont aussi moins par le H5N1 depuis son apparition en 1997 et son extension en 2003.

On ne connaît que deux virus, caractérisés tous deux par une particularité génétique, capables de produire de tels dégâts et si rapidement : le H1N1 de 1918 et les variants H5N1 HP récemment apparus.

Les personnes âgées développent souvent des formes pneumoniques avec surinfections. La femme enceinte peut en mourir ou avorter.

Une étude rétrospective a montré que les fœtus et embryons qui ont survécu à la pandémie de 1918 chez des mères ayant contracté le virus semblent en avoir gardé des séquelles durables mais la responsabilité des cytokines n'a pas été étudiée pour l'embryon ou le fœtus.

(Source : Menno de Jong, *Nature Medicine*, octobre 2006.)