

UNIVERSITE TUNIS EL MANAR
FACULTE DE MEDECINE DE TUNIS



PCEM2

THÈME XVI
L'ORGANISME HUMAIN
FACE AUX AGRESSIONS

TOME 1

ANNÉE UNIVERSITAIRE 2016-2017

www.fmt.rnu.tn

PLAN

IMMUNOLOGIE	3
I- Reconnaissance de l'antigène	
Vue d'ensemble du système immunitaire	4
Les antigènes	8
Les organes, les cellules et les médiateurs du système immunitaire	14
Les immunoglobulines	26
Le développement et la différenciation des cellules T et B	36
Le système HLA	45
II- Le système immunitaire chez l'homme sain et chez l'homme malade	
Le système complémentaire	52
La réponse immune adaptative	57
La tolérance	67
L'immunité anti-infectieuse	72
Les réactions d'hypersensibilité	79
Les réactions d'hypersensibilité (HS)	84
III- Manipulation de la réponse immunitaire	
La vaccination	91
L'exploration du système immunitaire	96
PHARMACOLOGIE	105
Introduction à la pharmacologie et vie d'un médicament.	106
Voies d'administration des médicaments. Formes médicamenteuses.	113
Devenir du médicament dans l'organisme (1).	121
Pharmacocinétique quantitative.	138
Notions de pharmacodynamie	148
Les interactions médicamenteuses.	154
Les effets indésirables des médicaments	159
Modifications pharmacologiques liées au malade.	166
Méthodologie des essais thérapeutiques.	173
Consommation des médicaments et causes de l'échec thérapeutique	179
Ordonnance médicale.	183
Médecines alternatives	188

PCEM2

THEME XVI
IMMUNOLOGIE
TOME 1

CHAPITRE I :

RECONNAISSANCE DE L'ANTIGÈNE

VUE D'ENSEMBLE DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

INTRODUCTION

Le système immunitaire a pour fonction d'assurer la protection de l'organisme contre les agressions exogènes (celles qui proviennent de l'environnement) ou endogènes (celles qui naissent au sein même de l'organisme). Ce système désigne un ensemble d'éléments qui interagissent entre eux de façon coordonnée pour assurer :

- L'intégrité et la cohérence des cellules de l'organisme
- L'élimination des substances infectieuses auxquels il est exposé

L'une des clefs du bon fonctionnement de ce système est la capacité de distinction ou "reconnaissance" du soi qui doit être respecté et les agents pathogènes "non soi". Deux stratégies sont utilisées pour assurer cette fonction :

- la première commune à l'ensemble des organismes pluricellulaires correspond à **l'immunité naturelle ou non spécifique** dont la mise en jeu est immédiate. Elle constitue la première ligne de défense. Elle reconnaît des motifs communs à un grand nombre de microorganismes pathogènes et met en jeu des structures cellulaires et des facteurs solubles moléculaires très rapidement mobilisables chez l'hôte.
- La deuxième correspond à **l'immunité adaptative ou spécifique** utilisant des cellules immunocompétentes : les lymphocytes T et B portant à leur surface des **récepteurs spécifiques d'antigènes** produits à la suite de réarrangement du génome au cours de la différenciation.

L'immunité adaptative se développe plus lentement que l'immunité innée. Elle se caractérise par deux propriétés : la spécificité et la mémoire qui rendent compte d'une réponse plus rapide et de plus grande amplitude lors d'une réexposition à la même molécule d'antigène. Cette défense spécifique fait intervenir des éléments de l'immunité humorale et de l'immunité cellulaire.

1- IMMUNITÉ NATURELLE NON SPÉCIFIQUE OU INNÉE

1.1 LES BARRIÈRES ANATOMIQUES ET PHYSIQUES

A) LE REVÊTEMENT CUTANÉO-MUQUEUX

La peau constitue la première ligne de défense d'un organisme contre l'infection. La peau intacte empêche la pénétration des microorganismes et par son pH elle détruit la pullulation bactérienne.

Les muqueuses (conjonctive, le tractus digestif, respiratoire et urinaire) constituent une deuxième barrière naturelle.

B) LES SÉCRÉTIONS

La salive, les larmes et les sécrétions muqueuses agissent par l'élimination d'envahisseurs potentiels. Le mucus sécrété par les cellules épithéliales des muqueuses enrobe les microorganismes étrangers.

Les cils vibratiles doués de mouvements synchronisés et de péristaltisme intestinal expulsent les microorganismes existant dans le mucus hors de ce tractus.

1.2 LES BARRIÈRES CHIMIQUES

La température, le pH (l'acidité gastrique) et différents facteurs solubles (lysozyme, les interférons...) sont délétères pour certains microorganismes et constitue une autre ligne de défense.

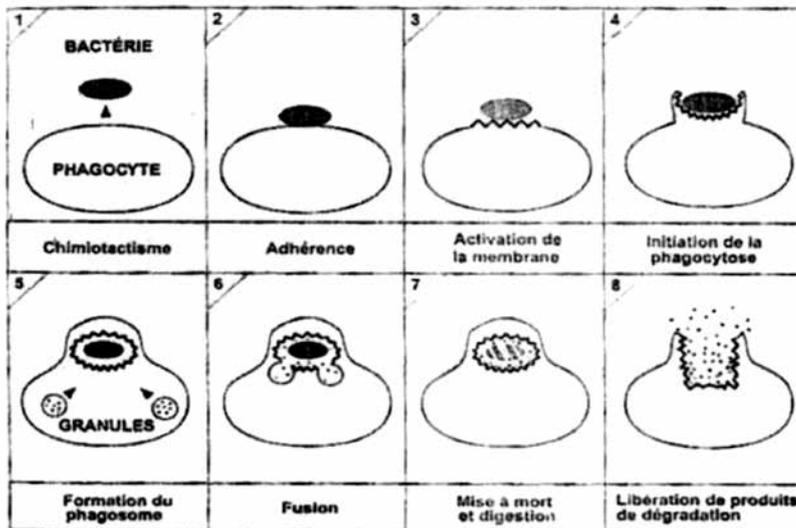
1.3 LA BARRIÈRE CELLULAIRE

A) LES PHAGOCYTES

Les principaux éléments de la phagocytose sont les polynucléaires neutrophiles, les macrophages et les monocytes. Ces cellules phagocytaires sont capables d'ingérer des antigènes exogènes ou endogènes (cellules lésées) (fig1) :

- dans la première étape de la phagocytose, les phagocytes sont attirés par de nombreuses substances, ce processus est appelé chimiotactisme
- l'étape suivante, il y a adhérence de l'antigène à la membrane cellulaire du macrophage, cette adhérence induit des protrusions membranaires appelées pseudopodes qui s'étendent autour du microorganisme fixé.
- la fusion des pseudopodes inclut le microorganisme à l'intérieur d'une structure appelée phagosome.
- ce phagosome fusionne avec un lysosome pour former un phagolysosome
- les lysosomes contiennent du lysozyme et des enzymes protéolytiques qui digèrent le matériel ingéré
- les constituants digérés sont éliminés par un processus d'exocytose.

Fig. 1 : les différentes étapes de phagocytose



B) LES CELLULES NATURAL KILLER (NK)

Les cellules NK jouent un rôle important dans la défense antitumorale et antivirale. Elles sont, en effet, caractérisées par une activité cytotoxique qui s'exerce de façon spontanée vis-à-vis de cibles tumorales ou infectées par des pathogènes intracellulaires tels que les virus, d'où le nom de cellules tueuses naturelles. Ces cellules sont considérées comme de véritables sentinelles chargées d'éliminer toute cellule présentant des caractéristiques considérées comme anormales.

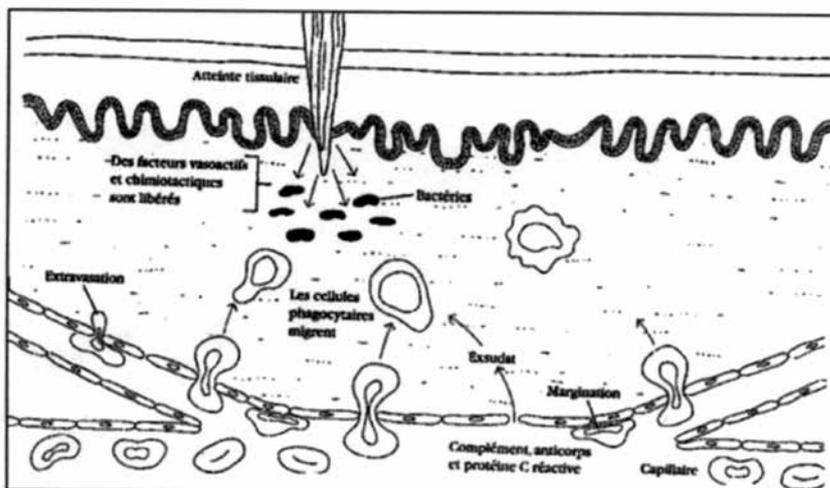
1.4 LA BARRIÈRE INFLAMMATOIRE : LA RÉPONSE INFLAMMATOIRE (FIG. 2)

Un dommage tissulaire provoqué par une blessure ou un microorganisme pathogène envahisseurs induit une séquence complète d'événements. C'est la réponse inflammatoire.

Les signes cardinaux de l'inflammation reflètent les 3 événements majeurs d'une réponse inflammatoire :

- Vasodilatation des capillaires responsable de la rougeur (érythème) et de la chaleur).
- Augmentation de la perméabilité capillaire : œdème
- Afflux des phagocytes des capillaires vers les tissus. Les cellules phagocytaires s'accumulent au niveau du site de l'inflammation et libèrent des enzymes lytiques.
- Libération des médiateurs essentiellement : l'histamine, les protéines de la phase aiguë de l'inflammation, les kinines et la fibrine. Cette dernière représente un composant principal permettant d'isoler la zone lésée et de prévenir ainsi la diffusion de l'infection.

Figure. 2 : la réponse inflammatoire



1.5 LE COMPLÉMENT

Le système du complément est l'effecteur majeur de la branche humorale du système immunitaire. En effet, il joue un rôle primordial dans les réponses immunes innée et adaptative. Il est défini comme un ensemble complexe de protéines thermolabiles dont l'activation se fait selon une série de réactions en cascade. Les composants de cette activation sont responsables :

- d'une réaction inflammatoire aiguë
- de la destruction et de l'élimination des microorganismes pathogènes.

2. IMMUNITÉ SPÉCIFIQUE ACQUISE OU ADAPTATIVE

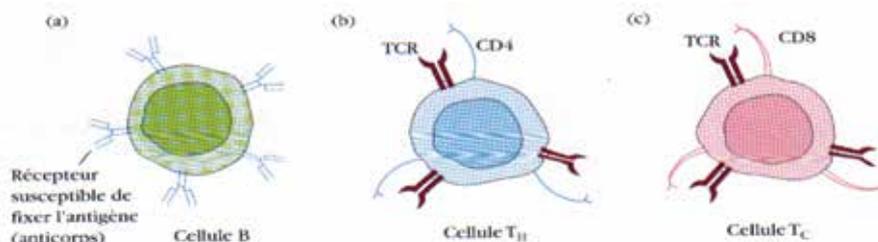
Les éléments de l'immunité spécifique sont capables de reconnaître ou d'éliminer l'étranger de façon sélective et spécifique. La réponse immunitaire acquise est caractérisée par :

- 1- la spécificité antigénique : cette propriété permet de distinguer des structures moléculaires différentes.
- 2- la diversité : le système immunitaire est capable de générer des molécules de reconnaissance d'une grande diversité pouvant théoriquement reconnaître un nombre illimité d'antigènes. Il s'agit d'un avantage sélectif majeur assurant la protection de l'organisme face à la diversité et la plasticité structurales des agents pathogènes de l'environnement.
- 3- La mémoire immunitaire : est une propriété qui permet au système immunitaire de répondre d'une façon plus rapide, plus intense et plus durable suite à la réintroduction d'une molécule étrangère.
- 4- La distinction du soi et du non-soi : cette propriété permet au système immunitaire d'orienter la réponse immune de façon élective contre des molécules étrangères, d'où la notion de la « tolérance du soi ».

Une réponse immune spécifique, dont la mobilisation nécessite plusieurs jours, implique deux effecteurs particuliers, les lymphocytes B et les lymphocytes T. Ces cellules possèdent des récepteurs spécifiques pour l'antigène appelés BCR et TCR (fig.3). Le mode de production de ces récepteurs est unique aux lymphocytes et repose sur la combinaison (ou réarrangement) des différents segments géniques générant un nombre considérable et diversifié de molécules de reconnaissance. L'interaction de l'antigène avec son récepteur spécifique aux lymphocytes des signaux d'activation qui vont provoquer la prolifération et la différenciation des lymphocytes :

- Les LB se différencient en plasmocytes sécréteurs d'anticorps : effecteurs de la réponse humorale spécifique
- Les lymphocytes T se différencient en T helper (CD4) et T cytotoxique (CD8) médiateur de la réponse immune cellulaire spécifique.

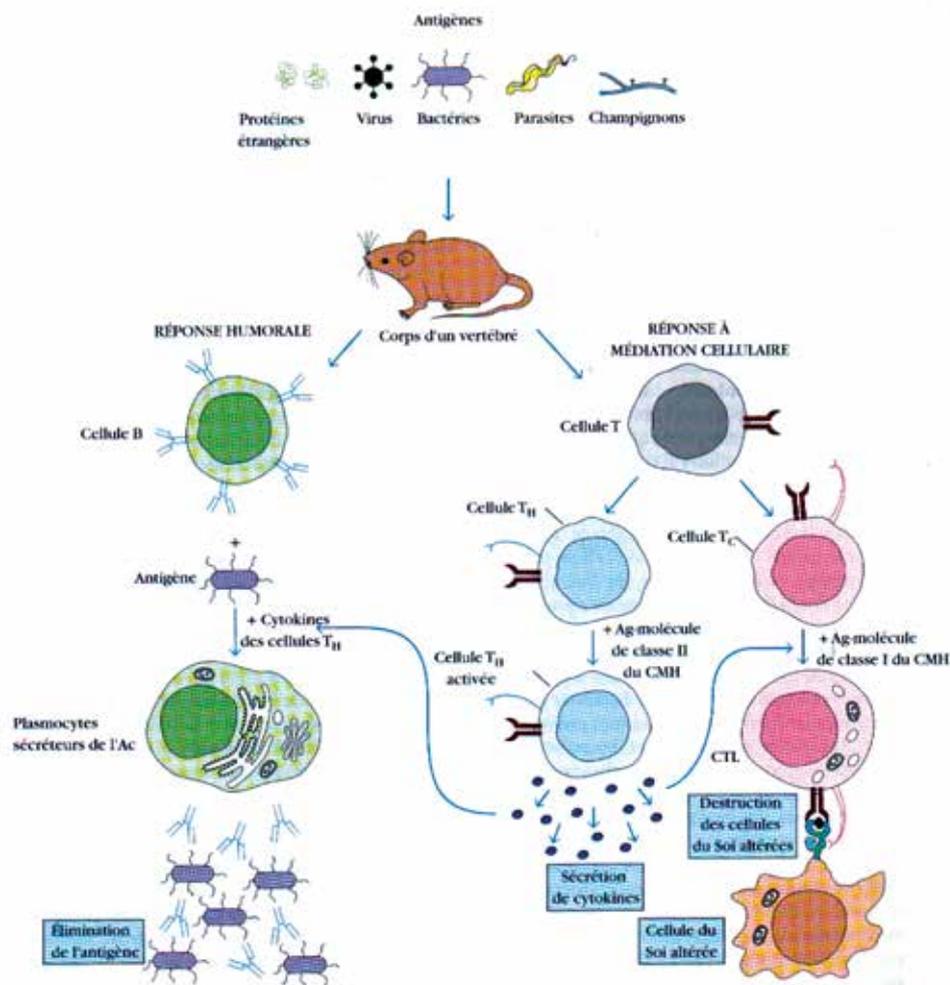
Fig.3 les molécules membranaires caractéristiques des lymphocytes



Ces cellules activées secrètent divers facteurs solubles connus sous le nom de cytokines qui jouent un rôle important au cours de la réponse immunitaire.

Contrairement aux récepteurs à l'antigène des cellules B (BCR) qui peuvent reconnaître l'antigène seul (**à l'état natif ou conformationnel**), les récepteurs des cellules T ne peuvent reconnaître l'antigène que lorsque ce dernier est dégradé en des petits peptides antigéniques et liés (**processés ou apprêtés**) à des protéines polymorphes des membranes cellulaires appelées molécule du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Ces molécules du CMH interviennent ainsi dans ce phénomène de présentation de l'antigène. Les cellules qui présentent le peptide antigénique avec les molécules du CMH au TCR sont nommées les **cellules présentatrices d'antigènes** (CPA) (Exp : macrophages, cellules dendritiques...) (fig 4)

Fig.4 : Vue d'ensemble des branches humorales et à médiation cellulaire du système immunitaire.



3. INTERACTION ENTRE IMMUNITÉ NATURELLE ET IMMUNITÉ ADAPTATIVE

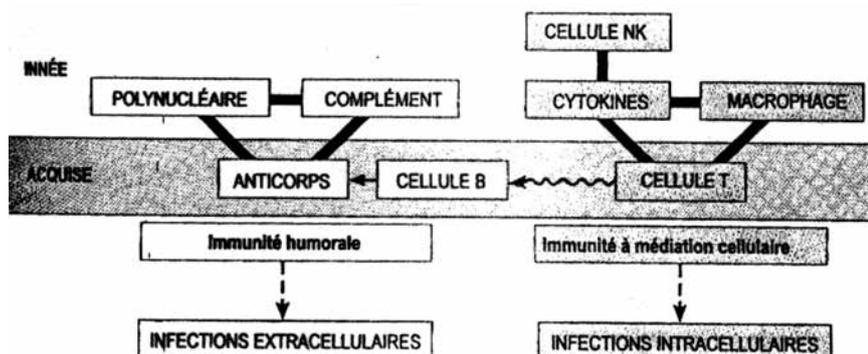
Il existe une coopération très étroite entre les différents médiateurs de l'immunité innée et acquise qui permet d'assurer une plus grande efficacité des fonctions de défense de l'organisme. Cette coopération s'exerce à différents niveaux (fig 5.) :

1- Par leur capacité à apprêter l'antigène et à synthétiser différents médiateurs solubles, les macrophages peuvent jouer un rôle déterminant dans la présentation de l'antigène et l'activation des cellules T (réponse adaptative).

Inversement,

- 2- Les cytokines secrétées lors d'une réponse adaptative sont capables d'activer différentes fonctions des cellules de l'immunité innée (exp : interféron gamma et fonction macrophagique).
- 3- Les anticorps induits lors de la réponse adaptative humorale ont des effets importants pour la mise en œuvre du système du complément pour la défense de l'hôte. Ces anticorps sont également capables d'activer plusieurs fonctions des cellules de l'immunité innée (exp : la phagocytose et la cytotoxicité) grâce à l'interaction avec leurs récepteurs aux immunoglobulines.

Fig.5 : Interaction entre l'immunité innée et adaptative



LES ANTIGENES

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Définir l'antigène et ses deux propriétés, l'immunogénicité et la spécificité antigénique
2. Définir l'haptène
3. Définir le déterminant antigénique ou épitope et distinguer entre épitopes conformationnels et séquentiels et épitopes T et B
4. Définir un xénoantigène, alloantigène et autoantigène en donnant des exemples
5. Faire la distinction entre les antigènes thymo-dépendants et les antigènes thymo-indépendants
6. Définir un superantigène, un allergène et un tolérogène
7. Citer les facteurs qui contrôlent l'immunogénicité

INTRODUCTION

Les antigènes sont des substances, qui introduites dans l'organisme, sont capables d'induire une réponse immunitaire (cellulaire et/ou humorale) et de se lier spécifiquement aux produits de cette réponse.

La parfaite connaissance des caractéristiques moléculaires des antigènes et des voies par lesquelles celles-ci contribuent à l'activation immunitaire est essentielle pour la compréhension des mécanismes fondamentaux de l'immunité. Ce sont en effet les antigènes qui commandent la nature et les modalités des réponses immunes.

1. DÉFINITIONS

1.1 IMMUNOGENICITE ET ANTIGENICITE

L'antigène, de par sa définition, possède deux propriétés distinctes, mais apparentées qui sont l'immunogénicité et l'antigénicité.

L'**immunogénicité** est la capacité de l'antigène à induire une réponse immunitaire, qu'elle soit humorale (apparition d'anticorps) ou cellulaire (apparition de cellules spécifiques à l'antigène).

L'**antigénicité** ou **spécificité antigénique** est la capacité de l'antigène de se combiner spécifiquement aux structures de reconnaissance induites lors de cette réponse. Les molécules de reconnaissance peuvent être solubles (**anticorps**) ou présentes à la surface des lymphocytes. Il s'agit alors des récepteurs des lymphocytes B (**BCR**) et des récepteurs des lymphocytes T (**TCR**).

Notion d'haptène :

Dans la majorité des cas, les deux propriétés de l'antigène (immunogénicité et l'antigénicité) vont de pair. Dans certains cas, les substances peuvent être antigéniques sans être capables d'induire par elles-mêmes une réponse immunitaire (substances non immunogènes). Ces substances, appelées **haptènes**, sont des antigènes de petite taille qui nécessitent un couplage préalable avec des protéines porteuses (carriers) pour induire une réponse immunitaire. Les produits de cette réponse peuvent se lier spécifiquement à l'haptène seul ou réagir à la combinaison haptène-carrier.

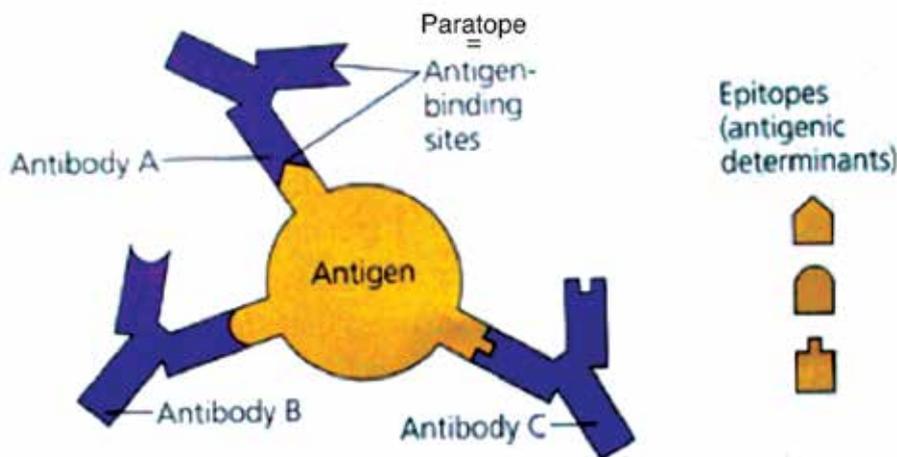
1.2 LE DÉTERMINANT ANTIGÉNIQUE OU EPITOPE

Les propriétés de l'antigène (immunogénicité et antigénicité) sont conditionnées par la présence de déterminants antigéniques.

Le **déterminant antigénique** ou **épitope** est une structure moléculaire particulière qui est capable de se lier de manière spécifique au site complémentaire de la molécule de reconnaissance, appelé **paratope** (Figure 1).

Les antigènes possèdent habituellement à leur surface un grand nombre de déterminants antigéniques, qui peuvent être différents les uns des autres, chacun étant capable d'induire la production d'un anticorps spécifique. En réponse à l'introduction d'un antigène particulier, on aura la production d'une famille d'anticorps, répondant chacun à un épitope différent. La réponse est appelée **polyclonale** (Figure 1).

Figure 1 : Le déterminant antigénique ou épitope.



Un antigène possède habituellement plusieurs déterminants antigéniques différents

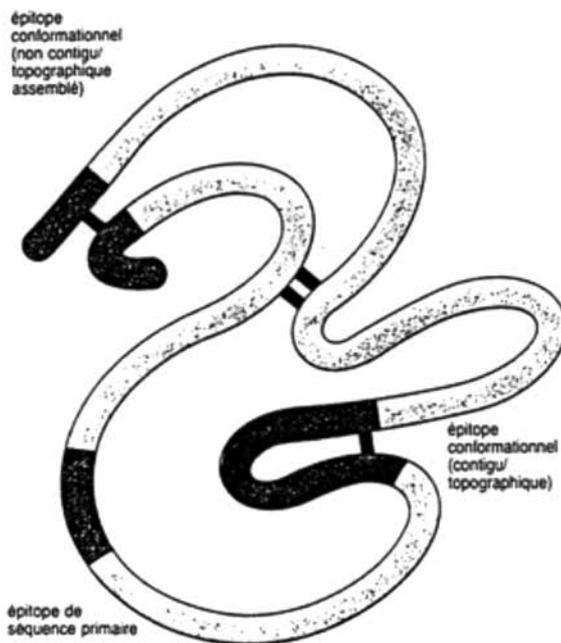
On peut distinguer plusieurs types d'épitopes.

- Selon leur structure spatiale, on distingue :

- les épitopes **conformationnels** qui dépendent de la structure tridimensionnelle de l'antigène et font généralement participer des segments non contigus de la séquence primaire de l'antigène. Ils ne sont retrouvés que dans la configuration native de la molécule.
- les épitopes **séquentiels** dépendent de l'enchaînement des acides aminés, des oses ou des ribonucléotides et font obligatoirement participer des segments contigus de la séquence primaire de l'antigène (Figure 2).

Figure 2 : Les épitopes conformationnels et séquentiels de l'antigène.

- Selon la cellule immunitaire impliquée dans la reconnaissance (tableau 1), on distingue :

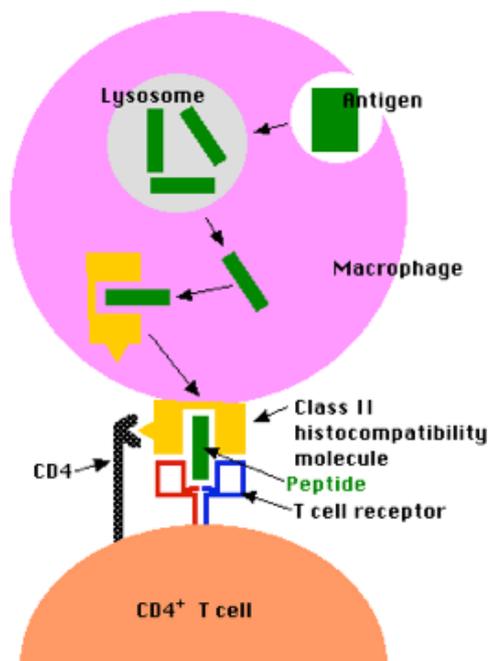


- les **épitopes B**, qui sont le **plus souvent** conformationnels, présents à la surface extérieure de la molécule. Ces épitopes présentent généralement un certain degré de mobilité qui leur permet d'augmenter leur complémentarité antigène-anticorps. Ils peuvent être issus d'antigènes de natures différentes (protéines, polysaccharides, ADN, etc.).
- les **épitopes T**, sont **toujours** constitués de segments courts et continus **d'acides aminés** (épitopes séquentiels) résultant de la fragmentation (**processing** ou **apprêtement**) de la **protéine** native en petits peptides à l'intérieur des cellules présentatrices d'antigène (CPA). Ces fragments sont présentés à la surface de ces cellules en association aux molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Le complexe CMH-peptide est reconnu par les récepteurs de l'antigène présents à la surface des lymphocytes T (TCR) (Figure 3).

Tableau 1 : Caractéristiques de la reconnaissance de l'antigène par les lymphocytes T et B (d'après J. Alouf).

Lymphocyte T	Lymphocyte B
<ol style="list-style-type: none"> 1. Interaction ligand-récepteur (antigène natif- Ig de surface) 2. Liaison directe avec l'antigène libre 3. Réponse à tous types d'antigènes 4. Epitopes reconnus : <ul style="list-style-type: none"> • Généralement conformationnels • Stériquement exposés • 15 à 20 acides aminés de contact 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Complexe tripartite (antigène dégradé, CMH, TCR) 2. TCR incapable de lier l'antigène libre 3. Réponse aux protéines restreintes par le CMH 4. Epitopes reconnus : <ul style="list-style-type: none"> • Fragments peptidiques linéaires • Stériquement non exposés • 8-12 acides aminés de contact

Figure 3 : Apprêtement et présentation d'un antigène protéique.



1.3. LA RÉACTION CROISÉE

On parle de **réaction croisée**, lorsqu'un anticorps réagit avec un antigène différent de celui qui a suscité sa formation. La réaction croisée peut-être due

- à l'existence d'un épitope commun à deux antigènes différents
- ou à une structure moléculaire très proche des épitopes présents sur deux antigènes.

1.4. L'AFFINITÉ

L'affinité mesure la force de liaison entre le déterminant antigénique et le site de combinaison du récepteur à l'antigène (exemple : liaison antigène-anticorps). Cette liaison est non covalente et réversible. Elle obéit aux principes de base de la thermodynamique. Pour un couple Ag-Ac donné, l'affinité est **constante**. Ainsi si (Ac) est la concentration molaire des sites libres de l'anticorps (Ag) est la concentration molaire des sites libres de l'antigène et (Ag-Ac) la concentration molaire des complexes Ag-Ac, la constante d'affinité s'écrit :

$$K_a = \frac{(Ag-Ac)}{(Ag) \times (Ac)}$$

2. DIFFÉRENTS TYPES D'ANTIGÈNES

2.1. LES ANTIGÈNES SELON LEUR ORIGINE ET LEUR NATURE CHIMIQUE :

On peut distinguer les antigènes :

- **naturels**
- **synthétiques**
- **artificiels** (naturels chimiquement modifiés).

Parmi les antigènes naturels, on distingue des :

- **xénoantigènes** : ce sont des antigènes appartenant à une espèce différente de celle qui les reçoit. L'organisme humain est principalement exposé aux antigènes d'origine microbienne (virale, bactérienne, etc.)
- **alloantigènes** : ce sont des antigènes qui permettent de distinguer les individus appartenant à une même espèce. Ils résultent de l'existence de gènes polymorphiques (polymorphisme allélique). Exemple : les antigènes des groupes sanguins, les molécules HLA, etc.
- **autoantigènes** : ce sont des antigènes du soi, vis-à-vis desquels l'organisme est généralement tolérant. Dans certaines situations pathologiques (auto-immunité), ces antigènes peuvent induire chez l'individu des réponses immunitaires agressives. Exemple : antigènes thyroïdiens, antigènes nucléaires, etc.

Parmi les antigènes organiques, on distingue les antigènes :

- **protéiques,**
- **polyosidiques,**
- **lipidiques,**
- **et nucléiques.**

2.2. LES ANTIGÈNES THYMO-DEPENDANTS ET THYMO-INDEPENDANTS :

La réponse immune peut-être humorale (production d'anticorps) ou cellulaire (apparition de cellules activées spécifiques de l'antigène). Concernant la production d'anticorps, on peut distinguer selon la nécessité ou non de l'aide des lymphocytes T, **les antigènes thymo-dépendants et les antigènes thymo-indépendants.**

- **Les antigènes thymo-dépendants** représentent la majorité des antigènes naturels. Ces antigènes sont quasi souvent de nature protéique. Lors d'un premier contact, ils induisent une réponse de type primaire caractérisée par la production transitoire et modérée d'IgM de faible affinité. Lors d'une second contact, ces antigènes sont capables d'induire une réponse de type secondaire caractérisée par l'apparition rapide, intense et durable d'anticorps de plus grande affinité d'isotype essentiellement IgG. Il s'agit de la **mémoire immunologique.**
- **Les antigènes thymo-indépendants**, plus rares, sont capables de solliciter directement les lymphocytes B sans impliquer la coopération des lymphocytes T.

Deux types d'antigènes thymo-indépendants sont décrits :

- les antigènes thymo-indépendants de **type 1**, tels que le LPS (composant de la paroi des bactéries Gram -), sont des activateurs polyclonaux des cellules B (mitogènes), c'est-à-dire qu'ils sont capables à fortes doses d'activer les cellules B indépendamment de leur spécificité antigénique.
- les antigènes thymo-indépendants de **type 2** sont constitués de molécules très répétitives (protéiques ou polysaccharidiques) au métabolisme lent, généralement présentes dans la paroi cellulaire des bactéries. Ces antigènes activent les lymphocytes B spécifiques en établissant des réactions croisées au niveau des récepteurs membranaires.

Contrairement aux antigènes thymodépendants, les antigènes thymo-indépendants induisent le plus souvent des réponses de type primaire sans apparition de cellules mémoires

2.3. LES ANTIGÈNES SELON LA NATURE DE LA RÉPONSE IMMUNE QU'ILS INDUISENT :

À côté des **immunogènes** classiques, certains antigènes peuvent donner des réponses immunitaires particulières. Il s'agit des **superantigènes**, des **allergènes** et des **tolérogènes**.

2.3.1. LES SUPERANTIGÈNES

À la différence des antigènes classiques qui ciblent un nombre restreint de lymphocytes T, les **superantigènes** sont capables d'activer un grand nombre de lymphocytes T (jusqu'à quelques % de lymphocytes naïfs), d'où leur appellation. Cette activation résulte d'un mode particulier de présentation et de reconnaissance des superantigènes. Ces antigènes sont en effet capables de se lier d'une part au versant extérieur d'une molécule CMH de classe II et d'autre part à une région particulière de la chaîne β du TCR. Cette liaison est distincte de celle provoquée par un antigène classique. Elle ne nécessite pas l'apprêtement des superantigènes par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) (Figure 4).

Les superantigènes sont pour une grande partie des toxines bactériennes (exemple : l'entérotoxine du staphylocoque).

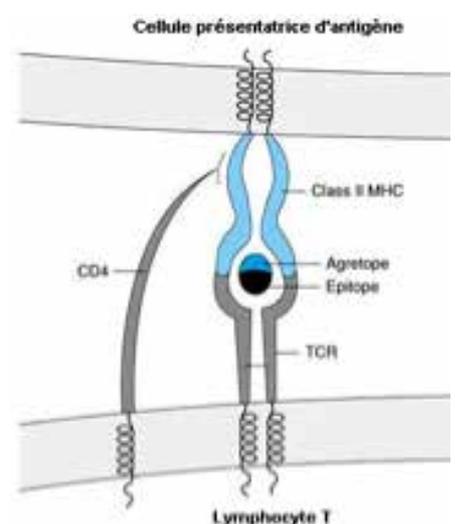


Figure 4 : Présentation et reconnaissance d'un antigène classique et d'un superantigène

2.3.2. LES ALLERGÈNES

Certains antigènes appelés **allergènes** sont capables dans des conditions particulières de provoquer des réponses immunitaires exagérées ou inappropriées, responsables de l'apparition de lésions tissulaires. Il s'agit des réactions d'hypersensibilité communément appelées allergies.

2.3.3. LES TOLÉROGÈNES

Dans certaines conditions particulières et en fonction de la dose, du type d'antigène considéré et de la voie d'introduction, l'organisme peut développer un état dit de **tolérance**, correspondant à une absence **apparente** de réponse immunitaire. Les substances qui induisent un tel état sont dites **tolérogènes**. On distingue la **tolérance naturelle** vis-à-vis des antigènes du soi et la **tolérance induite** dans certaines conditions expérimentales contre une substance normalement antigénique.

3. LES PARAMÈTRES QUI CONTRÔLENT L'IMMUNOGENICITE

Le pouvoir immunogène de l'antigène dépend de **paramètres structuraux** liés à la molécule d'antigène, de paramètres liés aux **conditions expérimentales** de l'immunisation et enfin de facteurs liés à l'**organisme** dans lequel on l'introduit.

3.1. PARAMÈTRES LIÉS À L'ANTIGÈNE

Plusieurs paramètres structuraux conditionnent l'immunogénicité de l'antigène.

3.1.1. LA DISTANCE TAXONOMIQUE

Le système immunitaire est capable de discerner les antigènes du soi et les antigènes du non-soi (antigènes étrangers). Dans les conditions physiologiques, l'organisme est tolérant vis-à-vis de ses propres structures antigéniques et ne développe une réponse immune apparente que contre des substances considérées comme étrangères. La **distance taxonomique** ou **phylogénique** correspond au degré d'éloignement entre la molécule d'antigène et la molécule constitutive de l'organisme. Plus cette distance est grande, autrement dit plus le degré d'éloignement des espèces animales sur l'échelle de l'évolution est grand, plus l'antigène étranger est immunogène.

3.1.2. LES PARAMÈTRES PHYSICO-CHIMIQUES

a. Le poids moléculaire

La taille des antigènes joue un rôle important. Bien qu'il y ait des exceptions, plus le poids moléculaire d'un antigène est grand, plus son pouvoir immunogène augmente. En règle générale, l'immunogénicité des molécules se manifeste à partir d'un poids moléculaire supérieur à 3000 daltons.

b. La complexité chimique

Une certaine complexité de structure chimique est nécessaire à l'immunogénicité. Ceci est largement démontré par l'utilisation de polymères de synthèse. En règle générale, les homopolymères constitués par l'enchaînement d'un seul acide aminé ne sont pas immunogènes tandis que les copolymères formés de deux ou trois acides aminés différents le sont. De même, certains polysides ayant un poids moléculaire élevé, mais une structure chimique répétitive telle que l'amidon sont peu immunogènes.

c. Les paramètres physiques

Plusieurs paramètres physiques peuvent intervenir dans l'immunogénicité des antigènes :

- **La mobilité** de la protéine peut augmenter la complémentarité de l'anticorps et augmenter ainsi son pouvoir immunogène.
- **La conformation des protéines** qui résulte de leur structure secondaire, tertiaire et éventuellement quaternaire joue un rôle important dans leur immunogénicité.
- **La charge électrique et la configuration optique** des acides aminés peuvent également intervenir. Ainsi, les polymères de D-acides aminés qui sont peu métabolisables donnent des réponses plus faibles que les polymères de L-acides aminés.
- Enfin, **l'agrégation** éventuelle des antigènes peut représenter un facteur important ; par exemple, les immunoglobulines ne sont immunogènes que lorsqu'elles sont agrégées par la chaleur.

3.1.3. LA NATURE BIOCHIMIQUE :

La nature biochimique des substances antigéniques joue un rôle important dans l'immunogénicité. Du fait du grand polymorphisme de structure, les **protéines** sont les molécules les plus immunogènes. Les **glucides** ne sont immunogènes qu'à l'état de polysides (polysaccharides). Les **lipides** ne sont pas immunogènes par eux-mêmes. Ils se comportent généralement comme des haptènes qui nécessitent le couplage à une protéine porteuse ou à un sucre (glycoprotéine et glycolipides). Les **acides nucléiques** sont rarement immunogènes alors que les nucléoprotéines le sont.

3.1.4. LE CATABOLISME

Résultant de la conjonction des différents paramètres sus-cités, le catabolisme influe sur l'immunogénicité ; plus il est lent, plus la stimulation antigénique perdure et l'immunogénicité croît.

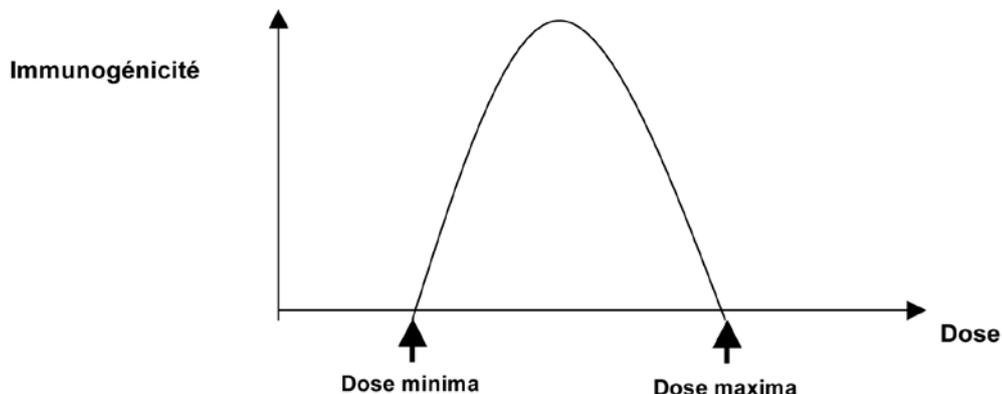
3.1.5. LA VALENCE ANTIGÉNIQUE

Le pouvoir immunogène des antigènes est également lié à la **valence antigénique**, qui peut se définir par le nombre d'anticorps capables de se lier simultanément à un antigène. La valence antigénique dépend du nombre de déterminants antigéniques présents dans la molécule. Elle est au mieux égale à la somme de ces déterminants antigéniques. Le plus souvent, elle lui est inférieure à cause des phénomènes d'encombrement stérique.

3.2. PARAMÈTRES LIÉS AUX CONDITIONS D'IMMUNISATION

3.2.1. LA DOSE

Pour chaque molécule, il existe une **dose minimale immunogène** à partir de laquelle l'intensité de la réponse immunitaire est proportionnelle à la quantité d'antigène administré. En deçà de cette dose s'installe un état de non-réponse, encore appelé tolérance aux faibles doses. Cet état de non-réponse est un phénomène actif et spécifique à l'antigène. Au-delà d'une **dose maximale immunogène**, la réponse immunitaire diminue progressivement pour aboutir à un état de tolérance immunitaire que l'on qualifie de paralysie immunitaire.



3.2.2. LA VOIE D'ADMINISTRATION

La voie d'administration de l'antigène est un facteur important pour l'immunogénicité. Les voies **sous-cutanée, intradermique et intramusculaire** sont plus efficaces que la voie intraveineuse pour l'induction des réponses immunes. La **voie orale** aboutit généralement à l'induction d'un état de tolérance immunitaire.

3.2.3. LES ADJUVANTS

L'administration d'**adjuvants** en association à l'antigène augmente l'intensité de la réponse immunitaire à ce dernier. Les adjuvants agissent essentiellement en favorisant la captation de l'antigène par les cellules présentatrices, en retardant l'élimination de celui-ci et en créant des réactions inflammatoires au point d'injection.

En expérimentation animale, l'adjuvant le plus utilisé est l'adjuvant complet de Freund, constitué d'un mélange d'huile minérale, d'agent émulsifiant et de mycobactéries tuées. Chez l'homme, en vaccinologie, on utilise préférentiellement le phosphate d'aluminium ou l'hydroxyde d'aluminium.

3.3. FACTEURS LIÉS À L'HÔTE

Il a été constaté depuis longtemps que la réponse immunitaire à l'égard d'un antigène variait d'une espèce animale à une autre. De plus, au sein d'une même espèce, certains animaux pouvaient répondre mieux que d'autres à une stimulation donnée. Devant l'observation du caractère héréditaire incontestable de la réponse immunitaire, il a été suggéré, au début des années soixante, l'existence des **gènes de la réponse immunitaire (gènes Ir)** que des travaux ultérieurs ont identifiés comme étant, en grande partie, les **gènes du CMH**.

À côté des facteurs génétiques, l'**âge** de l'individu peut conditionner, via l'état de développement du système immunitaire, la qualité de la réponse immunitaire. Il est en effet bien connu qu'il est plus facile d'obtenir un état de tolérance chez les animaux nouveau-nés que chez les adultes.

4. CONCLUSION

Les antigènes sont constitués d'une mosaïque de déterminants antigéniques ou épitopes, reconnus spécifiquement par les paratopes des anticorps ou des récepteurs des lymphocytes T et B. La plupart sont thymodépendants, nécessitant la coopération des deux sous-populations de lymphocytes pour une parfaite prise en charge par le système immunitaire. L'immunogénicité dépend à la fois de l'antigène, du receveur et des conditions d'immunisation. Tous les paramètres qui concourent à un meilleur et plus durable contact épitope-paratope augmentent l'immunogénicité et sont donc des facteurs à prendre en considération pour la mise au point de vaccins efficaces.

LES ORGANES, LES CELLULES ET LES MÉDIATEURS (CYTOKINES) DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1- Décrire la structure et la fonction de la moelle osseuse
- 2- Décrire la structure et la fonction du thymus.
- 3- Décrire la structure et la fonction du ganglion lymphatique.
- 4- Décrire la structure et la fonction de la rate.
- 5- Décrire la structure et la fonction des organes lymphoïdes associés aux muqueuses.
- 6- Décrire la circulation lymphocytaire entre les différents organes lymphoïdes.
- 7- Décrire les cellules de l'immunité innée.
- 8- Décrire les cellules de l'immunité adaptative.
- 9- Préciser les sous populations des lymphocytes T.
- 10- Préciser les mécanismes d'action des cellules NK.
- 11- Préciser les rôles fondamentaux de la cellule dendritique.
- 12- Décrire les trois propriétés fondamentales des cytokines
- 13- Décrire le rôle des cytokines pro-inflammatoires
- 14- Préciser le rôle des cytokines anti-inflammatoires
- 15- décrire la dichotomie fonctionnelle des lymphocytes T auxillaires
- 16- indiquer le rôle des cytokines de l'immunité cellulaire
- 17- Décrire le rôle des principales cytokines de l'immunité humorale
- 18- Définir les chimiokines

INTRODUCTION

Le système immunitaire est constitué d'un ensemble complexe **d'organes** individualisés et de tissus entre lesquels circulent, de façon constante, des cellules immunocompétentes de **l'immunité innée** et de **l'immunité adaptative**. L'organisation du système immunitaire, en réseau de communication, lui confère une importante capacité **d'échanges d'informations**, par des contacts membranaires intercellulaires ou par la libération de médiateurs solubles et participe au bon déroulement de la réponse immune.

L'essentiel des cellules de l'immunité innée et adaptative provient de cellules souches hématopoïétiques (CSH) qui s'engagent dans différentes voies de différenciation. Les lymphocytes se développent dans **les organes lymphoïdes primaires** où ils acquièrent un récepteur propre à chaque cellule (constitution du répertoire). Après maturation, les lymphocytes peuplent **les organes lymphoïdes secondaires** où se produisent les différentes coopérations cellulaires aboutissant à la mise en place d'une réponse immunitaire adaptative.

1. ORGANISATION GENERALE DES ORGANES LYMPHOIDES DU SYSTEME IMMUNITAIRE

On classe les organes lymphoïdes en organes lymphoïdes primaires et secondaires.

Organes lymphoïdes primaires ou centraux sont ceux dans lesquels les lymphocytes B et T se développent en lymphocytes matures naïfs : La **moelle osseuse** pour les cellules B, la moelle osseuse puis le thymus pour les cellules T. La maturation lymphocytaire dans ces organes est **indépendante des stimulations antigéniques exogènes**. C'est le lieu où ils acquièrent leur répertoire de récepteurs spécifiques d'antigène (BCR et TCR). Ils constituent de même le lieu de sélection des cellules lymphocytaires utiles et non autoréactives. Les cellules porteuses de récepteurs pour des autoantigènes sont pour la plupart éliminées.

Organes lymphoïdes secondaires ou périphériques :

Comprennent les organes où vont s'effectuer les différentes étapes de présentation d'antigène, d'activation et de prolifération des lymphocytes aboutissant à une réponse immunitaire adaptative : **les ganglions lymphatiques, la rate, et les différentes formations lymphoïdes associées aux muqueuses (MALT)** (Figure 1).

1.1. ORGANES LYMPHOÏDES PRIMAIRES

A. LA MOELLE OSSEUSE

La moelle osseuse est l'organe central de l'hématopoïèse. Elle se substitue au foie fœtal (premier organe de l'hématopoïèse) vers la vingtième semaine de gestation.

Les cellules de l'immunité innée et adaptative sont d'origine hématopoïétique et appartiennent à deux lignées, la lignée myéloïde et la lignée lymphoïde qui sont issues d'une même cellule souche pluripotente.

Pour les lymphocytes, une partie poursuit son développement au niveau de la moelle osseuse : il s'agit des lymphocytes B. Une autre partie migre vers le thymus pour la maturation des lymphocytes T.

Au cours de la maturation des lymphocytes B, les cellules progénitrices B se multiplient au contact de l'endosteum de la travée osseuse et de cellules réticulaires stromales qui constituent un tissu de soutien et induisent la prolifération et la maturation des précurseurs des cellules B. Au cours de ces processus, un grand nombre de cellules B meurent par mort cellulaire programmée ou apoptose et sont phagocytées par les macrophages. Les cellules B matures quittent la moelle en traversant la paroi des sinus veineux, d'où elles entrent dans la circulation générale.

B. LE THYMUS

Le thymus est un organe bilobé situé dans la région supérieure du médiastin antérieur (cavité thoracique). Il provient de la troisième poche pharyngée de l'endoderme. Une aplasie congénitale du thymus se voit lors du **syndrome de Di George** associant plusieurs anomalies (faciales, cardiaques, etc.). Les individus atteints produisent des lymphocytes B, mais peu de lymphocytes T.

Les précurseurs hématopoïétiques issus du sac vitellin, du foie fœtal (huitième semaine) puis de la moelle osseuse (vingtième semaine de gestation) sont attirés dans l'ébauche thymique par des substances chimiotactiques produites par les cellules épithéliales thymiques. Ces précurseurs vont subir plusieurs étapes de maturation au sein du thymus, pour aboutir à la formation de lymphocytes T matures dits naïfs.

L'activité thymique diminue progressivement au cours de la vie, avec une chute plus rapide après l'adolescence, le tissu thymique étant graduellement remplacé par du tissu adipeux. Malgré cette involution progressive, une activité thymique résiduelle persiste jusqu'à un âge avancé.

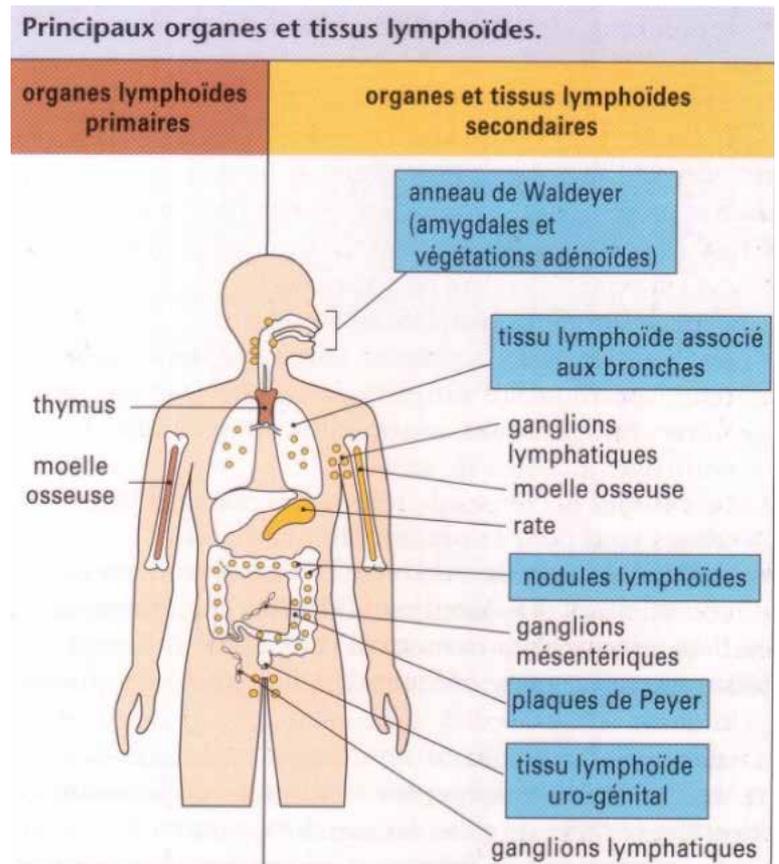
Sur le plan histologique, chaque lobe thymique est partagé en plusieurs lobules séparés par des trames de nature conjonctive. Au sein de chaque lobule, on distingue une zone externe, la corticale, et une zone plus centrale, la médullaire. Les précurseurs lymphoïdes provenant de la moelle osseuse pénètrent dans le thymus par des veinules post capillaires situées au niveau de la jonction cortico-médullaire puis migrent vers le cortex pour se diriger ensuite vers la médullaire (Figure 2) :

- **La zone corticale** est subdivisée en cortex superficiel et cortex profond.
 - Le **cortex superficiel** est surpeuplé de cellules immatures ou thymocytes (grandes cellules blastiques) en prolifération au contact de cellules épithéliales « nourricières »
 - Le **cortex profond** contient des lymphocytes T immatures au contact de cellules épithéliales corticales thymiques organisées en réseau. La jonction cortico-médullaire quant à elle est surtout peuplée de cellules dendritiques et de macrophages.

- **La zone médullaire** contient des cellules T plus matures et des cellules épithéliales médullaires.

Chez l'homme, au sein de la zone médullaire, on retrouve des structures histologiques particulières, appelées corpus-

Figure 1 : Organes et tissus lymphoïdes. Le MALT (anneau de Waldeyer, tissu lymphoïde associé aux bronches, nodules lymphoïdes, plaques de Peyer, tissu lymphoïde uro-génital).



cules de Hassal (agrégats concentriques en bulbe d'oignon dont la fonction reste encore mal définie) composées essentiellement de cellules épithéliales (Voir cours histologie, thème XVI tome 2).

La séquence de maturation des cellules T au sein du thymus se fait de la corticale vers la médullaire et s'associe à un taux très important d'apoptose (95%). Les cellules T matures quittent le thymus par les veinules post-capillaires à la jonction cortico-médullaire.

Trois familles de cellules épithéliales thymiques sont distinguées dans les lobules selon leur répartition et fonction :

- Les cellules nourricières dans le cortex superficiel soutiennent la prolifération des progéniteurs des cellules T, surtout par la production de cytokines ;
- Les cellules **épithéliales thymiques corticales** participent à la sélection positive des thymocytes en voie de maturation ;
- Les cellules **épithéliales thymiques médullaires** en exposant une grande variété de peptides spécifiques d'organes du soi participent probablement avec les cellules dendritiques situées à la jonction cortico-médullaire à la sélection négative des thymocytes. Le facteur de transcription AIRE (**A**uto**I**mmune **R**egulator) exprimé au niveau des cellules épithéliales thymiques médullaires est indispensable à l'expression ectopique des antigènes tissulaires du soi (par exemple l'insuline). Une mutation au niveau du gène AIRE est responsable d'une polyendocrinopathie auto-immune.

Après cette étape de maturation initiale respectivement dans la moelle osseuse et le thymus, les lymphocytes B et les lymphocytes T quittent les organes lymphoïdes primaires sous forme de lymphocytes B et T naïfs, pour aller à la rencontre de l'antigène dans les organes lymphoïdes secondaires.

1.2. ORGANES LYMPHOÏDES SECONDAIRES :

Les organes lymphoïdes secondaires sont subdivisés en :

- **organes encapsulés** : les ganglions lymphatiques, la rate
- **tissus lymphoïdes distribués au niveau des muqueuses** : le MALT (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue).

Les organes lymphoïdes secondaires partagent plusieurs caractéristiques :

- Subdivision en zones T dépendantes (zone paracorticale des ganglions lymphatiques par exemple) et B dépendantes (follicules lymphoïdes des ganglions, etc.)
- Présence des veinules à haut endothélium (HEV pour high endothelial venules), permet l'entrée contrôlée des lymphocytes.
- Lieu de concentration des antigènes présents dans la lymphe (ganglions), le sang (rate), ou les muqueuses (tissu lymphoïde associé aux muqueuses, MALT).
- Lieu de rencontre entre l'antigène et les différentes cellules participant à la réponse immunitaire adaptative.

A. LES GANGLIONS LYMPHATIQUES

Les ganglions lymphatiques sont des formations lymphoïdes de 1 à 15 mm de taille, disposés le long des vaisseaux lymphatiques. Ils sont le siège des réponses immunitaires dirigées contre des antigènes acheminés sous forme soluble par la circulation lymphatique ou pris en charge sur le site de leur pénétration et véhiculés par des cellules présentatrices d'antigène (CPA).

Les ganglions sont entourés d'une capsule fibreuse et divisés par des travées de tissu conjonctif. La lymphe y pénètre par des vaisseaux lymphatiques afférents et s'écoule à travers un réseau de sinus lymphatiques qui se rassemblent au niveau du hile pour former le vaisseau lymphatique efférent. On distingue trois zones : le cortex superficiel, le cortex profond et la médullaire (Figure 3).

Figure 2 : Structure schématique du thymus

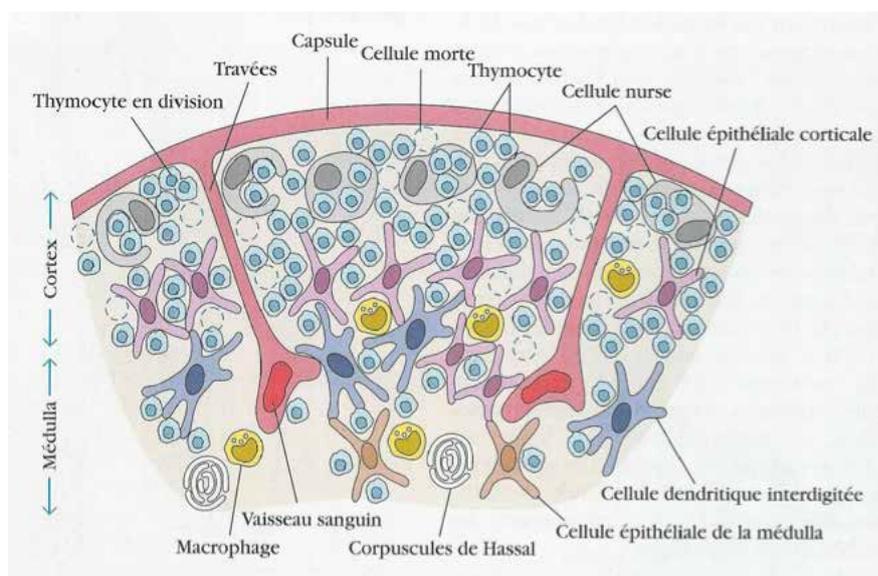
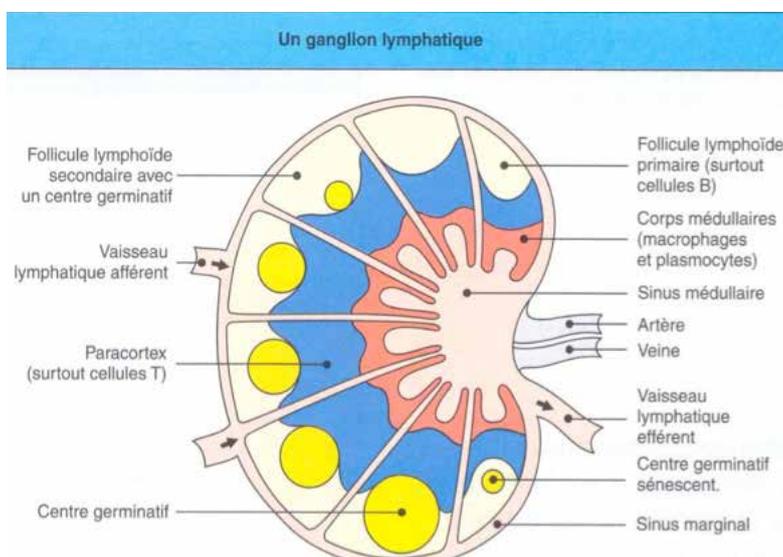


Figure 3 : structure du ganglion



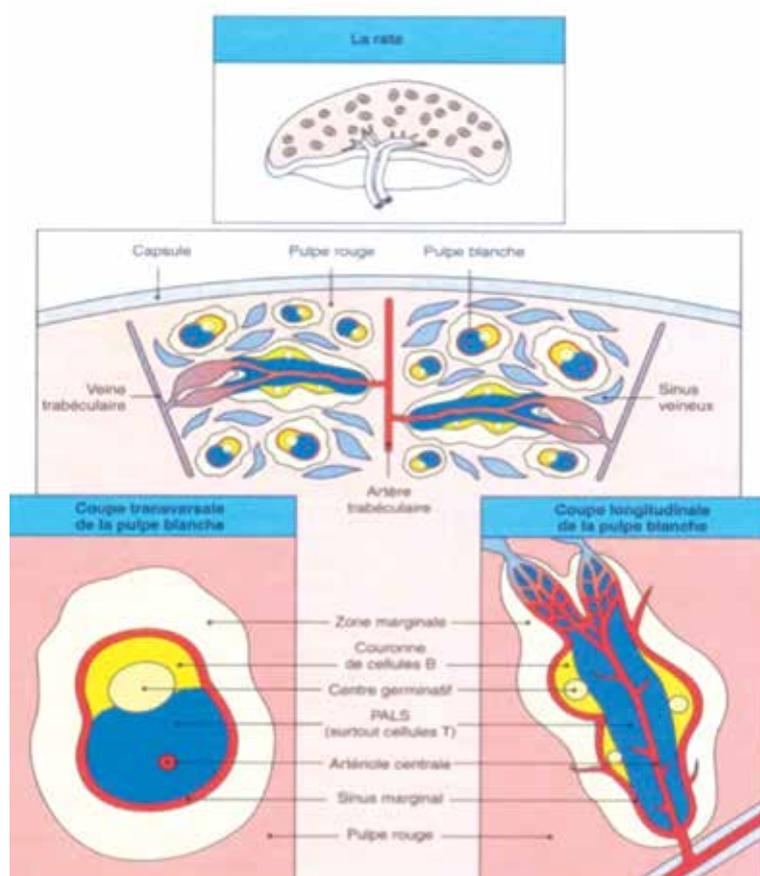
- **Le cortex superficiel** : est peuplé essentiellement de lymphocytes B formant des agrégats appelés follicules : follicules primaires de densité cellulaire uniforme et follicules secondaires contenant les centres germinatifs qui apparaissent après une stimulation antigénique. C'est au niveau de ces centres germinatifs et au contact de cellules particulières : les cellules dendritiques folliculaires (ne pas confondre avec les cellules dendritiques présentatrices d'antigènes) que va s'effectuer la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes sécréteurs d'anticorps ou en cellules B mémoires.
- **Le cortex profond ou zone paracorticale** ou zone T-dépendante est constituée principalement de lymphocytes T et de cellules dendritiques (tissulaires) drainées par la lymphe vers le ganglion. C'est le contact entre ces deux types cellulaires qui permet une présentation efficace de l'antigène, étape primordiale pour l'initiation d'une réponse immune T spécifique.
- **La médullaire** : plus pauvre en cellules lymphoïdes. Elle contient principalement des plasmocytes et des macrophages.

B. LA RATE

Les barrières épithéliales et tissulaires empêchent les antigènes de pénétrer facilement dans la circulation sanguine. La fonction essentielle de la rate, qui contient jusqu'à 25% des lymphocytes du corps, est d'assurer une protection efficace contre les pathogènes qui franchissent ces premières défenses et pénètrent par la circulation sanguine.

La rate est un organe lymphoïde situé en dérivation sur la circulation sanguine. Sa vascularisation est assurée par une artère issue de l'aorte, l'artère splénique, et une veine qui rejoint la veine porte, ainsi que des vaisseaux lymphatiques efférents. **Il n'existe pas de lymphatiques afférents.** Au niveau du parenchyme splénique, deux régions sont clairement individualisées sur le plan histologique et fonctionnel : la pulpe rouge et la pulpe blanche séparées par une zone marginale diffuse (figure 4) :

Figure 4 : structure de la rate



- **La pulpe blanche** : où zone lymphoïde de la rate, entoure les artérioles provenant des ramifications de l'artère splénique, sous forme d'un manchon lymphoïde périartériolaire (PALS, **P**eri **A**rteriolar **L**ymphoid **S**heath) formé essentiellement par les lymphocytes T. À la périphérie des PALS, sont annexés des follicules lymphoïdes primaires ou secondaires contenant des centres germinatifs qui sont constitués en majorité de lymphocytes B.

- **La zone marginale** : elle est à la frontière entre la pulpe rouge et blanche. C'est là que se déverse le sang apporté par les artérioles qui s'ouvrent dans des sinus vasculaires. Elle contient des macrophages, des cellules dendritiques et des lymphocytes B (de la zone marginale). Les lymphocytes B de la zone marginale sont aptes à produire une réponse rapide humorale thymo-indépendante vis-à-vis de certains pathogènes véhiculés par le sang.

- **La pulpe rouge** : constituée d'un réseau de sinus peuplé de macrophages et surtout de globules rouges (érythrocytes). C'est le lieu de l'élimination des érythrocytes sénescents.

C- TISSU LYMPHOÏDE ASSOCIÉ AUX MUQUEUSES :

Les muqueuses qui bordent le système digestif, respiratoire et uro-génital représentent les principaux sites d'entrée pour la plupart des pathogènes. Le tissu lymphoïde associé aux muqueuses appelé MALT (**M**ucosae **A**ssociated **L**ymphoid **T**issue) - utilise les mêmes acteurs moléculaires et cellulaires que les autres organes lymphoïdes et assure l'élaboration d'une réponse immunitaire efficace capable de contrôler la plupart des agressions.

Le MALT regroupe, principalement les structures lymphoïdes associées à la muqueuse intestinale (GALT), à la cavité nasale (NALT) et le tissu bronchique (BALT).

Le MALT est formé d'une part de formations lymphoïdes organisées (O-MALT) appelées aussi sites inducteurs (Ex : les amygdales, l'appendice ou encore les plaques de Peyer) et d'autre part d'un tissu lymphoïde diffus (D-MALT appelé aussi site effecteur) tapissant de façon plus ou moins dense essentiellement la lamina propria ou chorion des muqueuses (digestives, respiratoires, génito-urinaires), mais aussi leur épithélium.

La structure du tissu lymphoïde associé à l'intestin ou GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue) est la mieux connue. Elle comporte :

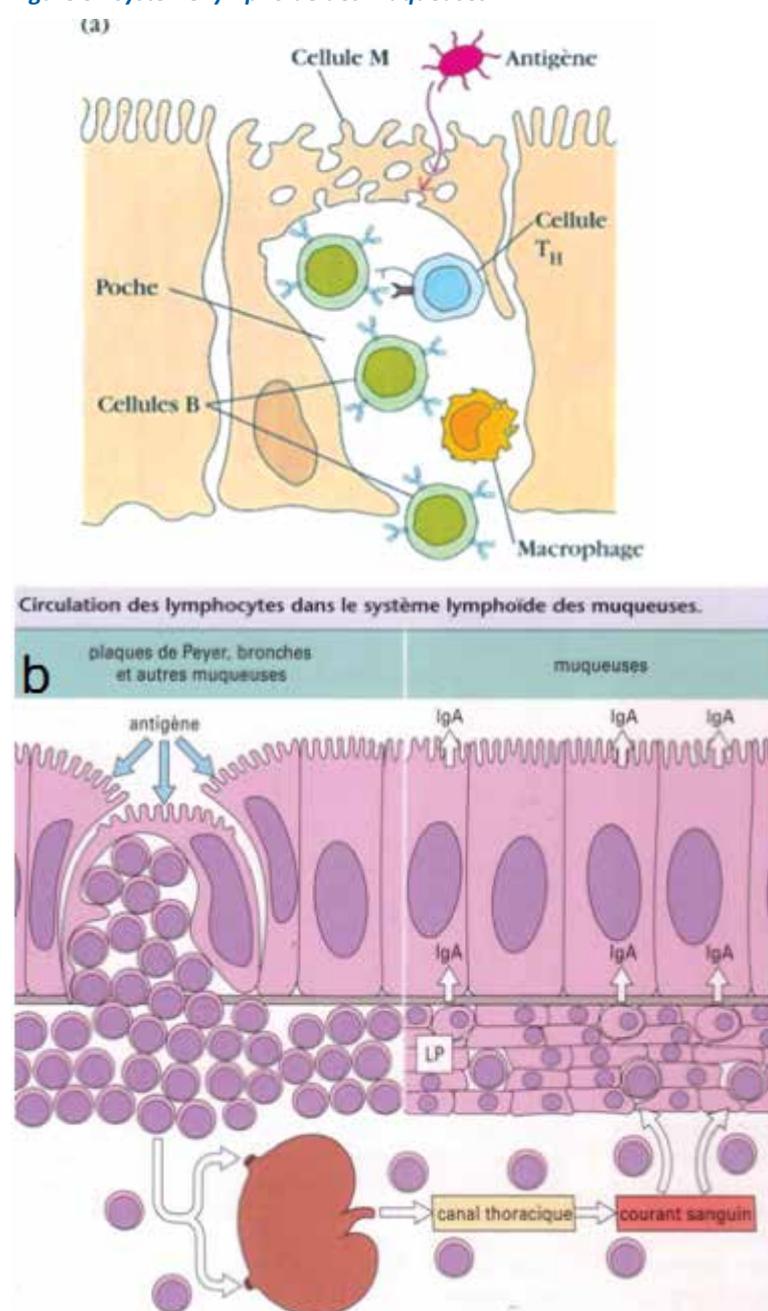
- **Les plaques de Peyer (O-GALT)** : elles sont disséminées le long de l'intestin grêle du duodénum à l'iléon. Elles sont recouvertes d'un dôme de cellules épithéliales surmonté par des cellules M (microfold) (Figure 5a) qui assurent le transport des antigènes non dégradés pour être pris en charge par les cellules présentatrices d'antigènes et présentés au niveau des plaques de Peyer. Schématiquement, ces plaques sont formées de zones centrales B sous forme d'un follicule primaire ou secondaire séparés par des zones T dépendantes.

- **Le tissu lymphoïde diffus (D-GALT)** est composé de :

- **lymphocytes du chorion** (lamina propria) formés de lymphocytes T et B effecteurs.
- **lymphocytes T** localisés au niveau de l'épithélium intestinal, appelés lymphocytes intraépithéliaux (LIE) contribuent au contrôle de l'homéostasie de l'intestin. La majorité de ces lymphocytes sont des cellules T CD8+ caractérisés par des récepteurs alpha bêta ou gamma delta.

La réponse immune au niveau du GALT est initiée suite à l'entrée du pathogène par les cellules M. Les lymphocytes T et B sont activés respectivement par les CPA et l'antigène natif. Ces lymphocytes quittent la plaque de Peyer par le système lymphatique efférent pour continuer leur différenciation dans les ganglions mésentériques. Ils migrent ensuite à travers les vaisseaux lymphatiques mésentériques efférents vers le canal thoracique et passent dans le système veineux. À ce stade, par voie sanguine, ils peuvent transiter dans tous les autres organes lymphoïdes et surtout diffuser vers l'ensemble des muqueuses. Ils se localisent finalement dans la lamina propria sous forme de cellules effectrices. Ce phénomène s'appelle écotaxie ou homing (Figure 5 b).

Figure 5 : système lymphoïde des muqueuses

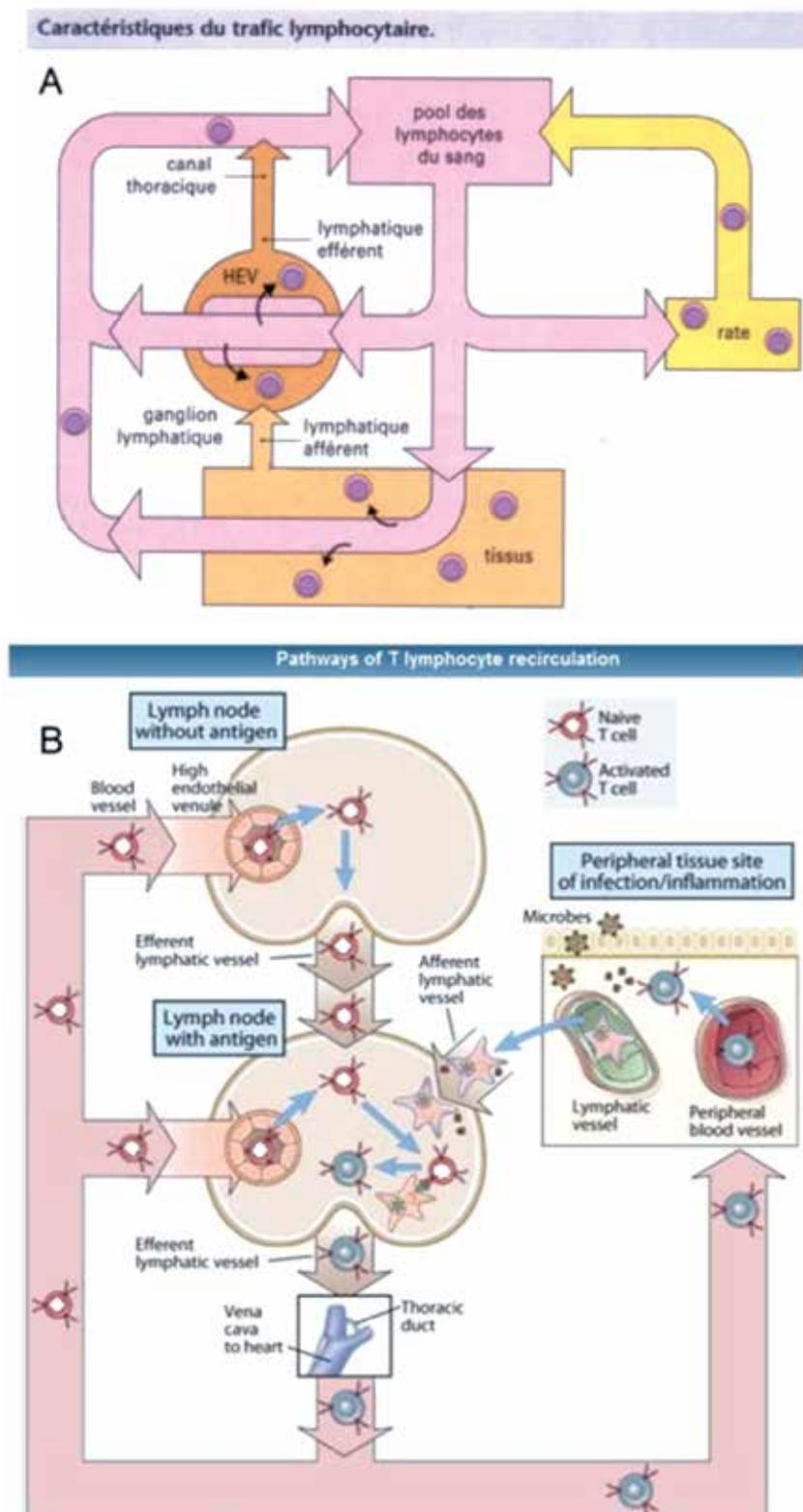


1.3. LA CIRCULATION DES LYMPHOCYTES :

Après leur développement dans les organes lymphoïdes primaires, les lymphocytes matures naïfs rejoignent la circulation sanguine et gagnent les ganglions en traversant l'endothélium des veinules post-capillaires appelés aussi « High Endothelial Venule » (HEV). Ces veinules disposent d'une série de molécules d'adhérence qui permettent aux lymphocytes matures naïfs de s'attacher aux cellules endothéliales et assurer ainsi leur entrée dans le ganglion. De là, ils migrent à travers les vaisseaux lymphatiques efférents puis le long de la chaîne ganglionnaire en traversant successivement les vaisseaux afférents et efférents pour se rassembler dans le canal thoracique qui se déverse dans la veine sous-clavière (Figure 6A). Si les lymphocytes naïfs rencontrent leurs antigènes et deviennent activés, ils gagnent les tissus à travers la circulation sanguine pour exercer leurs fonctions effectrices (Figure 6 B).

Les lymphocytes rejoignent aussi les PALS de la rate après un passage par les sinus de la zone marginale. Certains vont regagner la circulation sanguine en empruntant les sinus veineux.

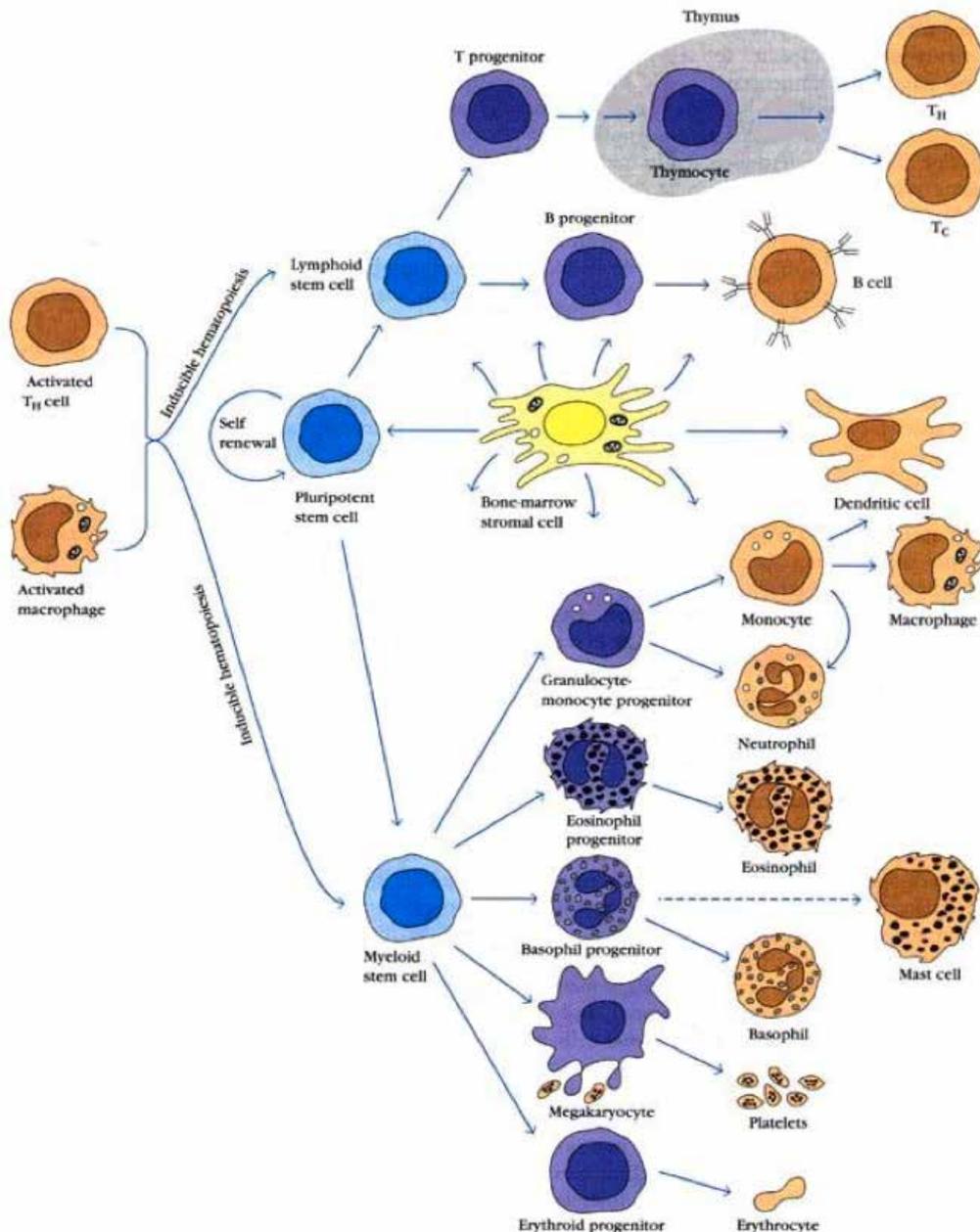
Figure 6: recirculation des lymphocytes



2. LES CELLULES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE:

Schématiquement la réponse immune se déroule en deux étapes, une réponse immune innée et une réponse immune adaptative. Chacune des réponses fait participer des cellules ayant des propriétés fonctionnelles qui répondent à l'exigence de situations particulières dictées soit par l'antigène ou par le processus immunitaire. C'est ainsi que les cellules phagocytaires interviennent au niveau de la première ligne de défense, les cellules dendritiques font la passerelle entre les deux types d'immunité et les lymphocytes sont les acteurs de la réponse adaptative. D'autres cellules auxiliaires ou accessoires (macrophage, polynucléaires, mastocytes...) ont un rôle très important dans le processus inflammatoire et amplificateur de la réponse immune. L'ensemble des cellules immunocompétentes proviennent de deux lignées de cellules hématopoïétiques, les cellules lymphoïdes et les cellules myéloïdes. (Figure 7).

Figure 7 : Schéma général de l'hématopoïèse



2.1. LES CELLULES LYMPHOÏDES:

Ces cellules proviennent d'un progéniteur lymphoïde commun et représentent 20 à 40% des leucocytes (globules blancs). Ils peuvent être grossièrement divisés en 3 populations sur la base de leurs fonctions et de leur marqueur membranaire : les lymphocytes B, les lymphocytes T (immunité adaptative) et les cellules NK (immunité innée)

A. LES LYMPHOCYTES B :

Ces cellules représentent environ 5 à 10% des lymphocytes circulants et ne peuvent être distinguées morphologiquement d'un lymphocyte T. Ces cellules tiennent leur lettre de désignation « B » de leur site de maturation chez les oiseaux : la bourse de Fabricius. Le lymphocyte B se distingue par la présence d'immunoglobulines de membrane à sa surface jouant le rôle de récepteur à l'antigène (BCR, B Cell Receptor) et par d'autres molécules de surface (marqueurs de différenciations

et corécepteurs). Le lymphocyte B est le support de l'immunité humorale qui repose sur la production d'anticorps par le plasmocyte. Ce dernier est caractérisé par la perte de l'expression de l'immunoglobuline de membrane.

B. LES LYMPHOCYTES T :

Ces cellules représentent environ 70% des lymphocytes circulants et se caractérisent aussi par la présence d'un récepteur spécifique (TCR, T Cell Receptor) qui leur permet de reconnaître des peptides associés à des molécules CMH à la surface des cellules présentatrice d'antigène. Le TCR est toujours associé à une molécule de surface le CD3. D'autres molécules de surfaces permettent de distinguer essentiellement deux sous-populations :

- les cellules T CD4+ ou auxiliaires (helper), qui représentent 35 à 50% des lymphocytes circulants et qui reconnaissent des peptides associés aux molécules du CMH classe II.
- les cellules TCD8+ ou cytotoxiques qui représentent 20 à 35% des lymphocytes circulants qui reconnaissent des peptides associés aux molécules du CMH classe I.

Une troisième population a été aussi décrite à savoir les lymphocytes T régulateurs exprimant le plus souvent des corécepteurs CD4.

C. LES CELLULES NATURAL KILLER

Les cellules Natural killer (NK) représentent environ 5 à 10% des lymphocytes sanguins. Elles ont l'aspect des grands lymphocytes granuleux (LGL, Large Granular Lymphocyte). Les cellules NK veillent au maintien de l'intégrité de l'organisme par une intervention rapide dans l'élimination des cellules anormales (tumorales ou infectées), tout en respectant les cellules saines. Les cellules NK sont également caractérisées par la production de cytokines en particulier de l'IFN- γ . Ces cellules contiennent de nombreux granules cytoplasmiques et expriment des protéines de surface caractéristiques CD56 et du CD16 (récepteur au fragment constant des IgG Fc γ RIII) ainsi que toute une famille de récepteurs contrôlant leur activité cytotoxique, elles n'expriment pas les récepteurs d'antigène respectifs des lymphocytes B et T.

Lorsqu'elles sont activées par des cellules infectées, les cellules NK libèrent les protéines de leurs granules cytoplasmiques dans l'espace extracellulaire, au point de contact avec la cellule infectée. Ces protéines entrent alors dans les cellules infectées et activent des enzymes qui induisent la mort par apoptose. Les mécanismes cytolitiques des cellules NK sont les mêmes que ceux que les CTL (T cytotoxique) utilisent pour tuer les cellules infectées (voir plus loin réponse immunitaire). L'activation des cellules NK résulte d'un équilibre entre la stimulation des récepteurs activateurs et celle des récepteurs inhibiteurs.

La cytotoxicité des NK fait intervenir la reconnaissance de la cellule cible par deux groupes de récepteurs. Ces récepteurs exercent leur fonction (inhibitrice ou activatrice) lorsqu'ils reconnaissent leurs ligands respectifs sur les cellules cibles :

- **Les récepteurs activateurs** reconnaissent des molécules de surface cellulaire qui, souvent, sont exprimées sur des cellules infectées par un virus ou une bactérie intracellulaire, mais aussi lors d'un stress causé par exemple par une altération de l'ADN ou une transformation maligne. Les cellules NK servent donc à éliminer des cellules tumorales ou irrémédiablement lésées. Les récepteurs activateurs des cellules NK ont des sous-unités de signalisation qui contiennent des motifs ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) aboutissent à l'exo-cytose des granules cytotoxiques et à la production d'IFN- γ .

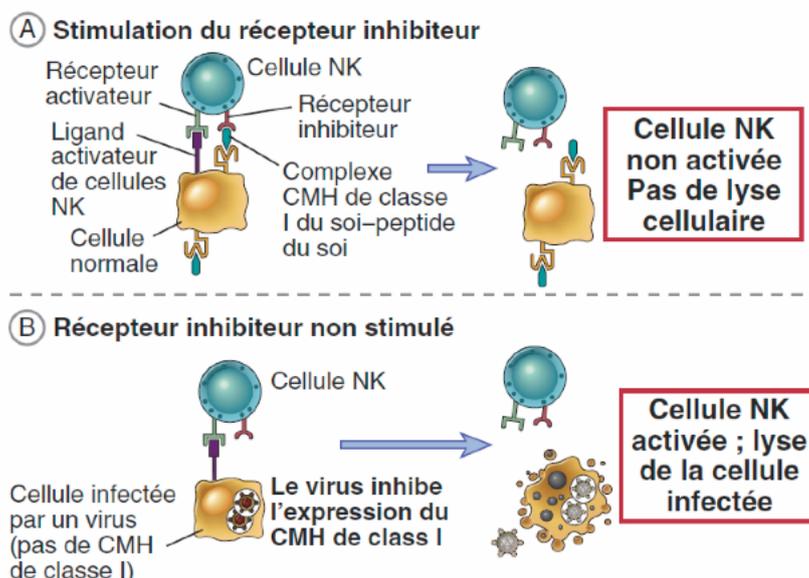
Figure 8 :

(A) Notez que les cellules saines peuvent, ou non, exprimer des ligands des récepteurs activateurs (comme la figure le montre), mais elles ne sont pas attaquées par les cellules NK, car elles fournissent des ligands aux récepteurs inhibiteurs.

(B) Les cellules NK sont activées par les cellules infectées qui expriment les ligands des récepteurs activateurs (souvent exprimés en densité élevée) et l'expression du CMH de classe I est réduite, ainsi les récepteurs inhibiteurs ne sont pas stimulés. En conséquence, les cellules infectées sont tuées.

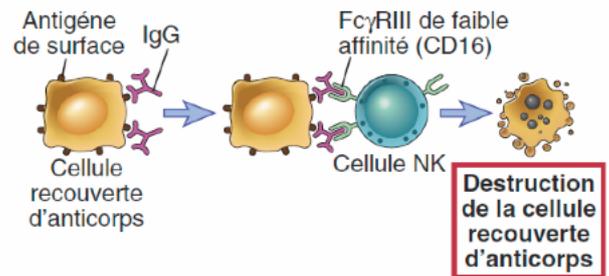
- **Les récepteurs inhibiteurs** des cellules NK, qui bloquent la signalisation provenant des récepteurs activateurs, sont spécifiques des molécules du CMH de classe I du soi, qui sont exprimées sur toutes les cellules nucléées saines. Ces récepteurs inhibiteurs contiennent dans leurs domaines cytoplasmiques des motifs structuraux dénommés ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motifs).

Ainsi, les cellules NK épargnent les cellules saines exprimant les molécules du CMH de classe I et de faibles quantités de molécules de stress (Figure 8A). À l'inverse, les cellules NK tuent de manière sélective les cellules en état de « stress », sous-exprimant les molécules du CMH de classe I (Figure 8B).



Un autre récepteur activateur, dénommé CD16 (FcγRIII), est spécifique des anticorps IgG fixés sur la membrane des cellules cibles. La reconnaissance des cellules couvertes d'anticorps aboutit à la destruction de ces cellules par un processus appelé **cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps**, ou **ADCC** (Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity). Les cellules NK sont les principaux médiateurs de l'ADCC. (Figure 9).

Fig 9 : Cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC).



2.2. LES CELLULES MYÉLOÏDES:

A. LES GRANULOCYTES

Ces cellules sont classées en neutrophiles, éosinophiles et basophiles.

- **Les neutrophiles** possèdent un noyau polylobé et des granules cytoplasmiques qui prennent les colorants acides et basiques. Ces cellules sont produites dans la moelle osseuse et passent dans le sang périphérique. Ce sont essentiellement des cellules phagocytaires qui jouent un rôle majeur dans la défense antimicrobienne et dans l'inflammation aiguë. Elles sont attirées au niveau des sites d'inflammation sous l'action de facteurs chimiotactiques.

- Les éosinophiles :

Ces cellules possèdent un noyau bilobé et de nombreuses granulations intracytoplasmiques colorées par l'éosine et donnant l'aspect typique en « sac à bille ».

Ces cellules transitent par le sang puis gagnent rapidement les tissus surtout la peau et les muqueuses digestives et respiratoires. Elles sont douées d'une activité cytotoxique et jouent un rôle important dans l'immunité antiparasitaire et certaines réactions d'hypersensibilité.

- Les basophiles :

Ce sont des cellules avec un noyau polylobé difficilement visible sous les abondantes granulations cytoplasmiques bleu foncé observées avec les colorations traditionnelles au May-Grünwald Giemsa (MGG).

Ces cellules sont essentiellement sanguines et participent aux réactions allergiques.

B. LES MONOCYTES ET MACROPHAGES

Le système phagocytaire mononucléé est constitué des monocytes circulants dans le sang et de macrophages tissulaires. Les monocytes circulent dans le sang pendant environ 8 heures. Ils migrent ensuite vers les tissus où ils se différencient en macrophage spécifique des tissus :

- Macrophage alvéolaire dans le poumon
- Histiocyte dans les tissus conjonctifs
- Cellules de Kupffer dans le foie
- Cellules mésangiales dans le rein
- Cellules microgliales dans le cerveau
- Ostéoclastes dans l'os.

Ces cellules sont douées d'un pouvoir phagocytaire important et jouent un rôle important dans la première ligne de défense de l'organisme.

2.3. LES CELLULES DENDRITIQUES (CD):

Elles se caractérisent par de longues extensions membranaires qui ressemblent aux dendrites des cellules nerveuses. Ces cellules sont distribuées dans les différents tissus et organes lymphoïdes. La majorité d'entre elles ont une filiation commune avec les monocytes et les macrophages. Les CD sont d'origine myéloïde et lymphoïde. Les **CD myéloïdes** regroupent les **cellules de Langerhans**, les **CD interstitielles** et les CD dérivées des monocytes. Les CD lymphoïdes ou plasmacytoïdes (pCD) moins efficaces dans la présentation d'antigène sont en revanche productrices d'interféron alpha qui leur confère un rôle important dans les défenses antivirales.

Les cellules dendritiques sentinelles sont dispersées dans la majorité des tissus et se trouvent dans un état **immature**. La maturation de ces cellules peut être déclenchée par différents stimuli :

- des produits bactériens ou viraux détectés par les PPR (Pathogen Recognition Receptor),
- des cytokines inflammatoires,
- des complexes immuns reconnus par les récepteurs Fc, etc.

Les cellules dendritiques sont des cellules présentatrices d'antigène (**CPA**) « **professionnelles** ». Elles jouent un rôle important dans l'activation des cellules T naïves et par conséquent la mise en place de la réponse immune adaptative. Les cellules dendritiques sont les seules à pouvoir activer des lymphocytes T naïfs, car ce sont les seules CPA à exprimer, de ma-

nière constitutive, une forte densité de molécules du CMH et des molécules de costimulation. Ces cellules vont internaliser l'antigène au niveau des tissus périphériques et migrer dans la lymphe sous la forme de cellules voilées pour le présenter au niveau des ganglions.

Les cellules dendritiques exercent aussi un rôle fondamental dans l'établissement de la **tolérance T**, tant centrale que périphérique.

3. LES CYTOKINES

Les cytokines sont des protéines ou glycoprotéines solubles, produites par diverses cellules et agissant comme des médiateurs de communication intercellulaire. Elles activent ou modifient le comportement des cellules-cibles après interaction avec des récepteurs spécifiques de surface.

On dénombre actuellement plus de 50 cytokines différentes, le plus souvent désignées lors de conférences de consensus par l'abréviation IL (interleukine) suivi d'un numéro (exemple : IL-4). Pour des raisons historiques, certaines dérogent à cette règle commune et ont conservé leur dénomination initiale qui renvoie le plus souvent à la première fonction qui leur a été attribuée. C'est le cas par exemple des **interférons** qui sont capables de bloquer une infection virale ou encore du **TNF** (Tumor Necrosis Factor).

3.1. LES PROPRIÉTÉS GÉNÉRALES DES CYTOKINES :

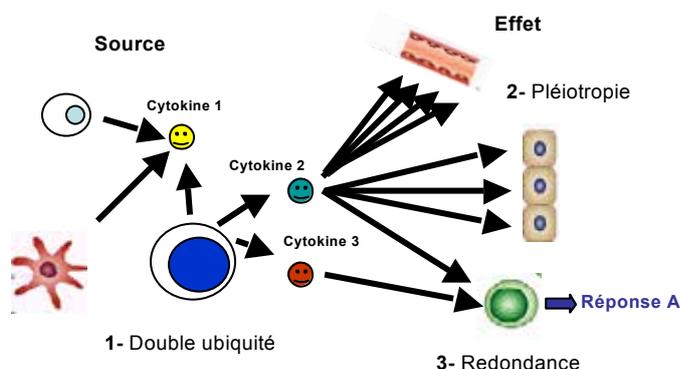
Les trois propriétés fondamentales des cytokines sont (Figure 7) :

- leur **double ubiquité** : une même cytokine peut être produite par différents types cellulaires et une cellule donnée peut produire des cytokines distinctes
- leur **redondance** : dans une cellule donnée, une même activité biologique peut être provoquée par des cytokines différentes
- et leur **pléiotropie** : une même cytokine peut exercer des activités biologiques variées sur une cellule cible ou agir sur différents types cellulaires.

À côté de ces propriétés, les cytokines partagent un certain nombre de caractéristiques moléculaires :

1. **La production des cytokines peut être modulée de façon positive ou négative par la présence d'autres cytokines dans l'environnement.** Ceci a donné le concept de « réseau » et de « cascade » de cytokines contrôlant la réponse immune et les réactions inflammatoires.
2. **L'action d'une cytokine peut être influencée par d'autres cytokines.** Elles peuvent avoir des actions antagonistes ou synergiques.
3. **Les cytokines agissent le plus souvent selon un mode paracrine** (action sur les cellules du voisinage). Elles peuvent agir également selon un mode autocrine (IL-2/ lymphocyte T) ou endocrine (cytokines pro-inflammatoires).
4. **La plupart des cytokines sont produites sous forme soluble.**
5. **Les cytokines agissent sur leurs cibles cellulaires en se fixant sur des récepteurs spécifiques**, ce qui conduit à l'activation de seconds messagers intracellulaires qui induisent une cascade d'événements aboutissant à l'effet spécifique de la cytokine.

Figure 7 : propriétés des cytokines



3.2. CLASSIFICATION FONCTIONNELLE DES CYTOKINES

Différentes classifications des cytokines existent. Nous adopterons une classification basée sur le type de réponse dans laquelle sont impliqués ces médiateurs. Il faut préciser qu'un certain nombre de cytokines peuvent être impliquées dans plusieurs types de réponses différentes.

3.2.1 LES CYTOKINES DE L'INFLAMMATION

a. Les cytokines pro-inflammatoires : IL-1, TNF- α et IL-6

L'IL-1 et TNF- α sont des cytokines qui illustrent le mieux les concepts de pléiotropie et de redondance. Produites par des types cellulaires très variés (cellules dendritiques, cellules épithéliales et endothéliales, fibroblastes, lymphocytes, etc.) et surtout par le macrophage, elles sont douées de multiples activités biologiques qui en font des médiateurs importants non seulement de l'inflammation et, mais également de l'immunité. Elles agissent sur :

- l'activation des cellules monocytaires/macrophagiques (↑phagocytose, ↑activité antimicrobienne, ↑production des cytokines pro-inflammatoires et enzymes protéolytiques...)
- l'activation des cellules endothéliales en augmentant leur capacité procoagulante, l'expression des molécules d'adhésion et la perméabilité cellulaire
- l'activation des hépatocytes en favorisant la production des protéines de la phase aiguë de l'inflammation
- la production de nombreux facteurs pro-inflammatoires tels que les prostaglandines, les leucotriènes et les radicaux libres
- le système nerveux central (fièvre, ↑sommeil, ↓appétit...)
- la prolifération de divers types cellulaires (fibroblastes, muscles lisses, kératinocytes...), etc.

Le TNF- α se distingue de l'IL-1 par son activité nécrosante. En effet, comme son nom l'indique, le TNF- α est capable de provoquer la lyse des cellules tumorales. Appelée aussi cachectine, cette cytokine est douée d'une activité cachectisante qui est expliquée par ses effets métaboliques tels que la lipolyse, la glycogénolyse musculaire et la résorption osseuse par activation des ostéoclastes.

L'IL-6 est principalement produite par les monocytes/macrophages, mais aussi par les lymphocytes T, les cellules endothéliales et les fibroblastes. Si elle partage avec l'IL-1 et le TNF- α leurs activités pro-inflammatoires, elle s'en distingue par son action sur la différenciation terminale des lymphocytes B et par son action stimulante de la croissance des plasmocytes.

b. Les cytokines anti-inflammatoires IL-10 et TGF- β

L'IL-10 est une cytokine produite essentiellement par les lymphocytes T, mais aussi par les monocytes/macrophages et les lymphocytes B. Elle agit essentiellement sur le macrophage en inhibant la production des cytokines inflammatoires et en diminuant ses capacités à présenter l'antigène (↓ de l'expression des molécules du CMH II et des molécules de costimulation). L'IL-10 est par ailleurs un facteur de prolifération et de différenciation des lymphocytes B.

Le TGF- β est produit par de nombreux types cellulaires. Il s'agit d'un puissant inhibiteur des réponses immunes (diminution de l'activation macrophagique et lymphocytaire). Le TGF- β est impliqué dans la différenciation terminale des lymphocytes B en plasmocytes sécréteurs d'IgA.

3.2.2 LES CYTOKINES DES RÉPONSES IMMUNES SPÉCIFIQUES

a. La dichotomie fonctionnelle des cytokines

On peut, de manière très schématique, diviser les réponses immunitaires en deux grandes catégories qualitativement distinctes, les **réponses humorales** qui mettent en jeu la production d'anticorps par le lymphocyte B et les **réponses cellulaires** (réponses cytotoxiques et réactions d'hypersensibilité retardée) impliquant essentiellement les lymphocytes T, mais aussi les macrophages. Il apparaît que dans la majorité des modèles expérimentaux et des situations cliniques étudiées, les cytokines d'origine lymphocytaire sont essentiellement produites par les lymphocytes T auxiliaires (helper) CD4+ dont le rôle est de moduler le type de réponse immunitaire induite. Selon le profil de cytokines qu'ils produisent, on distingue les lymphocytes de type T helper 1 (Th1), effecteur de l'immunité cellulaire, et les lymphocytes de type Th2 qui favorisent la réponse de type humorale.

Les lymphocytes Th1 sont caractérisés par la sécrétion d'**IL-2**, d'**IFN- γ** et de **TNF- β** alors que les lymphocytes **Th2** le sont par la sécrétion d'**IL-4**, d'**IL-5**, d'**IL-6**, d'**IL-10** et d'**IL-13** (Figure 8).

b. Cytokines de l'immunité cellulaire

Les principales cytokines impliquées dans l'immunité cellulaire sont l'IL-2 et l'IFN- γ produites par les lymphocytes Th1 et l'IL-12 produite par les cellules présentatrices d'antigènes.

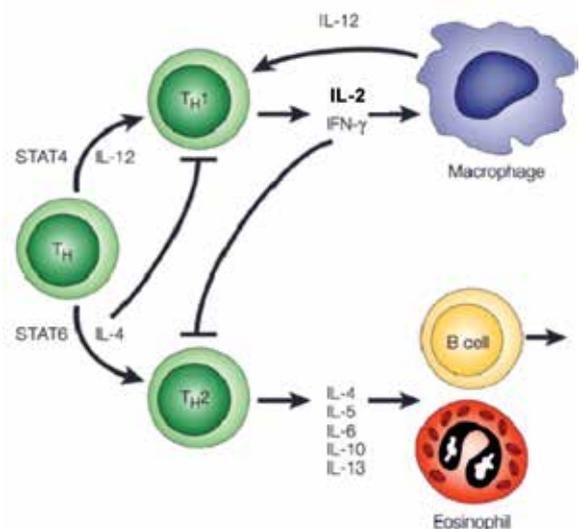
L'**IL-2** et l'**IFN- γ** proviennent essentiellement des cellules T CD4+ Th1 et plus accessoirement des lymphocytes CD8+ et des cellules NK. L'IL-2 agit principalement les lymphocytes T dont elle induit la prolifération (principal facteur autocrine des lymphocytes T) et la synthèse de cytokines. L'IFN- γ d'un puissant activateur des monocytes/macrophages (↑activité cytolytique, ↑production des cytokines pro-inflammatoires et enzymes protéolytiques...). L'IL-2 et l'IFN- γ agissent de façon synergique sur les cellules CD8 cytotoxiques et les cellules NK en augmentant leur cytotoxicité.

L'**IL-12** est une cytokine produite par les **cellules présentatrices d'antigène** : cellules dendritiques, monocytes/macrophages. Elle induit la sécrétion d'IFN- γ par les lymphocytes T et NK et joue ainsi un rôle primordial dans la polarisation Th1. Elle augmente en outre de manière très significative les capacités cytotoxiques des lymphocytes T CD8 et NK.

c. Cytokines de l'immunité humorale

Il s'agit essentiellement des cytokines produites par les cellules Th2 et qui agissent principalement sur la prolifération et la différenciation des lymphocytes B.

Figure 8 : Dichotomie fonctionnelle des lymphocytes T helper



L'IL-4 est le principal facteur de prolifération et de différenciation des lymphocytes B. Impliquée dans la commutation isotypique, L'IL-4 stimule particulièrement la production d'IgE et d'IgG1. Elle induit également la prolifération et la différenciation des lymphocytes Th2. L'IL-4 est également un facteur de croissance des mastocytes.

L'IL-5 est également un facteur de croissance et de différenciation des lymphocytes B, favorisant surtout la synthèse d'IgA. C'est en outre le facteur de croissance des éosinophiles.

L'IL-6, l'IL-10 sont des cytokines pléiotropiques qui jouent un rôle dans la prolifération et la différenciation des lymphocytes B.

L'IL-13 partage avec l'IL-4 la sous-unité α de son récepteur ce qui explique l'effet redondant de ces deux cytokines.

3.2.3 LES CYTOKINES ANTIVIRALES

Les interférons (IFN) sont des glycoprotéines extrêmement hétérogènes douées d'activité antivirale et de propriétés immunomodulatrices et antitumorales. Ils sont classés en deux types :

a. les IFN de type 1 : IFN- α et IFN- β

L'IFN- α et l'IFN- β sont essentiellement produits par les cellules infectées par les virus. Ces molécules activent des mécanismes de défense antiviraux permettant aux cellules voisines de résister à l'infection. Ils sont capables en effet :

- d'inhiber la réplication virale en induisant essentiellement la synthèse d'une protéine antivirale, qui active une endonucléase latente capable de dégrader l'ARN viral,
- d'augmenter le potentiel lytique des cellules NK qui vont permettre la lyse des cellules infectées,
- d'augmenter l'expression des molécules HLA de classe I permettant une meilleure reconnaissance des cellules infectées par les lymphocytes cytotoxiques.

b. les IFN de type 2 ou IFN- γ

À côté de ses activités immunomodulatrices (voir plus haut), l'IFN- γ présente une très faible activité antivirale.

3.2.4 LES CYTOKINES DE L'HÉMATOPOÏÈSE

Le GM-CSF, M-CSF et G-CSF agissent principalement sur la différenciation des lignées granulocytaire et monocytaire.

L'IL-3 ou multi-CSF est un facteur de croissance et de différenciation des précurseurs hématopoïétiques ainsi que des basophiles et des mastocytes.

L'IL-5 favorise la croissance et la différenciation des éosinophiles.

L'IL-7 participe à la lymphopoïèse en induisant la prolifération et la survie des précurseurs des lignées lymphocytaires T et B. C'est également un facteur de croissance des lymphocytes T matures.

3.2.5 LES CHIMIOKINES

Les chimiokines ou chemokines sont des médiateurs de faible poids moléculaire (8-12 kDa) caractérisées par leur capacité à recruter des cellules immunocompétentes selon un gradient chimiotactique. Elles exercent cette fonction par liaison à des récepteurs spécifiques. On distingue principalement deux familles de chimiokines :

- la famille des **CXC-chimiokines** (ou **α -chimiokines**) dont le chef de file est l'**IL-8**, cytokine qui représente un facteur chimiotactique sélectif pour les neutrophiles.
- la famille des **CC-chimiokines** (ou **β -chimiokines**) qui exercent leur pouvoir attractif sur de nombreux types cellulaires à l'exclusion des polynucléaires : MIP-1 α et β , MCP-1, 2,3, 4,5, et RANTES.

LES IMMUNOGLOBULINES

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Décrire la structure générale d'une molécule d'immunoglobuline (Ig)
2. Définir la superfamille des Ig, en citer les principaux membres et indiquer leur structure biochimique commune
3. Décrire le site de liaison de la molécule d'Ig avec son antigène (Ag) spécifique
4. Définir l'isotypie, l'allotypie et l'idiotypie
5. Préciser les fonctions biologiques des fragments Fab et Fc des IgG, IgA, IgM, IgD et IgE
6. Indiquer l'origine des constituants des IgA sécrétoires et leurs propriétés biologiques
7. Décrire le mécanisme de réarrangement des gènes des Ig
8. Décrire les différents mécanismes à l'origine de la diversité des Ig
9. Expliquer le mécanisme à la base de la commutation isotypique des Ig
10. Décrire l'ontogénie des Ig

INTRODUCTION

Les immunoglobulines (Ig) sont des glycoprotéines produites par les lymphocytes B (LcB) et excrétées par leur descendance plasmocytaire. À la différence du TCR qui est toujours membranaire, les Ig peuvent se présenter :

- Soit sous forme **membranaire** exprimées à la surface des LcB et constituant ainsi le récepteur spécifique de l'antigène (Ag) des LcB ou **BCR** (B Cell Receptor).
- Soit sous forme **soluble**, présentes dans tous les liquides biologiques de l'organisme et en particulier le plasma. Les Ig sériques, connues aussi sous le nom d'anticorps (Ac), sont principalement retrouvées dans la fraction des gammaglobulines à l'électrophorèse des protéines sériques d'où l'appellation immunoglobulines.

1. STRUCTURE DES IMMUNOGLOBULINES

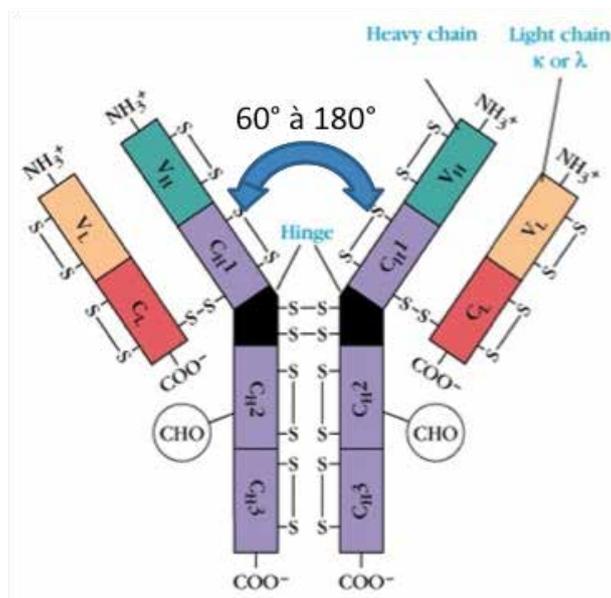
1.1 STRUCTURE GÉNÉRALE DES IG :

L'unité structurale de base d'un monomère d'Ig, comporte 4 chaînes polypeptidiques (Figure 1) : 2 chaînes lourdes identiques (chaînes H pour Heavy) et 2 chaînes légères identiques (chaînes L pour Light). La structure générale est donc de type H₂L₂. La forme, confirmée par l'observation en microscopie électronique, est celle d'un Y comportant un axe de symétrie passant entre les 2 chaînes lourdes.

Les chaînes lourdes d'une molécule d'Ig donnée déterminent la classe de cette Ig. Tous les individus de l'espèce humaine possèdent dans leur sérum cinq classes principales d'Ig : IgG, IgA, IgM, IgD et IgE, par ordre de concentration sérique décroissant, leurs chaînes lourdes sont nommées d'après un équivalent grec : γ , α , μ , δ , ϵ respectivement. Des différences minimales dans les séquences des acides aminés (AA) des chaînes γ et α conduisent à une classification plus approfondie des chaînes lourdes en sous-classes. Chez l'Homme, il y a deux sous-classes de chaînes lourdes α ($\alpha 1$ et $\alpha 2$) et quatre sous-classes de chaînes lourdes γ ($\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$ et $\gamma 4$).

Les chaînes légères sont communes à l'ensemble des classes et des sous-classes des Ig. On en distingue 2 types différents : Kappa (κ)

Figure 1: Structure de base des IgG



dans $\approx 65\%$ des Ig et Lambda (λ) dans $\approx 35\%$ des Ig. Leur étude structurale a été facilitée par leur obtention en grande quantité à partir de l'urine de certains malades atteints de formes particulières de myélome comportant une synthèse importante de chaînes légères. Le poids moléculaire de ces chaînes est de 25 kDa leur permettant de traverser la barrière glomérulaire. Leur présence dans les urines de patients atteints de myélome définit la protéinurie de BENCE JONES.

Le monomère d'Ig comporte toujours la même chaîne lourde et la même chaîne légère. Les chaînes lourdes sont reliées entre elles au niveau de la région charnière (*Hinge*) par des liaisons covalentes (un ou plusieurs ponts disulfures). Les chaînes légères sont reliées aux chaînes lourdes par un pont disulfure intercaténaire. La région charnière des chaînes lourdes est dotée d'une grande flexibilité avec un angle d'ouverture variable de 60° à 180° permettant ainsi une interaction optimale avec l'Ag.

1.2 STRUCTURE DES CHAÎNES LÉGÈRES ET DES CHAÎNES LOURDES :

Le séquençage des chaînes légères et lourdes des Ig a permis de démontrer que les chaînes légères étaient constituées de 213 à 218 AA. Les 107 à 110 AA N-terminaux constituent la partie variable V_L (*Variable Light*) dans laquelle la séquence peptidique est très différente d'une chaîne légère à une autre. Le reste des AA C-terminaux sont identiques et constituent le domaine constant de la chaîne légère C_L (*Constant Light*).

Les chaînes lourdes H comportent en moyenne 460 AA. Les 110 AA N-terminaux constituent la partie variable V_H (*Variable Heavy*) et varient d'une chaîne lourde à une autre. Le reste de la chaîne lourde est la partie constante qui ne varie qu'en fonction de la classe et la sous-classe C_H (*Constant Heavy*).

Globalement une molécule d'Ig est fonctionnellement constituée de deux régions :

- Une région constante, possédant une structure commune à l'ensemble des Ig appartenant à une même classe ou sous-classe pour les chaînes lourdes et à un même type pour les chaînes légères.
- Une région variable, caractérisant les Ig provenant d'un même clone de LcB. Elle est donc différente d'une Ig à une autre.

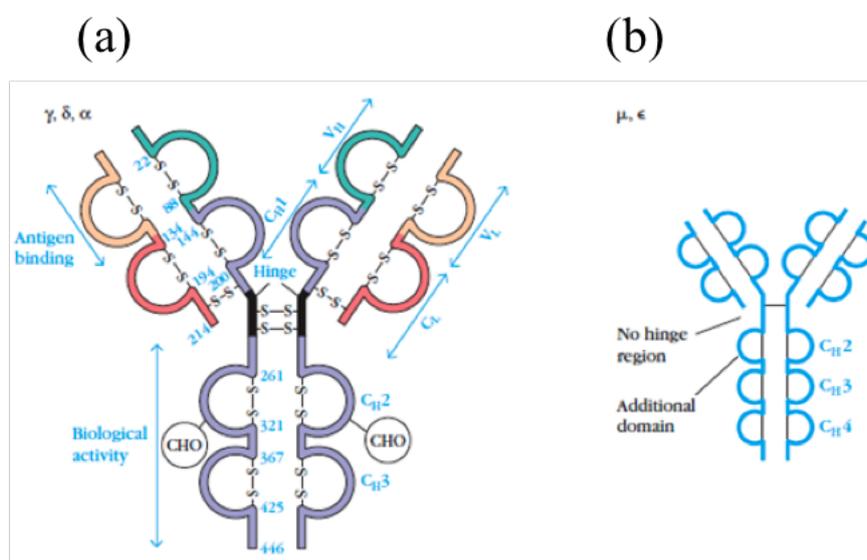
Les analyses des structures primaires (agencement des AA) des régions variables ont permis de montrer que les différences entre régions variables sont concentrées dans 3 zones de chaque chaîne, appelées « zones hypervariables » ou régions déterminant la complémentarité : CDR1 à CDR3 (Complementarity Determining Regions). Ces zones sont séparées par des zones de structure moins variables constituant la « charpente » (Framework). Les 3 CDR de la chaîne légère et les 3 CDR de la chaîne lourde s'organisent en boucles dont la juxtaposition permet la formation du site Ac complémentaire de l'épitope, encore appelé **paratope**. Chaque monomère d'Ig possède deux paratopes identiques entre eux. L'ensemble des sites Ac dont peut disposer un individu constitue son **répertoire B**, lui permettant de reconnaître les déterminants antigéniques correspondants.

1.3 NOTION DE DOMAINE :

Les chaînes lourdes et légères des Ig peuvent être décomposées en domaines. La région constante des chaînes lourdes CH peut être décomposée en domaines d'environ 110 AA chacun : CH1, CH2 et CH3 (un domaine supplémentaire CH4 pour les IgM et les IgE) (Figure 2). Chaque domaine est porteur d'un pont disulfure intracaténaire formant une boucle rapprochant 2 cystéines séparées d'environ 60 positions au niveau de la structure primaire. Les domaines C_L et CH1 sont reliés par un pont disulfure intercaténaire.

Entre les domaines CH1 et CH2 se trouve la région charnière où les ponts disulfures relient les chaînes H entre elles. Cette région est particulièrement sensible aux enzymes protéolytiques.

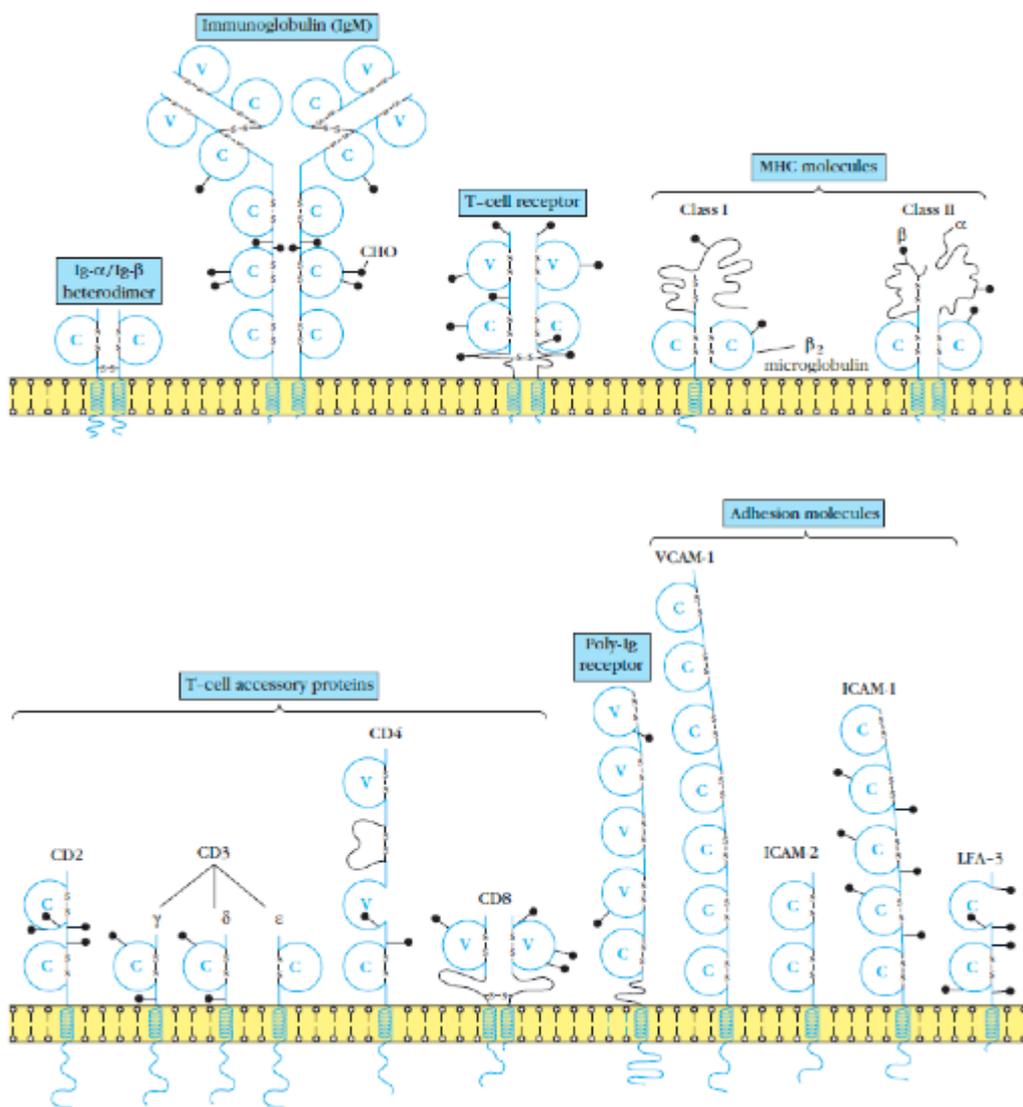
Figure 2 : Structure en domaines des Ig : (a) IgG, IgD et IgA ; (b) IgM et IgE



Ce poly a été téléchargé depuis <http://med-tmss.blogspot.com/2016/08/cours.html>

Ce type de structure en domaine est également retrouvé dans plusieurs glycoprotéines plus ou moins impliquées dans le fonctionnement du système immunitaire. On regroupe toutes ces molécules au sein de la **superfamille des immunoglobulines**, car descendant probablement toutes d'un gène ancestral commun codant pour un domaine primitif « Ig-like » (Figure 3).

Figure 3 : La superfamille des immunoglobulines



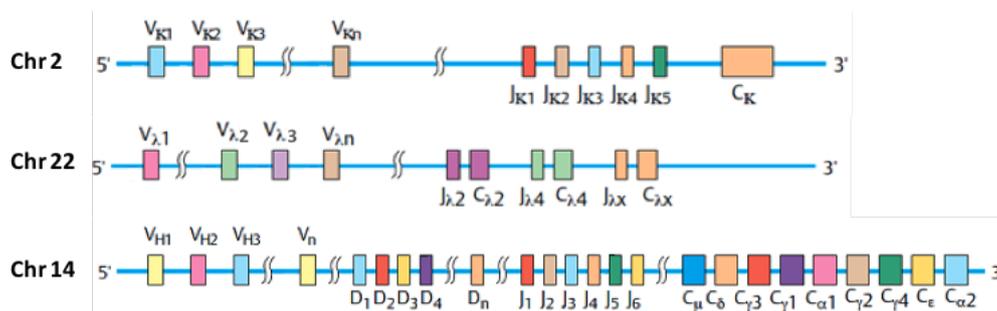
2. RÉARRANGEMENT DES GÈNES DES IMMUNOGLOBULINES

2.1 ORGANISATION DES GÈNES DES IMMUNOGLOBULINES :

Les chaînes légères et les chaînes lourdes des Ig sont codées par plusieurs segments de gènes qui sont organisés en loci sur des chromosomes différents. Chez l'Homme :

- Le locus des gènes des chaînes légères κ est situé sur le chromosome 2.
- Le locus des gènes des chaînes légères λ est situé sur le chromosome 22.
- Le locus des gènes des chaînes lourdes est situé sur le chromosome 14.

Figure 4 : Organisation des gènes kappa ($n=40$), lambda ($n= 30$) et H ($V_n= 50, D_n\approx 30$) des immunoglobulines



Ce poly a été téléchargé depuis <http://med-tmss.blogspot.com/2016/08/cours.html>

Le domaine variable VL d'une chaîne légère est codé par 2 segments géniques distincts : V (Variable) et J (Junction), alors que le domaine variable VH d'une chaîne lourde est codé par 3 segments géniques : V, D (Diversity) et J.

Les segments géniques V, (D) et J sont présents en de multiples exemplaires sur les chromosomes 2, 22 et 14 et occupent des positions éloignées sur l'ADN en configuration germinale (Figure 4).

Les domaines constants CH et CL des chaînes lourdes et légères sont codés par un seul gène correspondant à chaque iso-type et à chaque type respectivement.

2.2 RECOMBINAISON DES GÈNES DES IMMUNOGLOBULINES :

La recombinaison des gènes des Ig se déroule au sein des LcB en cours de maturation au niveau de la moelle osseuse avant tout contact avec un Ag étranger. L'ADN germinale subit des réarrangements ou recombinaisons géniques impliquant différentes enzymes de coupure et de ligation de l'ADN. Ceci permet de juxtaposer un segment V à un segment J pour les chaînes légères, et un segment D à un segment J puis à un segment V pour les chaînes lourdes. Ces segments de gènes sont choisis au hasard parmi les nombreux segments V, (D) et J dont dispose le LcB au début de sa maturation. L'ADN somatique réarrangé sera transcrit en pré-ARNm qui va subir une maturation (épissage ou splicing) permettant la traduction d'une chaîne d'Ig.

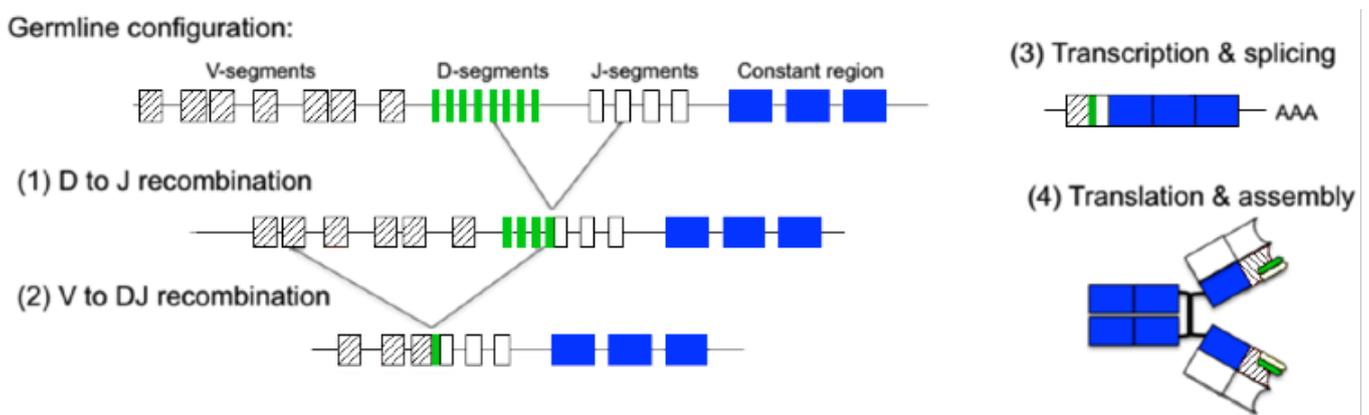
2.2.1 RECOMBINAISON DES GÈNES DES CHAÎNES LOURDES :

L'expression des gènes des chaînes lourdes nécessite deux étapes successives de recombinaison au cours du développement dans la moelle osseuse :

- La première recombinaison se fait entre un gène D et un gène J au niveau du locus H, chacun des deux étant pris au hasard.
- La deuxième recombinaison se fait entre l'un des gènes V choisi de façon aléatoire et le complexe DJ issu de la première recombinaison

Cette double recombinaison conduit à l'association des gènes VDJ fonctionnels et à la transcription d'un ARN messager initial ou primaire VDJ-C μ . Le phénomène d'épissage qui s'en suit permet le rapprochement de VDJ à C μ aboutissant à l'ARN messager mature qui est traduit en une chaîne lourde μ (Figure 5).

Figure 5 : Organisation et réarrangement des gènes des chaînes lourdes



2.3 RECOMBINAISON DES GÈNES DES CHAÎNES LÉGÈRES :

Les segments géniques codant pour la partie variable des chaînes légères, subissent un premier réarrangement qui va rapprocher les gènes V et J au niveau des loci κ ou λ . N'importe quel gène V peut se lier à n'importe quel gène J disponible dans l'ADN germinale. D'une manière similaire à celle décrite pour le locus H, le rapprochement des segments VJ aux segments de la région constante s'effectue également par un phénomène d'épissage de l'ARNm.

2.4 LE PHÉNOMÈNE D'EXCLUSION ALLÉLIQUE :

Au cours de la maturation du LcB, une première recombinaison est tentée sur l'un des deux chromosomes 14 pris au hasard. Si la recombinaison est réussie, c'est-à-dire si une chaîne lourde fonctionnelle est synthétisée, le réarrangement est dit productif. Les réarrangements seront alors bloqués sur le 2^{ème} chromosome 14. Ce mécanisme est à la base de l'**exclusion allélique**, un terme qui signifie qu'un seul des deux allèles s'exprime dans une cellule diploïde. Si au contraire, la tentative sur le 1^{er} chromosome est un échec et ne conduit pas à la synthèse d'un produit fonctionnel (réarrangement abortif), une nouvelle recombinaison est tentée sur le 2^{ème} chromosome. Le même scénario se reproduit avec les chromosomes codant les chaînes légères. Ce phénomène d'exclusion allélique garantit que les Ig issues d'un même clone lymphocytaire B aient une spécificité antigénique unique.

Dans le cas où les réarrangements sur les 2 chromosomes ne sont pas productifs, le LcB ne pourra pas continuer sa maturation et mourra par apoptose.

2.5 ORDRE DE RÉARRANGEMENT :

Le réarrangement des gènes des Ig commence par celui des chaînes lourdes μ . Par la suite, le gène de la chaîne légère κ se réarrange selon le même principe. Si aucun gène κ fonctionnel n'est produit, le réarrangement du gène λ est alors initié.

2.6 MÉCANISMES DE DIVERSITÉ DES IG :

Il existe quatre mécanismes connus à l'origine de la diversité des Ig :

- a/ La diversité combinatoire** : Les multiples exemplaires de chacun des segments V, (D) et J peuvent s'associer de façon indépendante et donc aléatoire. Les différentes combinaisons possibles de ces exemplaires génèrent la diversité combinatoire.
- b/ La diversité jonctionnelle** : Lors des processus de recombinaison V(D) J, l'imprécision des coupures d'ADN entre les différents segments géniques génère des erreurs à ce niveau nécessitant l'implication d'enzymes de réparation de l'ADN. Ceci crée une variabilité dans les zones de jonction entre les segments géniques par délétion ou insertion de nucléotides entre ces segments, précisément dans les régions variables des Ig. Ce phénomène permet d'augmenter encore la diversité créée par les mécanismes de recombinaison.
- c/ Les associations combinatoires H/L** : La troisième source de diversité est indépendante de l'information génétique codant pour les régions variables. Un LcB donné ne peut synthétiser qu'un seul type de chaîne légère et un seul isotype de chaîne lourde. Les différentes combinaisons chaîne H/chaîne L génèrent une diversité pouvant conduire à la synthèse d'Ig différentes.
- d/ Les hypermutations somatiques** : Ce mécanisme de diversité concerne les gènes d'Ig déjà réarrangés au sein de LcB différenciés et activés par la rencontre avec l'Ag. Il a lieu au niveau des centres germinatifs des organes lymphoïdes secondaires au cours de la réponse humorale secondaire. Il se traduit par des mutations ponctuelles au niveau d'un nombre limité de codons des régions variables. Les LcB qui vont exprimer des Ig dont les régions variables présentent une meilleure affinité pour l'Ag seront sélectionnées ; ce phénomène est appelé **maturation d'affinité**.

3. ANTIGENICITE DES IMMUNOGLOBULINES : ISOTYPIE, ALLOTYPIE, IDIOTYPIE

Une molécule d'Ig est elle-même un Ag pouvant induire la production d'Ac dirigés contre divers déterminants associés aux parties constantes et variables. Trois groupes de déterminants définissent l'isotypie, l'allotypie et l'idiotypie d'une molécule d'Ig.

3.1 ISOTYPES :

Les isotypes d'Ig sont des déterminants antigéniques communs à tous les individus d'une même espèce. Ils sont portés par les régions constantes des chaînes lourdes et légères. Ils définissent les cinq classes et les sous-classes des Ig ainsi que le type de chaîne légère κ et λ . Il existe chez l'Homme 9 isotypes de chaînes lourdes, incluant les classes et les sous-classes d'Ig suivantes (IgM, IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgE et IgD), et 2 isotypes de chaînes légères (κ et λ).

3.2 ALLOTYPES:

Ce sont des épitopes antigéniques portés par certaines régions constantes des Ig et différents d'un groupe d'individus à l'autre au sein d'une même espèce. Les variations allotypiques s'apparentent à un polymorphisme génétique. Des allotypes de chaîne γ (au locus Gm), de chaîne α (au locus Am) et de chaîne κ (au locus Km) ont été décrits chez l'Homme.

3.3 IDIOTYPES:

Ce sont des épitopes portés par les parties variables de l'Ig (VH et VL) au niveau ou en dehors du site de liaison de l'Ig à l'épitope antigénique. L'idiotypie représente ainsi la forme la plus importante de variabilité antigénique des Ig.

4. FONCTIONS DES IMMUNOGLOBULINES

La fonction des Ig a été comprise grâce à des expériences de clivage par les enzymes protéolytiques. En effet, l'étude des différents fragments obtenus après action de ces enzymes a permis d'élucider les relations existant entre la structure et les fonctions d'une molécule d'Ig. Deux enzymes ont été particulièrement utilisées dans ces expériences :

- La papaïne : scinde l'Ig en amont des ponts disulfures de la région charnière en 3 fragments : 2 Fab (Fragment antigen binding) et 1 fragment Fc (Cristallisable).

- La pepsine : scinde l'Ig en aval des ponts disulfures et dégrade la portion C-terminale des chaînes lourdes aboutissant à un seul gros fragment (Fab')₂ (Figure 6).

À la dualité structurale de l'Ig correspond une dualité fonctionnelle :

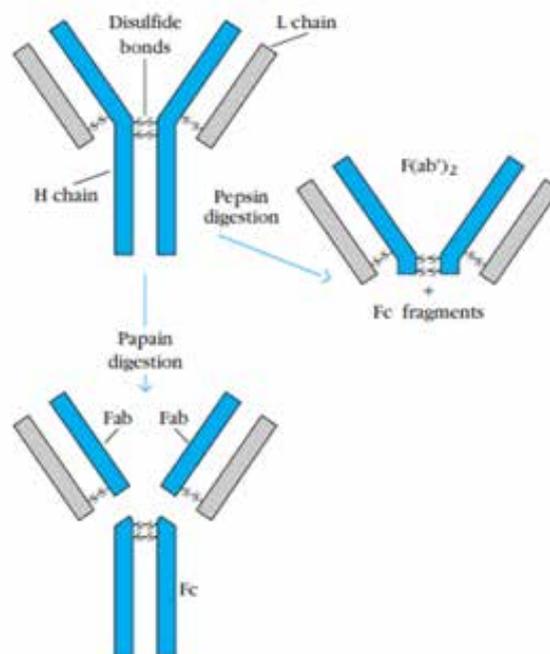
a/ Le pôle Fab : au niveau de la région N-terminale, les domaines variables (VH et VL) sont impliqués dans la reconnaissance de l'Ag. Cette fonction permet aux Ig de se lier de manière spécifique à un nombre quasi illimité d'Ag différents assurant ainsi leur **neutralisation**.

b/ Le pôle Fc : Le fragment Fc est le support de plusieurs activités biologiques très importantes et variées, appelées **fonctions effectrices** des Ig qui interviennent suite à la liaison du pôle Fab à son Ag spécifique. Les propriétés effectrices dépendent de la nature des fragments Fc, et donc de la classe et sous-classe des Ig.

Les principales **fonctions effectrices** des Ig sont :

- **Activation du complément** (Cf cours complément).
- **Liaison aux récepteurs R_{FC} exprimés à la surface des cellules** : De nombreuses cellules possèdent des récepteurs glycoprotéiques capables de lier le fragment Fc des Ig suite à la reconnaissance d'un Ag. Le pontage des R_{FC} va induire diverses fonctions effectrices. En effet, grâce à ces récepteurs spécifiques, les cellules phagocytaires (macrophages et polynucléaires neutrophiles) peuvent fixer des microorganismes opsonisés c'est-à-dire préalablement recouverts d'Ig, ce qui facilite leur phagocytose. La liaison des Ig aux R_{FC} peut aussi induire des signaux d'activation cellulaire permettant la dégranulation des mastocytes, la cytotoxicité dépendante des Ac (ADCC) (Antibody Dependent Cell-mediated Cytotoxicity) ainsi que le transport transépithélial ou placentaire.
- **Catabolisme des Ig** : C'est le fragment Fc, et plus précisément le domaine CH₂, qui régule la vitesse du catabolisme des Ig. La demi-vie des sous-classes d'IgG (à l'exception de l'IgG3) est de 21 jours ce qui explique que l'administration des Ig substitutives, notamment chez les patients présentant des déficits humoraux, se fait toutes les 3 semaines.

Figure 6 : Fragments constituant les Ig : Fab et Fc



5. CARACTÉRISTIQUES DES DIFFÉRENTES CLASSES D'IMMUNOGLOBULINES

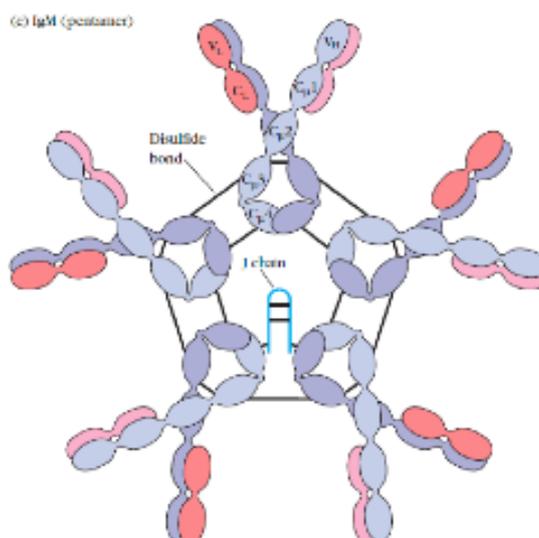
5.1 LES IgG:

La molécule d'IgG a un PM de 150 kDa. Chez l'Homme, les IgG constituent 75% des Ig sériques avec une concentration variant de 8 à 16 g/l. L'IgG est la principale classe d'Ig synthétisée au cours de la réponse humorale secondaire. C'est la seule classe d'Ig qui peut traverser le placenta grâce au récepteur FcRn. La liaison des IgG à leurs récepteurs Fcγ exprimés par les cellules douées d'un potentiel cytotoxique permet l'activation de ces dernières et la lyse des cellules cibles spécifiquement reconnues par les IgG ; c'est le phénomène d'ADCC. Par ailleurs, toutes les sous-classes d'IgG activent le complément à l'exception des IgG4. D'autre part, les IgG1 et IgG3 peuvent opsoniser certains pathogènes pour faciliter leur phagocytose grâce à leur liaison à des récepteurs spécifiques Fc au niveau des cellules phagocytaires.

5.2 LES IgM:

La molécule d'IgM sérique est un pentamère de 900 kDa. La concentration sérique des IgM chez l'adulte varie de 0,5 à 2 g/l. Les cinq unités sont reliées entre elles de façon covalente par des ponts disulfures et forment une structure en étoile (Figure 7). Une chaîne de jonction J synthétisée par le plasmocyte stabilise le complexe. L'IgM représente le premier Ac produit par les plasmocytes suite à une primo-infection par un agent pathogène. La concentration sanguine des IgM décroît rapidement pour être remplacée par d'autres isotypes lors de la réponse immune secondaire. La distribution des IgM est essentiellement intravasculaire à cause de son PM élevé. Les molécules d'IgM monomériques exprimées à la surface des LcB possèdent en plus une partie transmembranaire et jouent le rôle de récepteur spécifique à l'Ag. L'IgM est l'isotype le plus efficace dans l'activation du complément. C'est aussi la seule classe permettant l'agglutination des Ag. Ces deux caractéristiques découlent de sa structure pentamérique.

Figure 7 : Pentamère d'IgM



5.3 LES IgA :

Les IgA existent sous plusieurs formes :

- L'IgA sérique se présente sous forme essentiellement monomérique, son PM est voisin de 160 kDa. Des formes dimériques et polymériques de 2 à 5 unités peuvent être présentes, mais en quantité moindre. Dans les formes polymériques une chaîne J unit les fragments Fc des monomères.
- L'IgA sécrétoire est un dimère d'un PM voisin de 400 kDa. Elle est constituée par deux monomères IgA dont les fragments Fc sont unis par la chaîne J. Une glycoprotéine (PM = 70 kDa) appelée « pièce sécrétoire » stabilise le dimère d'IgA (Figure 8).

Les surfaces épithéliales muqueuses sont le site d'action et de synthèse des IgA. Ces IgA, sous forme dimérique, associées par une chaîne J, sont synthétisés par les plasmocytes localisés dans la lamina propria située au-dessous de la membrane basale de nombreux épithéliums. Cette forme polymérique d'IgA se fixe spécifiquement sur un récepteur appelé récepteur poly-Ig présent au pôle basolatéral des cellules épithéliales qui le synthétisent. Ce complexe est internalisé et transporté à travers le cytoplasme vers le pôle apical de la cellule. Ce processus est appelé transcytose au cours duquel un clivage enzymatique du récepteur poly Ig permet la libération du dimère d'IgA. Une partie du récepteur poly Ig reste cependant accrochée aux régions Fc des IgA. Ce fragment du récepteur, appelé pièce sécrétoire, protège les IgA contre la dégradation par les enzymes protéolytiques présentes sur les surfaces muqueuses et dans les sécrétions exocrines (Figure 9).

On connaît actuellement deux sous-classes d'IgA : IgA1 et IgA2. Les IgA1 représentent 90% environ des IgA sériques. Les IgA2 constituent 50% des IgA sécrétoires, elles sont plus résistantes aux protéases bactériennes et jouent un rôle important dans l'immunité des muqueuses grâce à leur fonction de neutralisation.

5.4 LES IgD:

La molécule d'IgD a un PM de 170 kDa. Son taux sérique est de l'ordre de 0,05 à 0,4 g/l. Les IgD, en association avec les IgM monomériques membranaires, caractérisent le stade de LcB matures naïfs jouant ainsi le rôle de récepteur pour l'Ag. À l'heure actuelle, la fonction des IgD sériques reste inconnue.

5.5 LES IgE:

Le monomère d'IgE a un PM de 190 kDa. Les IgE sont présentes à l'état de traces dans le sérum humain normal avec un taux sérique de 0,1 à 1 mg/l nécessitant des méthodes radio-immunologiques ou immuno-enzymatiques pour leur dosage.

Les IgE jouent un rôle important au cours de l'hypersensibilité immédiate ou de type I. Elles se fixent par leur fragment Fc sur les RFc ϵ de type 1 présents à la surface des mastocytes et des basophiles et entraînent leur dégranulation (libération de médiateurs inflammatoires) lors d'un second contact avec le même allergène.

Les IgE sont également très importantes dans la défense antiparasitaire et essentiellement anti-helminthes via leur liaison au CD23 (RFc ϵ de type 2) présent à la surface de cellules cytotoxiques telles que les éosinophiles et certains Lc.

Figure 8 : Structure des IgA sécrétoires

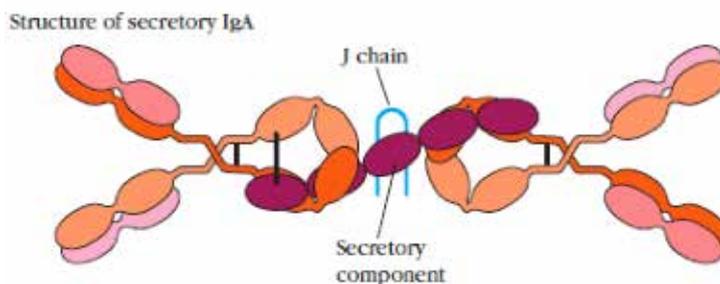
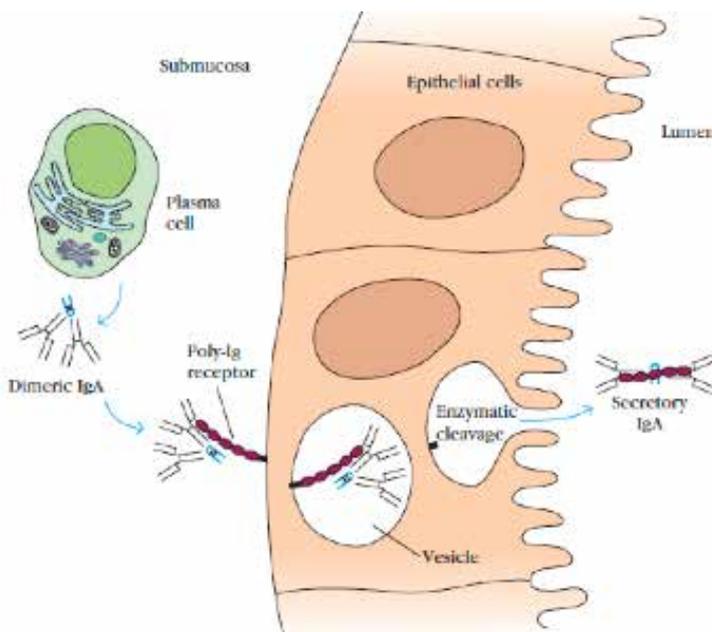


Figure 9 : sécrétion, transport et excrétion des IgA sécrétoires



Principales caractéristiques structurales et fonctionnelles des immunoglobulines

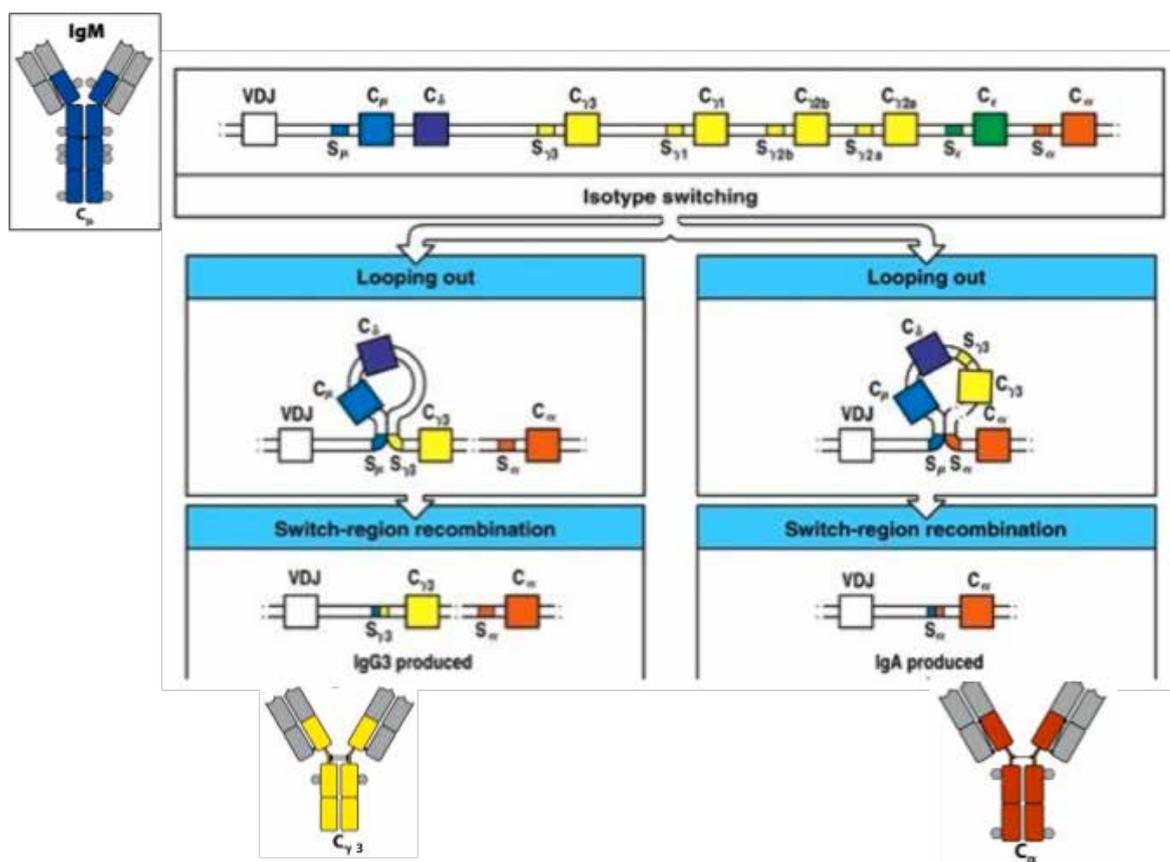
Propriétés/Activité	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA1	IgA2	IgM	IgE	IgD
Composant de la chaîne lourde	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 3$	$\gamma 4$	$\alpha 1$	$\alpha 2$	μ	ϵ	δ
Poids moléculaire (kDa)	150	150	150	150	150-600	150-600	900	190	150
Formes polymériques	-	-	-	-	+	+	+	-	-
Taux sérique normal en (mg/ml)	9	3	1	0.5	3	0.5	1.5	0.0003	0.03
Demi-vie dans le sérum in vivo (jours)	23	23	8	23	6	6	5	2.5	3
Active la voie classique du complément	+	+/-	++	-	-	-	++	-	-
Passe à travers le placenta	+	+/-	+	+	-	-	-	-	-
Présent sur la membrane des LcB matures naïfs	-	-	-	-	-	-	+	-	+
Se lie aux récepteurs Fc des phagocytes	++	+/-	++	+	-	-	-	-	-
Transport à travers la muqueuse	-	-	-	-	++	++	+	-	-
Induit la dégranulation des mastocytes	-	-	-	-	-	-	-	+	-

6. COMMUTATION ISOTYPIQUE

Au cours de la réponse immune secondaire, les LcB activés par les Ag thymo-dépendants vont subir un processus appelé commutation de classe ou « Switch » qui va permettre la production de différentes classes d'Ig (autres que les IgM) en fonction de la nature du peptide antigénique et du microenvironnement cytokinique. Ce processus survient lors d'un second contact avec l'Ag ou en cas de persistance de l'Ag dans l'organisme et va s'associer à des modifications des centres germinatifs des follicules des ganglions lymphatiques. Ce processus intéresse exclusivement les régions constantes des chaînes lourdes. Par conséquent, ni la région variable de la chaîne lourde ni la région variable de la chaîne légère ne sont modifiées. Sur le plan moléculaire, la commutation de classe est due à un événement de recombinaison de l'ADN entre des séquences particulières dites S pour (Switch), situées en amont des différents gènes C (à l'exception de C δ) avec délétion de l'ADN intermédiaire (Figure 10).

La recombinaison va ainsi générer des Ac de même spécificité, mais de classes différentes. Ces Ac diffèrent par leurs fonctions effectrices liées au fragment Fc, assurant ainsi une protection plus adaptée et plus efficace.

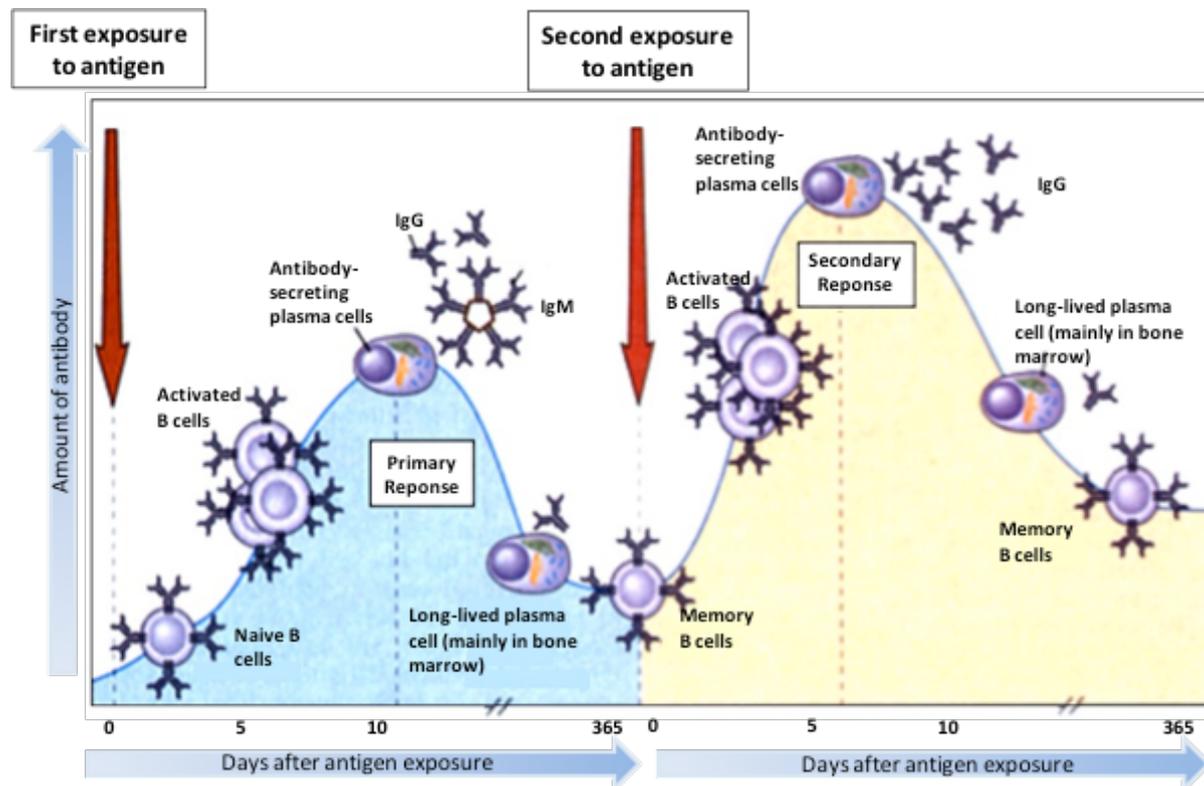
Figure 10 : Schéma général de la commutation isotypique



7. CINÉTIQUE DE LA SYNTHÈSE DES IMMUNOGLOBULINES

Lors d'un premier contact avec l'Ag, il y a apparition après un certain temps de latence d'une réponse immune primaire essentiellement à IgM. Le contact ultérieur induit une réponse secondaire plus rapide, plus importante, plus durable (plateau) et à prédominance IgG (Figure 11).

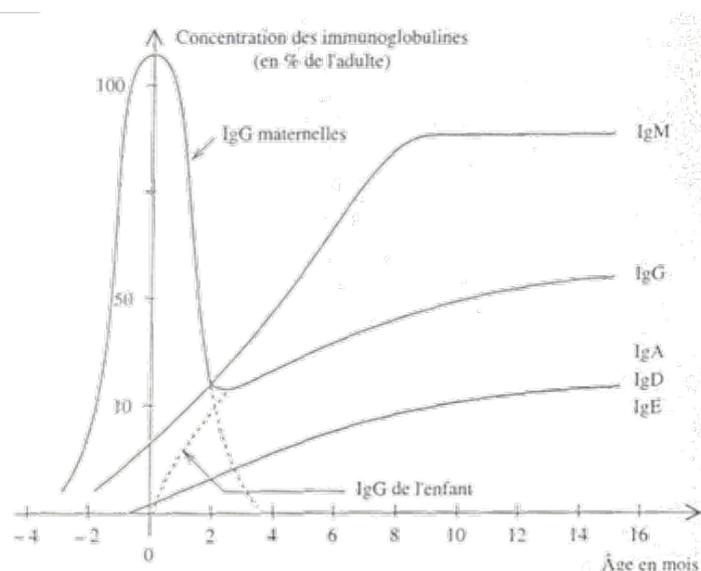
Figure 11 : cinétique de la production des immunoglobulines



8. ONTOGÈNESE DES IMMUNOGLOBULINES

Le fœtus est capable de synthétiser des IgM et de faibles quantités d'IgG (Figure 12). Les IgG que l'on trouve dans le sang du cordon sont essentiellement des IgG d'origine maternelle qui passent dans la circulation fœtale surtout à partir de la 20ème semaine de la grossesse. Après la naissance la synthèse des IgM et des IgG augmente progressivement pour atteindre des taux stables vers l'âge de 18 mois. Les IgA n'atteignent les taux de l'adulte que plus tard (2 à 4 ans). Les IgG maternelles diminuent progressivement après la naissance. Une hypogammaglobulinémie physiologique apparaît aux alentours de l'âge de 4 mois en raison d'un taux encore faible des IgG produits par le nouveau-né. La constatation d'une élévation des IgM dans le sang du cordon ou chez le nouveau-né doit faire suspecter une infection intra-utérine.

Figure 12 : Cinétique de synthèse des différentes Ig en période périnatale



9. LES IMMUNOGLOBULINES EN PATHOLOGIE

9.1 LES DÉFAUTS DE SYNTHÈSE DES Ig :

Deux exemples de déficits immunitaires primitifs illustrent les défauts de synthèse des immunoglobulines :

- L'agammaglobulinémie est un déficit immunitaire primitif humoral qui se caractérise par l'absence de LcB circulant et des taux réduits ou absents de toutes les classes d'Ig sériques. L'apparition des signes cliniques coïncide en général avec la diminution des Ig d'origine maternelle, habituellement vers l'âge de 4 mois. Les patients présentent une susceptibilité accrue aux infections. La substitution par les Ig intraveineuses représente le traitement de choix.
- Les syndromes Hyper-IgM (HIGM) représentent un groupe hétérogène de déficits immunitaires primitifs, caractérisés par des défauts de commutation isotypique des Ig associés parfois à des défauts d'hypermutation somatique. Par conséquent, les personnes souffrant de ces déficits présentent un taux normal ou augmenté d'IgM contrastant avec une diminution ou une absence des IgG, IgA et IgE. Ce défaut de production des Ig les rend sensibles à différents types d'infections.

9.2 LES GAMMAPATHIES MONOCLONALES

Ce sont des désordres lymphoprolifératifs de la lignée B induisant une prolifération d'un clone unique de plasmocytes et la production d'une Ig monoclonale. Ces Ig sont caractérisées par la même chaîne lourde et légère et la même spécificité. Les Ig monoclonales sont habituellement retrouvées dans le sang et/ou les urines et se présentent sous la forme d'un pic étroit à l'EPP sériques puisqu'elles ont les mêmes PM et pHi.

DÉVELOPPEMENT DES LYMPHOCYTES T ET B

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1- Citer une expérience qui met en évidence l'importance du microenvironnement thymique dans la maturation du lymphocyte T.
- 2- Connaître les stades de maturation du lymphocyte T
- 3- Préciser les caractéristiques de chaque stade de maturation du lymphocyte T.
- 4- Décrire les phénomènes de réarrangement selon le stade de maturation du lymphocyte T.
- 5- Citer les principales molécules de surface exprimées à chaque stade de maturation du lymphocyte T.
- 6- Expliquer le phénomène de sélection positive.
- 7- Expliquer le phénomène de sélection négative.
- 8- Décrire le TCR.
- 9- Préciser les caractéristiques des lymphocytes T gd.
- 10- Citer les éléments du microenvironnement médullaire nécessaires à la maturation des lymphocytes B.
- 11- Citer les stades de maturation des lymphocytes B.
- 12- Préciser les caractéristiques de chaque stade de maturation du lymphocyte B.
- 13- Décrire les phénomènes de réarrangement selon le stade de maturation du lymphocyte B.
- 14- Citer les principales molécules de surface exprimées à chaque stade de maturation du lymphocyte B.
- 15- Préciser la différence structurale entre un pré-BCR et un BCR.
- 16- Décrire le BCR.
- 17- Énumérer les corécepteurs activateurs et inhibiteurs du lymphocyte B.

DÉVELOPPEMENT DES LYMPHOCYTES T

INTRODUCTION

Les lymphocytes T (LT) et B se développent à partir d'un progéniteur lymphoïde commun dans la moelle osseuse, mais la lignée destinée à donner naissance aux LT quitte la moelle osseuse et migre vers **le thymus**. C'est la raison pour laquelle ces lymphocytes sont dits dépendants du thymus (T) ou cellules T. Au cours de leur différenciation intrathymique, le LT va acquérir une propriété fondamentale qui est la capacité de reconnaître une multitude d'antigènes. Cette propriété est liée à l'acquisition de récepteurs de reconnaissance de l'antigène appelé **TCR** (T Cell Receptor) dont la diversité est générée par des mécanismes de réarrangement génique. L'expression du TCR permettra aussi d'aboutir à des processus de sélection intrathymique favorisant la différenciation des lymphocytes T capables de reconnaître les peptides antigéniques dans un contexte moléculaire particulier, en association avec les molécules du **complexe majeur d'histocompatibilité du soi**.

Une fois leur développement terminé dans le thymus, les LT rejoignent la circulation sanguine puis les organes lymphoïdes secondaires et vont circuler jusqu'à ce qu'elles rencontrent leurs antigènes spécifiques. Les LT matures circulants qui n'ont pas encore rencontré l'antigène sont appelés LT **naïfs**. La reconnaissance du peptide antigénique va induire la prolifération et la différenciation en cellules T **effectrices** ayant des fonctions **cytotoxiques** (LT CD8+) ou auxiliaires/**helper** (LT CD4+).

1. MATURATION DES LT :

1.1. LOCALISATION :

Le thymus est l'organe lymphoïde **primaire** dans lequel les précurseurs T, d'origine médullaire, subissent les processus de différenciation qui les conduisent au stade de LT matures. Il accomplit en ce sens le même rôle que celui de la moelle osseuse vis-à-vis des précurseurs B. L'importance du thymus a été d'abord découverte par des expériences sur la souris. L'ablation chirurgicale du thymus (**thymectomie**) à la période néonatale entraîne un déficit immunitaire portant sélectivement sur les LT. De même il existe une lignée de souris porteuse d'une mutation dite **nude**, caractérisée sur le plan phénotypique par une absence de pelage et une agénésie thymique, cause d'un déficit de l'immunité cellulaire par absence de LT. L'équivalent chez l'homme a été décrit sous le nom de **syndrome de DiGeorge**, consécutif à une embryopathie qui touche les troisièmes et quatrième arcs branchiaux. La conséquence en est une agénésie thymique associée à d'autres malformations.

1.2. IMPORTANCE DU MICROENVIRONNEMENT THYMIQUE :

Le thymus contient de nombreux précurseurs de LT ou **thymocytes** en développement entourés d'un réseau de cellules épithéliales formant le **stroma thymique**, qui fournit un environnement unique analogue à celui qui est fourni par les cellules stromales de la moelle osseuse pour l'hématopoïèse. Chez la souris nude, l'épithélium thymique ne se différencie pas et la transplantation d'un thymus d'une souris scid (absence de lymphocytes T et B secondaire à une anomalie de réarrangement) à une souris nude conduit à un développement normal des LT.

1.3. STADES DE MATURATION :

Les précurseurs des thymocytes qui pénètrent dans le thymus n'expriment à leur surface ni le TCR, ni les molécules CD3, CD4 et CD8. Ce sont des cellules blastiques qui vont donner naissance au LT mature naïf en 3 étapes marquées par des modifications des marqueurs membranaires :

Le stade I, ou **double négatif**, comprend des thymocytes qui ne possèdent pas de molécules CD4 et CD8 : ils sont dits CD4⁻CD8⁻. Le stade II est composé de thymocytes CD4⁺CD8⁺ ou **double positifs** alors que le stade III comprend deux sous-populations de thymocytes **simple positifs**, CD4⁺CD8⁻ et CD4⁻CD8⁺.

Les réarrangements des chaînes du TCR et l'expression des molécules coréceptrices CD4 et CD8 se font dans un ordre précis : après les gènes γ et δ c'est le gène β du TCR qui est réarrangé avant l'expression des molécules CD8 puis CD4, elle-même rapidement suivie par le réarrangement de la chaîne α (Figure 1).

a. Thymocytes doubles négatifs CD4⁻ CD8⁻

Ces cellules sont dites doubles négatives, car elles n'expriment ni le CD4, ni le CD8, ni même le CD3. Les thymocytes doubles négatifs représentent environ **5%** des thymocytes. Ils sont concentrés dans la **région sous-capsulaire du cortex thymique**. Ces cellules n'expriment que des marqueurs de prolifération, tels que le récepteur de la transferrine (CD71) ou la molécule CD38 et CD34, commune à tous les précurseurs hématopoïétiques. Les thymocytes doubles négatifs prolifèrent activement à ce stade et acquièrent plusieurs marqueurs de différenciation et d'activation (CD2, CD44, CD25, c-kit.) (Figure 2). L'engagement irréversible vers la lignée T se traduit par l'expression cytoplasmique des sous-unités du complexe CD3 et par l'activation des réarrangements des gènes des chaînes γ, δ et β du TCR. Les cellules doubles négatives qui réarrangent et expriment les gènes codant pour le **TCR $\gamma\delta$** associé à la molécule CD3 représentent 20 % des cellules doubles négatives et semble représenter une lignée distincte à ce stade, évoluant pour son propre compte et dont nous reverrons ultérieurement les caractéristiques.

Figure 1 : Les trois étapes de maturation intra thymique des LT

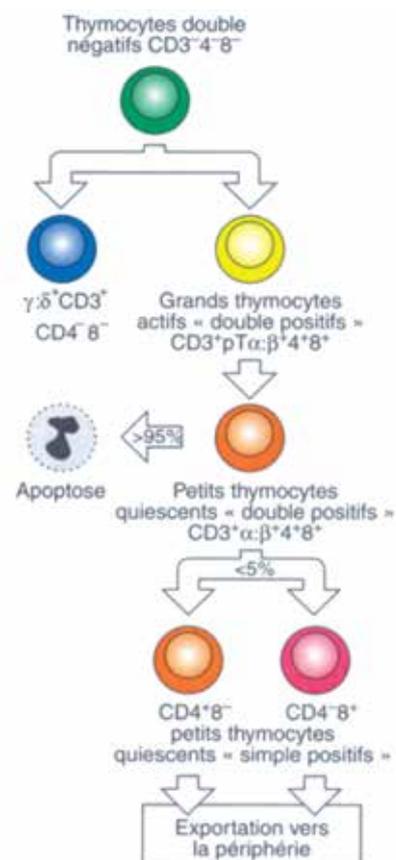
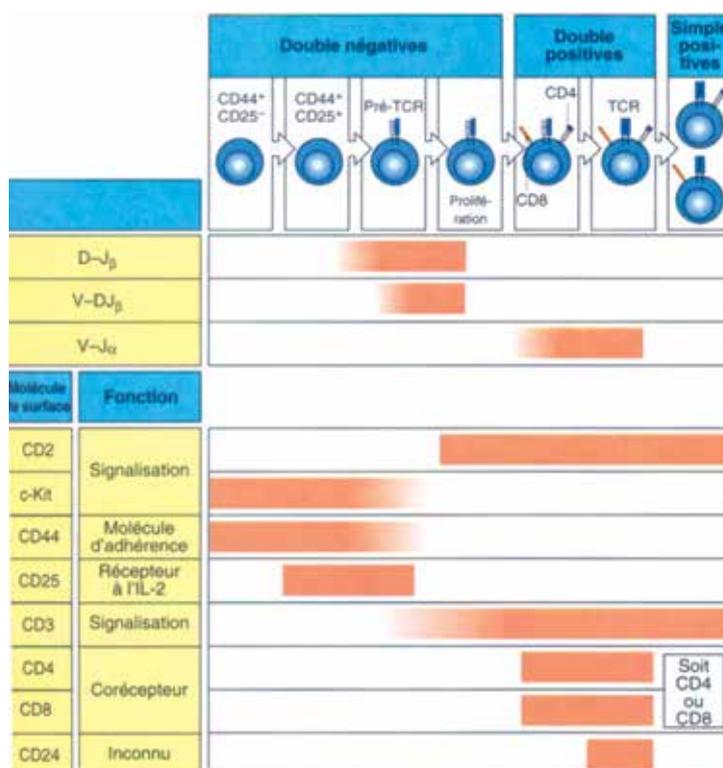


Figure 2 : Stades de maturation des LT et expression des protéines membranaires



Dans la majorité des précurseurs, le gène de la chaîne β se réarrange correctement ce qui aboutit à la production de chaînes β fonctionnelles qui s'apparient avec une chaîne substitutive appelée **pT α** (pre-T cell α), leur permettant d'assembler un récepteur **de cellule pré-T** analogue en structure et en fonction aux récepteurs des cellules pré-B (Figure 3). L'assemblage CD3/ β pT α conduit à la prolifération cellulaire, à l'arrêt de nouveaux réarrangements de gènes de la chaîne β , à l'expression de CD4 et de CD8 et au début des réarrangements des gènes de la chaîne α . Cette étape marque la transition vers le stade double positif.

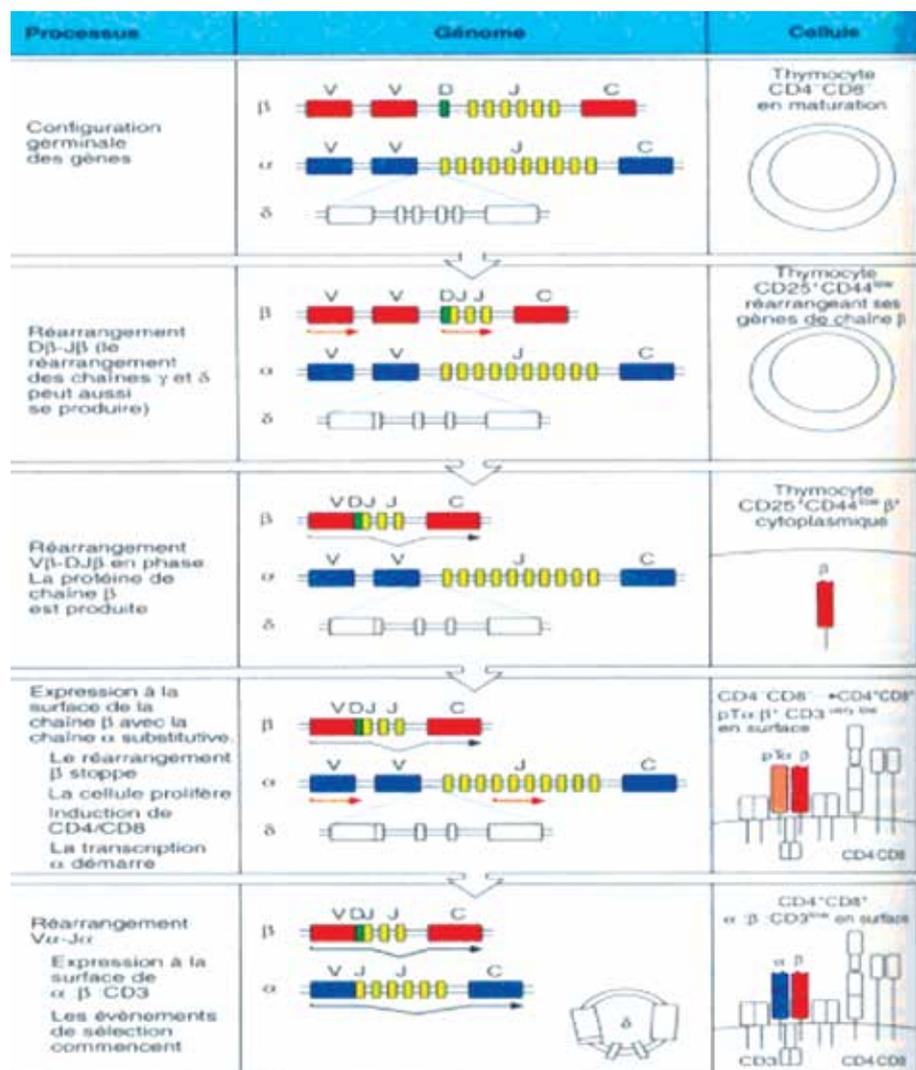
b. Thymocytes doubles positifs CD4⁺ CD8⁺

Ils représentent **85 %** des thymocytes et sont caractérisés par l'apparition des molécules **CD4, CD8 et CD1**. C'est à ce stade que surviennent les réarrangements de la chaîne α du TCR. Ceci aboutit à un thymocyte double positif, exprimant à la fois la molécule CD4 et la molécule CD8 ainsi qu'un TCR $\alpha \beta$ (Figure 3). Cette cellule va subir la **sélection positive** au contact des molécules HLA des cellules épithéliales thymiques corticales. Seuls les thymocytes capables d'interagir, via leur TCR, avec les molécules du CMH de l'individu exprimées dans le thymus, vont survivre. Les thymocytes doubles positifs dont le TCR ne reconnaît pas avec une affinité suffisante les molécules du CMH exprimées dans le thymus meurent après deux à trois cycles cellulaires. Ce mécanisme explique le phénomène de **restriction allogénique**. La sélection positive détermine également le type de **co-récepteur** exprimé. Le thymocyte double positif CD4⁺CD8⁺ sélectionné pour son aptitude à se lier à un antigène du CMH perdra sa capacité d'expression du CD8 s'il reconnaît un antigène du CMH de classe II, et à l'inverse, celle du CD4 s'il reconnaît un antigène de classe I.

c. Thymocytes simples positifs CD4⁺ ou CD8⁺

Les lymphocytes T survivant à cette deuxième étape voient leur densité de TCR augmenter et perdent l'expression d'une des deux molécules co-réceptrices : le résultat en est l'obtention de LT simple positif mature **TCR $\alpha\beta$ CD4⁺** ou **TCR $\alpha\beta$ CD8⁺**. Ces cellules ne représentent que **10 %** des thymocytes. Après la première étape de sélection positive qui aboutit à un thymocyte capable d'interagir avec les molécules HLA du soi, un deuxième processus de sélection intervient afin d'éliminer les LT capables de se lier avec une trop forte affinité aux **peptides autoantigéniques** présents dans le thymus et présentés par les molécules HLA des **CPA** que sont les **macrophages** et les **cellules dendritiques** de la jonction cortico-médullaire. Cette sélection négative permet d'établir la **tolérance au soi**, et est dite **centrale**. Les LT simples positifs matures non autoréactifs sont ainsi prêts à être exportés en périphérie.

Figure 3 : Corrélation des stades de maturation des LT avec le réarrangement des gènes du TCR.



2. DESCRIPTION DES RECEPTEURS ET CORECEPTEURS MEMBRANAIRES DU LYMPHOCYTE T :

Les différents stades de maturation aboutissent à un LT caractérisé par l'expression d'un TCR, mais aussi par un ensemble de co-récepteurs dont certains interviennent dans les mécanismes d'activation du LT.

2.1. STRUCTURE DU TCR :

Les récepteurs T sont des structures **hétérodimériques**, constituées de 2 sous-unités γ et δ ou α et β liées par un pont disulfure. Ces hétérodimères sont obligatoirement associés à un ensemble de chaînes glycoprotéiques invariantes constituant le complexe **CD3**. Ce dernier assure la transduction du signal généré après interaction entre le TCR et son antigène. Chaque chaîne α , β , γ ou δ comporte un domaine variable distal et une région constante proximale à la membrane (Figure 4). La partie constante, codée par un gène C, peut être subdivisée en 3 régions : un domaine globulaire externe stabilisé par plusieurs liaisons covalentes intrachânes, une partie transmembranaire hydrophobe où l'on retrouve un ou deux acides aminés chargés impliqués dans des interactions avec les chaînes du CD3 et une partie cytoplasmique très courte. Le domaine variable est quant à lui codé par 2 ou 3 segments géniques : V (variable) et J (jonction) dans le cas des chaînes α et γ ; V, D (diversité) et J dans le cas des chaînes β et δ . La région variable comporte 3 régions hypervariables (**CDR1, CDR2 et CDR3**) analogues à celles retrouvées dans la région V des chaînes des immunoglobulines. Ces régions vont participer à la formation du site de reconnaissance du complexe peptide-CMH. À l'instar des immunoglobulines, les régions variables du TCR présentent une large **diversité** dont les mécanismes sont similaires à ceux générant la diversité des immunoglobulines **à l'exception des phénomènes d'hypermutations**.

2.2. LA MOLÉCULE CD3

La portion intracytoplasmique des chaînes du TCR ne comprend que 5 acides aminés et est donc trop courte pour transmettre le signal d'activation consécutif à la liaison du peptide antigénique. Comme pour le BCR, le TCR est donc associé à un complexe multicaténaire de signalisation, la molécule **CD3**, dont certaines chaînes ont une longue portion intracytoplasmique avec des motifs **ITAM** constitués d'une séquence d'acides aminés YxxL, où Y et L sont respectivement une tyrosine et une leucine et x des acides aminés indifférents. Un tel motif est capable d'activer les tyrosines kinases.

La fonction du CD3 est double : assure

- la **signalisation**
- le **transport** du TCR à la membrane

Le complexe moléculaire CD3, constitué de chaînes monomorphes, est obligatoirement associé au TCR et est donc présent **sur tous les lymphocytes T** et pour cette raison est un marqueur de différenciation permettant de dénombrer l'ensemble de ces derniers : on dit d'un tel marqueur que c'est un marqueur **pan-T**.

La molécule CD3 est un assemblage de **5 chaînes** : trois d'entre elles, α , γ et δ , possèdent un domaine extracellulaire apparenté à ceux retrouvés dans les immunoglobulines. Elles font donc partie de la superfamille des immunoglobulines : α , γ et δ . Les deux autres, ζ et η , ne possèdent qu'une courte portion extracellulaire de 9 acides aminés.

Le complexe multimoléculaire CD3 associé au TCR est constitué de **3 dimères** : deux hétérodimères $\gamma\epsilon$ et $\delta\epsilon$ et un dimère $\zeta\zeta$ ou $\zeta\eta$ (Figure 5).

Figure 4 : structure du TCR

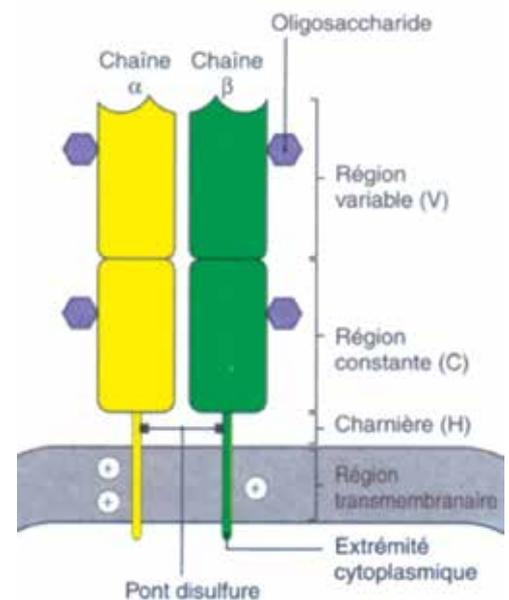
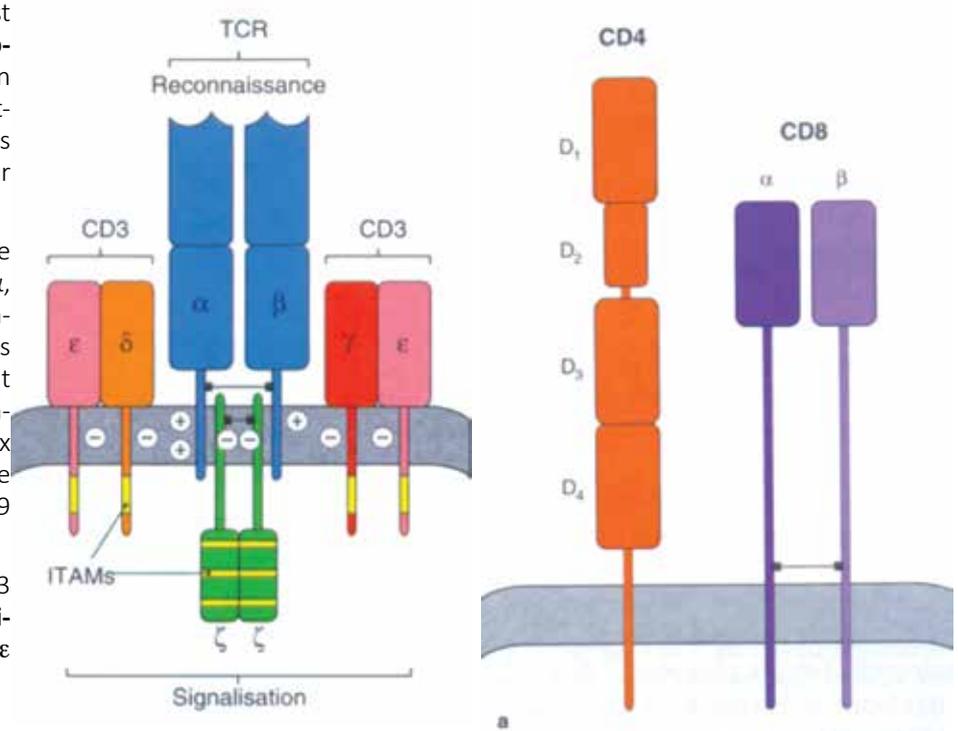


Figure 5 : structure des corécepteurs



2.3 LES MOLECULES CO-RECEPTRICES CD4 ET CD8

La particularité de reconnaissance par le lymphocyte T du peptide antigénique en association avec la molécule présentatrice du CMH, phénomène connu sous le nom de **restriction par le CMH**, impose l'existence de corécepteurs associés au complexe TCR-CD3 capable de distinguer les deux classes d'antigènes du CMH. Les molécules **CD4** reconnaissent la partie invariante des antigènes de **classe II** du CMH alors que les molécules **CD8** reconnaissent la partie invariante des antigènes de **classe I** du CMH (Figure 5).

3. LYMPHOCYTES T A TCR $\gamma\delta$:

Les cellules T qui expriment le récepteur $\gamma\delta$ ne représentent qu'un faible pourcentage des lymphocytes T du sang périphérique (moins de 5%). Ces lymphocytes sont surtout concentrés dans divers tissus épithéliaux (peau, épithélium intestinal et pulmonaire, etc.) où ils représentent près de 50% des lymphocytes T. Les lymphocytes T $\gamma\delta$ sont considérés comme une population issue de l'expansion en périphérie de cellules sélectionnées. Ces lymphocytes n'expriment généralement ni la molécule CD4 ni la molécule CD8. Leur répertoire est peu diversifié (invariant ou semi-invariant). Ceci est dû à l'utilisation préférentielle au cours de leur développement des mêmes gènes variables, V γ 9 et V δ 2 pour les lymphocytes du sang périphérique et V γ 1 pour les lymphocytes épithéliaux. Les lymphocytes T $\gamma\delta$ reconnaissent souvent des antigènes non conventionnels. Ce sont généralement des motifs bactériens très conservés tels que des phospho-antigènes issus des mycobactéries ou encore des molécules induites par le stress telles que les protéines du choc thermique. Leur mode de reconnaissance de l'antigène diffère de celui des lymphocytes T $\alpha\beta$. Les lymphocytes T $\gamma\delta$ sont, en effet, capables de reconnaître directement l'antigène, sans apprêtement, à la manière des lymphocytes B ou encore de reconnaître des antigènes présentés par des molécules non classiques du CMH (les molécules CMH Ib). Leur localisation anatomique (épithéliums) et leur mode d'activation les placent en première ligne de défense contre les agressions muqueuses. De façon générale, les lymphocytes $\gamma\delta$, à l'interface entre immunité innée et immunité adaptative, sont fortement impliqués dans le maintien de l'homéostasie et de l'intégrité épithéliale.

CONCLUSION :

Le développement des lymphocytes T nécessite deux étapes de sélection, positive pour la reconnaissance des antigènes du CMH, et négative pour celle des complexes peptides autoantigéniques CMH. La première étape est supportée exclusivement par les cellules épithéliales thymiques alors que la seconde l'est par les cellules dendritiques et les macrophages. La sélection positive permet que tous les lymphocytes T matures puissent répondre à un antigène exogène présenté par les antigènes du CMH sur les CPA alors que la sélection négative élimine les lymphocytes T autoréactifs. Le paradoxe que la reconnaissance du même ligand par le même récepteur conduit à deux effets opposés reste l'un des mystères de l'immunologie que seule pourra expliquer une meilleure connaissance du ligand, du récepteur, des mécanismes de la transmission du signal et des variations de ces paramètres en fonction du stade de différenciation.

DÉVELOPPEMENT DES LYMPHOCYTES B

INTRODUCTION

Le lymphocyte B (LB) est le support de l'**immunité humorale spécifique ou adaptative** ; il est produit tout au long de la vie à partir de précurseurs hématopoïétiques et acquiert au cours des différents stades de maturation médullaire, la capacité de produire et d'exprimer des immunoglobulines dites de surface, qui constituent le **récepteur B (BCR, B Cell Receptor)** capable de reconnaître spécifiquement l'antigène. L'expression d'une immunoglobuline de surface est un point crucial dans le développement et la survie du lymphocyte B. Elle est aussi indispensable aux phénomènes de sélection qui conduisent à l'élimination des clones B autoréactifs, et à l'établissement de la **tolérance**.

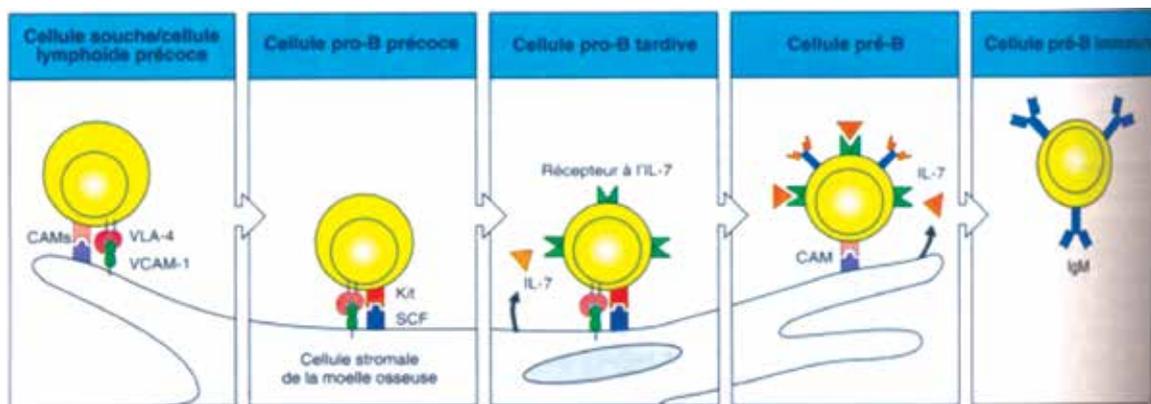
Lorsque la cellule B mature quitte la moelle osseuse, elle exprime une immunoglobuline de surface (mIgM, mIgD), d'une spécificité antigénique unique. Ces cellules B naïves qui n'ont pas rencontré l'antigène circulent dans le sang et dans la lymphe pour coloniser les organes lymphoïdes secondaires.

1. MATURATION DES LB :

1.1. LOCALISATION :

Chez les mammifères le développement des LB se déroule dans la **moelle osseuse hématopoïétique**. Ce processus est **totallement indépendant de la présence des antigènes**, mais il est intimement lié au micro-environnement de l'organe lymphoïde primaire (Figure 1). Le développement des LB s'effectue dans l'organe lymphoïde primaire qui est clairement individualisé chez les oiseaux : il s'agit de la **bourse de Fabricius**.

Figure 1 : les stades du développement des LB dépendent des cellules stromales de la moelle osseuse



1.2. IMPORTANCE DU MICROENVIRONNEMENT MÉDULLAIRE :

Le passage d'une étape de développement à la suivante, la survie et la prolifération des cellules pro génitrices des LB sont conditionnés par des signaux fournis par des contacts intercellulaires avec les cellules stromales de la moelle osseuse et par des facteurs de croissance solubles :

- le **SCF** (pour « **Stem Cell Factor** » ou facteur des cellules souches) sur la cellule stromale et son ligand **c-kit**, à la surface du lymphocyte B.
- **SDF-1** (*Stem Cell Derived Factor 1* ou CXCL 12) et son ligand **CXC-R4** exprimé sur le précurseur B.
- **L'IL-7** : remplit à la fois un rôle de facteur de croissance, de protection vis-à-vis de l'apoptose et d'accessibilité de l'ADN aux recombinaisons.

1.3. STADES DE DÉVELOPPEMENT DES LB :

Chaque stade de différenciation du lymphocyte B est marqué par une étape de réarrangement des gènes des immunoglobulines, d'abord de la chaîne lourde μ , puis des chaînes légères κ puis λ (Figure 2).

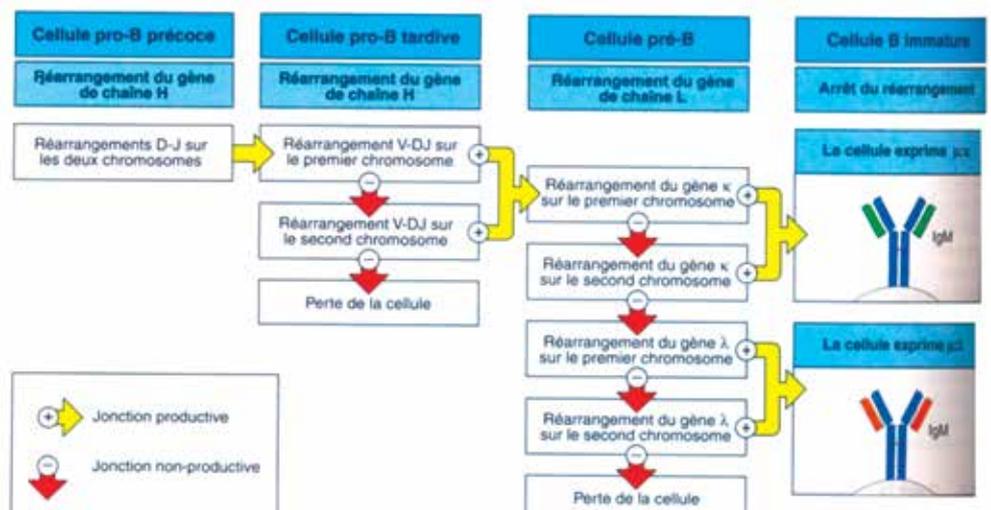


Figure 2 : Étapes du réarrangement des gènes des immunoglobulines au cours du développement des LB.

a. stade pro-B :

L'obtention d'un réarrangement **D-J** fonctionnel est la signature du lymphocyte **pro-B précoce**. Au stade de lymphocyte pro-B précoce, la cellule exprime différents marqueurs : CD45R, les antigènes du CMH de classe II, CD19, CD40, CD38, CD10 et un faible niveau des molécules CD79 α et β . Le réarrangement **V-DJ** fonctionnel marque la transition vers le stade **pro-B tardif**. Le récepteur de l'IL-7 apparaît à ce stade (Figure 3a).

b. stade pré-B :

L'obtention d'une **chaîne lourde μ** est l'étape suivante et la marque du stade **pré-B** : classiquement ces cellules sont définies comme ayant des chaînes lourdes μ . Ces chaînes vont s'exprimer à la surface du lymphocyte pré-B, associé à un **équivalent de chaîne légère : $\lambda 5/V_{pre-B}$** . $\lambda 5$ présente une homologie de structure avec un domaine constant $C\lambda$: elle s'associe par une liaison covalente au premier domaine constant de la chaîne μ . La seconde, **V pré-B**, ressemble à un domaine variable additionné d'un court segment N-terminal (Figure 3 b). Ces deux chaînes sont liées de façon non covalente. Leur association forme un équivalent de chaîne légère, **invariant** à la différence des chaînes κ et λ . Elle permet l'expression à la membrane de la chaîne μ , en compagnie des molécules CD79 α et CD79 β . L'ensemble forme le **récepteur pré-BCR**. La signalisation, via ce récepteur par un ligand non encore identifié, entraîne une intense prolifération des lymphocytes pré-B, l'arrêt des tentatives de réarrangement sur le locus des chaînes lourdes sur le second chromosome (phénomène **d'exclusion allélique**) et le début des réarrangements des chaînes légères. Il faut noter que le stade pré-B est marqué par l'apparition de la molécule CD20.

c. stade B immature :

Le stade de lymphocyte **B immature** est marqué par l'obtention d'un réarrangement fonctionnel d'une des deux chaînes légères et l'expression à la surface d'une **IgM** monomérique. C'est à ce stade qu'apparaît la molécule CD21 (Figure 3c). Le destin du LB immature sera déterminé par la spécificité de son récepteur antigénique. Les lymphocytes avec des récepteurs autoréactifs seront éliminés pour prévenir les réactions auto-immunes. Ce phénomène, appelé **sélection négative**, est l'une des voies par lesquelles le système immunitaire devient tolérant au soi (voir cours tolérance).

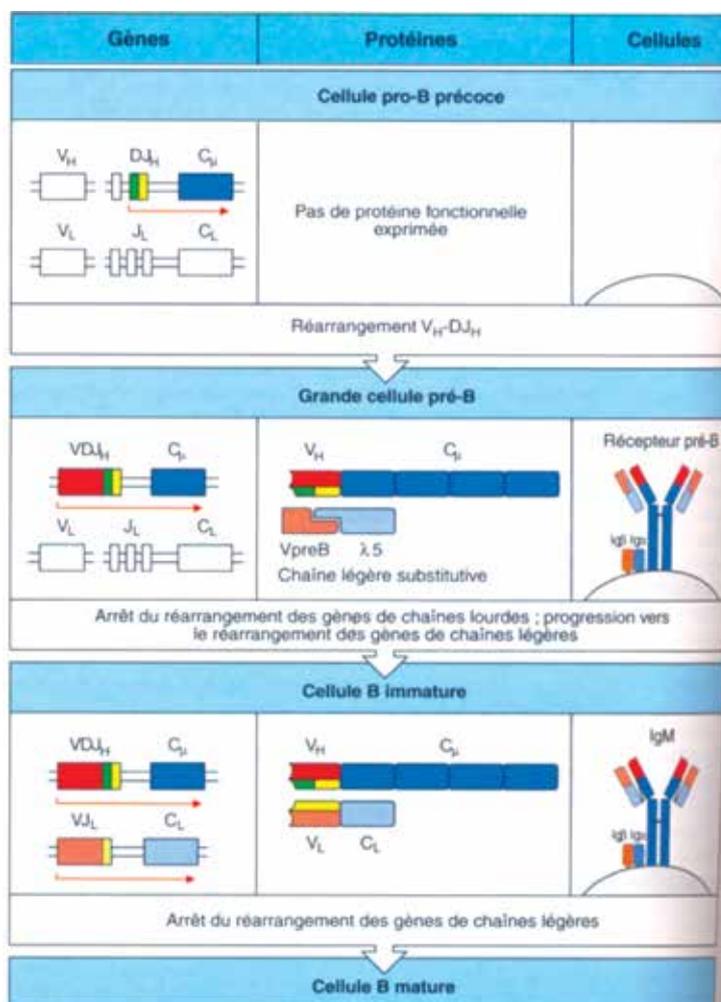
Le LB quitte la MO au stade de B immature et continue les étapes de maturation en périphérie.

d. stade B mature :

Le lymphocyte **B mature** voit son expression membranaire d'IgM diminuée au profit de celle de l'IgD, par épissage alternatif d'un ARNm commun. Il exprime donc deux isotypes différents, cependant porteur de la même spécificité idiotypique (même VDJ).

Ainsi au cours de la maturation des LB, les réarrangements se font ainsi dans un **ordre** précis : d'abord sur la chaîne lourde μ , D-J, puis V-DJ, ensuite sur les chaînes légères avec d'abord $V\kappa-J\kappa$ puis $V\lambda-J\lambda$ en cas d'échec du précédent. Pour les gènes V_H la probabilité d'obtenir un réarrangement fonctionnel n'est que d'un tiers. En cas de réarrangements non fonctionnels sur les deux allèles, le lymphocyte B meurt. Les phénomènes de réarrangement obéissent aussi au phénomène **d'exclusion allélique** : un réarrangement fonctionnel sur un chromosome abolit les phénomènes de réarrangement sur le deuxième chromosome parental.

Figure 3 : Stades de développement des LB.



2. DESCRIPTION DES RECEPTEURS ET CORECEPTEURS MEMBRANAIRES DU LB :

Les différents stades de maturation aboutissent à un LB caractérisé par l'expression d'un BCR, mais aussi par un ensemble de co-récepteurs dont certains interviennent dans les mécanismes d'activation du LB.

2.1. L'IMMUNOGLOBULINE DE MEMBRANE (IGM) OU BCR :

Les Igm appartiennent aux divers isotypes d'Ig, mais sont principalement de classe **IgM et IgD**. La majorité des lymphocytes B circulants, qui représentent **10 %** des lymphocytes sanguins, co-expriment ces deux isotypes qui partagent alors le

même paratope, donc les **mêmes idiotypes** et la **même spécificité anticorps**. Les deux chaînes lourdes sont produites par l'épissage alternatif d'un long transcrite primaire (Figure 4). Les lymphocytes B porteurs d'une IgM seule, sans IgD, sont soit des lymphocytes B immatures, soit des cellules stimulées, la perte de l'IgD de membrane étant un événement précoce de l'activation. Les lymphocytes B « commutés », exprimant une Ig d'un autre isotype que l'IgM ou l'IgD, pourraient être des cellules mémoires. Elles ne représentent qu'un faible contingent des lymphocytes sanguins (respectivement environ 0,3 et 0,1 % pour les lymphocytes à IgG et IgA de membrane).

Les Igm diffèrent des Ig sécrétées par leur partie C-terminale. L'extrémité hydrophile des Ig sécrétées y est remplacée par une région hydrophobe qui permet l'ancrage dans la bicouche phospholipidique de la membrane plasmique. L'obtention de cette forme membranaire se fait par l'utilisation préférentielle d'un site de polyadénylation situé en 3' du ou des deux exons de membrane plutôt que de celui qui est situé en aval du dernier exon constant CH (Figure 5). Cependant, et bien que les régions transmembranaires et cytoplasmiques des sIg soient indispensables aux fonctions du BCR, la longueur de cette dernière, quel que soit l'isotype, est trop courte pour transmettre le

Figure 4 : phénomène d'épissage alternatif conduisant à l'expression de l'IgDm.

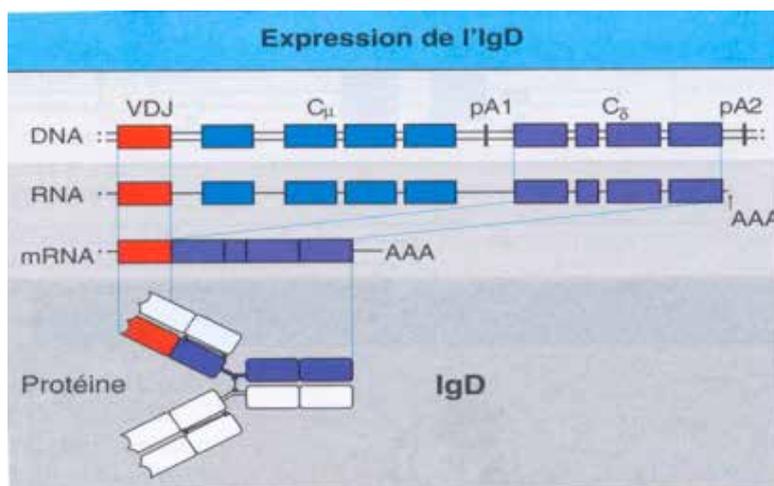


Figure 5 : Mécanisme de production de l'IgM membranaire.

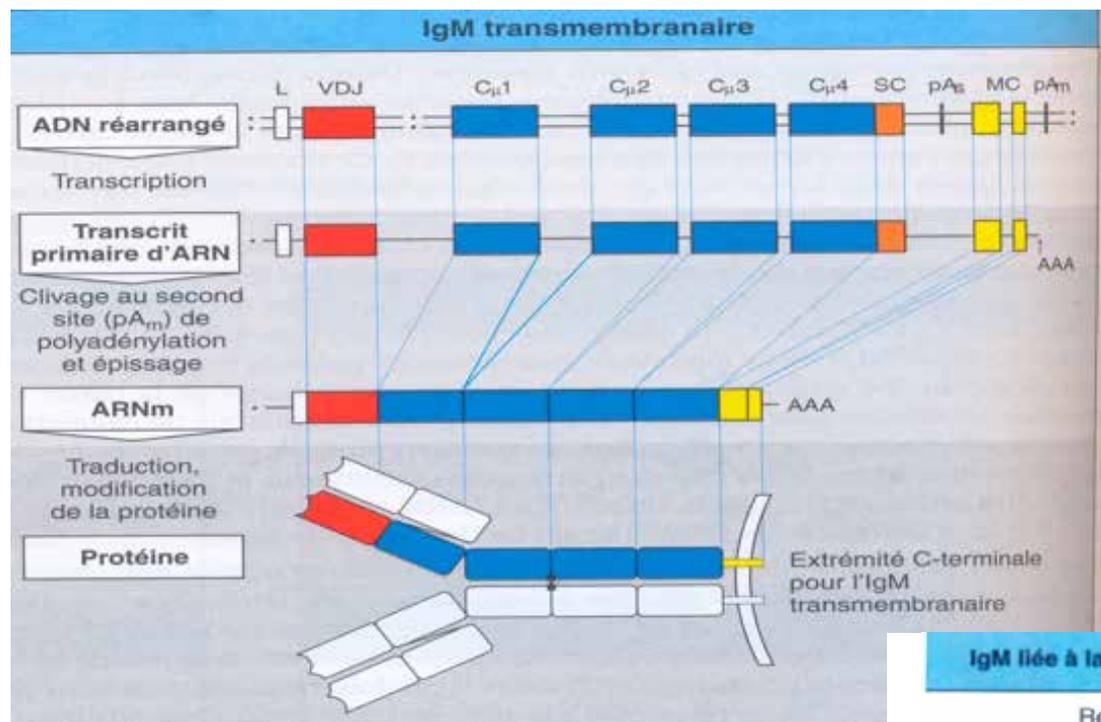
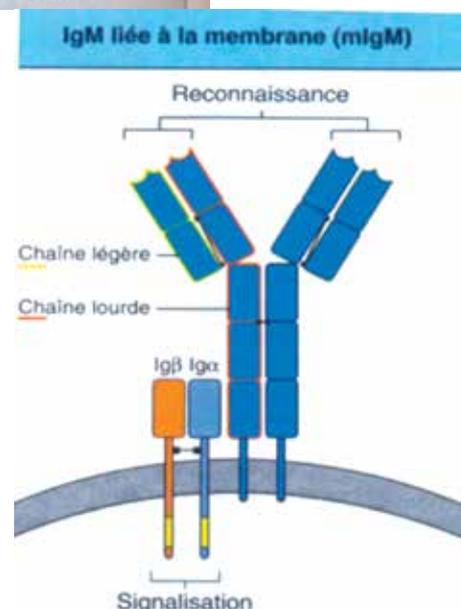


Figure 6 : BCR et co-récepteurs Igα et Igβ

signal d'activation ; ce dernier rôle est attribué aux molécules Igα et Igβ.

2.2. LES MOLECULES Igα ET Igβ

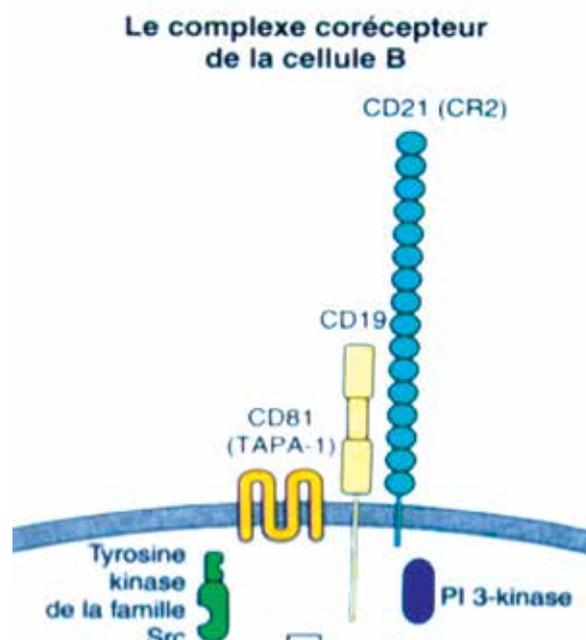
Par sa portion intracytoplasmique, l'immunoglobuline de membrane est associée de manière **non-covalente** à un **hétérodimère**, constitué de deux chaînes **Igα** et **Igβ** (CD79α et CD79β). Ces chaînes associées au BCR appartiennent à la superfamille des immunoglobulines, et présentent plus particulièrement une homologie avec certaines chaînes du complexe CD3 qui remplit les mêmes fonctions vis-à-vis du TCR (récepteur T de l'antigène). Leur portion intracytoplasmique est longue et possède des séquences **ITAM** (pour « Immunoreceptor Tyrosine based Activation Motif »), indispensables à la liaison de différentes protéines kinases capables d'enclencher des voies de signalisation différentes (Figure 6).



2.3. CO-RECEPTEURS ACTIVATEURS : LE COMPLEXE CD19, CD21, CD81 :

Il associe la molécule **CD21** (récepteur du C3), la molécule TAPA1 (**CD81**), avec sept domaines transmembranaires et la molécule **CD19** appartenant à la superfamille des Ig et qui est capable d'activer la tyrosine kinase lyn. Le CD21 se lie à l'antigène via le composant du complément C3dg, l'antigène est lui-même lié au BCR. Ceci établit une liaison entre les corecepteurs et le BCR et permet ainsi au composant CD19 d'entrer en interaction avec les molécules **Ig α** et **Ig β** du BCR d'où la transduction d'un signal activateur (Figure 7).

Figure 7 : co-récepteurs activateurs



2.4. CO-RECEPTEURS INHIBITEURS : CD45, CD22, RFCyIIB (CD32) :

- **CD22** : cette molécule coprécipite avec la sIg, faisant donc partie intégrante du BCR et est exprimée parallèlement à la sIg tout au long de la différenciation de la cellule B. CD22 est un **marqueur B spécifique**. Sa portion intracytoplasmique est longue de 118 acides aminés. La phosphorylation du CD22 sur un motif ITIM recrute une phosphatase (SHP-1) et aboutit à une inhibition du lymphocyte B.

- **CD45** : cette molécule interviendrait en déphosphorylant Ig α et Ig β . Cette activité est liée à la portion intracytoplasmique de la molécule qui porte une activité **tyrosine phosphatase**.

- **RFcyIIB** : c'est un récepteur de faible affinité pour les IgG agrégées ou complexées avec leur antigène. La coligation du BCR et du **RFcyIIB** par un complexe antigène-anticorps délivre un signal négatif au lymphocyte B. Une telle situation s'observe lorsque la réponse humorale a atteint son but, à savoir l'éradication de l'antigène et qu'il ne reste plus de molécules libres d'antigène. Il importe alors de signifier au lymphocyte B qu'il n'a plus à produire d'anticorps.

Cette signalisation se fait grâce à des motifs **ITIM** (pour « Immunoreceptor Tyrosine based Inhibitory Motif ») constitués par une simple séquence YxxL, qui aboutirait à l'inactivation des motifs ITAM des **Ig α** et **Ig β**

3. HÉTÉROGÉNÉITÉ DES LYMPHOCYTES B : LYMPHOCYTES B1 ET B2.

Une sous-population minoritaire de lymphocytes B (environ 5%) chez la souris et chez l'homme apparaît durant le développement fœtal avec un répertoire de **récepteurs restreints**. Ces cellules sont caractérisées par l'expression de la molécule **CD5** et par des taux élevés d'IgM avec peu d'IgD à la surface cellulaire. Ces lymphocytes B sont appelés **cellules B1** parce que leur développement précède celui des lymphocytes B conventionnels **cellules B2**.

La population des cellules B1 est maintenue par la division continue dans des sites périphériques comme les cavités pleurales et péritonéales. Les fonctions des cellules B1 restent mal connues. Leur localisation suggère un rôle dans la défense des cavités du corps, leur répertoire restreint paraît approprié pour fonctionner dans la phase non adaptative de la réponse immune.

CONCLUSION :

Le développement des LB implique différentes étapes de maturation dans le microenvironnement de la moelle osseuse. Au cours de ces étapes, on assiste à un réarrangement séquentiel des gènes des Ig qui transforme le précurseur B en une cellule B immature exprimant une IgM membranaire de spécificité unique. En périphérie, le lymphocyte B va achever sa maturation par l'expression d'un IgD membranaire. L'activation et la différenciation en plasmocyte, induit par l'antigène, des cellules B matures se produisent à la périphérie créant la réponse humorale.

LE COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITÉ (CMH) DE L'HOMME : LE SYSTÈME HLA

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1- Décrire l'organisation générale du CMH sur le chromosome 6
- 2- Préciser les caractéristiques de transmission et d'expression du CMH
- 3- Détailler les structures des gènes et des molécules de classe I et de classe II
- 4- Décrire les modes de synthèse des molécules de classe I et de classe II
- 5- Connaître le rôle des molécules du CMH
- 6- Citer les applications cliniques du CMH
- 7- Préciser les méthodes de typage HLA

1. INTRODUCTION

Chez l'homme, la région du CMH contient les gènes du système HLA et de nombreux autres gènes dont les fonctions ne sont pas toutes connues.

Le CMH est situé sur le bras court du chromosome 6, il s'étend sur 4000 kilobases, il représente 1/1000 du génome humain. Le système HLA est un système **MULTIGÉNIQUE, MULTIALLELIQUE** et d'expression codominante.

Les gènes qui codent pour les molécules de classe I comprennent les loci A, B et C ; et pour les molécules de classe II comprenant les locus DR, DQ et DP.

On appelle « système HLA » (pour Human Leucocytes Antigens), le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de l'homme. Ce terme désigne un système multigénique très complexe codant pour un ensemble de glycoprotéines dont la fonction biologique principale est la présentation des peptides antigéniques aux lymphocytes T. Ces molécules sont des hétérodimères très polymorphes, constamment renouvelés à la surface des cellules, pouvant être regroupés en 2 grandes familles (HLA classe I et classe II) différentes par leur structure et par leur fonction.

En raison de son rôle essentiel dans la greffe, ce complexe a été en premier décrit en tant que système d'antigènes essentiels dans la compatibilité entre donneur et receveur. Il participe ainsi à la discrimination entre le « soi » et le « non-soi » et au contrôle de la réponse immunitaire.

2. ORGANISATION GÉNÉTIQUE DU CMH

Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) humain est un ensemble de gènes situés sur le bras court du chromosome 6. Il s'étend sur un segment de 4000 Kilobases (Kb) d'ADN, ce qui présente environ 1/1000ème du génome humain. Actuellement, plus de 200 gènes ont été identifiés.

Le système HLA est subdivisé classiquement en trois régions (Fig.1) :

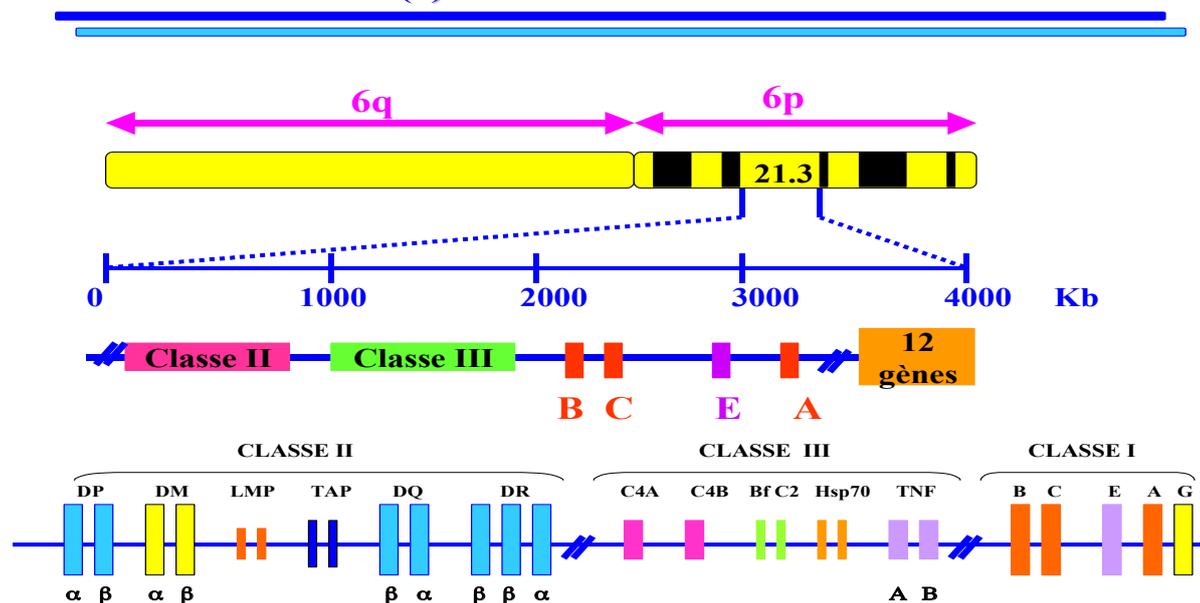
- La plus centromérique est la **région HLA de classe II**, d'une taille de 900 Kb et dont les principaux loci sont HLA-DP, -DQ et -DR renfermant chacun des gènes codant pour les chaînes a et b des molécules HLA de classe II. Entre les loci DP et DQ, ont été individualisés des gènes dont les produits interviennent dans les voies intracellulaires de présentation des peptides antigéniques tels que TAP1 et TAP2 (« Transporter of Antigen Peptides »), LMP2 et LMP7 (« Large Multifunctional Protease »).
- La **région intermédiaire** s'étend sur 1100 Kb et contient également un grand nombre de gènes qualifiés abusivement de classe III (mais qui n'ont en réalité aucune parenté avec le système HLA). Parmi lesquels, les gènes codant pour les facteurs nécrosants des tumeurs (TNF α et β), les gènes de la 21 hydroxylase, les gènes Hsp70 et des gènes codant pour certains composants du complément C2, Bf et C4.
- La plus télomérique, la **région HLA de classe I**, est elle-même divisée au moins en trois loci principaux appelés HLA-A, B et C codant pour les chaînes lourdes a des molécules HLA de classe I. D'autres gènes sont également décrits appelés gènes de classe I non classiques (ou Ib) tels que HLA-E, F, G

La nomenclature internationale dépend de la méthode utilisée (spécificité sérologique, détermination générique en

ADN, détermination allélique spécifique en ADN). Ainsi, la nomenclature internationale désigne, s'il s'agit de spécificités déterminées par la méthode sérologique, chaque molécule HLA par la lettre indiquant le locus où elle est codée, suivie d'un nombre qui lui est propre (correspondant au numéro d'ordre de découverte de l'allèle) (exp HLA-B27). Concernant les spécificités identifiées par biologie moléculaire le nombre est de 4 chiffres précédé d'un astérisque (exp HLA-B* 2705).

Figure 1 : organisation du complexe majeur d'histocompatibilité chez l'homme

LA RÉGION HLA (1)



3. CARACTÉRISTIQUES DU CMH

3.1. TRANSMISSION GÉNÉTIQUE EN HAPLOTYPE ET CODOMINANCE

Les séries alléliques des loci HLA de classe I, II et III sont suffisamment proches les unes des autres sur le chromosome 6 ; elles sont ainsi transmises en bloc d'une génération à l'autre. Les allèles sont tous codominants. L'expression de l'ensemble des loci ainsi transmis par le chromosome s'appelle haplotype. Un haplotype va contenir les allèles qui codent pour les différentes molécules du CMH chez un individu donné.

3.2. POLYMORPHISME DU SYSTÈME HLA

Une des caractéristiques majeures du système HLA est son extrême polymorphisme : chaque locus comporte un nombre important d'allèles. Ceci fait du système HLA un marqueur génétique différent d'un individu à l'autre, c'est pourquoi il est difficile de trouver dans l'espèce humaine 2 personnes non apparentées HLA identiques. Actuellement, 235 allèles ont été décrits pour le locus A, 477 pour le locus B et 123 pour le locus C du CMH de classe I. Pour ceux du CMH de classe II, on a décrit 293 allèles pour le locus DRB, 19 pour DQA, 47 pour DQB, 15 pour DPA et 96 pour DPB. Les mutations ponctuelles, les conversions géniques interlocus, ou intercellules, les recombinaisons sont à l'origine de ce polymorphisme.

3.3 DÉSÉQUILIBRE DE LIAISON

Les allèles HLA-A, B, C, DR ne sont pas totalement indépendants les uns des autres. L'association de ces allèles se fait théoriquement au hasard (c'est à dire, n'importe quel allèle des loci HLA-A et - B peuvent se retrouver sur un même haplotype). Mais, en réalité, on observe que certaines associations haplotypiques entre les gènes HLA-A et B, B et C, B et DR sont beaucoup plus fréquentes que ne le voudrait le hasard (par exemple : HLA-A1 et B8, fréquence de [HLA-A1-B8] est > à la fréquence de [HLA-A1] x [HLA-B8]). Dans certains cas, le déséquilibre peut exister entre les allèles des 3 loci différents (exemple : HLA-A1, -B8,-DR3).

3.4. LES RÉACTIONS CROISÉES

Une des caractéristiques des antigènes HLA est l'existence de réactions croisées entre plusieurs spécificités particulièrement pour les antigènes de classe I. Les antigènes à réactivité croisée constituent alors un groupe appelé « groupe de réactivité croisée ou CREG » (exp. Les antigènes HLA-A2 et HLA-A28).

3.5. LES VARIATIONS GÉOGRAPHIQUES

Le polymorphisme du système HLA et le déséquilibre de liaison de ses gènes constituent des outils précieux pour l'étude de la génétique des populations humaines, car il existe des variabilités d'un groupe ethnique à l'autre

4. LES GÈNES ET MOLÉCULES HLA CLASSE I

4.1. LES GÈNES DE CLASSE I (OU CLASSIQUES Ia)

Les gènes HLA-A, -B, et -C codent pour les chaînes lourdes α des molécules de classe I présentes à la surface des cellules nucléées de l'organisme. Les gènes HLA de classe I se composent de 8 exons. Le premier exon correspond à la région 5' non traduite et au peptide signal, les exons 2, 3, 4 codent respectivement pour les domaines α_1 , α_2 , α_3 de la chaîne lourde α et l'exon 5 pour la partie transmembranaire de la chaîne lourde. Les exons 6, 7 et 8 codent pour la partie intracytoplasmique de la molécule.

4.2. LES MOLÉCULES HLA DE CLASSE I

A. DISTRIBUTION

Ces molécules, très polymorphes, sont largement distribuées sur la majorité des cellules nucléées de l'organisme. Elles sont faiblement détectées sur les cellules endocrines (thyroïde, parathyroïde, hypophyse, îlots de Langerhans), la muqueuse gastrique, le myocarde, le muscle strié, les hépatocytes. Les érythrocytes (cellules anucléées) n'expriment pas de molécules HLA de classe I. Le nombre de molécules HLA de classe I exprimées par une cellule dépend du type cellulaire et de l'état de différenciation de la cellule. Les interférons et le TNF- α augmentent l'expression des molécules HLA de classe I. Cette expression est variable selon les organes rate > rein > foie > cœur > cerveau. Elle est quantitativement plus importante sur les lymphocytes B (2.6 10⁶/cellule) que sur les lymphocytes T (1.10⁶/cellule). Ces molécules sont absentes sur l'os, le cartilage, la cornée, le trophoblaste et les spermatozoïdes. Elles sont présentes dans les liquides biologiques : sérum, urine, ascite, plasma, liquide séminal, etc.

B. STRUCTURE (Fig.2) :

La molécule HLA de classe I est un hétérodimère composé d'une chaîne lourde α très polymorphe (44 kd) associée d'une façon non covalente à une chaîne légère monomorphe, la β_2 -microglobuline (15 kd) codée par un gène situé sur le chromosome 15.

- La chaîne α

La chaîne lourde α est une glycoprotéine formée de 3 domaines globulaires de 90 acides aminés notés α_1 , α_2 , α_3 . Les domaines α_2 et α_3 sont conformationnellement stabilisés par un pont disulfure (S-S). Le domaine α_3 se lie à la β_2 microglobuline et se prolonge par une partie transmembranaire hydrophobe et d'un court segment intracytoplasmique.

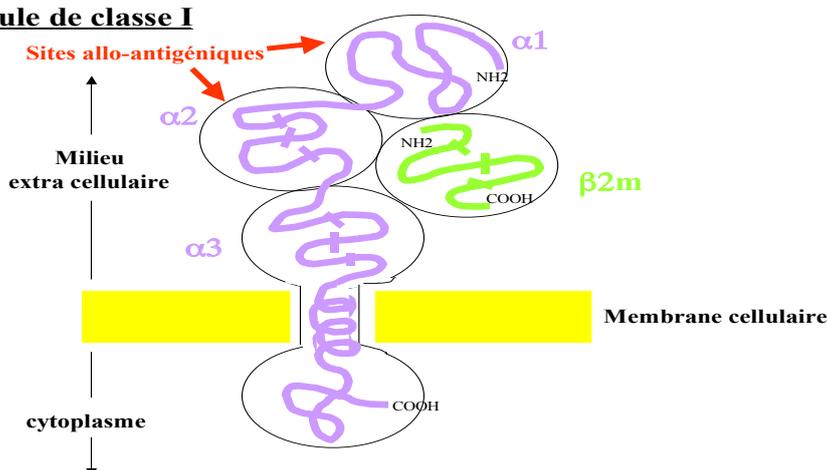
- la β_2 -microglobuline

La chaîne β_2 microglobuline est une protéine non glycosylée présentant des homologues avec le domaine α_3 . Tout comme la chaîne α , elle appartient à la superfamille des immunoglobulines, mais elle n'est pas polymorphe. La β_2 microglobuline est entièrement extracellulaire ; elle est sécrétée en excès par rapport à la chaîne lourde α et peut se trouver sous une forme soluble. Cette chaîne est indispensable à l'expression et à la stabilité des molécules de classe I.

Figure 2

LA RÉGION HLA

La molécule de classe I



La structure tridimensionnelle (Figure 3) de la molécule HLA de classe I a été définie par cristallographie ; dans sa partie extracellulaire, la molécule HLA de classe I se présente comme une molécule à 2 étages :

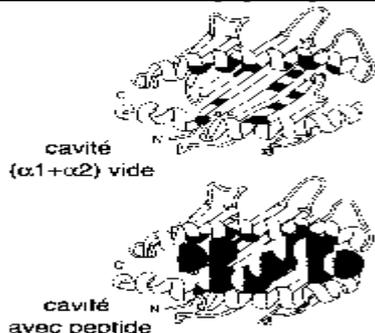
- Le premier étage est composé par les parties non polymorphes formées par le domaine α_3 de la chaîne lourde α et la β_2 microglobuline, proches de la membrane cellulaire.
- Le deuxième étage est formé par les domaines polymorphes α_1 et α_2 de la chaîne lourde.

Les domaines α_1 et α_2 forment le site de liaison du peptide qui se présente comme une fente unique et médiane délimitée par un plateau de huit feuillets antiparallèles sur lequel reposent 2 hélices α . Cette poche n'est jamais vide. En effet, c'est dans cette rigole que vient se fixer le peptide antigénique, essentiellement endogène, qui sera présenté aux lymphocytes T cytotoxiques CD8+.

Figure 3

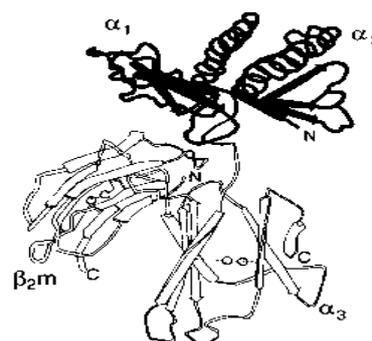
LA RÉGION HLA

Structure spatiale de la cavité peptidique de classe I



LA RÉGION HLA

Structure spatiale de la molécule de classe I



C. SYNTHÈSE

La chaîne α , seule codée dans la région HLA, est synthétisée dans le réticulum endoplasmique où elle va s'associer d'une part avec la β_2 -microglobuline synthétisée en excès et d'autre part avec l'un des peptides présents dans le compartiment cellulaire. Ces deux associations s'accompagnent de modifications conformationnelles et sont toutes les deux indispensables à la stabilité de l'ensemble et à son expression membranaire.

Les molécules HLA de classe I présentent, aux cellules T CD8+ cytotoxiques, des peptides antigéniques dérivés des protéines endogènes cytosoliques synthétisées par la cellule, c'est à dire essentiellement des protéines du soi, mais aussi des protéines provenant de microorganismes à développement intracellulaires (virus).

La protéine intracytoplasmique va être dégradée en peptides sous l'action d'un complexe multiprotéolytique ; le **protéasome**. Les peptides générés vont être transférés, grâce aux molécules TAP, à l'intérieur du réticulum endoplasmique (RE). Dans le RE, la chaîne lourde α et la β_2 -microglobuline néo-synthétisées vont s'associer successivement à des molécules chaperonnes, la calnexine, la calréticuline et la tapasine et forment un complexe qui interagit avec les molécules TAP pour fixer un peptide qui vient d'être transloqué du cytosol. La molécule HLA de classe I ainsi chargée migre à travers l'appareil de Golgi vers la membrane plasmique où elle va être exprimée à la surface de la cellule permettant la présentation aux cellules T cytotoxiques de l'ensemble du complexe, molécule CMH classe I et peptide.

5. LES GÈNES ET MOLÉCULES HLA DE CLASSE II

5.1. LES GÈNES HLA DE CLASSE II

La région HLA de classe II comprend aussi de très nombreux gènes avec trois loci principaux DP, DQ, DR et 2 loci supplémentaires DN et DO dont l'expression n'est pas connue. Pour les 3 principaux loci, il existe des gènes A (DRA, DQA, DPA) qui codent pour une chaîne α et des gènes B (DRB, DQB, DPB) qui codent pour une chaîne β . C'est l'association des deux chaînes α et β qui va constituer la molécule HLA de classe II.

- Les loci DQ et DP possèdent chacun 2 gènes A (DQA1, DQA2, DPA1, DPA2) et 2 gènes B (DQB1, DQB2, DPB1, DPB2). Seuls les gènes A1 et B1 s'expriment. Les gènes A2 et B2 sont des pseudogènes.
- Pour le locus DR, il existe un seul gène A (DRA) qui code pour une chaîne α et plusieurs gènes B (DRB1 à DRB9). Le gène DRB1 s'exprime dans tous les cas et code pour une chaîne β (allèles DR1 à DR18). Les gènes DRB2, DRB6, DRB7, DRB8 et DRB9 ne s'expriment pas (pseudogènes). Trois autres gènes DRB3, DRB4, et DRB5 sont présents chez certains individus selon l'haplotype HLA (Fig.4). Lorsqu'ils sont présents, ils expriment une chaîne β qui s'associe à la chaîne α pour former un deuxième dimère DR à la surface cellulaire.

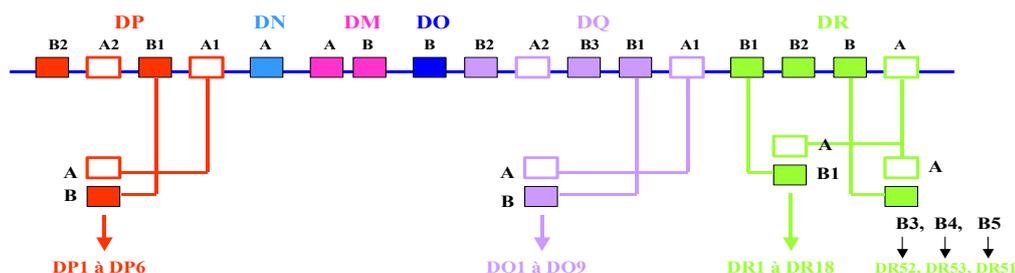
La structure de ces gènes A et B de la classe II est très homologue entre les trois loci DR, DQ, DP. Les gènes A comportent 5 exons. Les gènes B comportent 7 exons. L'importance du polymorphisme est variable d'un gène à l'autre. Les gènes DRA et DPA sont peu ou pas polymorphes, alors que, les gènes DRB, DQA, DQB et DPB sont très polymorphes.

Figure 4

LA RÉGION HLA

Les gènes de classe II

Les gènes de type A et B des sous régions DR, DQ et DP synthétisent les chaînes protéiques α et β dont l'association en couple forme à la surface des cellules présentatrices d'antigène les molécules de classe II : DR, DQ et DP.



5.2. LES MOLÉCULES HLA DE CLASSE II

A. DISTRIBUTION

Ce sont des molécules très polymorphes comme celles de classe I, d'expression restreinte aux cellules présentatrices d'antigène (CPA) : lymphocytes B, monocytes/macrophages, cellules dendritiques (cellules de Langerhans), les cellules souches de la moelle, ainsi que sur certaines cellules épithéliales (thymus, épидидyme, amygdale) et les lymphocytes T activés ; ils sont absents sur les plaquettes, les fibroblastes, les spermatozoïdes les hématies, les hépatocytes, les lymphocytes T au repos. Les interférons augmentent l'expression des molécules HLA de classe II sur ces cellules. Parfois même, l'interféron gamma est capable d'induire l'expression de ces molécules par des cellules qui dans les conditions normales n'en expriment pas.

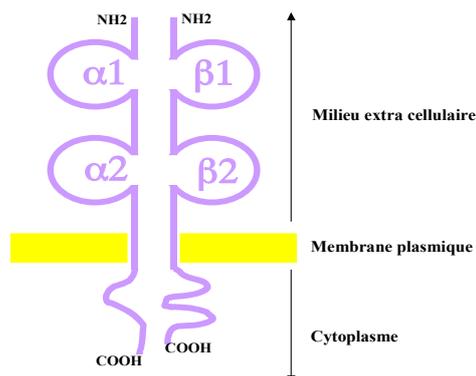
Les molécules HLA de classe II (Fig.5) sont constituées par 2 chaînes α et β de poids moléculaire d'environ 30 kd chacune. Elles sont associées d'une façon non covalente, pour former un complexe très stable. Les deux chaînes α et β sont des glycoprotéines appartenant à la superfamille des immunoglobulines comportant une partie extracellulaire, un segment transmembranaire et un segment intracytoplasmique. Chaque chaîne comprend 2 domaines $\alpha 1$ et $\alpha 2$ pour la chaîne α et $\beta 1$ et $\beta 2$ pour la chaîne β .

L'organisation spatiale des molécules HLA de classe II est très similaire à celle des molécules de classe I. Les parties polymorphes constituent la poche (rigole) dans laquelle vient se loger le peptide antigénique. Celle-ci est formée (toujours selon la même structure en feuillets β et hélices α) par l'association des domaines $\alpha 1$ et $\beta 1$.

Figure 5

LA RÉGION HLA

La molécule de classe II



B. SYNTHÈSE

Les cellules exprimant les molécules de classe II sont essentiellement les cellules présentatrices de l'antigène. Toutes ces cellules ont la capacité de phagocytose et/ou d'endocytose.

Le peptide antigénique qui sera associé aux molécules de classe II est dit « exogène », car il provient de l'extérieur de la cellule et pénètre par phagocytose et/ou endocytose. Sous l'action des enzymes protéolytiques provenant de la fusion des lysozymes avec le phagosome, l'antigène exogène sera dégradé en petits peptides. Entre temps, les chaînes α et β codées par les loci HLA classe II, sont synthétisées dans le réticulum endoplasmique où elles sont rapidement associées entre elles pour former un dimère $\alpha\beta$. Le dimère est stabilisé par la présence d'une chaîne invariante (Ii ou CD74). Cette dernière, non polymorphe, n'est pas codée par la même région génomique que les molécules du CMH. Son gène est localisé sur le chromosome 5. La chaîne invariante s'associe aux peptides variables des chaînes α et β et empêche à ce stade la fixation du peptide antigénique endogène et contrôle le transport du trimère $\alpha\beta$ Ii. Le trimère ainsi formé migre vers le Golgi et est dirigé vers un compartiment endosomal appelé MIIC (MHC classe II compartiment). Au cours de ce trajet, le site de fixation peptidique de la molécule de classe II est constamment occupé par la séquence CLIP (peptide dérivé de la chaîne Ii) qui maintient la cavité dans sa bonne conformation tout en empêchant la fixation de peptides libres. Dans le compartiment endosomal acide, la chaîne Ii est dégradée et le peptide CLIP est libéré et remplacé par un peptide issu de la protéolyse endosomale. Après fusion avec la membrane cytoplasmique, le peptide sera présenté à la surface de la cellule et pourra ainsi être reconnu par les cellules T CD4+.

6. LES RÔLES DU SYSTÈME HLA

6.1. PRÉSENTATION DU PEPTIDE ANTIGÉNIQUE

Les molécules du CMH jouent un rôle fondamental au cours de la réponse immune par leur capacité à présenter le peptide antigénique aux cellules T. En effet, un lymphocyte T (CD4+ ou CD8+) ne peut reconnaître le peptide antigénique que lorsque ce dernier est associé aux molécules du CMH de l'individu : **c'est le phénomène de restriction allogénique**. De ce fait, cette propriété de présentation de l'antigène est cruciale d'une part au cours de la maturation lymphocytaire T, dans ce cas elle est à la base de la sélection clonale (positive et négative), et d'autre part, au cours de la réponse immune.

6.2. LE POLYMORPHISME ET L'ALLORÉACTIVITÉ : RÔLE EN HISTOCOMPATIBILITÉ

La multiplication des loci dans chacune des deux familles du CMH et l'apparition d'un polyallélisme au niveau de chacun des loci a généré un grand polymorphisme. Celui-ci est surtout important au niveau du site de liaison des peptides. En effet, une modification, même minime, pourra donc modifier la présentation antigénique d'une façon importante. Cette variabilité pourrait se traduire alors par une susceptibilité (ou une résistance) personnelle particulière vis-à-vis de certaines affections. Cette variabilité individuelle est aussi responsable des phénomènes d'alloréactivité au cours des transplantations d'organes.

7. LES APPLICATIONS CLINIQUES DU SYSTÈME HLA

Le CMH présente plusieurs applications cliniques :

- CMH et maladies

L'analyse du système HLA au cours des différentes pathologies a pu montrer une association de certaines maladies (le plus souvent auto-immunes) avec certains haplotypes HLA (exp : HLA-B27 et spondylarthrite ankylosante, HLA-B51 et maladie de Behcet). L'explication de telles associations est encore mal comprise.

- CMH et transplantation d'organes

Le devenir d'un transplant dépend essentiellement de la réaction immunologique (humorale et cellulaire) que développe le receveur vis-à-vis des antigènes propres au donneur et portés par le greffon. Le degré de compatibilité entre les antigènes du CMH du donneur et du receveur dans une transplantation est l'élément déterminant de son succès.

- CMH et médecine légale

Le CMH présente une valeur informative importante dans l'expertise médico-légale du fait de son polymorphisme et la rareté de certains allèles.

- CMH et étude de la génétique des populations

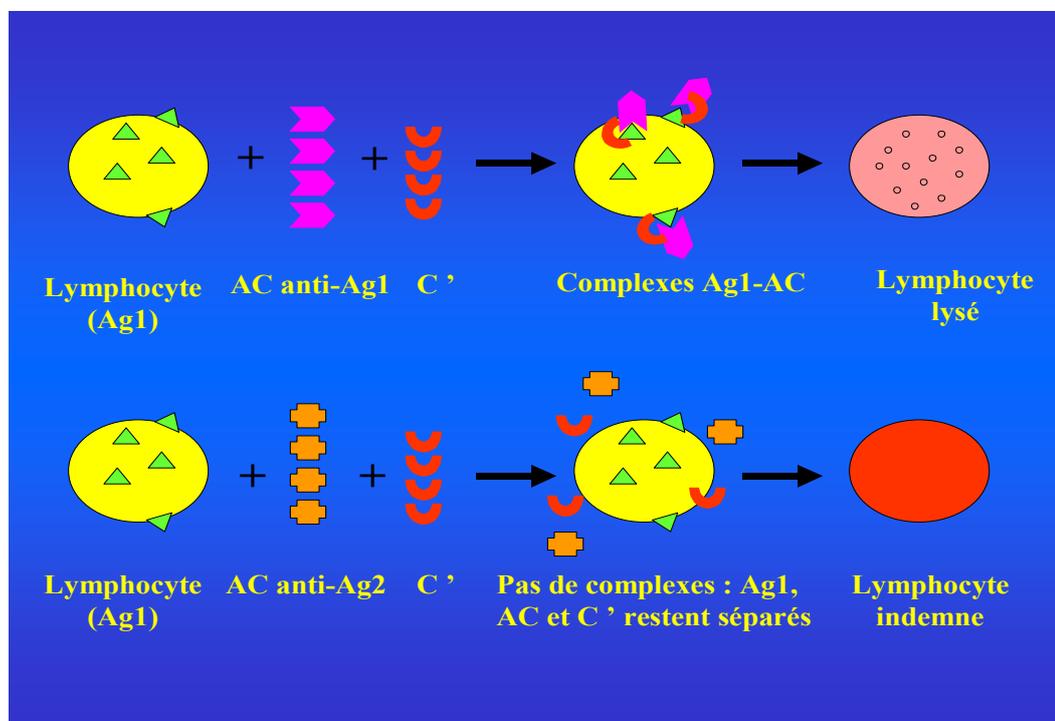
L'étude du polymorphisme HLA permet de suivre les migrations des populations et a donc un grand intérêt en anthropologie.

8. LES MÉTHODES DE TYPAGE DES ANTIGÈNES HLA

Le typage HLA est fondamental pour la transplantation d'organes. En effet, pour qu'une greffe d'organe ne soit pas rejetée, il faut qu'il y ait une compatibilité entre le donneur et le receveur dans le système HLA. Plusieurs techniques ont été développées et sont actuellement utilisées pour le typage. Elles comprennent :

- Des méthodes sérologiques ou réactions de microlymphocytotoxicité (Fig6) reposent sur l'aptitude des anticorps cytotoxiques (après action du complément), spécifiques des différentes molécules HLA à reconnaître des déterminants allotypiques de ces molécules à la surface cellulaire. Elle repose donc sur l'étude de la lyse des lymphocytes du sujet à typer par des anticorps de spécificité connue en présence de compléments.
- Des méthodes cellulaires : basées sur la capacité qu'ont les lymphocytes à proliférer (in vitro) en présence de cellules non identiques pour le système HLA. La prolifération de ces cellules répondeuses (lymphocytes T du malade) au contact de cellules stimulantes (lymphocytes B de phénotype connu bloqués par la mitomycine) est mesurée généralement par l'incorporation de thymidine radioactive.
- Des méthodes biochimiques
- Des méthodes de biologie moléculaire : basées sur la technique d'amplification génique utilisant des couples d'amorces spécifiques d'allèle.

Figure 6 : La réaction de microlymphocytotoxicité



9. CONCLUSION

La structure particulière des molécules HLA leur permet d'exercer la fonction de présentoir pour des peptides variés. Leur subdivision en 2 sous-familles (classe I et classe II) a doté le système immunitaire d'un double jeu de glycoprotéines fonctionnant en parallèle, chaque classe retient la présentation des peptides à une sous population particulière des lymphocytes T.

L'intérêt du système HLA en pratique courante réside dans son implication majeure en transplantation d'organes d'une part et d'autre part dans ses associations à certaines maladies. La diversité de ses allèles en fait en outre un marqueur extrêmement puissant dans les études familiales ou de populations et dans le domaine médico-légal.

CHAPITRE II : LE SYSTÈME IMMUNITAIRE CHEZ L'HOMME SAIN ET CHEZ L'HOMME MALADE

LE SYSTÈME COMPLÉMENTAIRE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1- Décrire les voies d'activation du complément
- 2- Connaître les mécanismes de régulation du complément
- 3- Citer les récepteurs cellulaires du complément
- 4- Préciser les fonctions biologiques du complément
- 5- Décrire les méthodes d'exploration et les variations pathologiques du complément

INTRODUCTION

Décrit il y a près d'un siècle comme un facteur labile à la chaleur complétant l'action bactériologique des anticorps, le complément ou système complémentaire (SC) est en réalité un ensemble complexe constitué de plus d'une trentaine de protéines qui sont capables d'interagir entre elles et avec certaines membranes biologiques.

L'activation en cascade de ces différents composants est à l'origine des activités biologiques dont la plupart dépendent d'interactions entre les protéines du SC et des récepteurs cellulaires spécifiques.

Le SC peut être opérationnellement divisé en **3 unités de reconnaissance** conduisant au clivage d'une protéine dénommée C3 par des voies parallèles, mais distinctes et une unité effectrice terminale commune.

- La voie classique (VC) est activée par des anticorps combinés à l'antigène.
- La voie des lectines est activée par la fixation de la protéine de liaison du mannose (MBP) sur des résidus glucidiques au niveau des parois des microorganismes.
- La voie alterne est activée directement au contact de certaines surfaces en l'absence d'anticorps. Finalement **le complexe d'attaque membranaire (CAM)** est mis en jeu par ces 3 voies d'activation.

1. LES PROTÉINES DU COMPLÉMENT :

Elles sont soit solubles, soit membranaires. On peut distinguer 3 groupes de protéines sur des bases fonctionnelles :

- Les protéines participant à l'activation du SC.
- Les protéines participant aux régulations.
- Les récepteurs cellulaires du complément.

Les protéines de la VC et du CAM sont désignées numériquement de C1 à C9. Le composé C1 est formé de 3 sous-unités C1q, C1r, C1s. Les fragments de clivage enzymatique sont désignés par des lettres minuscules C3a, C3b, etc. La lettre i indique une molécule inactivée telle que C3bi.

Les protéines de la VA sont représentées par des lettres capitales : P (properdine), facteurs B et D.

Les protéines du SC ont spontanément tendance à former des complexes multimoléculaires réversibles. **C'est le cas de C1q, C1r et C1s en présence d'ions Calcium, de C4 et C2 d'une part et de C3 et du facteur B d'autre part en présence d'ions Mg⁺⁺. C'est le cas aussi des composés C5, C6, C7, C8 et C9 dont l'assemblage aboutit à la formation du CAM.**

1.1. SITES LABILES DE LIAISON AUX MEMBRANES :

Le complément a la propriété particulière de se déposer à la surface de certaines particules biologiques activatrices (complexes immuns, bactéries, parasites, etc.).

Dans les protéines C3 et C4, la présence d'une liaison interne thio-ester (**O-C-S**) leur confère une réactivité exceptionnelle : lors d'un clivage enzymatique ou lors d'un changement conformationnel, cette liaison thioester devient accessible et capable, après ouverture, de se fixer de façon covalente sur une particule biologique.

Faute d'avoir rencontré cette particule ou site accepteur en temps utile, la molécule reste libre dans la circulation où elle subit une inactivation rapide. Les membranes pauvres en acide sialique constituent de bons sites accepteurs.

1.2. SYNTHÈSE ET GÉNÉTIQUE DES PROTÉINES DU SC :

Les protéines du SC sont pour la plupart d'origine hépatique. Toutefois, d'autres sources cellulaires sont connues telles que les cellules épithéliales ou les monocytes et macrophages.

La demi-vie de C3, C4 et B est de l'ordre de 24 h, ce qui implique une synthèse rapide, presque permanente. Les composés C2, C4 et B sont codés par des gènes situés dans la région du CMH et sont caractérisés, comme les protéines C3, C6 et C7 par un polymorphisme allotypique.

2- FONCTIONNEMENT DU SC :

L'activation du système complémentaire se déroule en cascade. Ainsi, un composant du complément acquiert par liaison à une autre protéine une activité enzymatique et clive un 2ème composant en 2 fragments dont l'un se dote lui-même d'une activité protéolytique pour le composant du complément suivant.

2.1 VOIE CLASSIQUE :

La voie classique (Figure 1) est activée par l'interaction du premier composant, C1, avec une molécule d'IgM liée à son antigène ou avec deux molécules d'IgG (IgG1, IgG3 ou IgG2 de façon moins efficace).

Le C1 peut être activé aussi par d'autres molécules comme certaines structures libérées par des cellules endommagées, certains virus dont le HIV, certaines bactéries, des glucides et la CRP (C-reactive-protein) en liaison avec les phospholipides de certains microorganismes.

2.1.1 ACTIVATION DE C1 :

Le C1 est calcium dépendant. Il est formé de 3 sous-unités : C1q, C1r, C1s dans un rapport molaire (1/2/2). Il représente deux entités fonctionnelles : l'unité de reconnaissance C1q et l'unité catalytique, le tétramère C1s-C1r-C1r-C1s.

La molécule de C1q a une structure évoquant un bouquet de 6 tulipes avec une portion centrale fibrillaire analogue au collagène et 6 sous-unités périphériques globulaires se liant aux régions Fc des IgG et IgM.

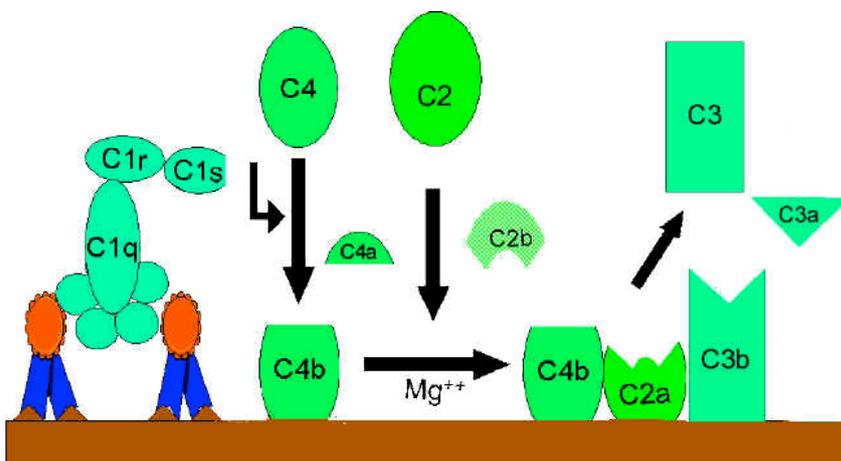
La fixation de C1q aux activateurs de la VC modifie l'état d'association des sous-unités du C1q, en particulier au niveau des tiges collagènes de cette protéine. Il en résulte une autoactivation de C1r (2) qui devient capable d'activer les deux C1s par protéolyse limitée. Cette activation de C1s (2) représente **le starter de la cascade enzymatique** qui aboutit à la formation d'une protéase, la C3 convertase.

Le C1s activé clive à la fois C4 et C2, ce qui aboutit à la production des fragments C4b et C2a qui vont s'associer pour former un complexe bimoléculaire en présence d'ions Mg^{++} : **C4b2a ou C3 convertase classique**.

La C3 convertase classique clive le C3 en 2 fragments C3a et C3b. Ce dernier se fixe par liaison covalente à proximité des sites de clivage.

Le complexe ainsi formé, C4b2a3b a, quant à lui, la propriété de cliver C5 et s'appelle **la C5 convertase classique**.

Figure 1 : Clivage de C3 par la voie classique



2.1.2. MÉCANISMES DE RÉGULATION :

Plusieurs mécanismes de régulation interviennent à différentes étapes de la VC.

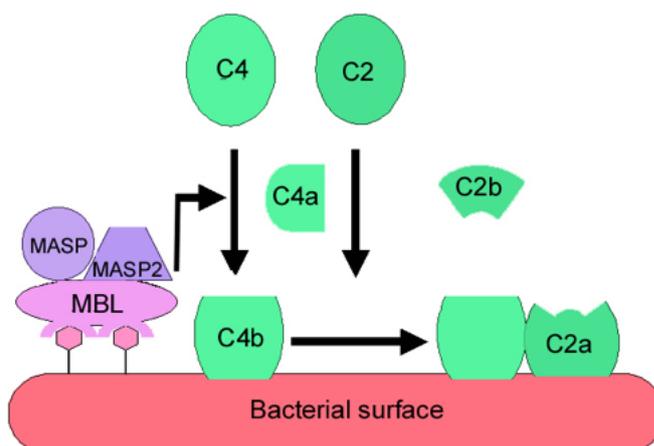
- Le **C1 inhibiteur (C1inh)** inhibe l'activité de C1r et C1s en les dissociant de C1q.
- La **C4bp (binding protein)** est une protéine soluble qui se lie à C4b et dissocie la C3 convertase classique. Elle permet aussi au **facteur I** (inactivateur de C3) d'inactiver C4b en le clivant en fragments C4c et C4d.
- D'autres facteurs (Figure 2), présents sur les membranes de la plupart des cellules, interviennent soit en dissociant la convertase (**Decay accelerating factor ou DAF**) soit en jouant le rôle de cofacteur de I (**MCP et CR1**).
- Enfin, les convertases sont particulièrement labiles et ont tendance à se dissocier spontanément de façon rapide.

2.2. VOIE DES LECTINES

Une variante de la VC (figure 2), qui est indépendante du composant C1 et des anticorps, est mise en jeu lors de l'interaction de lectines plasmatiques avec des glucides de certaines surfaces activatrices. L'activation fait intervenir un complexe qui est synthétisé par les hépatocytes et qui ressemble à C1; la MBL (Mannose Binding Protein) ou protéine de liaison du mannose, membre de la famille des collectines.

La MBL associée à deux protéines, MASP 1 et MASP2, après liaison à des résidus mannose présents sur de nombreux pathogènes, se comporte comme le C1 et agit sur les C4 et C2 pour former une C3 convertase.

Figure 2 : Voie des lectines



2.3. VOIE ALTERNE :

2.3.1. SÉQUENCES DE RÉACTIONS :

En premier lieu, il se forme une C3 convertase initiatrice soluble qui provient de l'hydrolyse continue de la liaison thio-ester d'une petite quantité de C3, qui donne C3H₂O (C3 Tick-over). C3H₂O a la capacité de fixer une protéine, le facteur B en présence d'ions Mg⁺⁺ (Figure 3).

Le facteur B associé à C3H₂O est clivé en deux fragments : Ba et Bb par une enzyme, le facteur D. Il se forme alors un complexe bimoléculaire **C3H₂O₂Bb** qui est la C3 convertase alterne initiatrice, stabilisée par la properdine et qui possède une activité de protéolyse grâce au fragment Bb, qui va cliver C3 en C3b et C3a.

Cette activité est, dans les conditions normales, contrôlée par des régulateurs comme les facteurs H et I. Ce contrôle ne peut plus avoir lieu lorsqu'il existe une surface activatrice, pauvre en acide sialique, au niveau du site d'expression de la C3 convertase soluble. Cette surface activatrice est généralement retrouvée sur de nombreux pathogènes : bactéries, parasites, virus.

C3b se fixe de façon covalente à la surface du pathogène et s'associe en présence de Mg⁺⁺ avec le facteur B pour former le C3bB; B subit ainsi un clivage par le D. Il s'ensuit la formation de C3bBb. C'est la C3 convertase alterne membranaire, présente à la surface activatrice, qui agit sur C3 pour donner de nouvelles molécules de C3b capables à leur tour d'engendrer de nouvelles convertases, après réaction avec B et D. On parle de boucle d'amplification : Cette C3 convertase est dite autoamplificatrice (Figure 4).

Figure 3 : C3 Tick-over

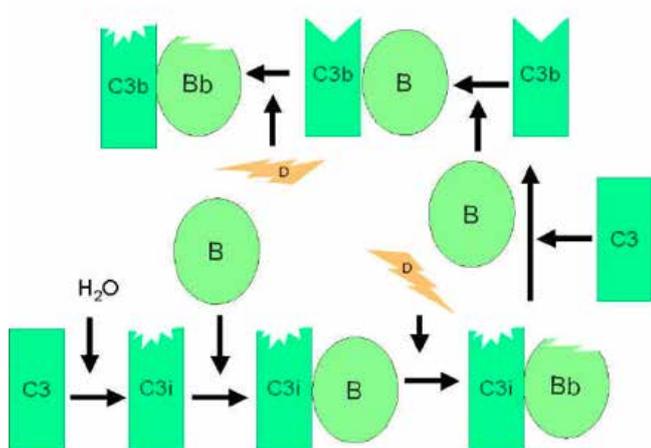
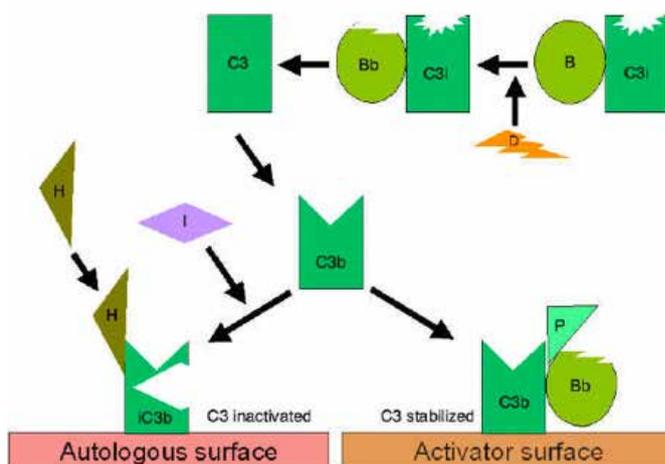


Figure 4 : Stabilisation de la C3 convertase alterne

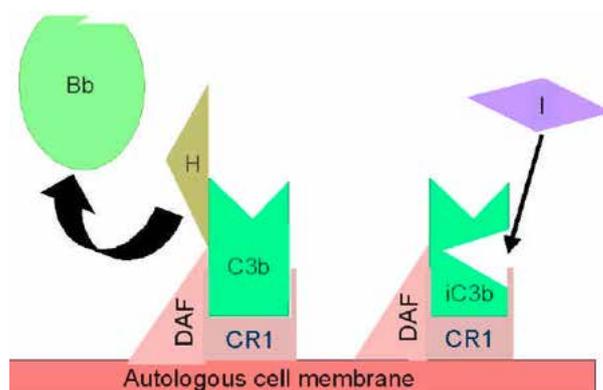


2.3.2. MÉCANISMES DE RÉGULATION (Fig. 5):

Deux protéines contrôlent la boucle d'amplification du C3b :

- Le facteur H qui dissocie de façon rapide la C3 convertase alterne en se liant avec B. La liaison de H permet aussi au facteur I de cliver C3b en fragments inactifs.
- Des protéines de contrôle membranaire, le DAF et le CR1, interviennent aussi sur la C3 convertase alterne.

Figure 5 : Régulation du C3 b



2.4 FORMATION D'UN COMPLEXE D'ATTAQUE MEMBRANAIRE :

À partir de C3b, une étape de liaison aboutit, par association covalente d'une molécule de C3b aux C3 convertases, à des complexes trimoléculaires, C4b2a3b et C3bBb3b, respectivement les C5 convertases de la VC et de la VA.

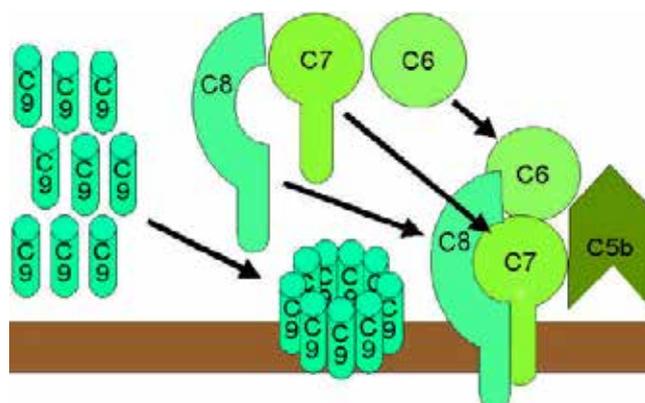
Ces C5 convertases sont capables de protéolyser une liaison peptidique dans la protéine C5 et entraînent la formation de C5a et C5b.

La formation du CAM débute avec la fixation de C6 sur C5b et se poursuit par la fixation séquentielle des composants C7, C8 et C9. Au cours de ce processus, des zones hydrophobes de ces molécules sont exposées et deviennent capables d'interagir avec les bicouches lipidiques des membranes cellulaires.

En fin de formation, le CAM forme un canal transmembranaire grâce à la polymérisation du composant C9 (Figure 6). Ce canal transmembranaire entraîne la lyse osmotique de la cellule.

L'activité du CAM est inhibée par des mécanismes d'exocytose et d'endocytose, qui sont particulièrement efficaces dans les cellules nucléées.

Figure 6: Formation du CAM



De nombreux systèmes de contrôle interviennent au cours de la formation du CAM :

- Des protéines plasmatiques telles que la protéine S et la clustérine qui empêchent la fixation membranaire des molécules du CAM.
- Des protéines membranaires : les protéines C8bp et HRF20 se fixent en empêchant la liaison de C9 et sa polymérisation.

3. RÉCEPTEURS CELLULAIRES ET PROTÉINES RÉGULATRICES MEMBRANAIRES :

- Le DAF (CD55) est une protéine liée aux phospholipides membranaires qui existe sur un grand nombre de cellules : cellules sanguines, cellules endothéliales et épithéliales. Le DAF dissocie les C3 convertases et constitue un système de protection contre l'activation du SC par les cellules autologues.
- Le MCP (CD46) est présent sur toutes les cellules sauf les hématies. Cette protéine fixe C3b et C4b et favorise leur inactivation. Le MCP est un cofacteur du facteur I, à l'instar du DAF.
- Le récepteur CR1 lie les fragments C3b et C4b. Il a en outre la fonction de cofacteur du facteur I pour le clivage de C3b et de C4b. CR1 existe sur les hématies, les polynucléaires neutrophiles et éosinophiles, les monocytes et les lymphocytes.
- Le récepteur CR2 (CD21) est le récepteur de C3b et de C3d et se trouve sur les lymphocytes B et sur les cellules dendritiques folliculaires.
- Les récepteurs CR3 et CR4 qui appartiennent à la famille des intégrités lient les fragments C3bi. Ils sont exprimés surtout sur les monocytes, les polynucléaires et les NK.
- Les récepteurs de C3a et C5a existent sur les mastocytes, les polynucléaires et les monocytes.

4. ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DU SC : (FIGURE 7)

4.1. LYSE MEMBRANAIRE :

La lyse des membranes est le principal effet dû à la formation du CAM, effet qui se manifeste surtout à l'égard de cellules non nucléées.

4.2. OPSONISATION ET PHAGOCYTOSE :

L'opsonisation des microorganismes ou des cellules étrangères par C3b, C3bi et C4b permet leur fixation aux récepteurs CR1, CR3 présents sur les phagocytes (monocytes, neutrophiles) et en un deuxième temps, leur phagocytose.

4.3. SOLUBILISATION ET TRANSPORT DES COMPLEXES IMMUNS :

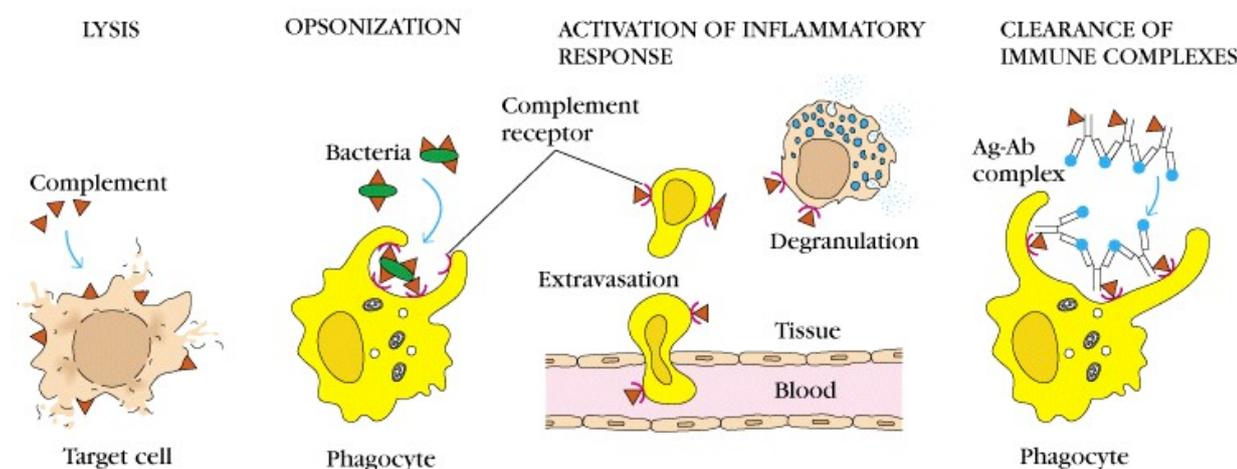
Par la liaison aux récepteurs CR1 des hématies, les complexes immuns ayant fixé le C3b sont transportés vers le foie et la rate où ils vont être clivés par les macrophages présents dans ces organes. Ce processus entraîne en même temps la perte des récepteurs CR1.

4.4. INDUCTION D'UNE RÉACTION INFLAMMATOIRE :

Les fragments C4a, C3a et C5a libérés lors de l'activation du SC sont appelés **anaphylatoxines**, car capables d'entraîner une dégranulation des mastocytes et des basophiles, une augmentation de la perméabilité capillaire et la contraction des fibres musculaires lisses. De plus, C5a, C5b67 et C3a ont un rôle chimiotactique à l'égard des cellules qui possèdent leurs récepteurs spécifiques. C5a est un puissant activateur des neutrophiles et des macrophages.

Le fragment C2b généré lors de la VC est une prokinine qui devient biologiquement active après l'action enzymatique de la plasmine et entraîne une perméabilité accrue et un œdème.

Figure 7 : Activités biologiques du complément



5. EXPLORATION DU SYSTEME COMPLEMENTAIRE :

L'étude du SC se fait soit sur du sérum soit sur plasma EDTA. L'échantillon doit être acheminé rapidement vers le laboratoire. Si l'examen doit être fait dans un délai important, il faut conserver le sérum à - 70 °.

- Le complément est habituellement mesuré en évaluant la capacité du sérum à lyser des hématies de mouton recouvertes d'anticorps de lapin anti-GR de mouton. Ce dosage concerne l'ensemble des composants de la VC. Les valeurs sont exprimées en unités par millilitre. **L'unité CH50** correspond à la quantité de sérum nécessaire à la lyse de 50% des hématies de mouton.

- On peut aussi réaliser par immunodiffusion radiale ou par néphélométrie les dosages pondéraux de certains composants comme le C3, le C4, le facteur B et le C1inh.

Une augmentation du taux sérique du SC peut s'observer au cours de certaines maladies infectieuses aiguës ou chroniques ainsi que dans certaines affections inflammatoires. Une hypercomplémentémie s'observe aussi au cours de la grossesse. **L'hypocomplémentémie** se voit dans de nombreuses situations : le plus souvent lors d'un excès de catabolisme, par exemple dans les cas d'activation de la VC où les composants C1, C2, C4 et C3 sont diminués (maladie sérique aiguë, lupus, cryoglobulinémies, etc.). Il existe aussi des situations d'activation de la VA avec diminution de C3 et de facteur B sans diminution des composants de la VC : C'est le cas de la glomérulonéphrite membrano-proliférative avec facteur néphritique circulant (autoanticorps anti-C3bBb inhibant l'action de H), également des septicémies à Gram négatifs.

Plus rarement, l'hypocomplémentémie est due au défaut génétique d'un composant. Plusieurs déficits ont été décrits. Le déficit en C2 est le plus fréquent et s'accompagne de glomérulonéphrite ou de lupus, à l'instar du déficit en C4. Le déficit en C1inh s'accompagne d'œdème angioneurotique. Les déficits en C5, C6, C7, C8 sont responsables d'infections sévères et répétées par des bactéries du genre Neisseria.

LA RÉPONSE IMMUNITAIRE ADAPTATIVE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1- Décrire les étapes d'activation du lymphocyte T naïf.
- 2- Préciser les mécanismes de différenciation fonctionnelle des lymphocytes T auxiliaires.
- 3- Détailler les mécanismes de différenciation des lymphocytes T CD8 cytotoxique.
- 4- Décrire le mode d'action des LT cytotoxiques.
- 5- Préciser les mécanismes d'activation macrophagique par le lymphocyte Th1.
- 6- Décrire les caractéristiques de la réponse immune humorale vis-à-vis d'un antigène thymo-indépendant.
- 7- Détailler les différentes étapes de la réponse immune humorale vis-à-vis d'un antigène thymo-dépendant.
- 8- Décrire les caractéristiques de la réponse immune humorale primaire et secondaire.

INTRODUCTION

Le système immunitaire est capable de reconnaître et d'éliminer sélectivement des microorganismes étrangers. En effet, l'organisme répond à l'agression en mettant en place un système de défense spécifique de l'antigène et adapté à la nature de ce dernier appelé **immunité adaptative** ou **acquise**. La réponse immunitaire adaptative est **spécifique** de l'antigène du fait que ses acteurs cellulaires, les lymphocytes, portent un seul type de récepteur capable de reconnaître un déterminant antigénique (encore appelé épitope). La réponse adaptative est **limitée** dans le temps à l'éradication de l'agresseur dont elle garde la **mémoire**.

La **réponse immunitaire immunitaire** se déroule dans les **organes lymphoïdes secondaires** et est le résultat de la première rencontre entre les lymphocytes naïfs et l'antigène. La **réponse secondaire** se produit lors d'expositions ultérieures avec le même antigène. Cette réponse est plus rapide, plus ample et plus durable, donc plus importante et plus efficace pour éliminer l'antigène. La réponse secondaire résulte de l'activation des **lymphocytes mémoires** aussi bien T que B. La **mémoire** permet d'optimiser la capacité du système immunitaire à combattre les infections persistantes et récurrentes.

Au cours de la réponse immunitaire, il existe :

- une **interaction étroite entre l'immunité innée et adaptative** : c'est là qu'intervient notamment le rôle des cellules présentatrices d'antigène (CPA) qui permettent de présenter les peptides antigéniques aux lymphocytes T.
- de nombreuses **coopérations cellulaires entre les lymphocytes B et T** pour aboutir à une réponse humorale efficace.
- des coopérations **cellulaires entre**, d'une part, **les lymphocytes T CD4** et d'autre part, **les lymphocytes T CD8** ou **les macrophages**, pour aboutir une réponse cellulaire efficace.

À travers l'activation des lymphocytes B (anticorps), la réponse immunitaire peut assurer une protection contre les microorganismes à développement extracellulaire. Le rôle essentiel de la branche à médiation cellulaire, à travers l'activation des lymphocytes T CD8 cytotoxiques, est de détecter et d'éliminer les pathogènes intracellulaires (virus) ainsi que les cellules tumorales. Bien que l'immunité humorale et celle à médiation cellulaire aient des caractères propres, elles ne sont pas complètement indépendantes. En effet, face à certains micropathogènes, l'organisme doit développer les deux types de réponses immunitaires spécifiques (avec bien entendu une prédominance de l'une par rapport à l'autre).

1. ACTIVATION ET DIFFÉRENCIATION DES LYMPHOCYTES T CD4 NAÏFS

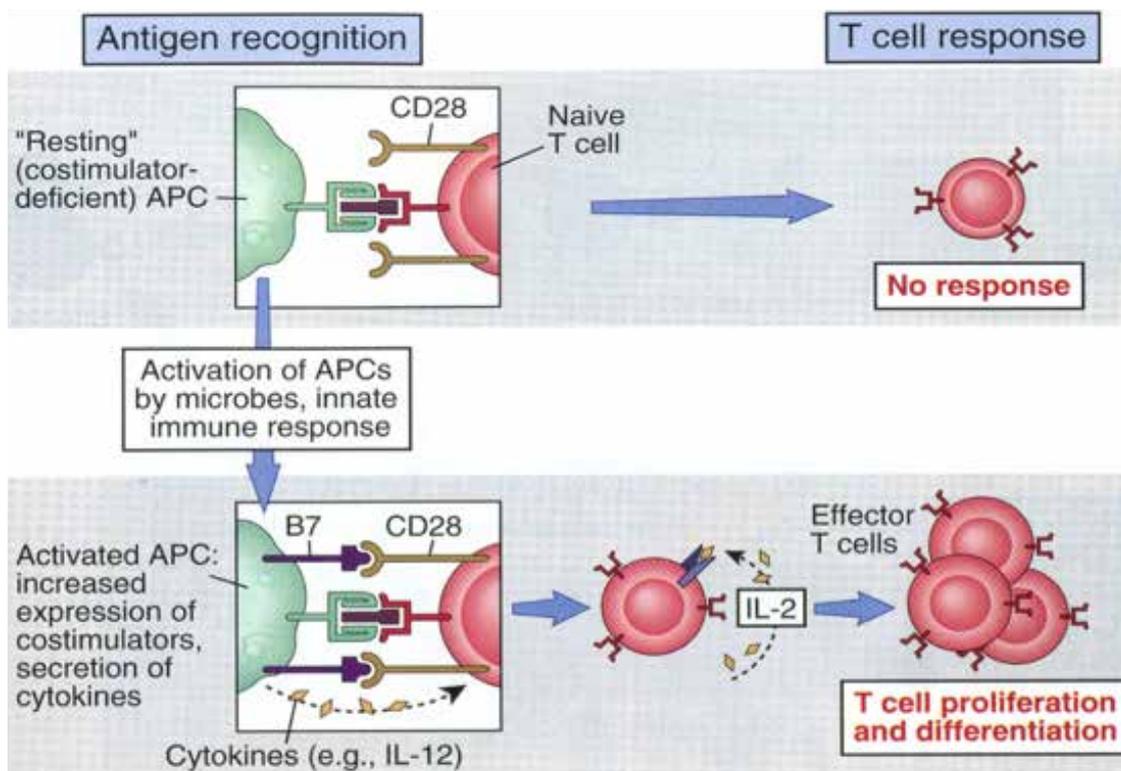
L'activation des lymphocytes T CD4 (appelées lymphocytes **auxiliaires ou helpers**) naïfs par la CPA est une première étape cruciale de l'immunité adaptative. Ce mécanisme se produit dans les organes lymphoïdes secondaires que les cellules T naïves traversent continuellement et où elles sont susceptibles de rencontrer l'antigène.

L'activation spécifique des lymphocytes T (LT) est suivie d'une prolifération lymphocytaire (**expansion clonale**) et d'une différenciation fonctionnelle (Th1 et Th2) définie par la nature des cytokines produites.

1.1 ACTIVATION DES LYMPHOCYTES T CD4

Les cellules présentatrices d'antigène (CPA) sont des cellules capables de capturer l'antigène, de l'apprêter et de le présenter aux LT sous forme de petits fragments peptidiques associés à des molécules du CMH (voir cours HLA). Pour être activée, une cellule T naïve doit non seulement reconnaître un peptide étranger fixé à une molécule du CMH du soi, mais également recevoir un deuxième signal dit « **de costimulation** » fourni par cette même CPA. En l'absence de ce deuxième signal, le lymphocyte T subit une activation incomplète qui entraîne un état réfractaire ou « **anergie** » (fig.1)

Fig.1 : Présentation de l'antigène : importance du 2^{ème} signal de costimulation



Les CPA professionnelles, que sont les **cellules dendritiques**, les **macrophages** et les **lymphocytes B**, sont des cellules capables d'exposer à leur surface des peptides associés à des molécules de CMH de classe II et de délivrer des signaux de costimulation nécessaires à l'activation du lymphocyte T CD4. Parmi ces CPA professionnelles, seules les cellules dendritiques **matures** sont capables d'activer les lymphocytes T CD4 naïfs.

Les cellules dendritiques, présentes dans les tissus périphériques et particulièrement dans la peau et les muqueuses (exp : les cellules de Langerhans de la peau), expriment à l'homéostasie un phénotype **immature** caractérisé par une capacité importante de capture de l'antigène (micropinocytose, endocytose et phagocytose) et par l'absence d'expression des molécules de costimulation B7 : Elles ne sont donc pas encore équipées pour activer les LT. Lorsqu'une infection se produit, ces cellules sont capables de reconnaître des motifs moléculaires associés aux pathogènes (**Pathogen Associated Molecular Patterns ou PAMPs**) qu'on appelle également « **signaux de danger** » à travers la liaison à des récepteurs particuliers qu'on appelle **PRRs** (Pattern recognition receptors) (voir cours immunité anti-infectieuse). Elles sont ainsi stimulées et gagnent par les vaisseaux lymphatiques afférents l'organe lymphoïde drainant où elles perdent leur capacité de capturer les antigènes et achèvent leur **maturation** en exprimant les molécules de costimulation.

Les lymphocytes T naïfs balayent alors la surface des cellules dendritiques présentes. Ils peuvent établir des liaisons de faible affinité via les molécules d'adhésion. Si aucune liaison de haute affinité n'est établie entre le TCR et le complexe peptide-CMH, le lymphocyte T naïf quitte le ganglion par le vaisseau lymphatique efférent. À l'opposé, si le TCR reconnaît spécifiquement le complexe peptide-CMH, une forte liaison est établie et le processus d'activation et d'expansion clonale peut débuter.

A. PREMIER SIGNAL : ENGAGEMENT DU TCR

Cette étape de reconnaissance entre le LT et la cellule dendritique est essentielle et conditionne les événements ultérieurs de la réponse immunitaire spécifique.

L'interaction entre la CPA et le LT se déroule en plusieurs phases :

- La première phase de ce dialogue est indépendante de l'antigène et elle met en jeu des couples de molécules d'adhésion qui vont établir des liaisons de faible affinité entre la cellule dendritique et le LT CD4 naïf (fig.2). Ces interactions transitoires sont primordiales pour laisser le temps aux cellules T de tester la présence des peptides spécifiques associés aux molécules CMH sur la CPA.

- La deuxième phase consiste en l'engagement, d'un petit nombre de TCR ayant reconnu leur peptide antigénique spécifique présenté en association aux molécules CMH de classe II. Cette liaison, de faibles affinités, est stabilisée, d'une part, par l'interaction de la molécule coréceptrice CD4 avec les molécules CMH de classe II et d'autre part, par l'augmentation de l'expression de molécules d'adhésion.

Toutes ces interactions définissent ce qu'on appelle une **synapse immunologique** avec une zone centrale composée de molécules TCR/peptide-CMH entourée d'un anneau riche en intégrines et en molécules d'adhésion (fig.3). L'association peut se maintenir pendant plusieurs heures, durant lesquels la cellule T naïve va pouvoir s'activer, proliférer et se différencier.

Fig.2 : Les molécules d'adhésion entre la CPA et le LT

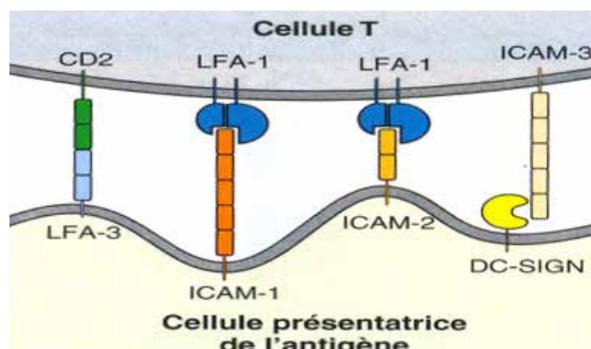
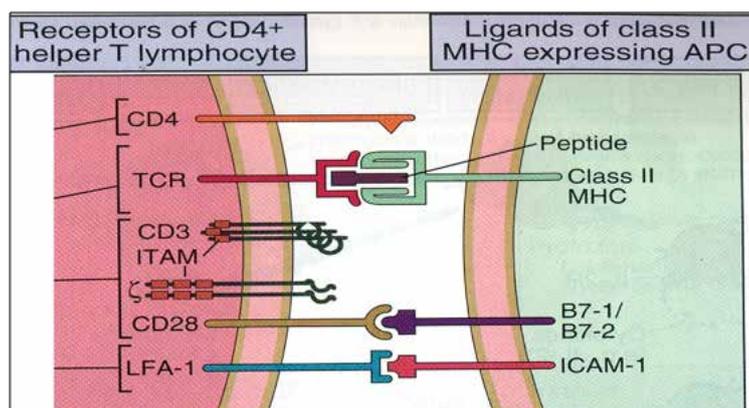


Fig.3 : la synapse immunologique

B. DEUXIÈME SIGNAL : CO-STIMULATION

L'activation complète conduisant à l'expansion clonale des lymphocytes T nécessite une interaction prolongée avec la cellule dendritique à travers la reconnaissance spécifique entre TCR et peptide antigénique, mais aussi un second signal dit « de costimulation » délivré par les CPA professionnelles.

Les molécules de costimulation les mieux caractérisées sur les CPA sont des homodimères appelées molécules **B7 (B7-1 : CD80 et B7-2 : CD86)**. Le ligand de ces molécules sur le lymphocyte T est appelé **CD28**.



La transduction de ces 2 signaux d'activation (signal 1 : TCR/peptide-CMH et signal 2 de costimulation) permet la progression du cycle cellulaire de la phase G₀ à la phase G₁ et l'activation du métabolisme nécessaire à la multiplication cellulaire.

Lors de la transduction de ces signaux, la transcription de certains gènes va aboutir à la synthèse de nouvelles protéines par le lymphocyte T CD4 activé :

- des **cytokines**, en particulier l'**IL-2**, **facteur autocrine de prolifération lymphocytaire**
- des **récepteurs de cytokines**, notamment la **chaîne α du récepteur à l'IL-2 ou CD25**
- **et de protéines membranaires** telles que le **CD40 ligand** qui se lie à **CD40** sur les CPA. Cette liaison entraîne une augmentation de l'expression de CD80/CD86, qui à son tour renforce le signal induit par CD28. Une boucle positive d'activation s'établit et aboutit à une forte prolifération des lymphocytes T spécifiques de l'antigène initialement reconnu.

C. EXPANSION CLONALE

L'activation du lymphocyte TCD4 est suivie de divisions cellulaires à l'origine de l'expansion d'un clone de cellules filles de même spécificité antigénique que la cellule initialement activée. Cette prolifération est indispensable au développement d'une réponse immunitaire efficace. Cette expansion est sous la dépendance de l'interleukine IL-2 et de l'expression d'un récepteur de haute affinité à l'IL-2. En effet, les cellules T au repos expriment un récepteur composé des chaînes β et γ qui fixe l'IL-2 avec une faible affinité. Après activation, les lymphocytes T CD4 synthétisent la chaîne α qui s'associe aux chaînes β et γ formant un récepteur de plus haute affinité.

Il est important de noter que le **signal de costimulation** est indispensable à la synthèse et à la **sécrétion d'IL-2**, elle-même déterminante dans le déclenchement de la réponse immunitaire adaptative. Ainsi, la reconnaissance de l'antigène en absence de costimulation inactive les lymphocytes T naïfs, les plaçant dans un état d'anergie caractérisé par l'incapacité à produire et à répondre à l'IL-2.

1.2 DIFFÉRENCIATION LYMPHOCYTAIRE

Les lymphocytes T CD4+ récemment activés (appelés **Th0**) subissent une différenciation fonctionnelle (Th1, Th2), définie par le profil des cytokines produites et par conséquent par leur fonction dans l'activation des effecteurs de la réponse immunitaire. Les lymphocytes **Th1** produisent de l'**IL-2** et de l'**IFN-γ** et jouent un rôle clef dans l'activation des précurseurs de la réponse immunitaire cytotoxique (les lymphocytes T CD8), les cellules NK et les macrophages. Les lymphocytes **Th2** produisent préférentiellement de l'**IL-4**, **IL-5**, **IL-6**, **IL-10** et **IL-13**. Ces cytokines sont nécessaires à la prolifération des LB et à leur différenciation en plasmocytes producteurs d'anticorps et favorisent ainsi le développement de la réponse immunitaire humorale.

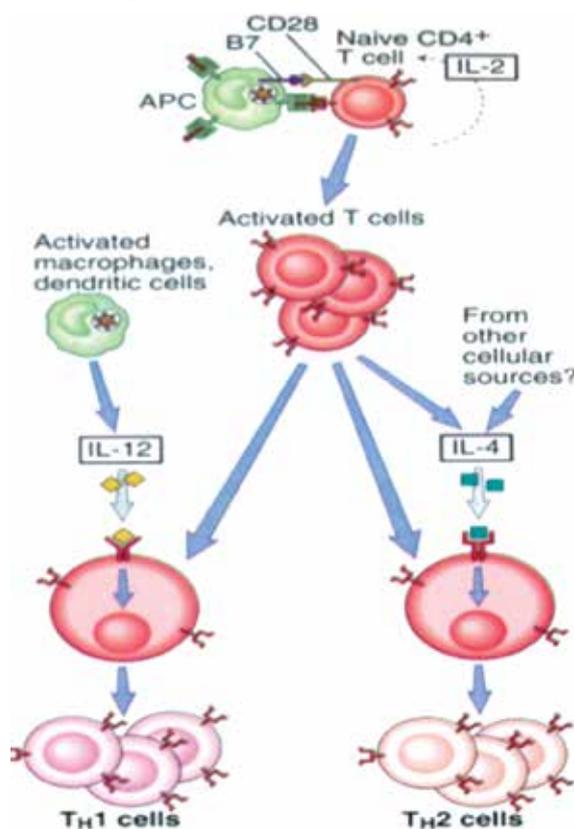
Les éléments qui déterminent si une cellule CD4+ Th0 va se différencier en Th1 ou Th2 ne sont pas encore entièrement connus. De façon générale, un **troisième signal** est impliqué dans cette différenciation. Ce troisième signal est majoritairement représenté par les **cytokines** présentes dans le microenvironnement où a lieu l'interaction physique entre les cellules présentatrices d'antigène et les lymphocytes T. **L'IL-12** favorise ainsi le développement des Th1 alors que **l'IL-4** celle des Th2 (Fig.4). Le microenvironnement cytokinique dépend lui-même de la nature de l'antigène (pathogène) reconnu par les cellules présentatrices d'antigène. Par exemple, les PAMPs des **pathogènes intracellulaires** induisent l'activation des cellules présentatrices d'antigène et leur sécrétion des cytokines inductrices d'une réponse Th1 telles que l'IL-12. Une boucle de **régulation croisée** existe entre les réponses Th1 et Th2 ; l'IL-4 inhibe la différenciation Th1 et l'IFN- γ inhibe la différenciation Th2.

Plus récemment d'autres profils de lymphocytes T CD4 auxiliaires ont été décrits. **Les cellules Th17** produisent surtout de l'IL-17 et de l'IL-22. Ces cellules sont importantes pour le contrôle des infections bactériennes extracellulaires et fongiques et jouent un rôle dans le recrutement et l'activation des cellules de l'immunité innée comme les polynucléaires neutrophiles. Les lymphocytes Th17 sont impliqués dans **plusieurs maladies auto-immunes et inflammatoires** telles que la **sclérose en plaques** et la **polyarthrite rhumatoïde**.

Il est important de signaler qu'il existe une certaine **plasticité** entre les différents profils de lymphocytes T effecteurs CD4+ décrits ci-dessus leur permettant de mieux s'adapter au contexte immunologique dans lequel ils se trouvent.

Il est aussi important de noter qu'à côté des cellules effectrices générées, un certain nombre de cellules filles va se transformer en « **cellules mémoires** ». Ce sont des lymphocytes à longue durée de vie capables d'assurer une protection rapide et efficace lors de nouvelles expositions de l'organisme au même antigène qui a induit leur prolifération.

Fig.4 : Différenciation Th1 ou Th2

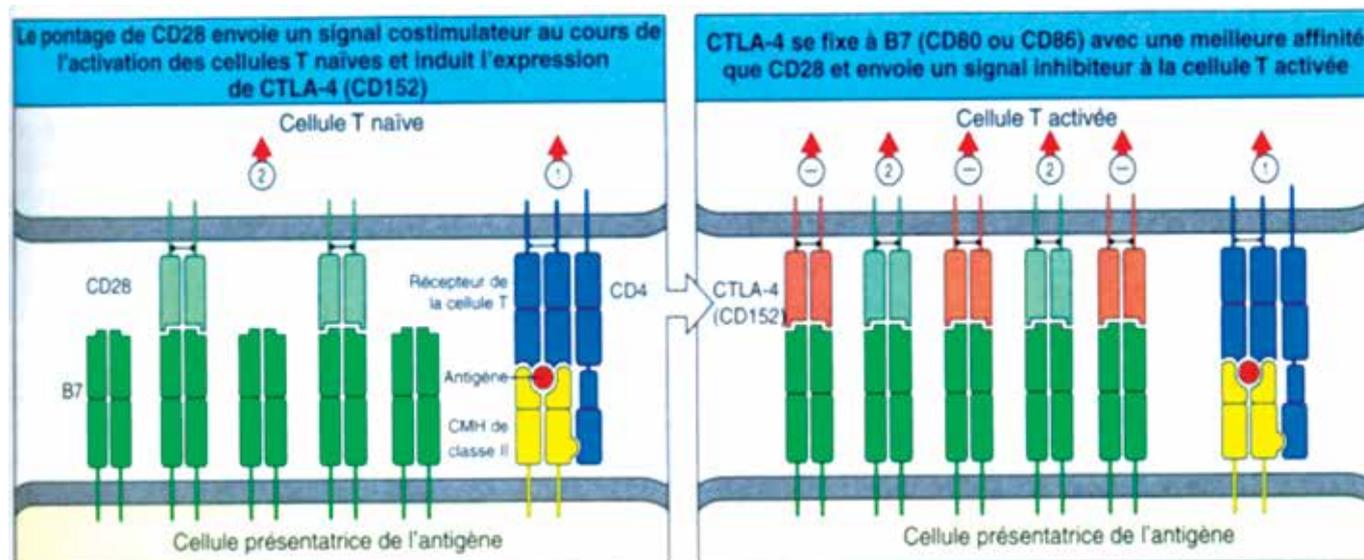


1.3 ARRÊT DE PROLIFÉRATION ET CONTRACTION CLONALE

Au cours de la réponse immunitaire, l'expansion clonale des lymphocytes T se développe en quelques jours. Cette prolifération massive est suivie d'une phase de **contraction clonale** qui constitue un rétrocontrôle nécessaire afin d'empêcher une prolifération incontrôlée des lymphocytes T. La contraction clonale met en jeu deux principaux mécanismes :

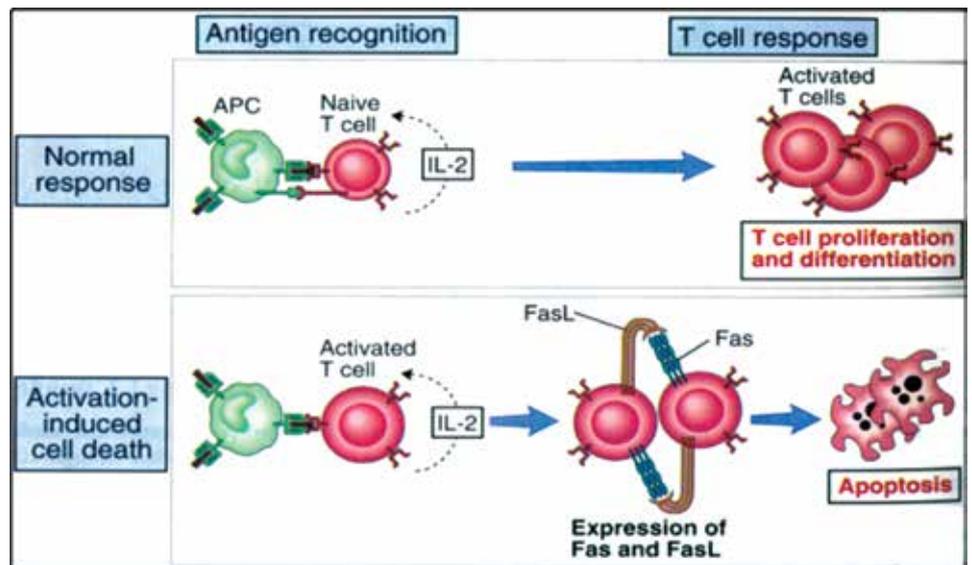
- **L'inhibition de la prolifération cellulaire** : L'activation des lymphocytes T à travers le couple TCR/CD28 induit l'expression différée de plusieurs molécules qui sont capables de modifier le signal de costimulation. L'une d'entre elles est la molécule **CTLA-4** (« cytotoxic T lymphocyte antigen », CD152), une molécule qui possède des homologues avec la molécule CD28 et qui se lie comme elle aux molécules B7 mais avec une affinité supérieure. La liaison de CTLA-4 aux molécules B7 délivre un **signal inhibiteur** à la cellule T activée limitant sa réponse proliférative (fig.5).

Fig.5 : Expression de molécule CTLA-4



• **La mort par activation** : En cas de stimulation prolongée des lymphocytes T, la contraction clonale est assurée par un mécanisme de **mort cellulaire par activation (AICD** : activation induced cell death). Celle-ci fait intervenir l'expression de la molécule **Fas Ligand** ou CD95L par les lymphocytes T activés. La liaison de ces molécules à leurs récepteurs Fas exprimés constitutivement sur les cellules (et qui possèdent un domaine de mort dans leur région intracellulaire) provoque l'apoptose du lymphocyte T (fig.6).

Fig.6 : La mort cellulaire par activation



2. LA RÉPONSE IMMUNE CELLULAIRE

Le lymphocyte effecteur CD4 Th1 coopère aussi bien avec le lymphocyte T CD8 que le macrophage afin d'assurer la mise en place d'une réponse immune cellulaire efficace contre les pathogènes à développement intracellulaire.

2.1. LA RÉPONSE IMMUNE CD8 CYTOTOXIQUE

La réponse immune CD8 cytotoxique est caractérisée par l'activation et la différenciation des LT CD8 en cellules CD8 cytotoxiques (**CTL**). Ces dernières acquièrent la capacité de détruire spécifiquement par contact direct les cellules exprimant à leur surface des antigènes viraux ou des antigènes tumoraux (**endoantigènes**) associés aux molécules CMH de classe I.

A. ACTIVATION ET DIFFÉRENCIATION DES LYMPHOCYTES CD8 CYTOTOXIQUES

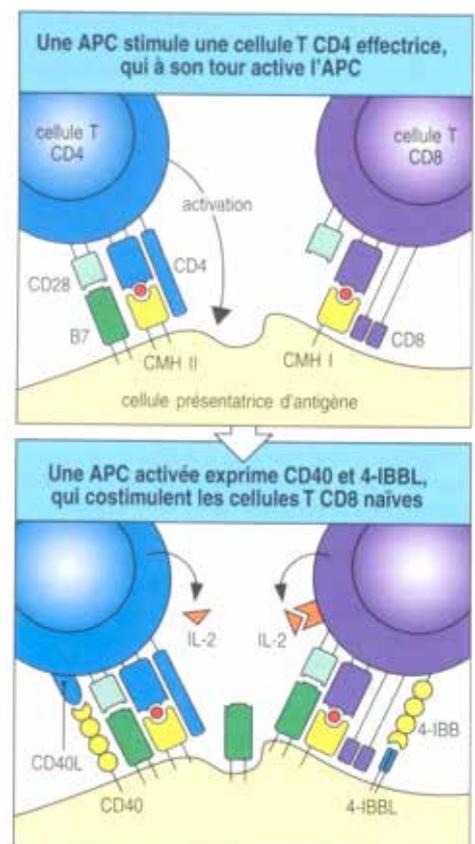
Lors d'une infection virale ou d'une transformation tumorale, la cellule altérée est endocytée par la cellule dendritique qui migre vers les ganglions drainants et se charge de présenter les peptides viraux ou tumoraux non seulement aux lymphocytes T CD4+, mais aussi aux lymphocytes T CD8+. Ce phénomène, appelé **cross-présentation**, est une caractéristique unique des cellules dendritiques. Il permet à ces cellules de présenter des peptides **exogènes** sur les molécules **HLA de classe I** et d'activer ainsi les lymphocytes T CD8 spécifiques.

Cependant, les CDmatures ne présentent pas assez de molécules de costimulation pour activer de façon complète les cellules CD8+. En effet, les lymphocytes T CD8+ naïfs ont besoin d'un **taux très élevé d'activité de costimulation** pour devenir des cellules effectrices cytotoxiques (très probablement à cause de leur rôle très destructeur). Dans ce cas, l'activation des cellules CD8+ nécessite la coopération des lymphocytes auxiliaires TCD4+ Th1 qui reconnaissent le même antigène présenté par la CPA. Cette coopération se fait à travers deux mécanismes différents ;

- D'un côté, les LT CD4+ Th1 activent la CPA à travers l'interaction du couple CD40L/CD40 et induisent ainsi une augmentation plus importante de l'expression des molécules de costimulation B7 (fig. 7).
- D'un autre côté, la contribution des lymphocytes T CD4 Th1 peut venir de leur production d'IL-2 qui favorise la différenciation des lymphocytes T CD8 (fig. 7).

L'activation des lymphocytes T CD8+ est ainsi dépendante de l'intervention des LT CD4+ qui permettent de compenser l'activité costimulatrice inadéquate de la CPA. Les LT CD8+ activés vont ainsi proliférer pour générer un clone de LT CD8+ spécifique de l'antigène. Certains vont constituer les **cellules mémoires**, d'autres vont se différencier en **cellules effectrices (CTL)** dotées de fonctions cytotoxiques grâce à la synthèse de molécules toxiques aussi bien solubles que membranaires.

Fig.7 : Activation Th CD4-dépendante des LT CD8+



B. PHASE EFFECTRICE

Les CTL, revenus au site d'infection ou de transformation, détruisent leurs cibles (cellules infectées par un virus ou tumorales) en induisant le déclenchement **d'un programme de mort cellulaire ou apoptose**. Ce mécanisme est très intéressant, particulièrement au cours des infections virales puisque l'apoptose va dégrader l'ADN de la cellule hôte ainsi que l'ADN viral empêchant ainsi l'assemblage des virions qui peuvent infecter des cellules voisines.

Les CTL agissent par l'intermédiaire de molécules toxiques solubles et membranaires.

Les molécules solubles

La reconnaissance des peptides antigéniques associés aux molécules MHC de classe I exprimés à la surface des cellules infectées entraîne une mobilisation rapide des **granules** contenus dans les CTL vers leur membrane. Ces granules contiennent des molécules (**perforines** et **granzymes**) qui sont initialement stockées à pH acide sous forme inactive. Après la fusion des granules avec la membrane plasmique, les molécules relarguées dans les espaces extracellulaires s'activent à pH neutre. La perforine libérée crée des pores dans la membrane de la cellule cible. Les granzymes, qui sont des protéases à sérine, pénètrent dans la cible par ces pores et induisent l'activation des caspases aboutissant à la fragmentation de l'ADN et la mort cellulaire par apoptose (fig.8).

Les molécules membranaires

Une voie alternative de lyse consiste en l'induction de l'expression de **Fas Ligand** par les CTL. L'interaction de Fas Ligand avec les molécules **Fas** exprimées sur les cellules infectées ou tumorales entraîne la mort de ces dernières également par activation de l'apoptose.

Ainsi, les CTL adhèrent dans un premier temps, à la cellule cible par des interactions de faible affinité entre les couples de molécules d'adhésion. Ayant reconnu spécifiquement le peptide antigénique (qui a induit sa prolifération et sa différenciation), le CTL va libérer les molécules cytotoxiques qui induisent la mort cellulaire. Après avoir accompli son « coup léthal », le CTL se sépare de la cellule cible pour aller attaquer de nouvelles cibles accomplissant « un meurtre en série ».

La majorité des cellules T CD8+ cytotoxiques peuvent aussi libérer des cytokines comme l'**IFN- γ** qui contribue à la défense de l'hôte par différents mécanismes. L'IFN- γ inhibe directement la réplication virale et induit l'expression de molécules CMH de classe I par les cellules infectées (ce qui va augmenter la chance pour qu'elles soient reconnues comme cibles d'une attaque cytotoxique).

2.2. L'ACTIVATION DES MACROPHAGES

Le lymphocyte T CD4 Th1 est capable de fournir des signaux activateurs aux macrophages les rendant capables de détruire les pathogènes ingérés. Ceci est particulièrement important dans le cas des pathogènes à développement intracellulaire ayant résisté à la lyse après avoir été ingérés.

Ce mécanisme implique une coopération in situ entre le lymphocyte Th1 effecteur (préalablement activé par la CD au niveau du ganglion) et le macrophage mettant en jeu une reconnaissance spécifique des peptides antigéniques de ces pathogènes présentés par les molécules CMH de classe II du macrophage.

Le lymphocyte Th1 ayant reconnu spécifiquement le macrophage infecté délivre alors deux signaux activateurs ; d'une part l'**IFN- γ** , une puissante cytokine activatrice des fonctions macrophagiques et d'autre part, le **CD40L** qui se liera au CD40 exprimé par le macrophage (Fig. 9). Ces deux signaux vont agir en synergie de manière à augmenter l'activité microbicide du macrophage en induisant en particulier la production d'oxyde nitrique (NO) et du superoxyde (O_2^-).

Le macrophage activé produit alors plusieurs médiateurs tels que l'**IL-12** et le **TNF- α** . L'IL-12 joue un rôle important dans le maintien de la production d'IFN- γ par le lymphocyte T CD4 Th1. Le TNF- α agit sur le macrophage de manière autocrine et en synergie avec l'IFN- γ en amplifiant l'action microbicide du macrophage.

Fig.8 : Cytotoxicité des LT CD8+

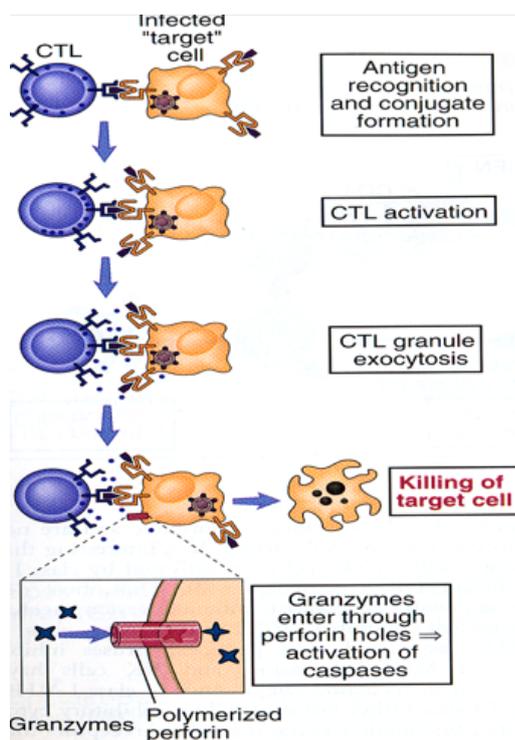
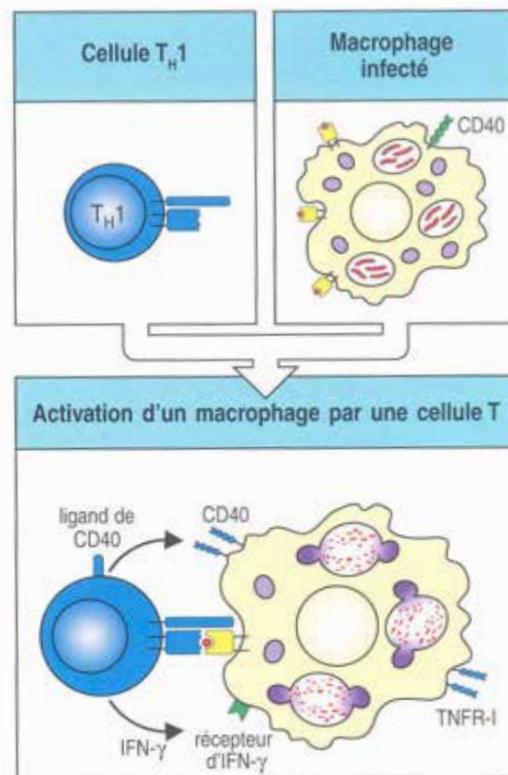


Fig.9 : Activation du macrophage par le lymphocyte Th1



L'importance de l'axe IL-12/IFN- γ dans l'immunité à médiation cellulaire vis-à-vis des pathogènes à développement intracellulaire (en particulier les mycobactéries) est illustrée par le syndrome de susceptibilité mendélienne aux mycobactéries. Ce syndrome, secondaire à des mutations génétiques des gènes impliqués dans cet axe (récepteur à l'IL-12, récepteur à l'IFN- γ , IL-12, etc.) est, en effet, caractérisé par des infections récurrentes aux mycobactéries.

3. LA RÉPONSE IMMUNE HUMORALE

Les anticorps jouent un rôle très important au cours de la réponse immune en entraînant la destruction des microorganismes à développement extracellulaire. L'activation des cellules B et leur différenciation en plasmocytes sécrétant les anticorps est induite par l'antigène et nécessite généralement la présence de cellules T auxiliaires CD4+ le plus souvent de type Th2. Dans ce cas, on parle d'**antigène thymo-dépendants**. Plus rarement, certains antigènes, qu'on appelle **thymo-in-dépendants**, sont capables d'activer directement les lymphocytes B sans l'aide des lymphocytes T auxiliaires.

3.1 LES ANTIGÈNES T INDÉPENDANTS

Ces antigènes sont capables d'induire directement la production d'anticorps. Ils sont généralement constitués d'épitopes répétitifs (tels que les lipopolysaccharides ou LPS bactériens) qui vont entraîner l'engagement simultané de plusieurs récepteurs membranaires (BCR) avec ces multiples déterminants antigéniques. Ce phénomène de pontage induit la transmission d'un signal d'activation intracellulaire responsable de la synthèse des immunoglobulines (Ig). Cette production est rapide et aboutit à la **sécrétion d'IgM**. Le LB ne conserve **pas de mémoire** suite à ce contact antigénique; une exposition ultérieure au même antigène reproduira le même type de réponse avec les mêmes caractéristiques qu'une **réponse primaire** sans **commutation de classes** des immunoglobulines.

3.2 LES ANTIGÈNES T DÉPENDANTS

Ces antigènes, de type peptidique, sont les plus fréquents. La seule interaction entre ces antigènes et le BCR (considéré comme le 1^{er} signal d'activation) n'est pas suffisante pour activer le LB et déclencher la synthèse d'anticorps. Les LB ont besoin d'une aide fournie par les LT (Th) (2^{ème} signal dans le cadre d'une coopération T - B définissant la réponse T dépendante où le LB se comporte en cellule présentant l'antigène au LT. À l'inverse des antigènes thymo-dépendants, le LB conserve **la mémoire** de ce contact; une exposition ultérieure au même antigène produira une **réponse de type secondaire** avec production d'anticorps caractérisés par une meilleure affinité (grâce au mécanisme de **mutations somatiques**) et une prédominance des IgG (grâce au mécanisme de **commutation isotypique**).

A. RECONNAISSANCE ET PRÉSENTATION DE L'ANTIGÈNE

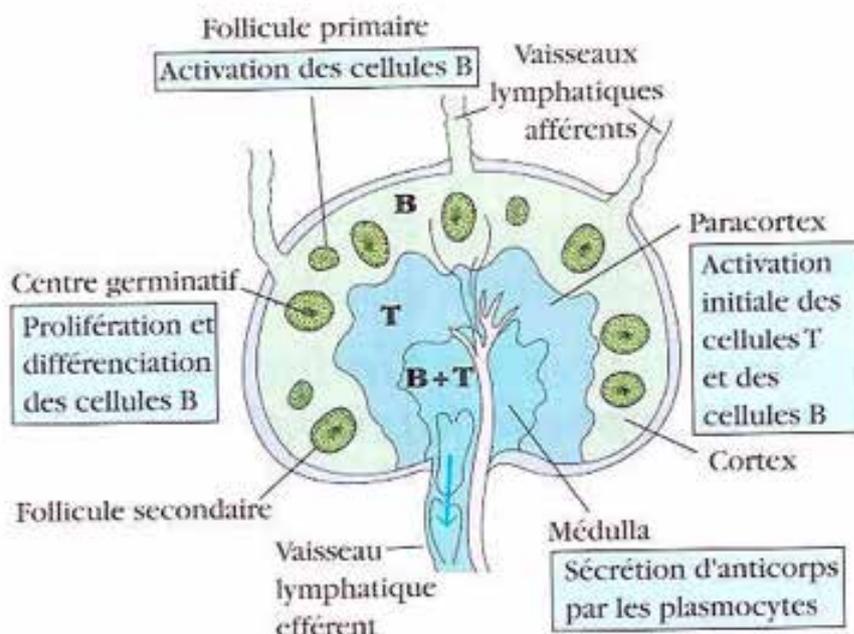
L'immunoglobuline de surface constitue le récepteur antigénique de la cellule B (BCR) qui joue deux rôles dans l'activation de la cellule B :

- d'abord, il reconnaît l'antigène spécifique sous sa forme native et transmet un premier signal d'activation à l'intérieur de la cellule à la manière du TCR.
- ensuite, il peut être internalisé (en association avec l'antigène) dans des vésicules d'endocytose dans lesquelles l'antigène sera dégradé sous forme de peptides antigéniques. Ces peptides sont présentés à la surface du LB en association aux molécules CMH de classe II.

Les lymphocytes B spécifiques qui ont internalisé l'antigène migrent du cortex vers les zones T du ganglion lymphatique (fig. 10). Le complexe peptide-CMH, présenté par le LB va être reconnu par les cellules T CD4+ spécifiques de l'antigène préalablement activé par la CD. Il y aura alors formation d'un conjugué B-T permettant la coopération entre ces deux cellules à la jonction entre le cortex et le paracortex (fig. 10).

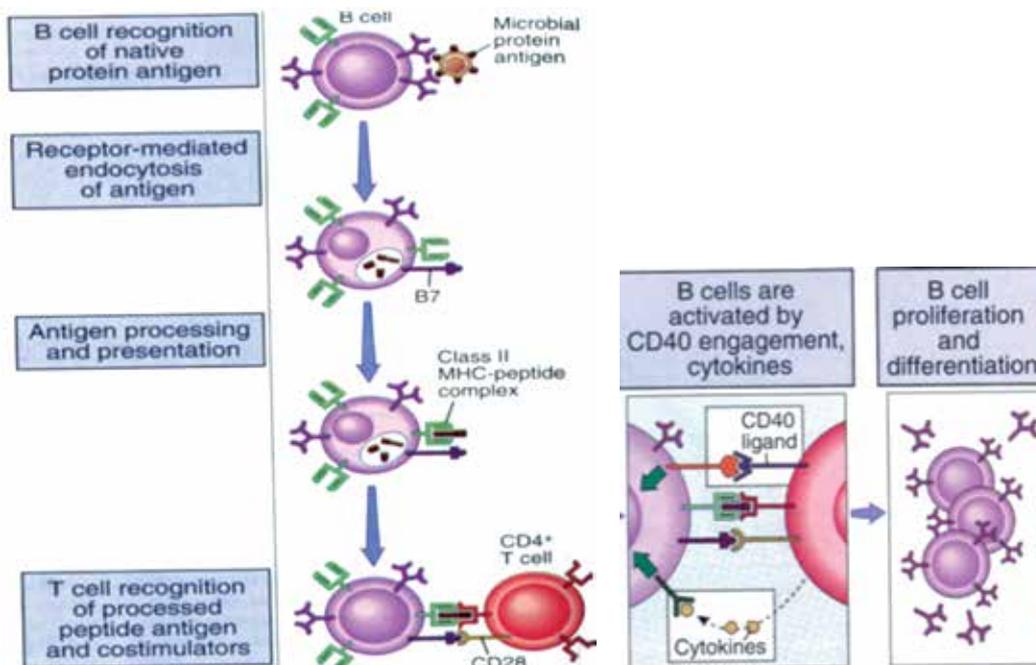
Le lymphocyte B reçoit, en effet, du lymphocyte T **deux signaux** essentiels à sa prolifération et sa différenciation (fig. 11). **L'interaction CD40L/CD40** délivre un signal de costimulation au LB, ce qui contribue au déclenchement du cy-

Fig.10 : sites d'induction de la réponse humorale



de la cellule B initialement au repos. **Les cytokines Th2**, en particulier l'IL-4, sont importantes pour l'expansion clonale des LB, la différenciation en plasmocytes et la production d'anticorps. Ces deux signaux (cytokines Th2 et CD40L) agissent en synergie.

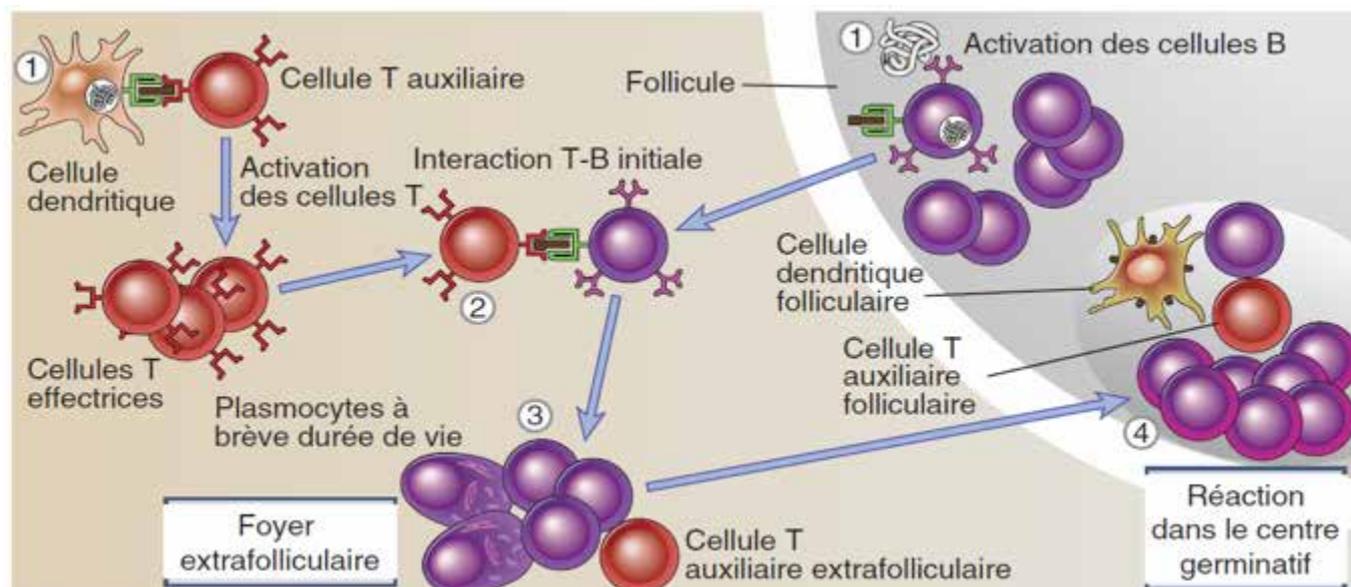
Fig.11 : La coopération B-T



B. PROLIFÉRATION ET DIFFÉRENCIATION DES LB

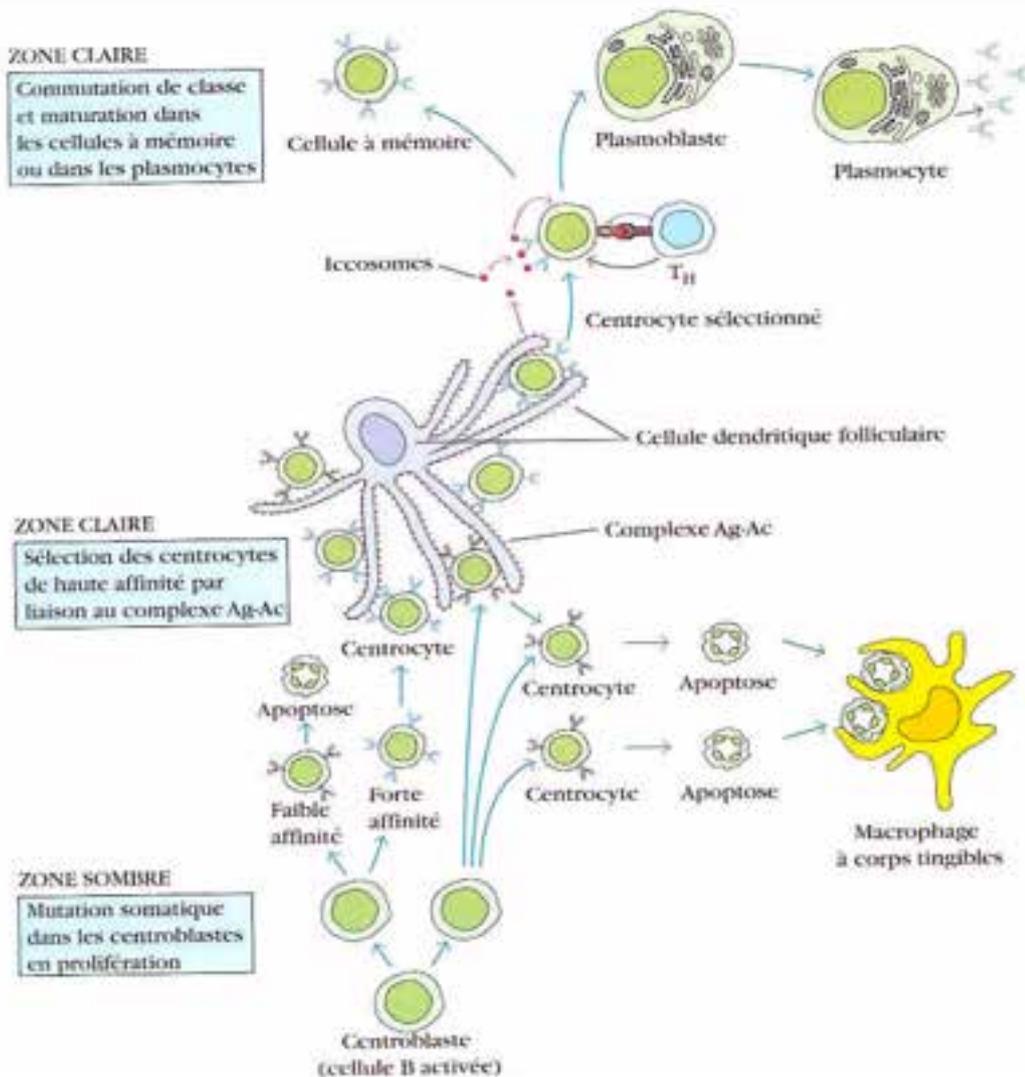
- Lorsque l'activation des LB se produit suite à la coopération B-T, de petits foyers de cellules B prolifératives se forment aux bords de la zone T générant un grand nombre de cellules filles de même spécificité (Fig.12). Les cellules B de ces **foyers extrafolliculaires** se différencient en plasmocytes sécréteurs d'isotype **IgM**. il s'agit d'une sécrétion **rapide** qui permet d'assurer une protection immédiate de l'individu infecté qu'on appelle **réponse primaire**. Un petit nombre de lymphocytes B subissent néanmoins une commutation de classe générant un taux faible d'IgG. Un autre contingent se différencie en **cellules B mémoires** qui va peupler les organes lymphoïdes secondaires.
- Lors d'une seconde immunisation, les lymphocytes B mémoires activés migrent avec quelques LTh des foyers extrafolliculaires vers les follicules lymphoïdes primaires où ces cellules continuent à proliférer jusqu'à former **des follicules secondaires** (Fig.12). Ces derniers fournissent un microenvironnement spécialisé (**centre germinatif**) favorable aux interactions entre les cellules B, les cellules Th activées (qu'on appelle **lymphocytes T folliculaires**) et les cellules folliculaires dendritiques (CFD) (Fig.13). Ces dernières sont des cellules particulières qui peuvent présenter le long de leurs prolongements l'antigène natif opsonisé par les anticorps et/ou le complément, et ce, grâce à l'expression des récepteurs du complément et de la région Fc des IgG.

Fig.12 : Différentes étapes du déroulement de la réponse humorale T-dépendante



- Dans le centre germinatif, on distingue deux zones principales dites zone sombre et zone claire (fig.13).

Fig.13 : Prolifération et différenciation des LB dans les centres germinatifs

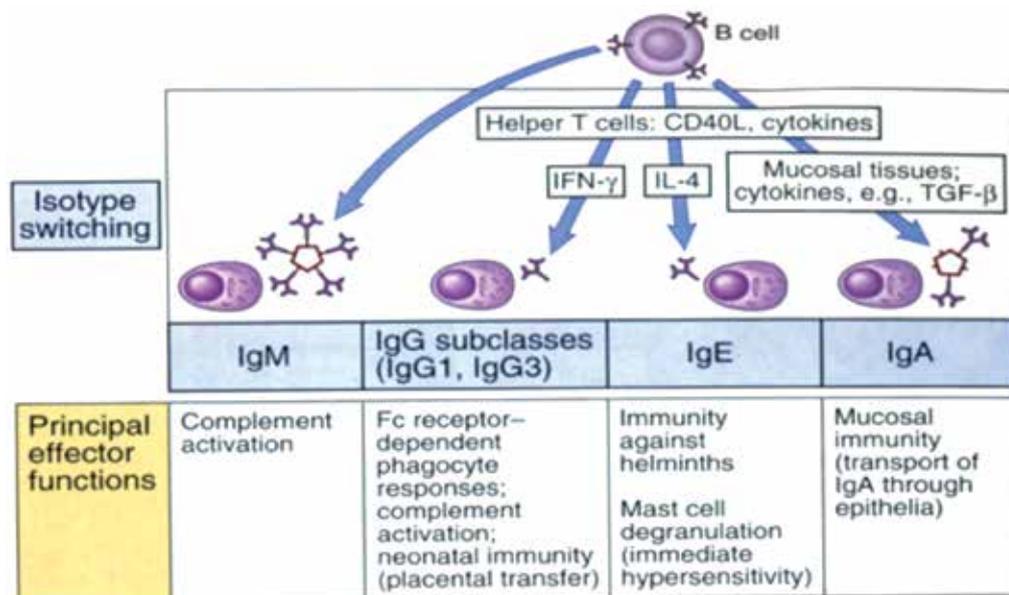


- La **zone sombre** est peuplée de **centroblastes** dont la forte densité cellulaire est à l'origine de ce nom. Ce sont des lymphocytes B en prolifération qui ne fabriquent plus d'immunoglobuline de surface, car leurs gènes subissent des **hypermutations somatiques**. Ces dernières sont des mutations ponctuelles dans les régions variables des gènes des immunoglobulines qui conduisent à une diversification des régions hypervariables et dont le but ultime est la maturation de l'affinité de l'anticorps.
- Les centroblastes ayant subi le phénomène d'hypermutation somatiques déplacent vers le bord du follicule et donnent une descendance appelée « **centrocytes** » qui peuple la **zone claire** du centre germinatif. Ces derniers sont de plus petite taille, ne prolifèrent plus et sont enchevêtrés dans un large réseau de CFD, car ils établissent un contact étroit avec l'antigène présenté sur les longs prolongements de ces cellules. Ils expriment leur nouvelle immunoglobuline de surface qui suite au phénomène d'hypermutation somatique a soit gagné ou perdu en affinité par rapport à l'immunoglobuline initiale.
- La majorité des centrocytes formés portent une Ig membranaire de faible affinité et ne peuvent pas fixer l'antigène présenté par les CFD. Ils meurent ainsi par apoptose dans la zone claire basale des centres germinatifs puis sont phagocytés par un type particulier de macrophage : le **macrophage à corps tingibles** (fig.13).
 - Les centrocytes portant une Ig membranaire de forte affinité et qui interagissent avec la CFD subissent une différenciation au sein de la zone claire grâce à des signaux de survie et subissent le phénomène de **commutation de classe** qui consiste en un réarrangement génétique de la région constante de la chaîne lourde des Ig conduisant à la production des anticorps d'isotypes IgG, IgA ou IgE. Les cytokines induisent la commutation en stimulant la formation et l'épissage des ARNm transcrits à partir des gènes C de la chaîne lourde : L'IL-4 oriente la commutation vers IgG1 et IgE, L'IL-5 induit la sécrétion d'IgA, le TGF- β dirige la commutation vers l'IgG2 et IgA. Bien que les cellules Th1 soient de faibles activatrices des réponses anticorps, elles participent à la commutation de classe en libérant de l'interféron (IFN- γ) qui oriente la commutation vers IgG2 et IgG3 (fig.14).
 - Les centrocytes se différencient ainsi en deux types de descendants : les **petites cellules B à mémoire** et les **gros plasmoblastes** qui perdent l'expression des Ig de surface et migrent vers la médullaire du ganglion lymphatique où ils se

développent en plasmocytes et commencent à sécréter des immunoglobulines. Certaines cellules B à mémoire restent au voisinage du centre germinatif, tandis que d'autres quittent le ganglion lymphatique par un vaisseau lymphatique efférent et recirculent vers d'autres régions de l'organisme.

- Il est important de noter que les trois phénomènes importants qui se produisent lors de la maturation du LB dans le centre germinatif, à savoir les hypermutations somatiques, la commutation de classe et la génération de cellules B mémoires, sont strictement dépendants des signaux délivrés par le lymphocyte T.

Fig.14 : Importance des LT auxiliaires au cours de la commutation isotypique

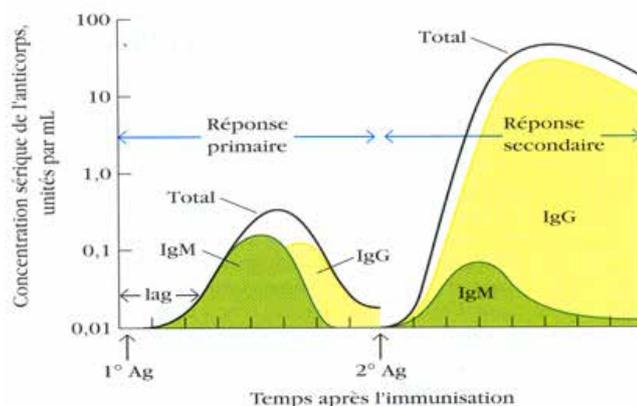


C. PROFIL DE LA RÉPONSE IMMUNE HUMORALE (FIG.15)

La cinétique et les caractéristiques de la réponse humorale diffèrent considérablement suivant qu'elles résultent de l'activation des lymphocytes naïfs (réponse primaire) ou des lymphocytes à mémoire (réponse secondaire)

- **La réponse primaire** : est caractérisée par un temps de latence prolongé entre l'introduction de l'antigène et l'apparition d'anticorps qui sont de type IgM. Ces anticorps sont de faible affinité et des taux relativement assez bas.
- **La réponse secondaire** : une deuxième introduction du même antigène induit une réponse plus rapide, avec une courte phase de latence et plus intense conduisant à une importante élévation du taux des anticorps caractérisés par l'augmentation de leur affinité (grâce au mécanisme de mutations somatiques) et la prédominance des IgG (commutations isotypiques). Ces anticorps apportent ainsi une défense plus efficace à l'hôte.

Fig.15 : Profil de la réponse immune humorale



LA TOLÉRANCE IMMUNITAIRE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Définir la tolérance immunitaire
2. Décrire le mécanisme de la tolérance centrale des lymphocytes T
3. Préciser les mécanismes de la tolérance centrale des lymphocytes B
4. Décrire les mécanismes de la tolérance périphérique des lymphocytes T
5. Citer les mécanismes de la tolérance périphérique des lymphocytes B
6. Définir les lymphocytes T régulateurs

INTRODUCTION

L'immunité adaptative est fondée sur la capacité du système immunitaire de générer dans les compartiments B et T, des répertoires d'une extrême diversité, c'est-à-dire des récepteurs pour l'antigène pouvant théoriquement reconnaître un nombre illimité d'antigènes. L'acquisition de tels répertoires est un avantage sélectif majeur assurant la protection de l'organisme face à la diversité structurale des agents pathogènes de l'environnement. Cependant, elle expose l'organisme au risque de reconnaître les antigènes du soi et de développer des réactions délétères contre ses propres constituants. On conçoit donc la nécessité de mécanismes contrôlant l'émergence ou l'activation des clones lymphocytaires capables de reconnaître les antigènes du soi. Ces mécanismes sont à la base de la **tolérance immunitaire**.

La tolérance immunitaire peut être définie comme « un état **physiologique acquis** où le système immunitaire ne réagit pas **de façon agressive** contre les constituants de l'organisme dans **lequel il s'est développé** » (R. Schwartz, 1993).

On sait maintenant que les mécanismes à la base de l'induction et/ou du maintien de la tolérance immunitaire sont divers. On définit sous le terme de « **tolérance centrale** », les mécanismes qui interviennent dans la sélection du répertoire des lymphocytes B et T au niveau des organes lymphoïdes centraux (moelle osseuse et thymus) et qui aboutissent essentiellement à l'élimination des clones autoréactifs. Les lymphocytes autoréactifs qui échappent à ce processus de sélection migrent à la périphérie et vont être la cible des mécanismes de « **tolérance périphérique** ». Ces derniers mécanismes sont beaucoup plus divers allant de l'inactivation fonctionnelle ou anergie à l'intervention des cellules immunorégulatrices.

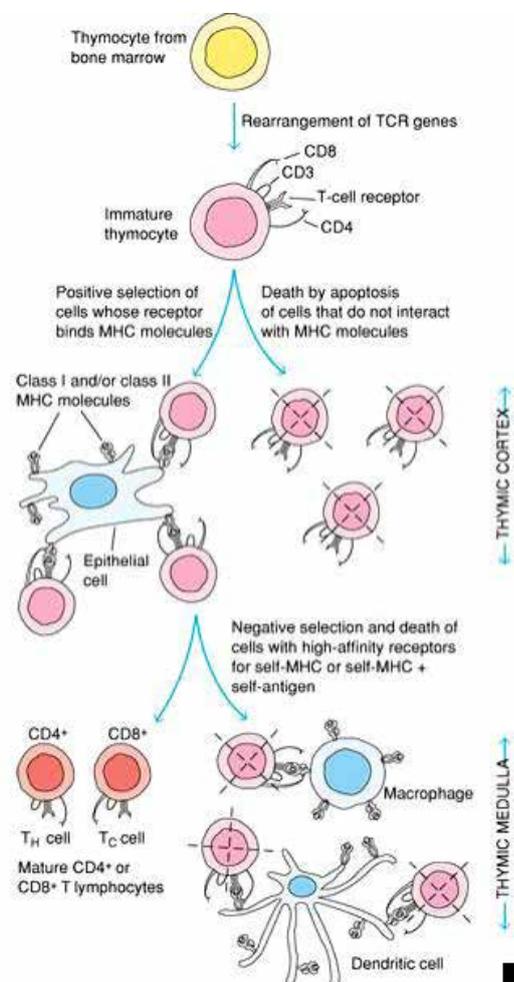
La tolérance immunitaire concerne tout aussi bien les lymphocytes T que les lymphocytes B. Les mécanismes qui sous-tendent la tolérance T restent cependant mieux connus.

1. LA TOLÉRANCE CENTRALE :

1.1. DANS LE COMPARTIMENT T :

Dans le thymus, deux événements majeurs contribuent à l'établissement du répertoire lymphocytaire T périphérique. Le premier est la sélection des cellules capables de reconnaître les peptides restreints par les molécules du CMH de classe I et II. Ce processus dit de « sélection positive » ou de « restriction allogénique » (voir cours CMH) aboutit à l'élimination des cellules T qui ne sont pas capables d'interagir avec les molécules du CMH. Le deuxième événement, appelé « **sélection négative** » permet la **délétion**, par un mécanisme d'apoptose, des cellules T qui reconnaissent avec une forte affinité les antigènes du soi en association avec les molécules du CMH I ou II (Figure 1). Plus de 90% des thymocytes meurent dans le thymus par ce mécanisme.

Figure 1 : Sélection thymique du répertoire des lymphocytes T.



1.2. DANS LE COMPARTIMENT B :

Les mécanismes de sélection du répertoire B dans la moelle osseuse sont moins bien connus que ceux régissant le répertoire T dans le thymus. Plusieurs études expérimentales utilisant des souris transgéniques montrent que ces mécanismes diffèrent selon la nature et la concentration de l'autoantigène exprimé dans la moelle osseuse ainsi que l'affinité du BCR à cet antigène (Figure 2). Trois phénomènes différents existent : la délétion clonale, l'anergie clonale et le ré-édition du récepteur.

1.2.1. DÉLÉTION CLONALE :

Tout comme le lymphocyte T, le lymphocyte B qui présente un récepteur reconnaissant avec une forte affinité un autoantigène exprimé dans la moelle osseuse est supprimé par apoptose (Figure 2). Ce mécanisme est cependant restreint aux antigènes multivalents établissant des pontages entre plusieurs BCR (forte avidité). Il concerne particulièrement les antigènes membranaires.

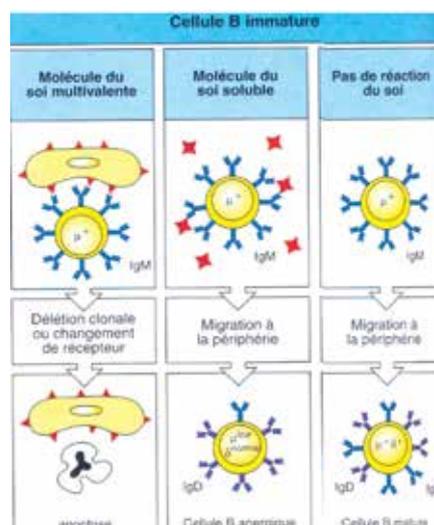
1.2.2. Anergie clonale :

Les lymphocytes B immatures qui reconnaissent spécifiquement des antigènes monovalents, le plus souvent solubles peuvent échapper au phénomène de délétion clonale mais sont rendus inactifs à toute stimulation par leur récepteur de surface (Figure 2). C'est le phénomène d'anergie des lymphocytes B qui repose, d'une part, sur la modulation de l'expression du récepteur de surface et d'autre part, sur la désensibilisation de celui-ci.

1.2.3. RÉ-ÉDITION DU RÉCEPTEUR :

Certains lymphocytes B capables de reconnaître des antigènes du soi peuvent échapper à la délétion clonale en changeant de spécificité antigénique (Figure 3). Ce phénomène appelé **ré-édition ou traitement du récepteur** repose sur l'activation, au niveau de la moelle osseuse, de nouveaux réarrangements des chaînes légères κ ou λ , permettant l'expression d'un nouveau récepteur ne présentant plus d'affinité avec ces autoantigènes.

Figure 2 : Tolérance centrale du lymphocyte B.



2. LA TOLÉRANCE PÉRIPHÉRIQUE :

2.2. DELETION PERIPHERIQUE, IGNORANCE ET ANERGIE DES LYMPHOCYTES T :

2.2.1. DÉLÉTION PÉRIPHÉRIQUE DES LYMPHOCYTES T :

La délétion clonale constitue un élément majeur de la tolérance **centrale**. Cependant, une fois exportés à la **périphérie**, les lymphocytes matures peuvent aussi aller à l'encontre du phénomène de délétion. L'apoptose induite après activation des lymphocytes, appelée AICD (Activation-Induced Cell Death), est un mécanisme de rétrocontrôle de la réponse immunitaire. L'activation répétée du lymphocyte T induit en effet la co-expression du récepteur de mort cellulaire Fas (CD95) et de son ligand Fas Ligand (FasL). L'interaction Fas-FasL sur la même cellule ou sur deux cellules adjacentes induit un signal de mort cellulaire (Figure 4).

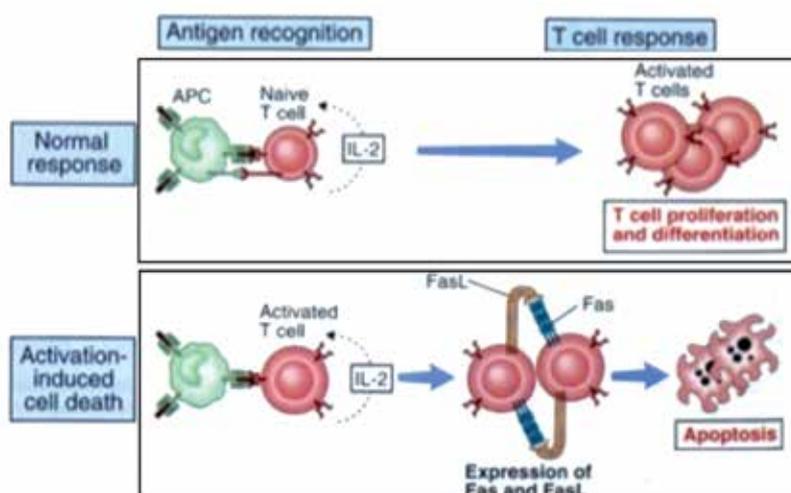
Le phénomène de délétion périphérique des lymphocytes T est bien démontré grâce aux expériences utilisant les superantigènes.

Ainsi, l'injection d'un superantigène microbien entraîne une phase initiale d'activation et d'expansion des lymphocytes T périphériques portant une chaîne $V\beta$ donnée du TCR, suivie d'une phase secondaire dans laquelle la grande majorité de ces lymphocytes sont éliminés par apoptose.

2.2.2. IGNORANCE OU INDIFFÉRENCE IMMUNITAIRE DES LYMPHOCYTES T :

Des antigènes peuvent être « ignorés » par le système immunitaire. Certains peuvent être **séquestrés** dans un territoire anatomique inaccessible aux cellules immunitaires. C'est le cas, par exemple, des antigènes du cristallin ou encore des antigènes portés par les spermatozoïdes. D'autres antigènes peuvent être présents, notamment dans les organes non lymphoïdes, sous une forme **peu immunogène** (peu de complexes CHM-peptides, etc.). Ces antigènes sont d'ailleurs, en l'absence d'inflammation, inaccessibles aux cellules immunitaires.

Figure 4 : L'apoptose induite après activation des lymphocytes T



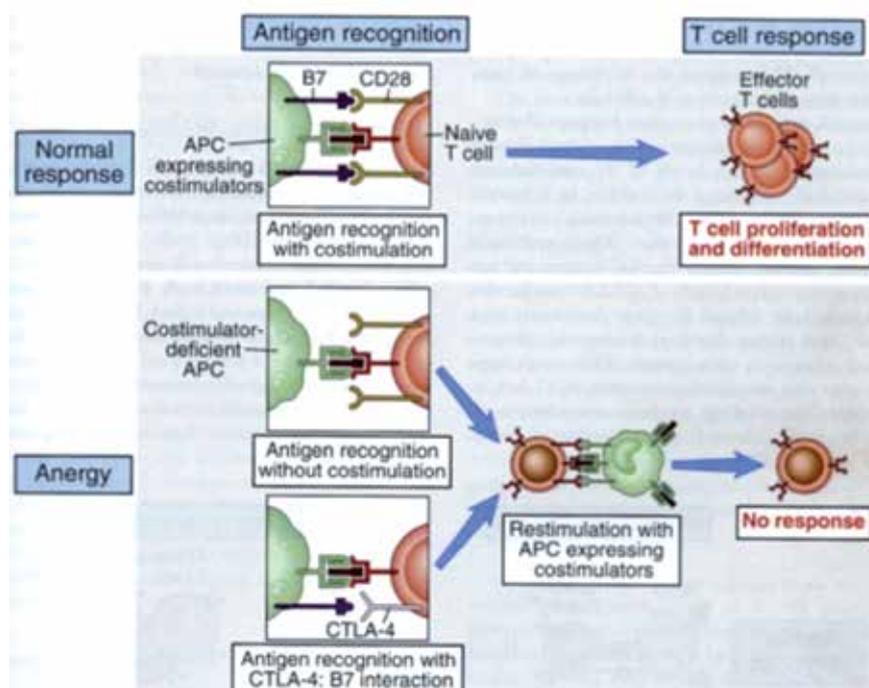
2.1.3. L'ANERGIE DES LYMPHOCYTES T :

L'induction d'une tolérance périphérique implique dans la grande majorité des cas le phénomène d'anergie ou d'inactivation fonctionnelle des lymphocytes. Il est bien établi désormais que l'activation efficace d'un lymphocyte T naïf requiert la transduction de deux types de signaux faisant intervenir d'une part, le récepteur à l'antigène et d'autre part, les récepteurs dits de costimulation, en particulier le CD28, dont le ligand, la molécule B7, est exprimé par les cellules présentatrices de l'antigène. L'activation d'un lymphocyte par le TCR en l'absence de signaux de co-stimulation induit un état d'anergie défini comme un état de non-réponse (absence d'activation, de prolifération et de production de cytokines) des lymphocytes à une stimulation antigénique (Figure 5). L'anergie est un phénomène actif et spécifique de l'antigène. Une fois rendu anergique, le lymphocyte demeure insensible à toute restimulation par le peptide qui a induit l'anergie.

L'anergie est un élément majeur de la tolérance périphérique. En effet, les lymphocytes autoréactifs ayant échappé aux mécanismes de tolérance centrale, migrent à la périphérie et sont confrontés aux auto-antigènes exprimés par les cellules des différents tissus de l'organisme qui ne sont pas, par définition, des cellules présentatrices professionnelles de l'antigène, puisqu'elles n'expriment pas de molécules de costimulation. Les lymphocytes se retrouvent ainsi dans la situation où le signal délivré par le TCR est transduit en l'absence de signal de costimulation d'où anergie.

L'anergie des lymphocytes T peut également résulter de l'interaction entre la molécule CTLA-4, exprimée par le lymphocyte T et la molécule B7, exprimée sur la cellule présentatrice d'antigène. L'expression de CTLA-4 est induite après activation du lymphocyte T. Elle constitue un mécanisme de rétrocontrôle de la réponse immune. CTLA-4, dont l'affinité pour B7 est plus importante que celle de la molécule CD28, est une molécule qui délivre un signal inhibiteur au lymphocyte T (Figure 5).

Figure 5 : Mécanisme d'anergie des lymphocytes T en périphérie



2.2 DÉLÉTION PÉRIPHÉRIQUE ET IGNORANCE DES LYMPHOCYTES B :

2.2.1. LA DÉLÉTION PÉRIPHÉRIQUE :

La délétion périphérique des lymphocytes B se fait à un moment crucial de leur différenciation, à savoir au cours de la maturation de l'affinité dans le centre germinatif des follicules lymphoïdes. Les hypermutations somatiques qui surviennent à ce stade font apparaître des récepteurs de l'antigène de plus forte affinité. L'activation des lymphocytes B et leur différenciation en plasmocytes producteurs d'anticorps spécifiques nécessitent des signaux de survie (second signal) délivrés par les cellules T reconnaissant ce même antigène. Lorsque les hypermutations somatiques font apparaître des récepteurs de surface spécifiques d'autoantigènes, les lymphocytes B autoréactifs meurent généralement par apoptose en l'absence de lymphocytes T CD4 auxiliaires autoréactifs.

2.2.2. L'IGNORANCE :

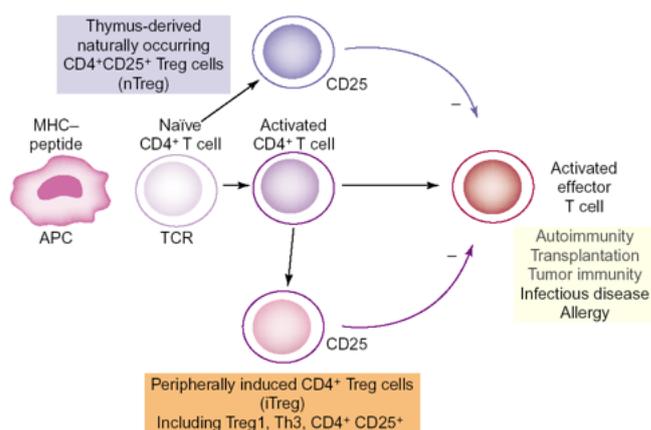
Tout comme le lymphocyte T, certains lymphocytes B peuvent ignorer certains antigènes. C'est les cas par exemple des antigènes monovalents solubles.

2.3 LES LYMPHOCYTES T RÉGULATEURS

Plusieurs modèles expérimentaux montrent l'existence de populations de lymphocytes T capables de contrôler les capacités fonctionnelles d'autres lymphocytes T. Ces lymphocytes sont appelés lymphocytes T régulateurs.

Plusieurs populations cellulaires régulatrices ont été identifiées (Figure 6). La plus étudiée est la population de lymphocytes T régulateurs naturels CD4+CD25+, générée dans le

Figure 6 : Lymphocytes T régulateurs naturels et induits



TRENDS in Immunology

thymus dans la période néonatale et dont le maintien et l'activation sont dépendantes de l'IL-2. Ces cellules sont capables, lorsqu'elles sont activées par leur TCR, de supprimer les fonctions effectrices d'autres populations lymphocytaires (prolifération, production de cytokines, etc.). Leur mécanisme d'action, encore très discuté est dépendant d'une interaction cellulaire directe avec la cellule cible. Peu de marqueurs cellulaires sont spécifiques des cellules T régulatrices CD4+CD25+. On citera le facteur de transcription FOXP3 qui serait impliqué directement dans la fonction régulatrice de ces cellules. Un certain nombre de données suggèrent que les LT régulateurs peuvent également être générés de novo en périphérie à partir de cellules naïves, dans un environnement particulier (riche en IL-10 et/ou TGF- β).

Les lymphocytes T régulateurs jouent un rôle important dans le maintien de la tolérance vis-à-vis des antigènes du soi, mais aussi dans le contrôle de la réponse immunitaire anti-infectieuse. Ces cellules sont actuellement largement étudiées dans différents modèles murins de maladies auto-immunes, infectieuses et cancéreuses ainsi que dans différentes pathologies humaines auto-immunes où l'hypothèse d'une anomalie quantitative ou qualitative de ces cellules est actuellement testée.

IMMUNITÉ ANTI-INFECTIEUSE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1- Connaître les différents composants de l'immunité innée ou non spécifique
- 2- Préciser les différents mécanismes de défense anti bactérienne (bactéries intra et extracellulaires) et anti fongique
- 3- Détailler les mécanismes des réponses immunes anti virale et anti parasitaire
- 4- Préciser les différents procédés d'évasion des agents infectieux.

INTRODUCTION

Lors du développement d'un processus infectieux chez un individu, plusieurs interactions se produisent entre l'agent microbien et l'hôte. Les événements majeurs sont la pénétration du microbe, l'invasion et la colonisation des tissus de l'hôte, l'échappement aux mécanismes de défense, les lésions tissulaires ainsi que les anomalies fonctionnelles qui en découlent.

Il existe plusieurs caractéristiques de l'immunité anti-infectieuse :

- Les défenses contre les agents microbiens sont médiées par les mécanismes effecteurs de l'immunité innée et de l'immunité adaptative. L'immunité innée constitue une première barrière, toutefois un grand nombre de microbes ont évolué en développant des systèmes leur permettant de résister aux mécanismes de l'immunité innée. Le relais est alors pris par les réponses immunes adaptatives qui se traduisent par l'apparition de cellules effectrices qui vont éliminer les agents pathogènes et de cellules mémoires qui protégeront l'individu en cas de réinfection.
- Le système immunitaire répond par des mécanismes effecteurs différents en fonction du profil de l'agent infectieux.
- La survie et d'une manière générale la pathogénicité des microbes au sein de l'hôte sont directement liées à leurs capacités d'évasion au système immunitaire.
- Dans bon nombre d'infections, les lésions tissulaires et la pathologie peuvent être induites par la réponse immune de l'individu plutôt que par l'agent infectieux lui-même.

1- IMMUNITÉ NON SPÉCIFIQUE OU IMMUNITÉ INNÉE :

L'immunité innée repose sur une distinction globale du soi et du non-soi et fait intervenir des mécanismes de protection physique, des mécanismes cellulaires (cellules phagocytaires, cellules cytotoxiques) et des mécanismes humoraux (complément, interférons, lysozyme...). Elle constitue la première ligne de défense contre l'infection. C'est une réponse immédiate, non spécifique de l'agresseur et non adaptative, qui se met en route avant que l'immunité acquise ne devienne opérationnelle.

1.1 BARRIÈRES ANATOMIQUES :

Les barrières anatomiques (peau, muqueuses) assurent une protection triple : mécanique, chimique et biologique.

1.1.1. PROTECTION MÉCANIQUE :

Elle peut être statique : solidité des couches cellulaires kératinisées de la peau avec élimination des couches les plus superficielles par desquamation ou dynamique :

- péristaltisme du tube digestif
- écoulement des fluides (larmes, salive, urines)
- cellules ciliées (bordure en brosse des muqueuses respiratoires) associées au mucus et s'opposant à l'attachement des agents infectieux.

1.1.2. PROTECTION CHIMIQUE :

Différents mécanismes chimiques viennent compléter localement les barrières anatomiques.

- Au niveau de la peau, la sueur joue un rôle important par son activité bactéricide grâce aux acides gras, à l'acide lactique et au lysozyme.

- Au niveau des muqueuses, un mince film de mucus recouvre les cellules épithéliales. Il joue le rôle de lubrifiant, de piège à bactéries. Le mucus contient du surfactant bronchique de structure analogue à la Mannose binding lectin (MBP) et à la protéine amyloïde sérique (lectine de la famille des collectines).
- Le lysozyme dégrade les peptidoglycanes bactériens (bactéries Gram positif).
- La lactoferrine est un chélateur du fer, lui-même indispensable à la croissance et la multiplication de nombreuses bactéries.
- La lactopéroxydase est une enzyme intervenant dans la production de radicaux libres d'oxygène, éléments hautement bactéricides.
- L'intestin grêle et le colon contiennent beaucoup de sels biliaires (détergents pour les membranes bactériennes) et d'enzymes protéolytiques pancréatiques.
- Enfin, il faut ajouter à cela l'acidité qui règne dans certains milieux qui empêche la croissance de différentes bactéries (suc gastrique, sécrétions vaginales).

1.1.3. PROTECTION BIOLOGIQUE :

Au niveau muqueux, mais aussi au niveau cutané, il existe une flore bactérienne commensale qui constitue une protection biologique contre la colonisation par des souches pathogènes en raison d'une compétition pour les nutriments et les sites à envahir.

1.2 FACTEURS CELLULAIRES

Il s'agit des polynucléaires, des macrophages et des cellules NK (cf. cours sur les cellules de l'immunité).

1.3 FACTEURS HUMORAUX :

Ce sont des molécules qui sont capables de reconnaître des motifs invariants à la surface de nombreux agents infectieux ; citons le système complémentaire (cf. cours le complément), les interférons (cf. cours les cytokines) et diverses protéines dont la synthèse augmente lors de la phase aiguë de l'inflammation.

Protéines de la phase aiguë de l'inflammation existent à faible concentration dans le sérum. Elles sont généralement synthétisées par l'hépatocyte. Les plus couramment explorées au laboratoire sont la CRP, l'haptoglobine, les fractions C3 et C4, l'orosomucoïde et le fibrinogène.

1.3.1. LA PROTÉINE C-RÉACTIVE (CRP) :

Elle a été identifiée au début par sa capacité de se fixer au polysaccharide C du pneumocoque. La CRP joue le rôle d'opsonine calcium dépendante vis-à-vis des parois bactériennes entraînant l'activation de la voie classique du complément. Elle reconnaît aussi des substrats endogènes (histones, etc..) et participe ainsi à leur élimination.

1.3.2. LA MANNOSE BINDING LECTIN (MBP) OU PROTÉINE LIANT LE MANNOSE :

Elle reconnaît des carbohydrates existant sur les parois bactériennes. Elle appartient à la famille des collectines et est structurellement analogue au C1q. La MBP est capable d'activer le complément après son dépôt sur les microorganismes (cf. cours le complément).

1.4 MOTIFS MOLECULAIRES RECONNUS ET LEURS RÉCEPTEURS :

1.4.1 PAMPS:

Les pathogènes et plus particulièrement les procaryotes ont des motifs moléculaires qui

- les distinguent de leurs hôtes
- sont partagés avec de nombreux pathogènes apparentés
- sont relativement invariants
- sont souvent indispensables à leur survie ou à leur pathogénicité.

Ces structures sont désignées par le terme PAMPS (pathogen associated molecular patterns (PAMPs)) littéralement les motifs moléculaires associés aux pathogènes dont on peut citer :

- Les peptidoglycanes des bactéries Gram négatif
- les acides lipoteichoïques
- la flagelline des flagelles de certaines bactéries
- l'ADN déméthylé
- l'ARN double brin
- Les lipopolysaccharides des bactéries Gram négatif
- Les peptides formylés contenant une N formylméthionine

1.4.2 LES PRRS

Les PAMPs sont reconnus par des récepteurs de l'immunité innée, les Pattern recognition receptors dont il existe 3 groupes :

- Des molécules sécrétées circulantes dans le sang et la lymphe ;
- Des récepteurs de surface endocytosiques qui sont exprimés sur des cellules phagocytaires
- Des récepteurs membranaires dont la liaison au pathogène aboutit à une signalisation conduisant à la libération de molécules effectrices.

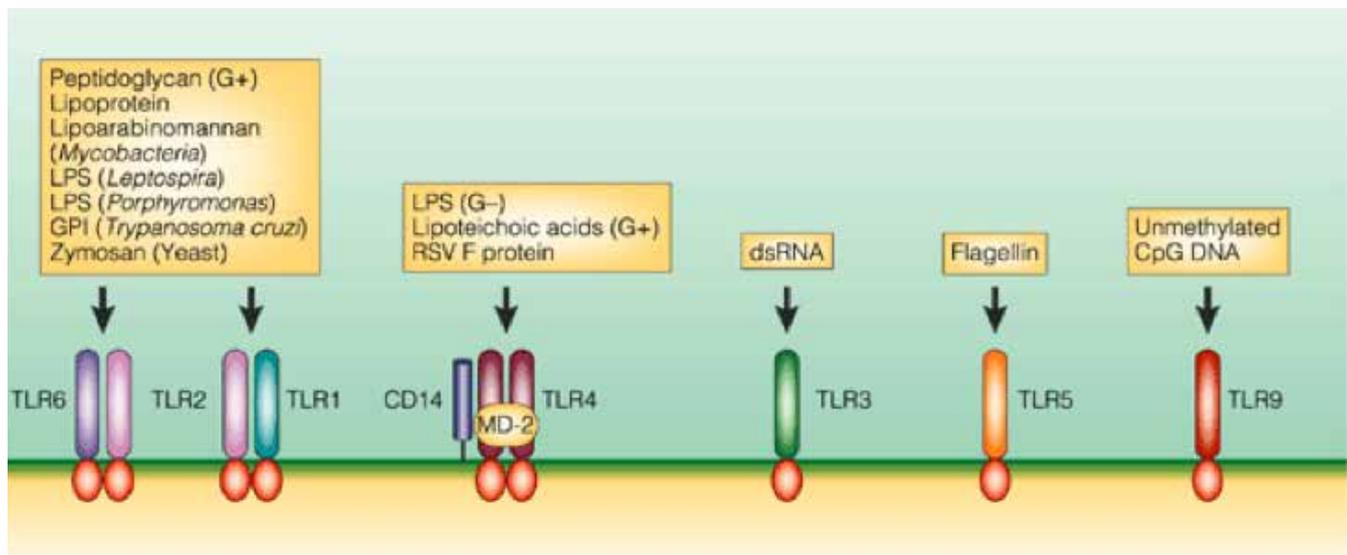
a. Molécules sécrétées : exemple MBL ou mannose binding lectin (cf. plus haut)

b. Récepteurs de phagocytose (cf. cours cellules)

c. Récepteurs Toll-like (TLRs)

Ce sont des récepteurs qui ont été décrits à l'origine chez la drosophile (Récepteurs Toll) et leur équivalent humain (Toll-like) est représenté par un groupe de 9 protéines transmembranaires (fig. 1) ayant une portion extracellulaire riche en leucines et un motif intracytoplasmique homologue au récepteur de l'IL1, responsable de la transduction du signal par association avec des kinases (IRAK ou interleukine 1 associated kinases) et de la translocation du facteur NFκB avec synthèse de cytokines proinflammatoires et de chemokines). Les TLR reconnaissent chacun des types différents de PAMPS et nécessitent pour cela de s'associer entre eux ou de s'associer à des molécules accessoires comme le CD14. La nature des TLR engagés va conditionner le type de cytokines synthétisées et par conséquent le type de réponse immune adaptative.

Figure 1 : Les Toll like receptors et leurs ligands



1.5 LIEN ENTRE IMMUNITÉS INNÉE ET ADAPTATIVE

Il n'existe pas de frontière nette entre immunité innée et immunité spécifique ou adaptative. Les réponses qui les caractérisent forment une sorte de continuité avec des situations intermédiaires. Des cellules comme les cellules dendritiques sont capables d'établir un lien entre les deux types d'immunité lors de l'initiation d'une réponse immune. Les cellules dendritiques immatures de la périphérie n'ont pas la capacité de stimuler de façon efficace les cellules T en raison d'une expression faible ou inexistante des molécules du CMH de classe II et des molécules de costimulation. Les pathogènes, de par leurs motifs moléculaires (PAMPS), induisent la maturation des cellules dendritiques qui se traduit par des changements phénotypiques et fonctionnels transformant une cellule spécialisée en capture d'antigènes en une cellule présentatrice d'antigène. Cette maturation est liée à la migration de ces cellules des tissus vers les organes lymphoïdes.

2. IMMUNITÉ ANTI-BACTERIENNE

2.1 BACTERIES A DEVELOPPEMENT EXTRACELLULAIRE :

Diverses bactéries (streptocoque, staphylocoque, pneumocoque, E.Coli, méningocoque, clostridium tétani..) sont pathogènes par le biais de deux mécanismes principaux : par l'induction d'une réaction inflammatoire pouvant entraîner des lésions ou des destructions tissulaires et par la production de toxines. Ces toxines sont soit des endotoxines, généralement des constituants des parois bactériennes qui vont induire l'activation des macrophages et la sécrétion de cytokines inflammatoires et de chimiokines ; soit des exotoxines (produites dans le milieu extracellulaire) dont certaines ont des propriétés cytotoxiques et d'autres peuvent interférer avec les fonctions de la cellule.

L'immunité humorale constitue la principale réponse immune protectrice contre ces bactéries à développement extracellulaire. Elle va agir en éliminant ces agents pathogènes et en neutralisant leurs toxines (Fig. 2)

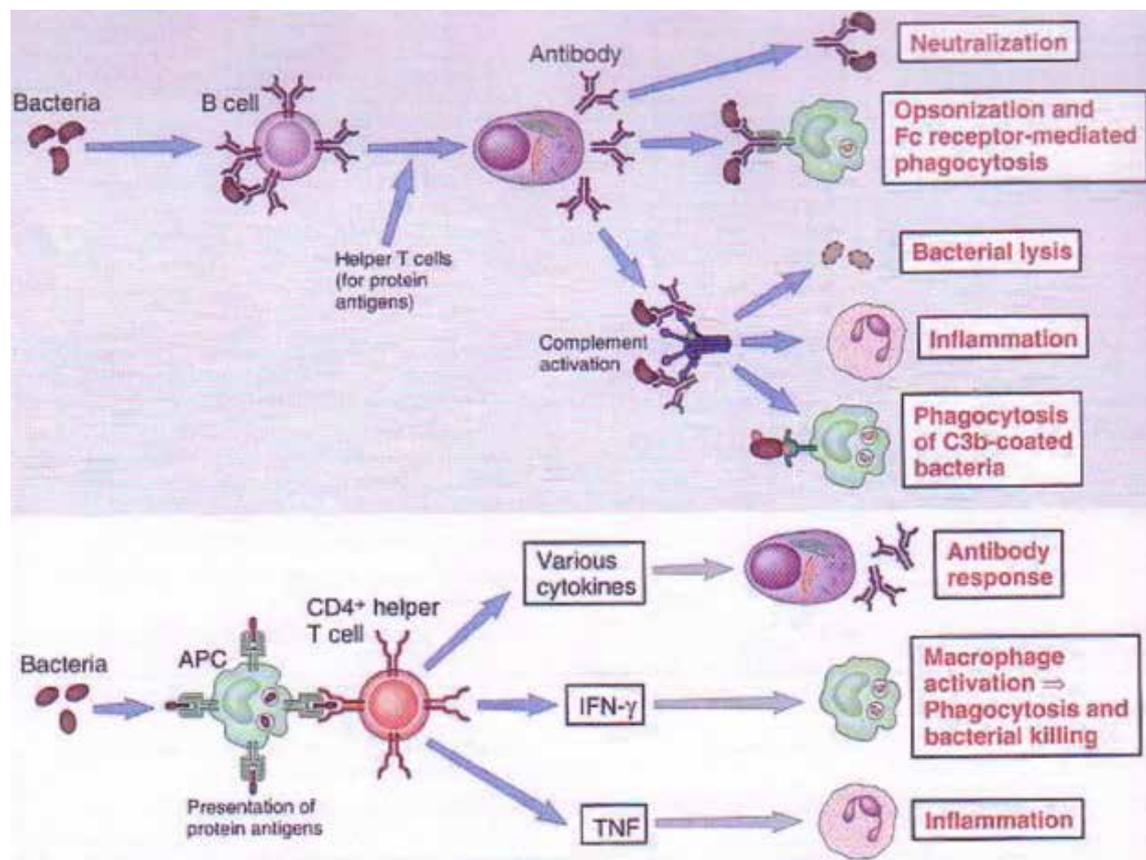
Les réponses anticorps contre ces bactéries sont dirigées contre les antigènes des parois et contre les toxines sécrétées ou sous forme membranaire. Tous ces antigènes peuvent être protéiques ou polysaccharidiques. Les polysaccharides sont des

antigènes thymo-indépendants et une des fonctions majeures de la réponse humorale est la défense contre des bactéries à parois riches en polysaccharides.

Les mécanismes effecteurs utilisés par les anticorps **sont la neutralisation (des toxines bactériennes), l'opsonisation et la phagocytose de la bactérie elle-même**. La neutralisation est médiée par les isotypes IgG et IgA de haute affinité, l'opsonisation par certaines sous-classes d'IgG et l'activation du complément par les IgG et les IgM.

Les antigènes protéiques bactériens activent les **T CD4** qui produisent des cytokines et stimulent la production d'anticorps, induisent une inflammation locale et augmentent les activités microbicides et les capacités phagocytaires des macrophages. L'INF gamma est le principal activateur des macrophages et le TNF- α est une cytokine hautement inflammatoire.

Figure 2 : immunité anti-bactéries extracellulaires



2.1.1 EFFETS PATHOGÈNES :

Les conséquences lésionnelles principales de la réponse anti-bactéries extracellulaires sont l'inflammation et le choc septique qui sont causés par les cytokines essentiellement produites par les macrophages activés. Le TNF- α et l'IL1 sont les principaux médiateurs du choc septique. Certaines toxines bactériennes appelées superantigènes stimulent les lymphocytes T exprimant une famille particulière de gènes $\nu\beta$ du TCR. Les superantigènes ont la capacité d'activer de nombreux clones cellulaires T et par conséquent d'induire une production importante de cytokines avec des anomalies clinico pathologiques similaires au choc septique.

2.1.2 MÉCANISMES D'ÉVASION DES BACTÉRIES EXTRACELLULAIRES

Les bactéries à capsule polysaccharidique sont plus résistantes à la phagocytose et sont plus virulentes que les souches homologues sans ces capsules. Les parois de diverses bactéries Gram positif et Gram négatif contiennent de l'acide sialique et inhibent de ce fait l'activation du complément par la voie alterne. D'autres bactéries comme *Serratia marcescens* produisent des protéinases qui détruisent certains composants du complément. *Pseudomonas* sécrète une élastase qui inactive C3a et C5a et diminue la réaction inflammatoire.

Un mécanisme utilisé par les bactéries pour échapper au système immunitaire est la variation antigénique des antigènes de surface. Certains antigènes de surface sont contenus dans des pilis (*E.Coli*, gonocoque) qui sont des structures utilisées pour la fixation aux cellules de l'hôte. La piline qui est l'antigène principal est soumise à des variations antigéniques importantes en raison de phénomènes de conversions géniques. *Haemophilus Influenzae* est caractérisé par des modifications de production de glycosidases qui vont altérer les LPS de surface et autres polysaccharides ce qui permet à cette bactérie d'échapper à la réponse humorale contre ces antigènes.

Les staphylocoques pathogènes produisent une coagulase qui leur permet de se recouvrir d'une couche protectrice de fibrine.

2.2 BACTERIES A DEVELOPPEMENT INTRACELLULAIRE :

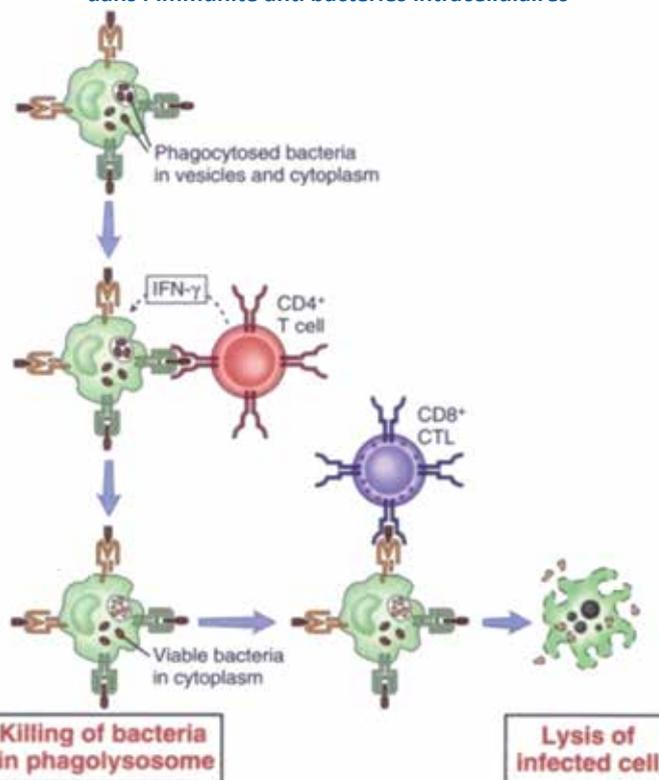
La caractéristique de ces bactéries est leur aptitude à survivre et à se développer au sein des phagocytes. Les réponses immunes vont être dans ce cas différentes, principalement à médiation cellulaire. Les phagocytes, initialement les polynucléaires puis les macrophages essaient de phagocyter et de lyser ces microorganismes. Ces bactéries, résistantes à la phagocytose, stimulent les cellules NK soit directement soit indirectement par le biais de l'IL-12 produite par les macrophages. L'IL-12 est un puissant stimulant des NK qui vont se mettre à produire de l'IFN- γ . L'IFN- γ active les macrophages afin qu'ils puissent éradiquer les bactéries phagocytées. Toutefois ces mécanismes de l'immunité innée, même s'ils parviennent à limiter l'infection laisse la place à la réponse adaptative qui, rappelons-le, est principalement à médiation cellulaire.

La réponse à médiation cellulaire consiste essentiellement à l'activation du macrophage par les cellules Th1 grâce à une signalisation par le CD40L et par l'IFN- γ . Secondairement, la lyse de cellules infectées par les T cytotoxiques peut s'avérer utile dans quelques situations :

Les lymphocytes T CD4 répondent à des antigènes peptidiques présentés dans des molécules du CMH de classe II. Ils se différencient en cellules Th1 sous l'influence de l'IL-12 produite par les macrophages et les cellules dendritiques. Les T expriment le CD40L et produisent de l'IFN- γ . Ces deux stimuli vont activer les macrophages qui produiront des substances microbicides, des dérivés toxiques de l'oxygène, du NO et des enzymes lysosomiales. L'IFN- γ stimule aussi la production d'isotypes d'anticorps qui activent le complément et opsonisent les bactéries.

Dans quelques cas, lorsque les antigènes bactériens sont transportés des phagosomes au cytosol ou lorsque la bactérie s'échappe du phagosome et se localise dans le cytoplasme des cellules infectées, les antigènes bactéries peuvent être présentés par les molécules HLA de classe I. Dans ce cas, les lymphocytes T CD8+ spécifiques sont activés et l'infection est éradiquée par le biais de l'attaque des cellules infectées par ces cellules T cytotoxiques (Fig.3)

Figure 3 : Coopération T CD4 et TCD8 dans l'immunité anti bactéries intracellulaires



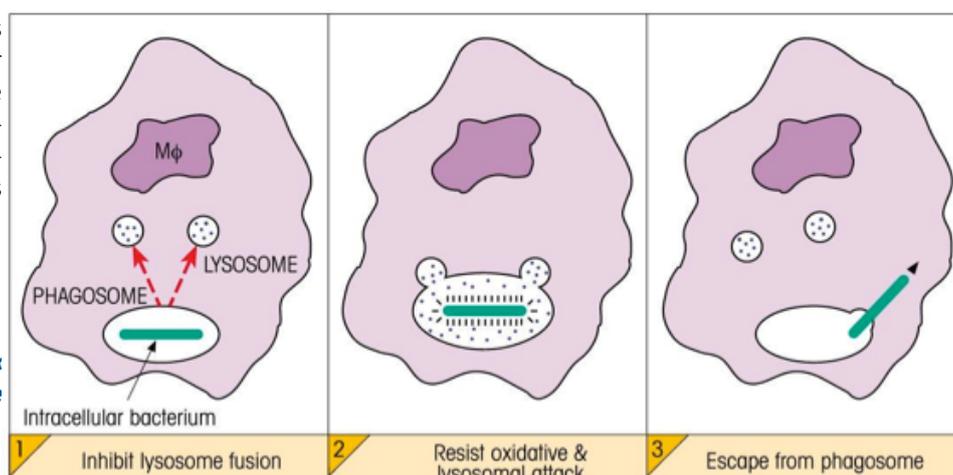
2.2.1 EFFETS PATHOGÈNES

Toutefois, l'activation des macrophages peut entraîner des lésions tissulaires. En effet, les bactéries intracellulaires étant capables de survivre aux mécanismes de bactéricidie au sein des phagocytes, leur persistance va avoir un effet de stimulation chronique des T et une activation macrophagique prolongée qui va susciter la formation de granulomes (cf. cours sur les hypersensibilités). Ce type de réponse inflammatoire est supposée endiguer la dissémination des microbes, mais va néanmoins causer des altérations des fonctions des organes en raison de la fibrose et de la nécrose tissulaire.

2.2.2 MÉCANISMES D'ÉVASION DES BACTÉRIES INTRACELLULAIRES :

Ces bactéries sont résistantes aux mécanismes de bactéricidie intraphagocytaire. Les mycobactéries parviennent par exemple à inhiber la fusion phagosome-lysosome. Le glycolipide phénolique de Mycobacterium Leprae agit comme inhibiteur des dérivés oxygénés produits par les phagocytes. (Fig 4)

Figure 4 : Échappement aux mécanismes de bactéricidie



3. IMMUNITÉ ANTI FONGIQUE

Les principaux acteurs de l'immunité innée antifongique sont les neutrophiles et les macrophages ; les PNN libèrent des facteurs fongicides : des enzymes lysosomiales et les dérivés toxiques de l'oxygène. L'immunité à médiation cellulaire est le principal mécanisme de défense contre les levures. *Histoplasma capsulatum*, un parasite à développement intracellulaire qui vit dans les macrophages est éliminé par les mêmes mécanismes que ceux pour les germes à développement intracellulaire. Les T CD4 et CD8 coopèrent pour éliminer les levures de *Cryptococcus neoformans*. Des réactions granulomateuses sont responsables de lésions tissulaires dans certaines infections comme l'histoplasmosis.

4. IMMUNITÉ ANTIVIRALE

Les virus sont des microorganismes qui se répliquent au sein des cellules qu'ils infectent en utilisant leur machinerie génétique pour leur synthèse protéique. Les mécanismes principaux de l'immunité innée contre les virus impliquent les interférons de type I (cf. cours organes, cellules et médiateurs de l'immunité) qui inhibent la réplication virale au sein des cellules infectées et non infectées ainsi que les cellules NK qui lysent les cellules infectées. Les NK sont libérées d'un état normal d'inhibition en reconnaissant les cellules chez lesquelles l'expression des molécules du CMH I a été réprimée par l'infection virale.

Les réponses adaptatives antivirales sont médiées par les anticorps qui inhibent la fixation et la pénétration des virus dans les cellules et par les CTL qui éliminent l'infection par lyse des cellules infectées. (fig. 4)

Les anticorps spécifiques neutralisants se fixent aux protéines de l'enveloppe ou de la capsid virale en empêchant la fixation et la pénétration dans les cellules hôtes. Certains anticorps opsonisants permettent la clairance des particules virales, mais peuvent toutefois favoriser l'invasion virale des cellules portant les récepteurs Fc. Les IgA sécrétoires sont importantes dans la neutralisation des virus ayant pénétré par des voies muqueuses. L'activation du complément peut aussi participer en induisant la phagocytose et aussi en lysant directement les enveloppes lipidiques des virus. Cependant ces mécanismes humoraux deviennent inefficaces une fois que les virus ont pénétré dans les cellules. De ce fait, des mécanismes cellulaires sont mis en jeu et font intervenir les CTL.

Ce sont des lymphocytes T CD8 qui reconnaissent les peptides viraux synthétisés par voie endogène et présentés par la cellule infectée par le biais des molécules du CMH de classe I. Il existe toutefois des T CD4 de type CTL reconnaissant les antigènes viraux présentés par les molécules du CMH II. La pleine différenciation des CTL CD8+ requiert des cytokines produites par les T helper CD4+ de type1 (Th1). Les effets antiviraux des CTL se traduisent par la lyse des cellules infectées, par la stimulation des enzymes intracellulaires qui dégradent le génome viral et par la production d'interférons.

4.1 EFFETS PATHOGÈNES

Dans certaines infections par des virus non cytopathogènes, les CTL peuvent être responsables de lésions tissulaires. D'autre part, comme conséquence de l'infection persistante, des complexes immuns sont formés composés d'antigènes viraux et d'anticorps et peuvent se déposer sur les vaisseaux sanguins et induire des vascularites. Il existe aussi des mimétismes moléculaires de certains virus avec des constituants du soi pouvant être à la base de réactions auto-immunes.

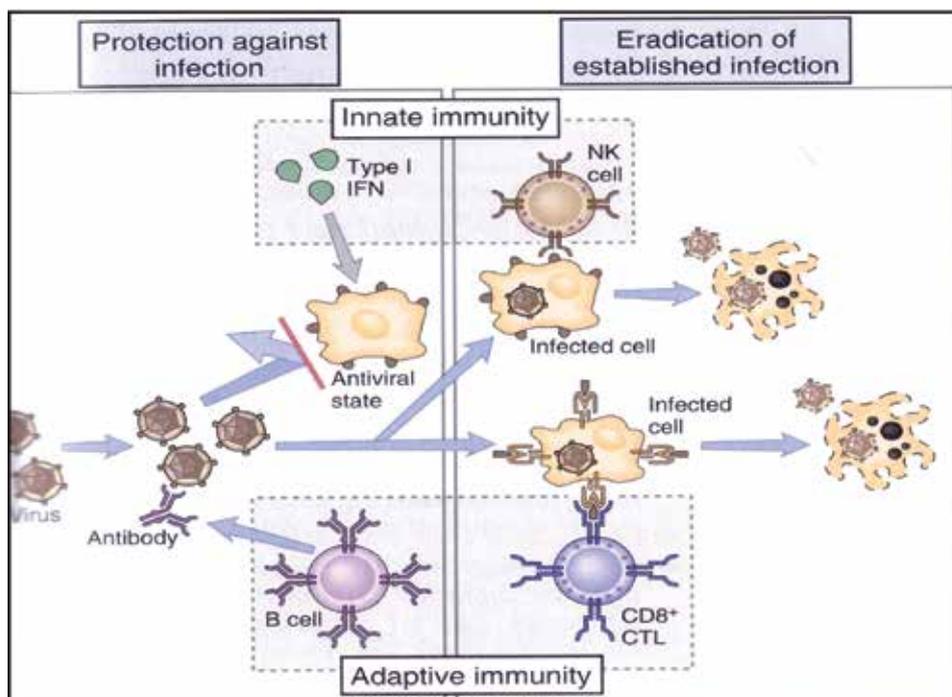


Figure 4 : Immunité anti virale innée et adaptative

4.2 MÉCANISMES D'ÉCHAPPEMENT :

- La persistance intracellulaire est le mécanisme le plus évident grâce auquel les virus peuvent échapper au système immunitaire.
- Plusieurs virus (HIV, Influenza, Rhinovirus) sont capables de grandes variations antigéniques posant le problème de la prévention contre leurs infections.
- D'autres (HIV) lysent ou inactivent les cellules immunocompétentes.
- Des mécanismes d'échappement se font par inhibition de la présentation des peptides endogènes par les molécules du CMH I (Herpes virus simplex produit une protéine qui se lie au TAP et empêche ce transporteur de peptides de capturer les peptides cytosoliques afin de les transférer au réticulum endoplasmique et les fixer sur les molécules du CMH).
- Certains virus produisent des molécules pouvant inhiber les réponses immunes. C'est le cas du virus Epstein Barr (EBV) qui synthétise une protéine analogue à la cytokine immunosuppressive IL10 et qui va agir en inhibant les fonctions des macrophages et l'immunité à médiation cellulaire.

5. IMMUNITÉ ANTIPARASITAIRE

La plupart des parasites ont un cycle de vie complexe qui se déroule en partie chez l'homme ou d'autres hôtes vertébrés et en partie chez des hôtes intermédiaires comme les insectes. L'homme est généralement infecté par des morsures d'insectes (paludisme, trypanosomiase) ou en partageant l'habitat d'hôtes intermédiaires comme les planorbes (bilharziose).

Une caractéristique des infections parasitaires est la chronicité qui peut s'expliquer par la faiblesse de l'immunité innée, par les capacités des parasites d'échapper ou de résister aux réponses immunes et par l'inefficacité des traitements antiparasitaires.

Les profils majeurs de l'immunité adaptative antiparasitaire sont, en ce qui concerne les helminthes, l'activation des cellules TH2 qui induit une production d'IgE et une éosinophilie. Les IgE se fixent sur les helminthes et les éosinophiles se lient par l'intermédiaire des RfC epsilon, ce qui les active en leur faisant sécréter des enzymes contenues dans leurs granules comme la protéine basique majeure qui est hautement toxique pour les helminthes.

En ce qui concerne les protozoaires qui ont évolué en apprenant à survivre au sein des cellules de l'hôte, les réponses sont à médiation cellulaire de manière analogue à ce qui est observé au cours des infections à bactéries intracellulaires. Le mécanisme principal à l'égard des protozoaires qui survivent au sein des macrophages est l'activation de ces cellules par des cytokines de type Th1.

Les protozoaires qui se répliquent au sein des cellules de l'hôte et qui les lysent, stimulent des réponses anticorps et des réponses CTL à l'instar des virus cytopathogènes. Un exemple est le plasmodium pour lequel on pensait que l'immunité humorale était un important mécanisme protecteur, mais où il semble que les CTL jouent un rôle contre la dissémination de l'infection.

5.1 EFFETS PATHOGÈNES

Les infections parasitaires de par leur persistance sont souvent accompagnées de la formation de complexes immuns qui peuvent se déposer dans les glomérules et les vaisseaux sanguins entraînant des vascularites et des néphrites (bilharziose, malaria).

Des activations polyclonales des lymphocytes peuvent s'observer et peuvent rendre compte de réponses auto-immunes observées dans certaines parasitoses (trypanosomiase et malaria). Les œufs de schistosoma Mansonii déposés dans le foie stimulent des TCD4 qui activent les macrophages et induisent des réactions d'hypersensibilité retardée qui entraînent des réactions granulomateuses autour des œufs. Ces réactions sont destinées à endiguer l'infection, mais finissent par altérer les fonctions de l'organe atteint.

5.2 MÉCANISMES D'ÉCHAPPEMENT

Les parasites utilisent différents moyens d'évasion :

5.2.1 SÉQUESTRATION ANATOMIQUE ET RÉSISTANCE À LA LYSE INTRACELLULAIRE :

Les parasites intracellulaires qui infectent les monocytes et les macrophages ont développé différents mécanismes de résistance aux dérivés actifs de l'oxygène et aux enzymes lysosomiales. Les leishmanies pénètrent dans la cellule par des voies qui n'activent pas la réaction oxydative. Les toxoplasmes empêchent la fusion phagosome-lysosome.

La localisation intracellulaire dans des cellules incapables de se défendre (cellules tissulaires, etc.) ou l'enkystement dans certains sites anatomiques permettent aux parasites d'échapper aux effecteurs de la réponse immune.

5.2.2. ÉCHAPPEMENT À LA RECONNAISSANCE :

Les parasites peuvent réduire leur antigénicité par masquage des antigènes en développant à leur surface un manteau fait de protéines de l'hôte (les schistosomes qui acquièrent des antigènes de groupes sanguins, des molécules du CMH.).

Certains parasites produisent des leures antigéniques en exposant des structures immunodominantes répétitives et en masquent les épitopes mineurs qui sont impliqués dans la protection. La glycoprotéine variante VSG de Trypanosome se modifie spontanément, ce qui induit des vagues successives de réponses anticorps primaires de spécificités différentes. Pour d'autres parasites, ces modifications antigéniques sont induites par la réponse immunitaire de l'hôte ou bien accompagnent les stades successifs de développement du parasite (Plasmodium, Schistosome).

5.2.3. ACTION SUR LES RÉPONSES IMMUNITAIRES DE L'HÔTE :

Les parasites peuvent altérer les réponses immunes de l'hôte : au cours de la filariose lymphatique, l'infection des ganglions lymphatiques et leur désorganisation architecturale secondaire conduisent à un déficit de l'immunité. La production d'antigènes solubles forme un écran qui neutralise les anticorps à distance du parasite. Des facteurs suppresseurs peuvent être produits par les parasites eux-mêmes (TGF- β , IL-10)

5.2.4. LA RÉSISTANCE AU COMPLÉMENT :

Il s'agit d'un autre moyen d'échappement, ainsi Trypanosome Cruzi synthétise une glycoprotéine de surface analogue au DAF, régulateur du complément. Les toxoplasmes ont une surface qui n'active pas la voie alterne. Le lipophosphoglycane de la surface de Leishmania major active le complément, mais tient le CAM à distance du corps du parasite qui échappe ainsi à la lyse.

LA REACTION D'HYPERSENSIBILITE IMMEDIATE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1- Préciser la place des IgE dans l'hypersensibilité immédiate en décrivant la régulation de leur synthèse.
- 2- Préciser les cytokines impliquées dans l'HSI.
- 3- Décrire le rôle des mastocytes, des basophiles, de leurs récepteurs et de leurs médiateurs.
- 4- Connaître le rôle des éosinophiles.
- 5- Citer les tests courants utilisés dans l'exploration de l'hypersensibilité immédiate.

INTRODUCTION

Une des réactions les plus puissantes du système immunitaire est la stimulation médiée par les IgE des mastocytes et des polynucléaires basophiles (PNB). Les IgE se fixent sur des récepteurs Fc epsilon existant sur ces cellules et lorsque les IgE fixées se lient à un antigène spécifique, le pontage de ces Rfc entraîne une activation cellulaire. Ces cellules libèrent des médiateurs qui vont être responsables d'une augmentation de la perméabilité vasculaire, d'une contraction des fibres musculaires lisses, d'une vasodilatation, de phénomènes inflammatoires. Cette réaction s'appelle hypersensibilité immédiate (HSI), car elle se déclenche rapidement après le contact avec l'antigène et comporte des conséquences pathologiques (hypersensibilité). Les individus qui ont ce type de réactions sont définis comme étant atopiques et souffrent d'allergies.

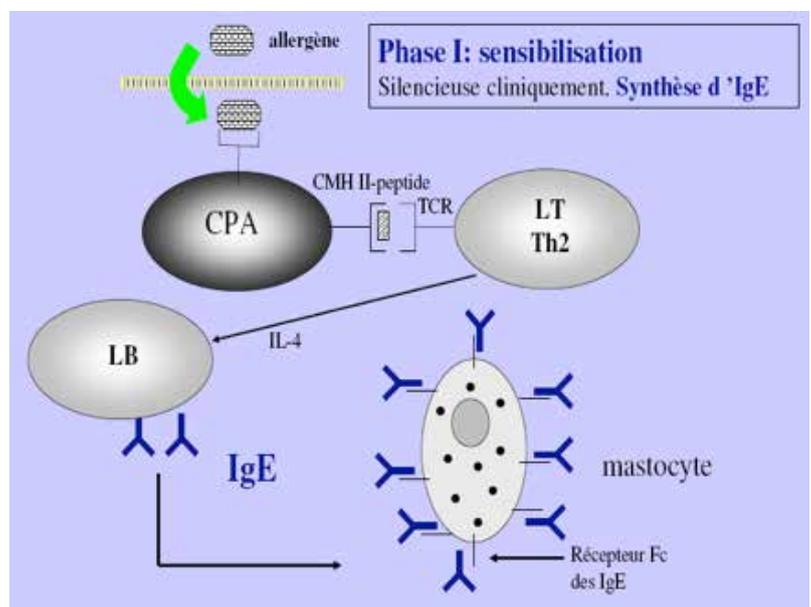
1. SÉQUENCE DES ÉVÉNEMENTS

La séquence typique est constituée de plusieurs étapes commençant par une exposition initiale à l'antigène :

- Chez des individus génétiquement susceptibles, des antigènes environnementaux appelés allergènes stimulent les Lc TCD4 pour qu'ils se différencient en TH2 effecteurs. Ces cellules produisent des signaux sous forme solubles (IL-4) et membranaires (CD40-CD40L) qui vont entraîner une différenciation de cellules B spécifiques de l'antigène en cellules productrices d'IgE (Fig 1).
- Cette immunoglobuline libérée dans la circulation pourra se fixer sur des récepteurs portés par des basophiles et des mastocytes, les Rfc ϵ .
- Lorsque l'antigène est réintroduit, il est capté par les IgE portées par ces Rfc. Cette fixation suivie d'un pontage de ces récepteurs à la surface cellulaire a comme conséquence une libération de médiateurs qui vont avoir une action hautement inflammatoire (Fig 2).
- L'HSI est considérée comme une réaction de type TH2 (caractérisée par la production d'IL-4 requise pour la synthèse d'IgE et d'IL-5 cytokine importante pour le développement des polynucléaires éosinophiles (PNE).

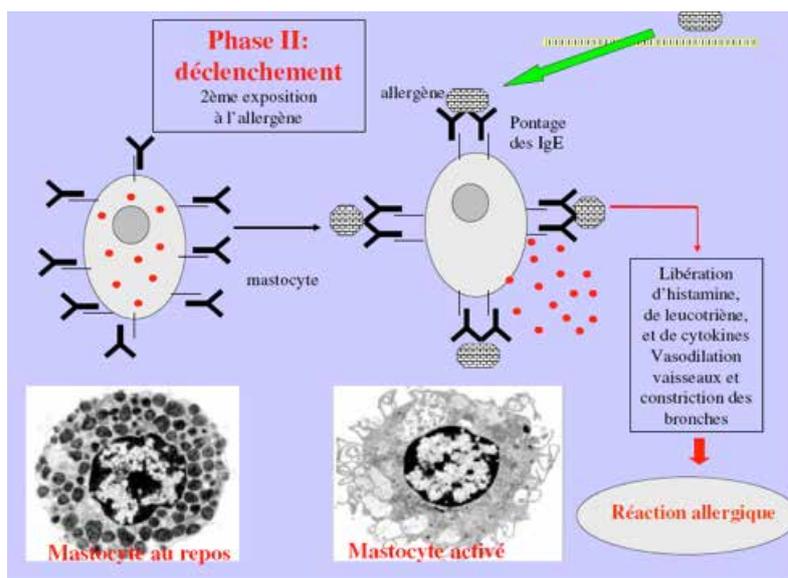
Les modifications histologiques qui surviennent dans une réaction d'HSI sont démontrées par la réaction érythémato-papuleuse succédant à une injection intradermique d'allergène. Lorsqu'un individu sensibilisé à un antigène subit une injection de cet antigène, dans le site de l'injection, une papule et un érythème apparaissent après quelques minutes. L'examen histologique montre la présence de mastocytes dans le site ayant dégra-

Figure 1 : Induction d'HSI : Production d'IgE et fixation aux mastocytes



nulé c'est-à-dire ayant libéré leur contenu en médiateurs. Cette réaction est suivie après quelques heures **d'une phase dite tardive** qui se prolonge pendant 1 à 2 jours et qui se traduit par l'accumulation de leucocytes inflammatoires : PNN, PNB et PNE.

Figure 2 : Activation et dégranulation du mastocyte



2. RÔLE DES IGE DANS L'HYPERSENSIBILITÉ IMMÉDIATE

Les IgE sont les anticorps qui vont reconnaître l'antigène dans la plupart des réactions d'hypersensibilité immédiate. Les IgE sont l'isotype qui se caractérise par une chaîne lourde epsilon. C'est une molécule bivalente qui circule dans le sang à un taux inférieur à 1 µg/ml. Ce taux dans des conditions allergiques (ou infections à helminthes) peut être multiplié par 1000. Les individus atopiques produisent des taux élevés d'IgE à l'encontre d'antigènes particuliers alors que des individus normaux synthétisent contre ces mêmes antigènes des IgM ou des IgG.

2.1. RÉGULATION DE LA SYNTHÈSE DES IGE

2.1.1. RÔLE DES LYMPHOCYTES T

La synthèse des IgE et la réaction inflammatoire dans l'HSI dépendent de l'activation des T helper CD4, particulièrement de la sous-population Th2 et de leur sécrétion d'IL-4, IL-5 et IL-13. Ces cytokines interviennent dans la synthèse d'IgE par les LB, dans le recrutement des PNE (IL-4 et IL-13) et dans leur activation (IL-5).

Une accumulation de cytokines de type Th2 est trouvée dans les sites de l'HSI et les personnes allergiques possèdent habituellement plus de Th produisant de l'IL4 que des individus normaux.

2.1.2. BASES GÉNÉTIQUES

L'allergie a souvent une composante héréditaire. La capacité de produire des IgE est sous la dépendance de plusieurs gènes. Certains se trouvent sur le chromosome 5q sous forme de loci à proximité des gènes codant l'IL-3, l'IL-4 et son récepteur, l'IL-5, l'IL-9 et l'IL-13.

2.1.3. NATURE DES ANTIGÈNES

Les raisons pour lesquelles certains antigènes stimulent une réponse TH2 et des réactions allergiques sont peu connues. Une hypothèse serait que ces antigènes ne s'accompagnent pas d'adjuvants naturels qui ont la capacité d'induire une forte activation des macrophages et la production de cytokines inductrices de réponse Th1 (IL12 et IL18). Bien qu'aucune caractéristique de structure de protéine ne puisse en définitive prédire le fait qu'elles deviendront allergéniques, certaines particularités sont communes à plusieurs allergènes : elles comprendraient un poids moléculaire faible, une grande solubilité, un fort degré de glycosylation. Certains allergènes puissants sont des enzymes (venin d'abeille, dermatophagoides pteronyssinus).

2.2. RECEPTEURS Fc EPSILON

Les effets biologiques des IgE sont médiés par des récepteurs Fc de forte affinité pour les chaînes epsilon : les **RFcε1** qui sont exprimés de façon constitutive par les PNB et par les mastocytes. La constante de dissociation de ces RFc est de 10^{-10} M ce

qui fait que la liaison aux IgE est extrêmement forte comparativement aux RfC des autres Ig.

Le RfC ϵ I (Fig 3) est constitué de trois sous-unités séparées, la chaîne ALPHA qui est le siège de la fixation de l'IgE par les domaines CH3/CH3 et CH4/CH4, une chaîne BÊTA dont la plus grande partie est intramembranaire et un dimère $\gamma\gamma$. Les chaînes β et γ contribuent à la transduction du signal de fixation des IgE, car elles contiennent des portions intracytoplasmiques ayant des motifs ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif). L'expression des RfC ϵ I est stimulée par les IgE elles-mêmes.

Un autre type de RfC est également décrit. Il s'agit du **RfC epsilon de type II (CD23)** (Fig 4), récepteur de faible affinité (Kd : 10^{-6} M, dont il existe deux isoformes A et B). Sa distribution cellulaire est plus large, on le trouve sur monocytes, cellules B, PNE, plaquettes. La forme soluble de ce récepteur libérée par autoprotéolyse a un effet stimulant sur la production d'IgE par les lymphocytes B.

Figure 3 : Récepteur Fc epsilon de type I

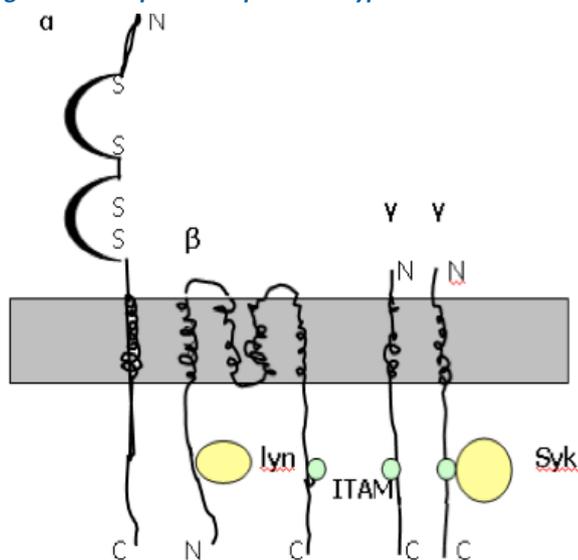
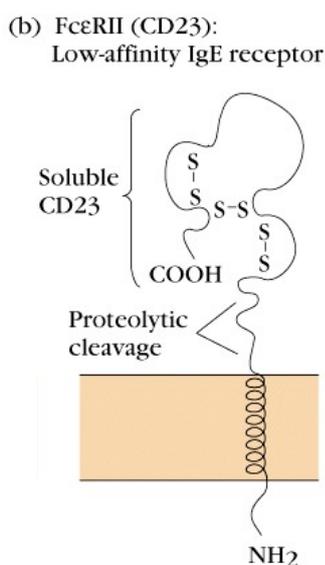


Figure 4 : Récepteur Fc epsilon de type II



3. RÔLE DES MASTOCYTES

3.1. PROPRIÉTÉS GÉNÉRALES

Les mastocytes sont issus de progéniteurs médullaires, ce sont des cellules que l'on ne trouve pas sous une forme mature dans la circulation. Les mastocytes parachèvent leur différenciation in situ dans les tissus. Leur durée de vie est de quelques semaines à plusieurs mois.

Il existe deux types de mastocytes selon leur localisation, leur activité et leur contenu en granules : les mastocytes muqueux présents surtout dans les poumons et dans l'intestin, dont les granules contiennent principalement de la tryptase et dont le développement est dépendant des lymphocytes T. La deuxième catégorie de mastocytes est représentée par les mastocytes du tissu conjonctif, de distribution ubiquitaire, dont les granules contiennent outre la tryptase, de la chymase, de la carboxypeptidase. Leur développement est indépendant des LcT.

Les rôles distincts de ces deux catégories de mastocytes dans l'HSI ne sont pas complètement élucidés.

Les PNB sont des granulocytes dont les propriétés structurales et fonctionnelles les rapprochent beaucoup des mastocytes, ils sont issus de progéniteurs médullaires communs aux mastocytes, mais leur maturation se fait dans la moelle osseuse. Leur durée de vie est de quelques jours. Ils existent surtout dans la circulation sanguine (<1% des leucocytes).

3.2. ACTIVATION

Les PNB et les mastocytes sont activés par pontage des RfC ϵ I lorsque les IgE fixées se lient à des antigènes multivalents. L'activation se manifeste par trois types de réponses : **la sécrétion de médiateurs préformés** contenus dans les granules par un processus d'exocytose, **la synthèse et la sécrétion de médiateurs lipidiques** et **la synthèse et la sécrétion de cytokines**.

Ces réponses suivent le pontage des RfC ϵ I qui déclenche une cascade de signaux (Fig 4) où des protéines tyrosine kinases activées vont phosphoryler des motifs ITAM et activer une phosphatidyl inositol phospholipase C (PIPLC). Cette dernière catalyse la libération d'inositol triphosphate (IP3) et de diacylglycérol (DAG) à partir de PIP2 dans la membrane cellulaire. L'IP3 entraîne la libération de Ca⁺⁺ à partir du réticulum endoplasmique ; le calcium en association avec le DAG active une protéine kinase C qui va phosphoryler des substrats comme les chaînes de myosine, ce qui aura pour conséquence une modification du cytosquelette qui va permettre l'exocytose des granules.

Le pontage des Rfcel a aussi comme conséquence la méthylation de phospholipides membranaires et une accumulation de phosphatidylcholine (PC), ce qui augmente la fluidité membranaire et la formation de canaux calciques. L'augmentation du calcium intracellulaire ainsi que l'activation de MAP kinase par les motifs ITAM phosphorylés activent une phospholipase A2 qui va participer à la synthèse d'acide arachidonique à partir de la PC, point de départ de la synthèse de médiateurs lipidiques.

La synthèse des cytokines est activée par une autre voie métabolique où est impliquée la protéine MAP-kinase qui est transloquée dans le noyau où elle active des facteurs de transcription de gènes de cytokines.

L'activation des mastocytes et des PNB peut aussi être déclenchée sans l'intervention des IgE, par une variété de substances biologiques endogènes et exogènes : peptides, fractions du complément, chimiokines.

3.3. MÉDIATEURS LIBÉRÉS PAR LES PNB ET LES MASTOCYTES

3.3.1. HISTAMINE

Composant faisant environ 10% du poids des granules, l'histamine est formée par décarboxylation de l'histidine. Sa présence à l'état préformé fait que ses effets biologiques apparaissent rapidement après l'activation mastocytaire. Une fois libérée, l'histamine se lie à des récepteurs spécifiques sur des cellules cibles. Il existe trois types de récepteurs H1, H2 et H3 de distribution et de réponses biologiques différentes. La plupart des effets de l'histamine sont dus à sa liaison sur des récepteurs H1. Ces effets comprennent une contraction des cellules musculaires lisses bronchiques et intestinales, une augmentation de la perméabilité des veinules, une hyper sécrétion de mucus au niveau bronchique. L'interaction de l'histamine avec les récepteurs H2 augmente perméabilité et dilatation vasculaire et stimule les glandes exocrines. L'histamine exerce en plus un rétrocontrôle négatif par l'intermédiaire des récepteurs H2 présents sur les mastocytes et les PNB.

3.3.2. PROTÉASES NEUTRES ET PROTÉOGLYCANES

Tryptase et chymase sont les composants les plus abondants des granules des mastocytes. Leurs effets in vitro (tryptase : clivage du fibrinogène, chymase : activation de collagénase) suggèrent d'importantes fonctions in vivo.

Les protéoglycanes (héparine et chondroïtine sulfate) servent de matrices de stockage pour les amines vasoactives, les protéases et autres médiateurs.

3.3.3. MÉDIATEURS LIPIDIQUES

L'activation des mastocytes et des PNB a comme conséquence une **synthèse de novo** et une libération rapide de médiateurs lipidiques qui ont des effets biologiques multiples, plus prolongés que ceux de l'histamine.

Les plus importants sont les métabolites de l'acide arachidonique issus de deux voies distinctes la voie de la cyclo-oxygénase et la voie de la lipooxygénase. La voie de la cyclo-oxygénase aboutit à un médiateur, la prostaglandine D2 qui va se fixer sur des récepteurs présents sur les fibres musculaires lisses et agir comme vasodilatateur et bronchoconstricteur. La PGD2 a aussi des effets chimiotactiques. La voie de la lipooxygénase aboutit à la production de leucotriènes particulièrement la LTC4 et ses produits de dégradation D4 et E4. Les leucotriènes se lient à des récepteurs spécifiques sur les fibres musculaires lisses et aboutissent à une bronchoconstriction prolongée.

Un autre médiateur lipidique est le PAF ayant une action bronchoconstrictive et des effets de rétraction des cellules endothéliales et de relâchement de la musculature lisse.

3.3.4. CYTOKINES

Les mastocytes et les PNB produisent plusieurs cytokines (TNF, IL-1, IL-3, IL-4,5, 6,13, GMCSF) qui sont pour la plupart synthétisées de novo après activation cellulaire et contribuent aux phénomènes inflammatoires de la réaction tardive.

4. PROPRIETES DES PNE

Les PNE sont des granulocytes dont la différenciation à partir de progéniteurs dans la moelle osseuse dépend de GMCSF, IL-3 et IL-5. L'eosinophil chemotactic factor produit par les mastocytes, les cytokines produites par les Th2 ainsi que d'autres facteurs comme les chemokines contribuent à l'activation des PNE et à leur recrutement dans le site de la phase tardive.

Les PNE expriment des Rfcel et se lient directement sur les antigènes enveloppés d'immunoglobulines. Il s'en suit une dégranulation et la libération de médiateurs inflammatoires : leucotriènes, protéine basique majeure, PAF, eosinophil cationic protéin (ECP) qui vont jouer un rôle protecteur dans les infections à helminthes, mais provoquer des lésions tissulaires dans la phase tardive de l'HSI.

5. EXPLORATION DE L'HSI

Les explorations chez un individu allergique sont nombreuses et parfois complexes. Il existe cependant un préalable incontournable qui repose sur l'interrogatoire minutieux, presque policier, du patient afin de déterminer la réalité de l'allergie.

5.1. TESTS CUTANÉS

Ces tests essaient de démontrer la réalité de l'hypersensibilité immédiate par le biais de réactions localisées au niveau de la peau.

Le prick test est l'un des tests cutanés les plus couramment utilisés. Il consiste à appliquer des gouttelettes de différentes solutions d'allergènes dont il existe pour la plupart des préparations commerciales. Ces applications se font au niveau de la peau des avant-bras et sont espacées pour permettre une lecture aisée de la réaction cutanée.

Une lancette terminée par un stylet piquera la peau afin de permettre à l'allergène de pénétrer. La lecture se fait après 15 minutes sous forme d'une réaction positive érythémato-papuleuse (supérieure à 3 mm) comparée à la réaction d'un témoin positif (histamine à 0,1%) et à celle d'un témoin négatif (solvant). Parfois la lecture se fait après quelques heures pour dépister d'éventuelles réactions cutanées tardives.

Le prick test lorsqu'il est négatif peut être complété par **une IDR** qui est plus sensible et dont les indications se posent lorsque l'extrait allergénique n'est pas assez puissant pour obtenir une réaction positive dans un Prick test. Il existe des variabilités de la réactivité cutanée notamment en fonction de l'âge : les jeunes enfants et les vieillards présentent souvent des faux négatifs.

Les tests cutanés sont d'interprétation difficile chez des sujets ayant des dermatoses.

5.2. TESTS IN VITRO

Un test de présomption **d'une hypersensibilité** de type I est la découverte d'une hyperéosinophilie à la numération formule sanguine. Dans le sang circulant, les polynucléaires éosinophiles (PNE) sont en nombre absolu inférieurs à 400 /mm³.

L'augmentation des PNE n'est pas spécifique aux allergies, mais se voit aussi dans de nombreuses pathologies comme les parasitoses, certaines hémopathies et dans certaines maladies systémiques.

5.2.1 DOSAGE DES IGE TOTALES SÉRIQUES

Ce dosage contribue au diagnostic d'une allergie sachant toutefois qu'il n'est pas spécifique. Plusieurs techniques pour le dosage des IgE sont disponibles : les techniques immuno-enzymatiques (**ELISA**) et les techniques radio-immunologiques (**RIST et PRIST**). Les résultats sont exprimés en UI/ml, les taux des IgE sériques doivent être interprétés en fonction de l'âge : <10 UI/ml avant l'âge de 3 mois, <100 UI/ml avant 1 an, <300 UI/ml chez l'adulte.

5.2.2 DOSAGE DES IGE SPÉCIFIQUES

Le dosage des IgE spécifiques est possible pour la plupart des allergènes responsables des manifestations cliniques. Les IgE spécifiques sont très utiles lorsque les tests cutanés ne sont pas réalisables. Les méthodes dites **de screening (test IgE multiallergéniques)** détectent des IgE spécifiques d'un allergène inclus dans un groupe d'allergènes sans identifier la spécificité en cause. Ces tests sont qualitatifs avec réponse positive ou négative où la négativité n'exclut pas une allergie IgE dépendante.

Des dosages d'IgE dites monospécifiques sont disponibles : La technique peut être soit radio-immunologique ou immuno-enzymatique. L'emploi d'une gamme d'étalonnage permet d'avoir des résultats quantitatifs vis-à-vis de pneumallergènes, et de trophallergènes (lait de vache, blanc d'œuf, blé, soja, morue, arachide, etc.).

LES RÉACTIONS D'HYPERSENSIBILITÉ (HS)

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1- Décrire les principaux mécanismes de cytotoxicité intervenant dans l'HS de type II.
- 2- Détailler les mécanismes des lésions de l'HS par immuns complexes.
- 3- Citer les différents facteurs de pathogénicité des CI.
- 4- Préciser les mécanismes lésionnels des HS de type III localisées et généralisées.
- 5- Connaître les antigènes incriminés dans l'HS type IV.
- 6- Préciser les mécanismes de l'HSR de contact.
- 7- Décrire les mécanismes de l'HSR de type tuberculinique.
- 8- Décrire les mécanismes d'HS granulomateuse.

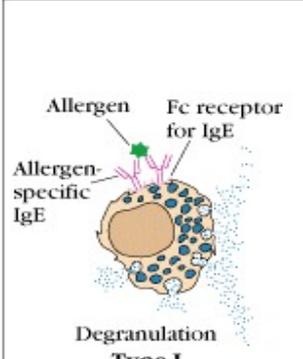
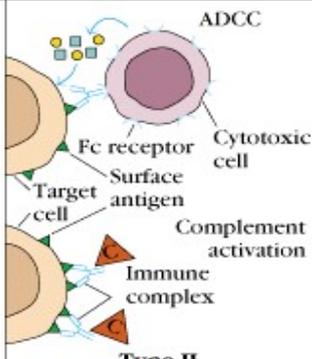
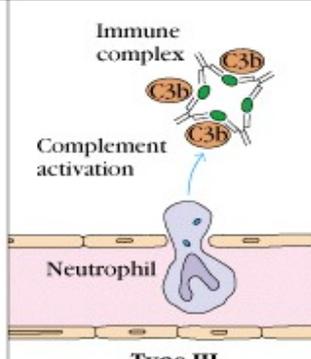
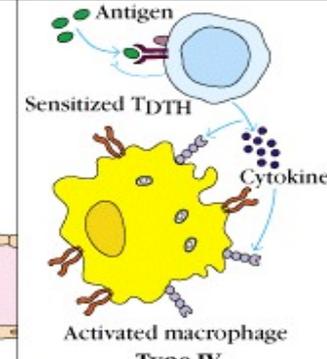
INTRODUCTION

Le plus souvent, la réponse immunitaire et l'immunité résiduelle qui en découle sont bénéfiques puisqu'elles protègent contre toute nouvelle agression antigénique spécifique. Mais dans certaines circonstances, la réintroduction de l'antigène dans un organisme peut provoquer des manifestations locales ou générales d'hypersensibilité (HS) néfastes pour l'organisme. Ces réactions d'HS correspondent à des réactions d'immunité spécifique dirigées contre des antigènes localisés sur des cellules ou dans les tissus, à l'origine de lésions tissulaires ou de réactions inflammatoires. Elles apparaissent généralement suite à une sensibilisation antérieure patente ou latente avec un antigène donné, ou dans certains cas, lors de sa persistance dans l'organisme. Elles peuvent être d'apparition plus ou moins rapide d'où les notions d'HS immédiate et retardée.

La classification de Gell et Coombs répartit ces réactions en se basant sur leurs mécanismes immunologiques effecteurs (fig.1). On distingue :

- HS type I : HS anaphylactique
- HS type II : HS cytotoxique
- HS type III : HS par immuns complexes
- HS type IV : HS retardée (HSR)

Figure 1 : Classification de Gell et Coombs

 <p>Type I</p>	 <p>Type II</p>	 <p>Type III</p>	 <p>Type IV</p>
IgE-Mediated Hypersensitivity	IgG-Mediated Cytotoxic Hypersensitivity	Immune Complex-Mediated Hypersensitivity	Cell-Mediated Hypersensitivity
Ag induces crosslinking of IgE bound to mast cells and basophils with release of vasoactive mediators	Ab directed against cell surface antigens meditates cell destruction via complement activation or ADCC	Ag-Ab complexes deposited in various tissues induce complement activation and an ensuing inflammatory response mediated by massive infiltration of neutrophils	Sensitized T_DTH cells release cytokines that activate macrophages or T_C cells which mediate direct cellular damage
Typical manifestations include systemic anaphylaxis and localized anaphylaxis such as hay fever, asthma, hives, food allergies, and eczema	Typical manifestations include blood transfusion reactions, erythroblastosis fetalis, and autoimmune hemolytic anemia	Typical manifestations include localized Arthus reaction and generalized reactions such as serum sickness, necrotizing vasculitis, glomerulonephritis, rheumatoid arthritis, and systemic lupus erythematosus	Typical manifestations include contact dermatitis, tubercular lesions and graft rejection

Les trois premières réactions sont médiées par des anticorps (Ac), la 4^{ème} par les lymphocytes T et les macrophages. Sur le plan clinique, ces réactions sont rarement individualisées, ainsi, plusieurs mécanismes peuvent intervenir en même temps.

1. HYPERSENSIBILITÉ TYPE II : HS CYTOTOXIQUE

La cytotoxicité en immunologie comprend les phénomènes immunologiques qui conduisent à la destruction d'une cellule cible vivante.

1.1 CYTOTOXICITÉ DÉPENDANTE DES AC

Il en existe 3 types selon les mécanismes effecteurs des lésions :

1.1.1 CYTOTOXICITÉ DÉPENDANTE DES AC ET DU COMPLÉMENT

Elle est caractérisée par la présence d'Ac dirigés contre des Antigènes (Ag) naturels (Ag appartenant à la cellule hôte dans le cas des maladies auto-immunes) ou exogènes (des antigènes microbiens ou viraux exprimés à la surface des cellules cibles). La réaction Ac-Ag va induire dans un deuxième temps, une activation du complément pouvant aboutir au complexe d'attaque membranaire et entraîner la lyse de la cellule hôte.

Ce mécanisme est notamment impliqué dans les situations d'incompatibilité transfusionnelle avec une hémolyse intravasculaire et dans les rejets de greffe hyperaigus.

1.1.2 CYTOTOXICITÉ CELLULAIRE DÉPENDANT DES AC : ADCC (ANTIBODY DEPENDENT CELL MEDIATED CYTOTOXICITY)

Dans ce cas, la lyse se fait par des cellules cytotoxiques possédant un récepteur Fc des IgG par lequel elles se lient à la cellule cible qui a déjà fixé l'Ac. Les cellules tueuses appartiennent à différents types cellulaires :

- Les cellules K (Killer), cellules NK
- LcT avec récepteur Fc
- Macrophages et monocytes
- Polynucléaires neutrophiles et éosinophiles

La combinaison entre l'IgG et le récepteur Fc a un double effet : elle active la cellule effectrice et permet la liaison de celle-ci à sa cible.

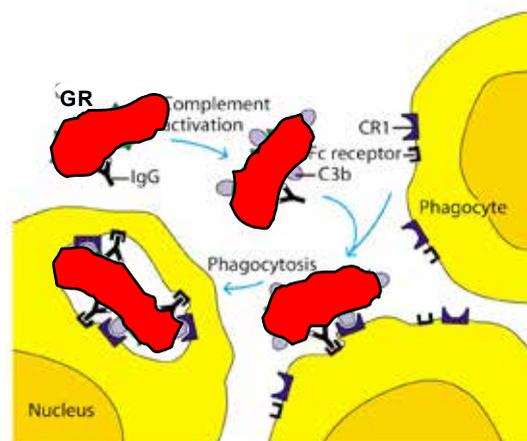
On peut classer dans l'ADCC, l'activité parasitotoxique des polynucléaires éosinophiles et des macrophages adhérents à leur cible par l'intermédiaire des Ac de classe IgE et des récepteurs RFce.

1.1.3 CYTOTOXICITÉ CELLULAIRE PAR PHAGOCYTOSE (FIGURE 2)

Les cellules phagocytaires grâce à leurs récepteurs Fc des Ig et leurs récepteurs pour certaines fractions du complément (CR1, CR2 et CR3) peuvent reconnaître une cellule cible couverte d'Ac et/ou du complément. Après opsonisation et phagocytose de la cible par les macrophages, monocytes ou PN neutrophiles, la destruction se fait dans la rate.

Ce mécanisme physiopathologique est surtout impliqué dans les cas des anémies hémolytiques auto-immunes et la maladie hémolytique du nouveau-né.

Figure 2



1.2 CYTOTOXICITÉ DÉPENDANTE DES LYMPHOCYTES T

Les LcT cytotoxiques CD8⁺ (CTL) reconnaissent leur cible grâce au récepteur pour l'antigène des LcT. Le contact LcT-cible va induire une activation du lymphocyte cytotoxique qui va produire des médiateurs lytiques : perforines et granzymes. La perforine est une protéine qui peut former des pores dans la membrane de cellule cible, ainsi que les granzymes (appartiennent à la famille des protéases). En présence de perforine, les granzymes atteignent le noyau où ils activent des caspases (enzymes protéolytiques) favorisant l'apoptose (mort cellulaire).

Dans certaines infections par des virus, les CTL peuvent être responsables de lésions tissulaires. C'est le cas par exemple des hépatites chroniques par les virus de l'hépatite B ou C.

2. HYPERSENSIBILITÉ TYPE III : HS PAR IMMUNS COMPLEXES

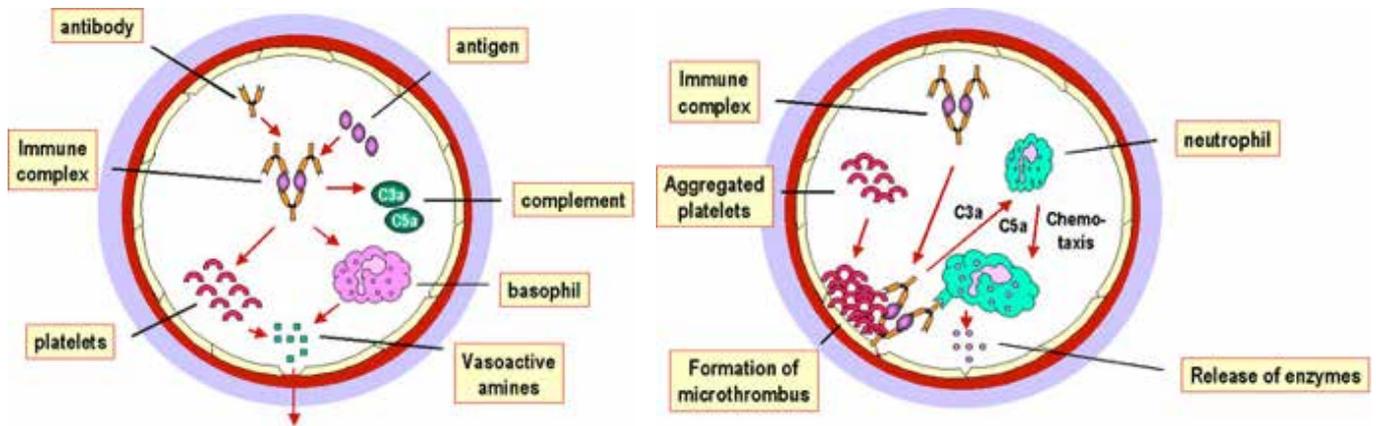
Lorsqu'un Ag rencontre son Ac spécifique, ils forment un complexe immun (CI). Ce phénomène peut être :

- Physiologique aboutissant à l'élimination des Ag exogènes ou des auto-Ag altérés par phagocytose.
- Pathologique aboutissant à des réactions inflammatoires d'HS soit par dépôts de CI circulants ou par formation in situ de CI.

2.1 LES MÉCANISMES INFLAMMATOIRES DE L'HS DE TYPE III (FIG.3)

Ces complexes formés localement ou déposés dans certains organes déclenchent de nombreux processus inflammatoires. Ainsi, ils peuvent se fixer au complément, entraînant la libération de médiateurs anaphylactiques et chimiotactiques (C3a et de C5a) provoquant l'afflux de PNN. Ces derniers libèrent leurs enzymes protéolytiques et lysosomiales qui induisent des lésions inflammatoires tissulaires pouvant aboutir à la nécrose. Les CI peuvent également provoquer la libération d'amines vasoactives par les mastocytes et les basophiles avec augmentation de la perméabilité vasculaire et un afflux de PNN. Comme ils peuvent aussi se fixer sur les récepteurs de Fc des plaquettes, entraînant leur aggrégation et la formation de microcaillots.

Fig.3 : les mécanismes inflammatoires de l'HS de type III



2.2 LES FACTEURS DE PATHOGÉNÉCITÉ DES CI

2.2.1 LA TAILLE DES CI

Mis au contact l'un de l'autre, Ag et Ac spécifiques forment un réseau aboutissant à des complexes immuns dont la composition dépend de la valence de l'Ag, des concentrations et de l'affinité des réactifs en présence. Les CI obtenus à la zone d'équivalence (Ag et Ac sont en nombre à peu près égal), sont les plus pathogènes. Les CI en zone d'excès d'Ac ou d'Ag ne donnent pas de réseau. Ils ne sont donc pas pathogènes.

La localisation des CI dépend aussi de leur taille. Cela peut être mis en évidence dans le rein : les CI de petites tailles traversent la MBG (membrane basale glomérulaire) et sont retrouvés sur le versant épithélial, alors que les complexes de grandes tailles s'accumulent entre l'endothélium et la membrane basale ou dans le mésangium.

2.2.2 LE RÔLE DE L'ACTIVATION DU COMPLÉMENT

L'activation du complément par les CI peut être :

- Favorable avec solubilisation des CI. Les fragments C3b et C3d en sont responsables par leur insertion dans le CI (phagocytose grâce aux récepteurs CR1 et CR3 de ces fragments).
- Défavorable par libération de C3a et C5a avec augmentation de la perméabilité vasculaire.

2.2.3 LA CRYOSOLUBILITÉ

Certaines Ig précipitent à froid avec formation de CI au niveau de certains tissus exposés au froid (extrémités).

2.2.4 LE RÔLE DES FACTEURS HÉMODYNAMIQUES

Les dépôts de CI sont favorisés au niveau :

- Des régions de turbulences circulatoires
- Des régions de pression élevée
- Des régions de filtration

2.2.5 L'AFFINITÉ TISSULAIRE

L'ADN possède une affinité élevée pour le collagène de la MBG, ceci peut expliquer les dépôts de complexes ADN/Ac anti-ADN dans le rein des malades atteints de LED (atteinte auto-immune systémique caractérisée par la présence d'Ac anti-ADN).

2.2.6 DES FACTEURS GÉNÉTIQUES ET ENVIRONNEMENTAUX

2.3 HYPERSENSIBILITÉ LOCALISÉE : PHÉNOMÈNE D'ARTHUS (1903)

Il s'agit d'une vascularite cutanée due à une précipitation, au sein de la paroi vasculaire, d'un Ag et de son Ac.

2.3.1 PHÉNOMÈNE D'ARTHUS ACTIF

Il est obtenu, après une immunisation d'un animal par des injections répétées (à une semaine d'intervalle) par voie sous-cutanée, d'un même Ag. Après un délai de plusieurs jours (3 à 4 semaines), une nouvelle injection sous-cutanée va provo-

quer un œdème érythémateux local, 15 à 30 mn après l'injection, puis une induration avec des foyers hémorragiques (1-2 heures), voir même une nécrose tissulaire locale.

2.3.2 PHÉNOMÈNE D'ARTHUS PASSIF

Ce phénomène peut être transféré à l'animal par injection d'un sérum provenant d'un animal hyperimmunisé. La réintroduction de l'Ag par voie sous-cutanée aboutit aux mêmes lésions observées ci-dessus.

2.3.3 HISTOLOGIE

On observe un ralentissement circulatoire local, avec accumulation des plaquettes, de leucocytes pouvant aboutir à une thrombose avec extravasation périvasculaire (lésion de la paroi vasculaire). Secondairement, une infiltration de polynucléaires autour des petits vaisseaux avec afflux de macrophages et de polynucléaires éosinophiles. En immunofluorescence directe, on observe des dépôts d'Ig, de complément et de l'Ag dans les parois des veinules.

2.3.4 LES MÉCANISMES LÉSIONNELS (FIG.4)

Au cours de l'immunisation de l'animal, des Ac précipitants sont produits en grande quantité. Lors de la réintroduction de l'Ag par voie sous-cutanée, il y a une formation de complexes immuns in situ, qui en se déposant, provoquent les lésions vasculaires et inflammatoires décrites ci-dessus. La séquence des réactions est la suivante :

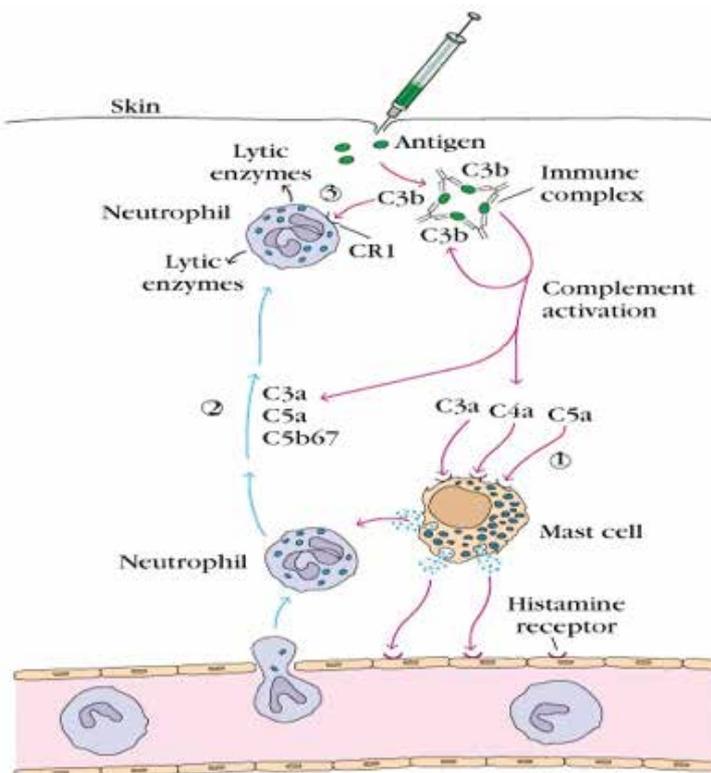
- L'Ag et l'Ac diffusent dans la paroi des vaisseaux et forment localement des CI fixant le complément.
- Les fragments du complément (C3a et C5a) attirent les polynucléaires neutrophiles qui phagocytent les immuns complexes puis libèrent les enzymes lysosomiales protéolytiques.
- Les enzymes provoquent des lésions vasculaires avec hémorragie pouvant aboutir à la nécrose.

2.3.5 ÉQUIVALENTS HUMAINS DU PHÉNOMÈNE D'ARTHUS

Ce sont les affections pulmonaires réunies sous le terme d'alvéolites allergiques extrinsèques. Elles comprennent, la maladie du poumon de fermier, la maladie des éleveurs d'oiseaux, la maladie des champignonnistes... Les malades sont immunisés par inhalation de spores, de bactéries présentes dans le foin, de protéines aviaires ou de spores de champignon. Ainsi, ils vont développer des Ac sériques précipitants vis-à-vis de ces Ag. Lors d'une nouvelle exposition à l'Ag, il y a une formation locale de CI avec lésions de la paroi alvéolaire et détresse respiratoire progressive avec hyperthermie et malaise général.

La formation locale des dépôts de CI peut aussi être due à des injections répétées de substances antigéniques au même endroit (insuline...) ou lors des rappels de vaccination. (antitétanique, antidiptérique chez un sujet hyperimmunisé)

figure 4 : Phénomène d'Arthus



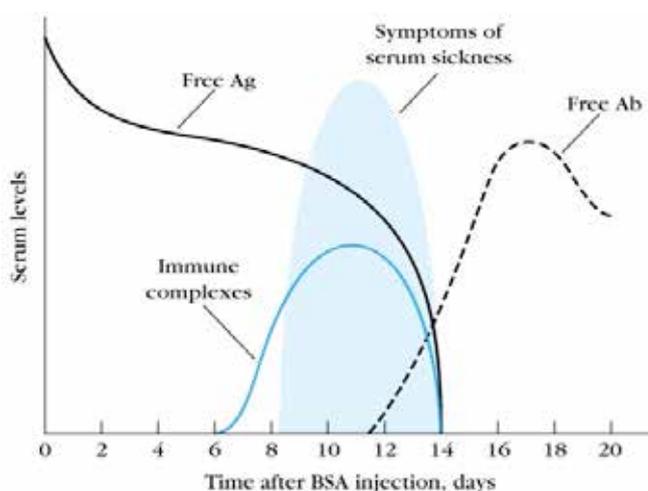
2.4 HYPERSENSIBILITÉ DE TYPE III GÉNÉRALISÉE

Lorsqu'un Ag est introduit dans l'organisme, l'antigénémie est de durée variable selon la nature de l'Ag et la voie d'administration, mais elle dure, en général, suffisamment longtemps pour que coexistent dans le sérum à la fois l'Ag et l'Ac. Au cours de cette période (j8-j10), les CI peuvent entraîner des lésions rénales, vasculaires ou articulaires, connues sous le nom de maladie sérique aiguë.

2.4.1 LA MALADIE SÉRIQUE AIGUË EXPÉRIMENTALE (FIG.5)

Elle est obtenue chez le lapin par l'injection intra veineuse d'une forte dose d'une protéine xénogénique (sérum albumine bovine BSA). La reconnaissance de cette protéine par des Ac spécifiques induit la formation de CI circulants qui se déposent dans les tissus et entraînent des lésions rénales de

Figure 5 : Maladie sérique expérimentale



glomérulonéphrite aiguë, cardiaques (coronarite) et vasculaires (vascularites). Les lésions surviennent au moment de la formation des complexes immuns et de l'activation du complément. La guérison nécessite en moyenne 2 à 3 semaines.

2.4.2 LA MALADIE SÉRIQUE AIGUË HUMAINE

Elle s'observe après une sérothérapie par des sérums hétérologues d'origine animale (antitétaniques...) ou parfois suite à une prise médicamenteuse (sulfamides). Les signes cliniques apparaissent 8 à 10 jours après l'injection, ou plus tôt si le sujet a été déjà sensibilisé, avec fièvre, urticaire, purpura, arthralgies, adénopathies, signes neurologiques, myalgies... Il s'agit donc d'une affection aiguë ne persistant en général que quelques jours et régressant spontanément vers le 15ème jour. Les signes biologiques sont : hyperéosinophilie, hypergamma, hypocomplémentémie, présence de CI circulants et protéinurie. Le traitement repose sur une corticothérapie.

2.4.3 LA FORME CHRONIQUE

Expérimentalement, l'introduction de l'antigène se fait à petites doses par voie intraveineuse et de façon répétée. Après quelques semaines, le tableau est celui d'une vascularite plus ou moins localisée ou d'endocardite, de périartérite noueuse, de connectivite (LED...)

2.5 LES MÉTHODES DE DÉTECTION DES CI

- Détection des CI circulants :
 - Des méthodes physiques de précipitation par le PEG ou de cryoprécipitation
 - Des méthodes immunoenzymatiques ELISA (fixation sur du C1q)
- Détection des dépôts de CI par des techniques d'immunofluorescence sur des coupes de tissus

3. HYPERSENSIBILITÉ RETARDÉE (HSR) TYPE IV

L'HSR se définit comme une réaction immune d'hypersensibilité survenant tardivement (environ 24 à 48 heures) et dépendant de l'interaction entre l'Ag et les LcT sensibilisés. Elle comporte deux étapes :

- Une étape d'induction au cours de laquelle l'organisme est en contact avec l'Ag.
- Une étape d'expression des lésions : où l'Ag est à nouveau introduit par voie cutanée. On a alors une réaction locale caractéristique. Le modèle classique d'HSR est l'hypersensibilité tuberculique.

La réaction d'HSR est transférable par les LcT (et non par les Ac) provenant d'un animal stimulé par l'Ag à un animal non immunisé (à condition que le receveur soit histocompatible (syngénique)).

3.1 HSR A LA TUBERCULINE

3.1.1 INDUCTION

C'est une réaction d'HS induite par l'exposition de l'organisme au bacille de Koch ou suite à une vaccination par le BCG. Cette HSR est mise en évidence par le test à la tuberculine qui consiste en l'injection intradermique de dérivé purifié de culture de bacille tuberculeux.

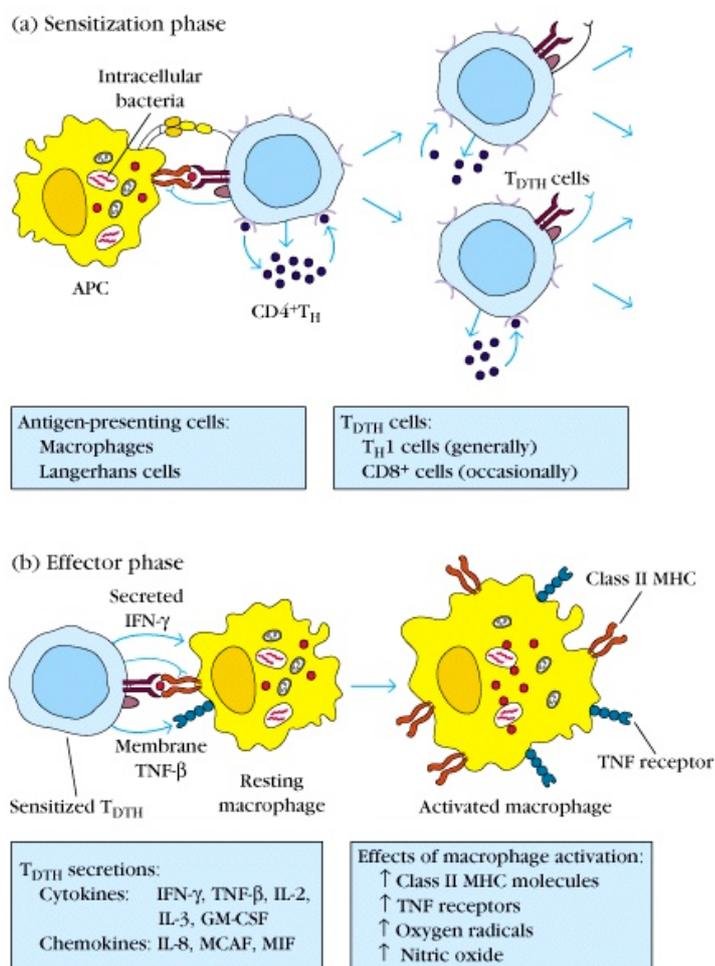
3.1.2 EXPRESSION DE L'HS TUBERCULINIQUE

La réaction cutanée au point d'injection commence vers la 4ème heure et culmine à la 48ème heure, constituée par un érythème et une induration (éventuellement une nécrose). Sur le plan histologique, on note l'existence d'une infiltration périvasculaire et intradermique de cellules mononucléées (macrophages et lymphocytes).

3.1.3 MÉCANISMES DE L'HS TUBERCULINIQUE (FIG. 6)

La réaction est déclenchée par quelques lymphocytes Th1 spécifiques de l'antigène (le caractère retardé de la réaction est dû au délai nécessaire à la rencontre de l'Ag fixé dans le derme avec ses LcT spécifiques). Les

Figure 6 : Vue générale de l'HSR



principales cytokines impliquées sont le TNF α et IFN γ qui induisent l'activation des cellules endothéliales et les monocytes/macrophages. L'activation de ces cellules va favoriser la production d'IL12 (effet feed-back + sur la réponse Th1 et la production d'IFN γ) et de chemokines qui facilitent le passage transcapillaire des cellules vers les tissus. Les changements qui touchent l'endothélium vont entraîner, outre le passage des cellules, la fuite des macromolécules plasmatiques (fibrinogène...) à l'origine d'induration au niveau du site de la réaction d'HS.

3.1.4 AUTRES ANTIGENES INCRIMINES

En dehors de la tuberculose, d'autres infections bactériennes (salmonellose, brucellose, listériose, infections streptococciques...), virales et parasitaires (candidose, toxoplasmose, leishmaniose...) peuvent déterminer une réaction d'HSR de type tuberculinique.

3.2 HSR DE CONTACT

C'est une forme très répandue qui est le plus souvent due à des haptènes comme les métaux lourds (nickel, chrome) et les produits chimiques (colorants, cosmétiques, médicaments...) responsables des dermites ou eczéma de contact. Chez l'animal, on peut induire une HS de contact en badigeonnant la peau avec un haptène comme le DNCB. La réaction est révélée par une nouvelle application de ce même haptène à doses faibles sur un autre territoire cutané.

3.2.1 INTRODUCTION

La substance hapténique, en pénétrant, va, soit former des conjugués immunogènes avec les peptides (protéines de la peau) situés sur la membrane cellulaire au niveau des cellules de Langerhans, soit être transloquée dans le cytoplasme de ces cellules du fait de leurs propriétés lipophiles. Ces cellules migrent ensuite sous forme de cellules voilées vers le ganglion lymphatique drainant le site où elles deviennent des cellules interdigitées du cortex profond. Les cellules interdigitées présentent l'Ag à des LcT « naïfs » et induisent l'expansion clonale de ces LcT. Le processus d'induction dure environ 1 à 2 semaines, au bout desquelles les LcT spécifiques passent dans la circulation sanguine.

3.2.2 EXPRESSION DES LÉSIONS

Après application du même haptène sur une zone cutanée différente, il se déclenche une réaction atteignant son apex vers 48-72 h et qui se manifeste par un érythème, un œdème et une vésiculation. Sur le plan histologique, on note l'accumulation de cellules mononucléées (LcT CD4 et CD8) et de cellules de Langerhans.

3.2.3 LES MÉCANISMES DES LÉSIONS

Les LcT, en particulier Th1, sont activés par les macrophages et les cellules de Langerhans qui présentent l'Ag. Ils produisent de l'IL2, mais surtout de l'IFN γ et du TNF α . Ces 2 cytokines vont induire l'expression de molécules d'adhésion et des molécules CMH II par les kératinocytes et les cellules endothéliales contribuant à l'activation et la migration transendothéliale des LcT.

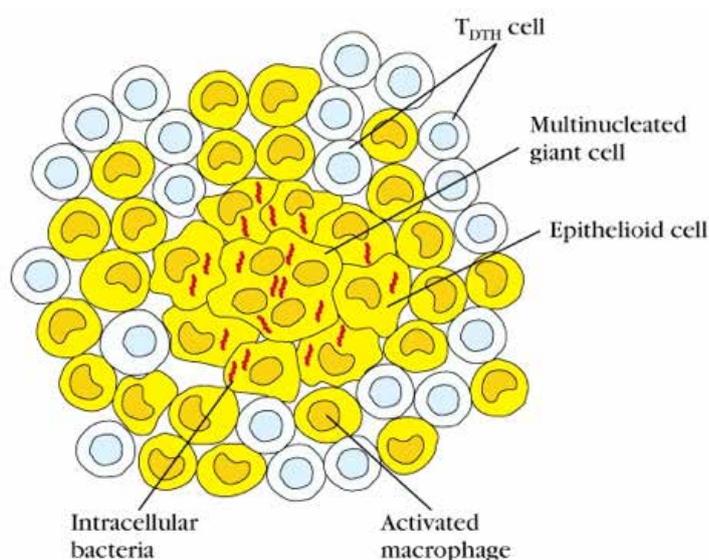
3.3 HS GRANULOMATEUSE (FIG.7)

Contrairement aux deux autres modèles d'HS, cette réaction est induite par des antigènes qui ne peuvent être éliminés par une réaction inflammatoire et vont durer plusieurs semaines. Cette non-élimination de l'Ag s'explique, soit en raison de la structure de l'Ag lui-même, difficilement ou non phagocytable, soit en raison de sa production de façon continue à partir d'un foyer infectieux.

Dans ce type de situation, les macrophages activés subissent des transformations morphologiques en réponse à des stimuli cytokiniques persistants (l' IFN γ). Ils se modifient alors en cellules épithéloïdes (ressemblant aux cellules épithéliales) qui peuvent ensuite fusionner pour devenir des cellules géantes. Cet amas cellulaire est nommé granulome et est entouré d'un halo de Lc et de fibroblastes synthétisant du collagène aboutissant à une fibrose souvent délétère pour la fonction normale du tissu.

Les exemples des réactions d'HS granulomateuse sont nombreux. Ils sont souvent d'origine infectieuse : Tuberculose, lèpre, bilharziose, leishmaniose... ou d'étiologie inconnue : sarcoïdose, granulomatose de Wegener...

Figure 7 : HS granulomateuse



3.4 EXPLORATION

3.4.1 LES TESTS IN VIVO

- **IDR à la tuberculine : ce test est positif chez les sujets ayant reçu le BCG, ou ayant eu contact avec le bacille de Koch**
- Les dermites de contact sont explorées par des patch-tests (application sur la peau de l'Ag puis mesure du diamètre de l'érythème et de la vésiculation)

3.4.2 LES TESTS IN VITRO

Ce sont les tests de transformation lymphoblastique suite à la stimulation des Lc en présence d'Ag contre lesquels l'individu est sensibilisé.

CHAPITRE III : MANIPULATION DE LA RÉPONSE IMMUNITAIRE

VACCINATIONS

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1- Distinguer entre immunisation passive et immunisation active
- 2- Distinguer entre immunisation naturelle et immunisation artificielle
- 3- Citer les facteurs déterminant l'efficacité d'une vaccination
- 4- Connaître les différents types de vaccins avec exemples
- 5- Connaître les nouvelles approches vaccinales

1. INTRODUCTION

Historiquement, l'anglais **Edward Jenner**, vers la fin du XVIII^e siècle, prouve que l'on pouvait protéger une personne contre la variole en lui inoculant le contenu de pustules prélevées chez des sujets infectés par un virus bovin proche de celui de la variole et produisant chez l'homme une infection similaire, mais moins grave.

Jenner emploie le terme de vaccine pour le produit d'inoculation, du latin vacca (vache) et « vaccination » le procédé qu'il décrit. Bien plus tard, **Louis Pasteur** généralisera le terme vaccination en l'appliquant à l'inoculation préventive d'un agent infectieux modifié.

2. DEFINITION

La vaccination et plus généralement l'**immunisation** sont les moyens par lesquels est obtenue la protection spécifique de l'individu contre les agents pathogènes nocifs les plus communs.

Cette protection ou immunité spécifique est acquise soit par immunisation **passive** soit par immunisation **active**, ces deux modes d'immunisation pouvant être réalisés par des procédés naturels ou artificiels.

3. IMMUNISATION PASSIVE :

L'immunité peut être obtenue sans que le système immunitaire ne soit stimulé par un antigène. Cette condition est remplie par le transfert de sérum ou d'immunoglobulines d'un individu immunisé à un individu non immunisé. De la même façon, des cellules immunocompétentes d'un sujet immunisé peuvent être utilisées.

3.1 IMMUNISATION PASSIVE NATURELLE :

L'immunité est transférée de la mère au fœtus (transport d'IgG à travers le placenta) ou au nourrisson (transfert d'IgA sécrétoire dans le colostrum).

3.2 IMMUNISATION PASSIVE ARTIFICIELLEMENT ACQUISE :

L'immunité peut être artificiellement transférée en injectant des gammaglobulines provenant d'individus ou d'animaux immunisés. Le transfert passif d'immunité grâce à des immunoglobulines est réalisé dans de nombreuses situations d'in-

fections aiguës (tétanos, diphtérie, rougeole, rage, etc.) d'envenimations (reptiles, insectes, botulisme) et comme mesure prophylactique (hypogammaglobulinémie).

L'utilisation d'immunoglobulines d'origine humaine est préférable bien que des anticorps spécifiques obtenus dans d'autres espèces (cheval par ex.) sont efficaces et utilisés dans certains cas (tétanos, diphtérie, gangrène gazeuse). Cette forme d'immunisation par des immunoglobulines hétérologues produit une protection immédiate, mais de durée limitée et expose aussi à des risques (maladie sérique, accidents anaphylactiques). L'immunisation par des immunoglobulines homologues expose au risque de transmission de virus (HIV).

Le transfert passif d'immunité à médiation cellulaire (par des cellules) peut être réalisé dans certaines pathologies (cancers, déficits immunitaires). Ceci requiert de trouver un donneur histocompatible et expose aux réactions de greffe versus l'hôte (GVH).

4. IMMUNISATION ACTIVE :

Elle correspond à l'immunité en réponse à une exposition à l'antigène.

4.1 IMMUNISATION ACTIVE ACQUISE NATURELLEMENT

L'exposition à divers agents pathogènes s'accompagne de manifestations cliniques qui aboutissent à une réponse immune protectrice contre ces agents infectieux.

4.2 IMMUNITÉ ACQUISE DE FAÇON ARTIFICIELLE

L'immunisation peut être induite par le biais de l'injection de pathogènes vivants ou tués ou par l'injection de certains de leurs composants. Les vaccins utilisés pour l'immunisation active consistent en des microorganismes vivants (atténués), des microorganismes entiers tués, des constituants microbiens ou des toxines inactivées (Tableau 1).

Les exigences vis-à-vis des vaccins sont élevées : l'immunisation doit produire une protection durable (plusieurs années ou toute la vie) chez le receveur avec des effets indésirables et des complications minimales. Les coûts de production doivent être réduits, mais la disponibilité et la stabilité du vaccin doivent être élevées afin d'immuniser une grande partie de la population. Les indications des vaccinations dépendent de la situation épidémiologique et des objectifs ciblés : protection individuelle, protection focale (herd immunity) où l'immunisation d'une partie de la population empêche les endémies à certains pathogènes ou élimination du pathogène (cas de la variole).

4.2.1. L'EFFICACITÉ D'UNE VACCINATION EST TRIBUTAIRE DE PLUSIEURS PARAMÈTRES :

- L'antigène vaccinal doit être capable d'induire une réponse immune qui permet l'élimination de l'agent infectieux : La fabrication d'un vaccin est conditionnée par l'existence ou non d'épitopes du microorganisme facilement accessibles aux effecteurs du système immunitaire et induisant une immunité protectrice.
- L'agent infectieux doit être antigéniquement stable : l'exemple type est le virus de la grippe dont les mutations régulières imposent la recombinaison du vaccin chaque année.
- La voie d'administration : Une administration muqueuse induit la production d'IgA sécrétoires utiles pour bloquer les infections par voie muqueuse (ex anti-polio oral). Une injection intradermique du vaccin aboutira à une réponse à médiation cellulaire du type hypersensibilité retardée (BCG).
- Les caractéristiques de la personne vaccinée : La restriction HLA pour la reconnaissance de l'antigène peut expliquer que certains individus reconnaîtront mal un antigène vaccinal et seront de mauvais répondeurs au vaccin. Enfin d'autres paramètres sont à prendre en considération comme l'âge (les personnes âgées ont une réponse immune plus faible) ou l'immunosuppression (cancer, insuffisance rénale chronique...).
- D'autre part, **le risque vaccinal** soulève des problèmes d'ordre éthique totalement différents du risque thérapeutique dans la mesure où la vaccination est pratiquée sur des sujets sains. En effet, un traitement entraînant 1% d'accidents graves est jugé parfaitement acceptable alors qu'un décès ou un handicap définitif chez un sujet vacciné sur 104 ou 105 n'est pas admis. Le vaccin est donc astreint à un niveau de sécurité de loin plus élevé que le médicament.

4.2.2. VACCINS VIVANTS :

Ils sont utilisés pour l'immunisation à l'égard d'un certain nombre d'infections virales. Des exemples en sont les vaccins contre la rougeole, la rubéole, les oreillons et la varicelle. Un vaccin vivant est le BCG (bacille de Calmette et Guérin) qui est une souche de mycobactérium bovis, utilisée pour l'immunisation contre la tuberculose.

Les vaccins vivants produisent normalement des infections limitées sans expression clinique et qui aboutissent à une immunité à médiation cellulaire (efficace contre les microorganismes à développement intracellulaire) et à médiation humorale.

Toutefois, le risque majeur avec ces formes vaccinales est d'induire un tableau grave chez les sujets immunodéficients.

4.2.3. VACCINS TUÉS

Ce sont des microorganismes entiers inactivés par la chaleur ou par des traitements chimiques ou par irradiation par des UV. Plusieurs vaccins tués bactériens et viraux sont disponibles. Certains sont utilisés dans le but d'immuniser des sujets à risque (grippe, hépatite A) alors que d'autres sont destinés à la vaccination de voyageurs ayant des itinéraires dans différents pays (choléra, typhoïde).

4.2.4. FRACTIONS VACCINALES

Certains vaccins sont constitués de composants d'agents pathogènes, généralement des protéines ou des polysaccharides. Les polysaccharides sont habituellement des antigènes T-indépendants et induisent des réponses IgM sans mémoire immunologique. De ce fait, ils doivent être rendus plus immunogéniques en étant conjugués avec des protéines porteuses capables de solliciter l'immunité thymodépendante (ex. pneumocoque, Haemophilus Influenza, méningocoque...).

Des vaccins contre l'hépatite B, la rage sont faits d'antigènes protéiques clonés sur des vecteurs appropriés (levures). Ces vaccins en sous-unités réduisent les risques infectieux et de toxicité.

Lorsque le pouvoir pathogène d'un microorganisme est représenté par une toxine, des formes modifiées de toxines, **anatoxines**, ayant gardé leur immunogénicité, mais ayant perdu leur effet délétère sont utilisées comme vaccins.

Les vaccins inactivés complets ou en sous-unités sont introduits par voie IM ou par voie S/C. Ils induisent une réponse immune à distance au niveau de la rate s'il s'agit d'antigènes solubles ou dans les ganglions drainant le site d'injection lorsque les antigènes sont particuliers. L'immunogénicité de ces vaccins est plus faible que celle des vaccins vivants, ce qui nécessite des injections répétées. Une primo-vaccination faite de 2 à 3 injections à 1 mois d'intervalle est nécessaire afin d'induire la réponse primaire. Des rappels permettent d'obtenir une réponse de type secondaire et d'assurer une bonne protection avec mémoire prolongée. L'adjonction d'un **adjuvant, l'hydroxyde d'aluminium** le plus souvent, renforce le pouvoir immunogène en majorant l'afflux de cellules inflammatoires et la production de cytokines sur le site d'injection. L'adjuvant a aussi comme effet de retarder l'élimination de l'antigène qui reste ainsi plus longtemps au contact des cellules présentatrices de l'antigène et des lymphocytes.

Les vaccins à virus inactivés ne peuvent pas infecter les cellules cibles de l'infection naturelle. Ils sont donc inaptes à fabriquer des protéines virales qui puissent être exposées à la surface de ces cellules avec les molécules de classe I du CMH. Ces vaccins viraux tués sont par conséquent incapables d'induire une réponse cellulaire cytotoxique

Tableau 1 :

	Vivants		inactivés	
		Agent microbien complet	Sous -unité protéique	Sous-unité polysaccharidique
Bactéries	BCG Typhoïde	Coqueluche leptospirose	Coqueluche acellulaire Diptérie Tétanos	Pneumocoque Méningocoque A+ C Typhoïde Vi Haemophilus Influenza b
Virus	Rougeole Oreillons Rubéole Varicelle Fièvre jaune Poliomyélite oral Rotavirus	Grippe Hépatite A Poliomyélite injectable Rage	Hépatite B	

4.2.5. NOUVEAUX VACCINS (FIGURE 1)

Certains pathogènes disposent de nombreuses stratégies pour échapper à la défense immunitaire de l'hôte, ce qui a rendu le développement de vaccins efficaces très ardu. Toutefois de nouvelles approches pour la vaccination sont à l'étude ces dernières années

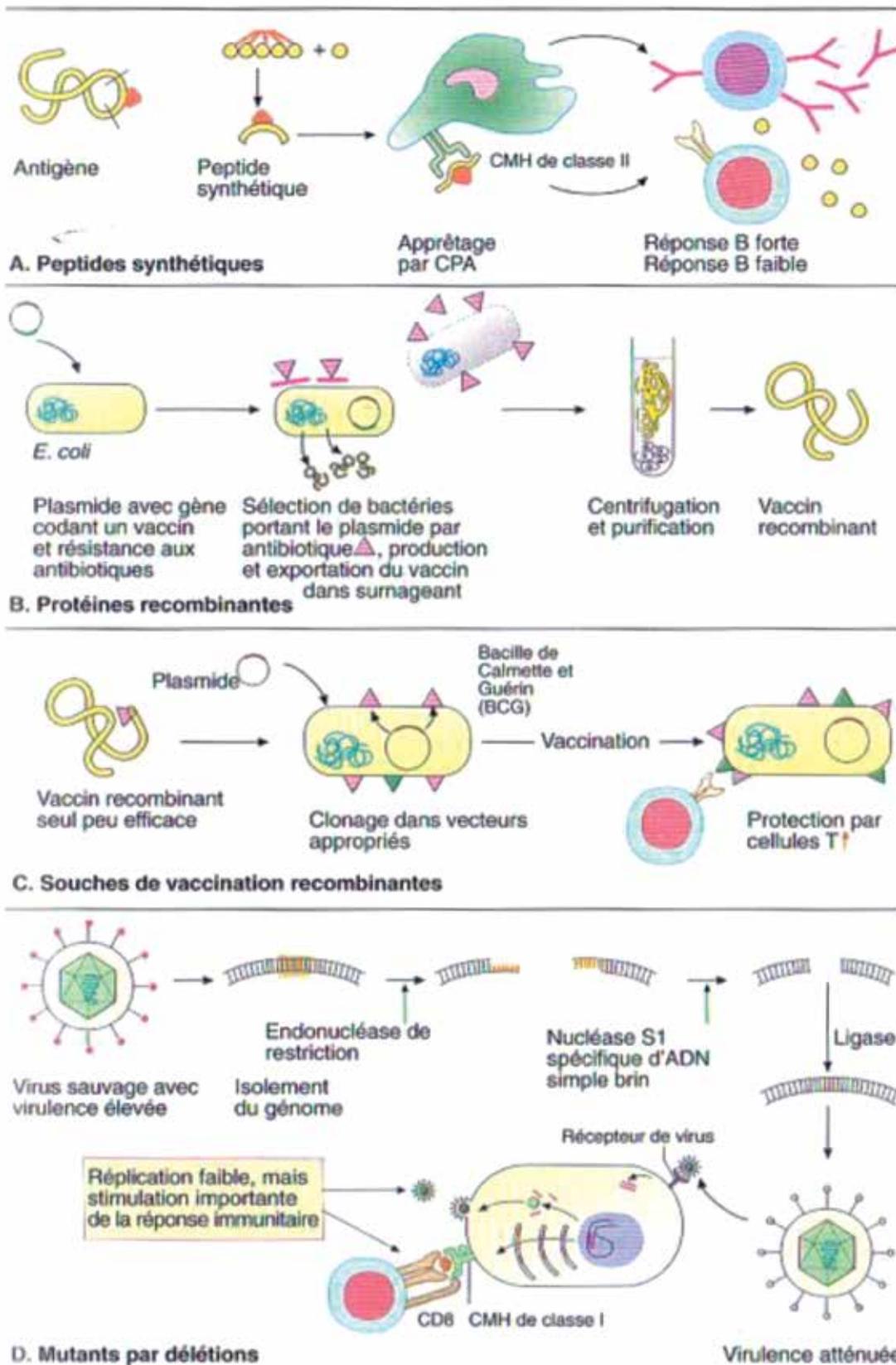
a. Peptides synthétiques

Un peptide correspond au seul épitope actif d'un antigène protecteur. D'autres parties de cet antigène, pouvant induire des réactions croisées avec des protéines de l'hôte, ayant des effets toxiques, sont absentes.

b. Protéines recombinantes

Les protéines recombinantes peuvent être produites en grande quantité. Leur production dépend d'un système d'expression approprié et de la possibilité de purifier le vaccin. Ces protéines sont dépourvues de composantes du pathogène représentant un risque d'effets secondaires.

Figure 1 : Nouveaux vaccins



c. Souches de vaccination recombinantes :

Si la protéine recombinante est incapable à elle seule d'induire une réponse immune, le gène correspondant peut être cloné dans un organisme porteur approprié (BCG par ex.). L'immunisation conjointe contre les antigènes du porteur et la protéine recombinante peut alors induire une immunité efficace.

d. Mutant par délétion

En déléant des gènes essentiels à la virulence et à la survie du pathogène, on rend le pathogène inoffensif. Toutefois, sa survie doit être suffisamment longue pour induire une réponse immune efficace.

e. ADN purifié

Les ADN utilisés comme vaccin correspondent à un gène codant un antigène du pathogène sous le contrôle d'un promoteur. Après son intégration dans le génome de l'hôte, l'ADN vaccinal est transcrit et l'antigène codé (s'il est précédé par un peptide signal) est synthétisé et exporté et peut induire une réponse B. Une partie de l'antigène produit est dégradée au sein de la cellule et présentée aux cellules T par les molécules du CMH I sur la membrane cellulaire. Néanmoins, la possibilité d'une transformation de l'ADN en une forme virulente, la persistance de l'ADN et sa possible répllication sont des questions débattues.

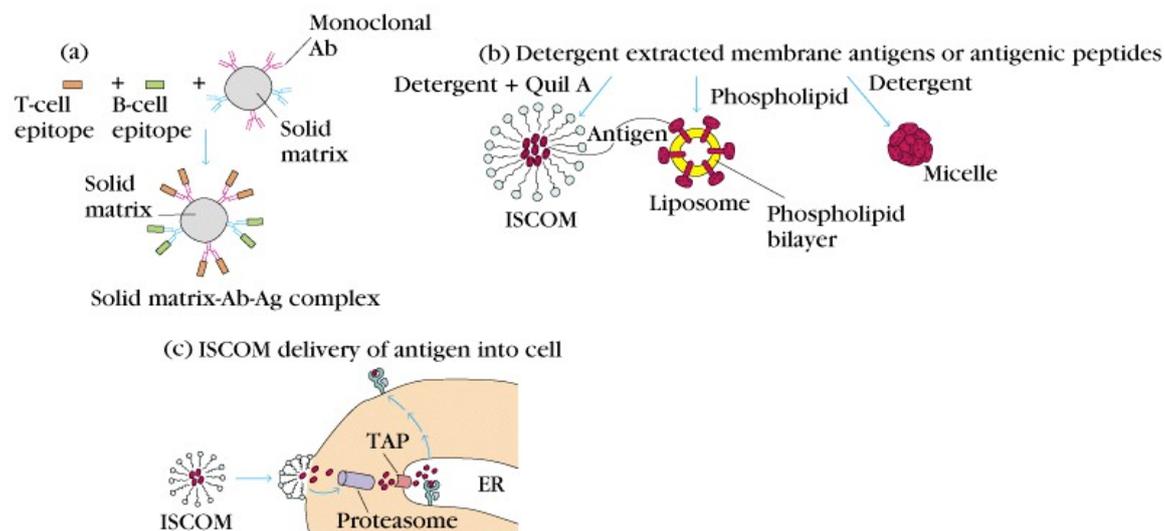
f. Sous-unités multivalentes

Un certain nombre de techniques sont en développement afin de créer des vaccins pouvant présenter des copies multiples d'un peptide donné ou un mélange de peptides au système immunitaire. Il est ainsi possible de préparer des complexes Ac-Ag où sont fixés sur des matrices solides particulières des anticorps monoclonaux saturés par l'antigène désiré.

Ces complexes sont utilisés comme vaccins et en fixant des anticorps monoclonaux différents sur la matrice, on peut créer un mélange de peptides ou de protéines constituant des épitopes immunodominants pour à la fois les cellules T et les cellules B.

Une autre façon de produire (figure 2) des vaccins multivalents est d'utiliser des détergents pour incorporer des protéines dans des micelles protéiques, dans des vésicules lipidiques (liposomes) ou dans des ISCOMs (immunostimulating complexes), ces derniers pouvant fusionner avec les membranes cellulaires et délivrer l'antigène à l'intérieur de la cellule où il pourra subir un apprêtement par la voie endogène et être présenté par les molécules du CMH de classe I.

Figure 2 : Vaccins multivalents



4.3. UTILISATION DES VACCINS EN DEHORS DES MALADIES INFECTIEUSES

Les perspectives d'utilisation thérapeutique de l'immunisation dépassent largement le cadre des maladies infectieuses. C'est ainsi que de nombreux travaux ont été consacrés au **contrôle de la fertilité** soit par immunisation contre des antigènes spécifiques des gamètes (par exemple les peptides de l'ovocyte, les enzymes de l'acrosome des spermatozoïdes) soit par l'induction d'anticorps contre l'extrémité C-terminale de la chaîne bêta de la gonadotrophine chorionique (HCG) pour empêcher la nidation. Ces méthodes ont en principe plusieurs avantages par rapport à la contraception hormonale (meilleure sécurité, coût plus faible), mais leur réversibilité est difficilement contrôlable.

EXPLORATION EN IMMUNOLOGIE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1- Définir l'affinité et l'avidité des anticorps
- 2- Décrire brièvement les différentes techniques immunologiques
- 3- Décrire les méthodes d'exploration de l'immunité humorale.
- 4- Préciser le principe de numération des lymphocytes T.
- 5- Décrire les méthodes d'exploration fonctionnelle lymphocytaire in vivo et in vitro.
- 6- Décrire les méthodes d'exploration des polynucléaires.
- 7- Indiquer les méthodes d'exploration des cytokines.
- 8- Préciser les méthodes de détection des complexes immuns et des cryoglobulines.

1. TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES

La réaction Ag-Ac est à la base de plusieurs techniques immunologiques appliquées à 2 grands types d'indications :

- Le premier correspond à la détection et au dosage des antigènes par des méthodes diverses où l'utilisation de solutions d'étalonnage de l'antigène pur, de concentration connue, permet d'exprimer les résultats en unités de masse (mg/l par exemple).
- Le deuxième concerne la détection et le titrage des anticorps vis-à-vis d'un antigène ou d'un mélange d'antigènes. Dans ce cas, l'hétérogénéité de la réponse anticorps ne permet pas d'exprimer les résultats en unités de masse. Les résultats sont soit qualitatifs (**positifs** ou **négatifs**) soit semi-quantitatifs. Dans ce dernier cas, on détermine, par des dilutions croissantes du sérum, **le titre d'anticorps** qui correspond à l'inverse de la dernière dilution donnant une réaction positive.

1.1. LA REACTION ANTIGENE-ANTICORPS (AG-AC)

La réaction antigène-anticorps (Ag-Ac) est due à l'interaction entre l'épitope de l'antigène et le paratope de l'anticorps. Elle fait intervenir 4 types de liaisons non covalentes : des liaisons hydrogène, des liaisons électrostatiques, des forces de Van der Waals et des liaisons hydrophobes.

1.1.1. AFFINITÉ :

La réaction Ag-Ac est réversible et l'application de la loi d'action de masse à l'équilibre permet la mesure de la constante d'association :

$$K_a = \frac{[Ac-Ag]}{[Ac] \cdot [Ag]}$$

Cette propriété permet de définir l'affinité d'un anticorps pour un antigène monovalent. Les valeurs sont de l'ordre de 10^6 à 10^{10} (faible affinité) et de 10^{10} à 10^{13} (haute affinité).

1.1.2. AVIDITÉ :

La majorité des antigènes sont formés de plusieurs épitopes et dans ce cas, on ne peut définir une constante d'association. On parle alors d'avidité d'un antiserum, constitué d'un mélange d'anticorps d'affinités différentes et de spécificités épitopiques diverses. L'avidité d'un antiserum dépend de l'affinité des anticorps pour chaque épitope de l'antigène. Elle augmente avec le nombre de liaisons de l'anticorps sur les différents épitopes du même antigène.

1.2. LES DIFFÉRENTES TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES :

1.2.1 PRÉCIPITATION QUANTITATIVE EN MILIEU LIQUIDE :

Le phénomène d'immunoprécipitation n'obéit pas aux lois de la stœchiométrie des réactions chimiques ordinaires, mais est modulé par les proportions respectives de l'antigène et de l'anticorps et par les paramètres physico-chimiques du milieu de réaction : pH, température, force ionique, composition saline, volume de réaction, etc. Son mécanisme est en réalité très complexe.

L'analyse des courbes de précipitation montre que si l'on mélange dans une série de tubes des quantités **croissantes** d'un antigène protéique à une quantité **constante** d'antisérum, on constate qu'aucun précipité ne se forme dans les premiers tubes de la réaction, un trouble apparaît dans les tubes suivants, augmente progressivement vers un maximum pour diminuer ensuite. L'analyse du surnageant y décèle la présence d'anticorps libres dans les premiers tubes (**zone d'excès d'anticorps**). Pour une proportion optimale d'antigène et d'anticorps, la quantité de précipité est maximale et on ne décèle plus ni l'antigène ni l'anticorps libres dans le surnageant (**zone d'équivalence**). Si l'on continue à rajouter de l'antigène, la quantité obtenue de précipité diminue et les complexes immuns préformés se redissolvent et l'on détecte de l'antigène libre dans le surnageant (zone d'excès d'antigène).

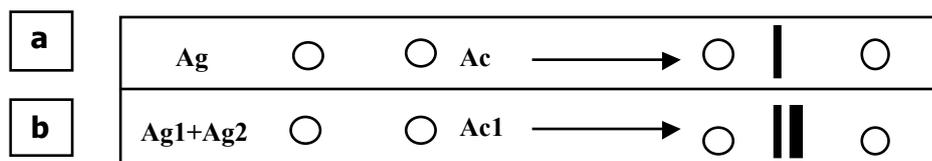
Cette précipitation en milieu liquide est à la base de l'**immunonéphélométrie laser** qui utilise la diffraction d'un rayon laser par les complexes immuns en milieu liquide. Cette méthode nécessite d'effectuer une courbe étalon avec des solutions d'antigène dont les concentrations sont connues. La valeur de l'échantillon étudié est déduite de cette courbe. Elle est utilisée pour le dosage des protéines sériques : immunoglobulines, fractions C3, C4 du complément et les protéines de l'inflammation. Elle est peu sensible.

1.2.2. PRÉCIPITATION EN MILIEU SOLIDE :

Les réactions de précipitation en milieu solide n'ont lieu que pour les antigènes solubles et requièrent des anticorps précipitants (IgM, IgG). Ces réactions sont peu sensibles et sont très influencées par les variations physico-chimiques (pH, température, agitation...). Ces techniques reposent sur la diffusion des anticorps et des antigènes déposés ou incorporés dans des gels. Cette diffusion est matérialisée par des lignes ou des surfaces de précipitation qui correspondent à la formation de complexes immuns insolubles au point où les concentrations des anticorps et des antigènes diffusants atteignent une zone d'équivalence.

a. Immunodiffusion double ou réaction d'Ouchterlony :

La **diffusion** des antigènes et des anticorps s'effectue à l'intérieur d'un gel à partir de puits percés à distance les uns des autres dans une plaque de gel. Quand les antigènes et les anticorps se rencontrent, ils se combinent et précipitent au point d'équivalence en formant une ligne de précipitation (**a**). Si l'antigène est constitué d'un mélange antigène 1 (Ag1) et antigène 2 (Ag2), reconnu par le même antisérum (Ac1), deux lignes de précipitation se forment indépendamment (**b**).



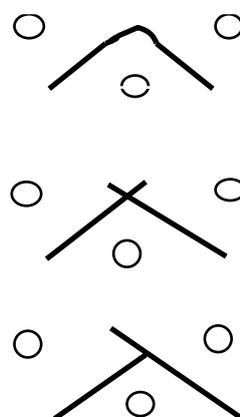
Cette méthode est utilisée pour l'analyse **qualitative** d'un mélange antigénique et l'identification de ses constituants. Trois types de réactions peuvent résulter de la confrontation des antigènes et des antisérums (Figure 1).

Figure 1 : Réaction d'Ouchterlony (double immunodiffusion en gel)

Identité complète : les arcs de précipitation formés par l'Ac et les deux Ag sont en continuité. L'Ac reconnaît des épitopes partagés par les deux Ag 1 et 2 .

Pas d'identité : l'Ac reconnaît des épitopes différents sur les deux Ag.

Identité partielle : un arc de précipitation continu indiquant une identité pour un épitope, accompagné d'un éperon où l'épitope 2 a réagit avec l'anticorps indiquant par là une identité partielle entre les Ag.

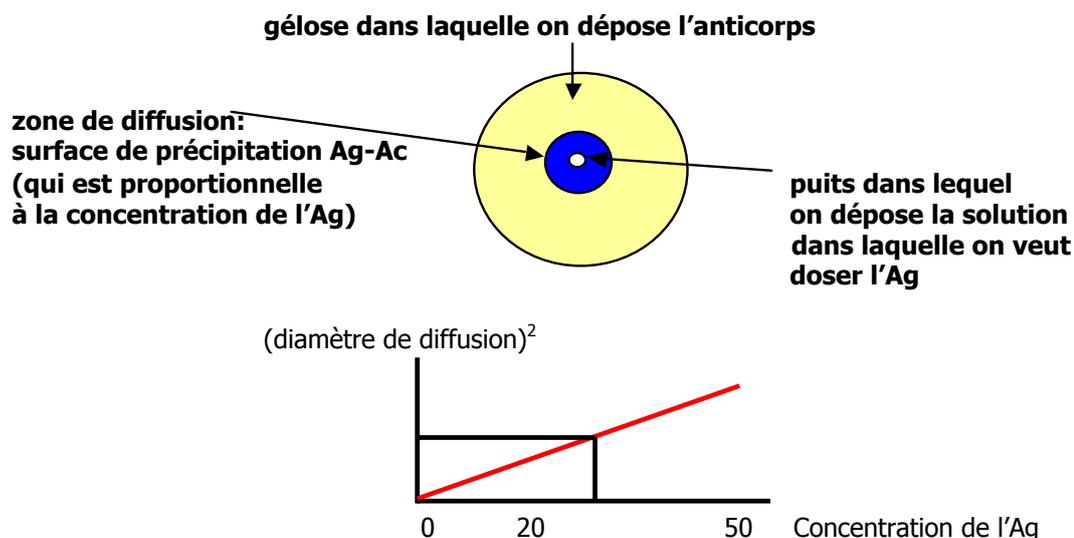


b. Immunodiffusion radiale (méthode de Mancini) :

Cette technique est employée pour le dosage **quantitatif** des antigènes. L'antisérum spécifique de l'antigène est incorporé à la gélose de façon homogène. Des puits sont alors creusés où l'on dépose la solution contenant l'antigène que l'on veut doser. La diffusion de l'antigène dans la gélose contenant l'antisérum crée une zone circulaire ou anneau de précipitation

dont la surface (ou le carré du diamètre) est proportionnelle à la concentration de l'antigène. Le dosage se fait par comparaison avec une courbe étalon établie avec des concentrations connues de l'antigène (Figure 2).

Figure 2 : Immunodiffusion radiale

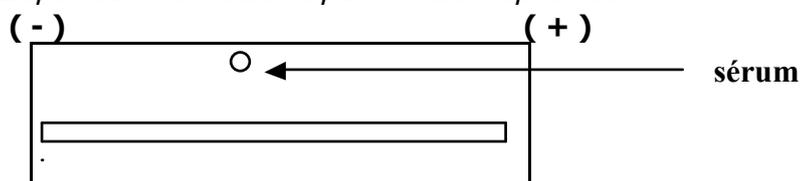


c. Immunoélectrophorèse (IEP) :

Cette technique combine une électrophorèse des antigènes protéiques suivie d'une diffusion de ces antigènes contre un antisérum déposé dans une rigole parallèle à l'axe du champ électrique. La réaction de chaque protéine avec son anticorps se traduit par l'apparition d'une ligne de précipitation (Figure 3).

Cette technique est d'un grand appoint diagnostique dans un certain nombre d'affections (déficits immunitaires congénitaux ou acquis, hypergammaglobulinémies au cours des myélomes et des états inflammatoires chroniques).

Dépôt du sérum dans le puits et électrophorèse



Dépôt de l'anti-sérum dans la rigole et diffusion.

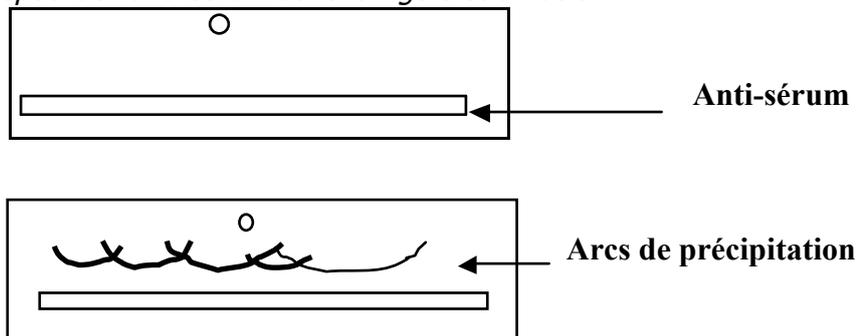


Figure3 :

Immunoélectrophorèse. arcs de précipitation (Ag- Ac) révélés par un colorant des protéines. Chaque arc correspond au dépôt de complexes immuns formés par un antigène et l'anticorps spécifique de cet antigène déposé dans la rigole.

d. Immunofixation:

Il s'agit d'une technique comparable à l'immunoélectrophorèse, mais qui présente l'avantage d'être plus sensible et plus rapide.

Le milieu contenant l'antigène (sérum) est déposé dans des puits au niveau de différentes pistes. Après électrophorèse des antigènes, l'incubation des pistes avec différents antisérums permet la précipitation in situ des complexes Ac-Ag. Après lavages, les complexes précipités sont révélés par un colorant. Cette technique trouve son indication principale dans le diagnostic et la caractérisation des immunoglobulines monoclonales.

1.2.3. LES RÉACTIONS D'AGGLUTINATION :

Elle met en présence des antigènes présents sur des éléments figurés (cellules ou particules sensibilisées) en suspension et un antisérum contenant des anticorps agglutinants. L'agglutination est un phénomène complexe mettant en jeu des modifications de charge électrique à la surface de la particule. Il existe deux types d'agglutination :

a. Réaction d'agglutination directe :

L'addition d'un anticorps spécifique à une suspension d'éléments figurés ayant les propriétés antigéniques correspondantes provoque l'apparition d'agglutinats.

Cette réaction peut être utilisée dans deux situations.

- L'antigène étant connu, on peut rechercher dans un sérum donné la présence d'anticorps spécifique.
- Réciproquement, on peut déterminer la nature d'un antigène inconnu au moyen de différents antisérums. Ces réactions sont à la base de nombreuses techniques sérologiques utilisées à des fins de diagnostic (groupage sanguin, typage sérologique de germes isolés à partir d'un prélèvement...).

b. Réaction d'agglutination passive :

Le principe consiste à fixer un antigène soluble sur un support figuré inerte, n'intervenant pas directement dans la réaction. Les supports les plus utilisés sont les globules rouges et les billes de latex. La présence des anticorps sera décelée par agglutination de particules sensibilisées. Ces techniques trouvent leur application dans plusieurs domaines :) test de Coombs direct et indirect, recherche de facteur rhumatoïde (Test au latex et réaction de Waaler-Rose).

1.2.4. IMMUNOFLUORESCENCE

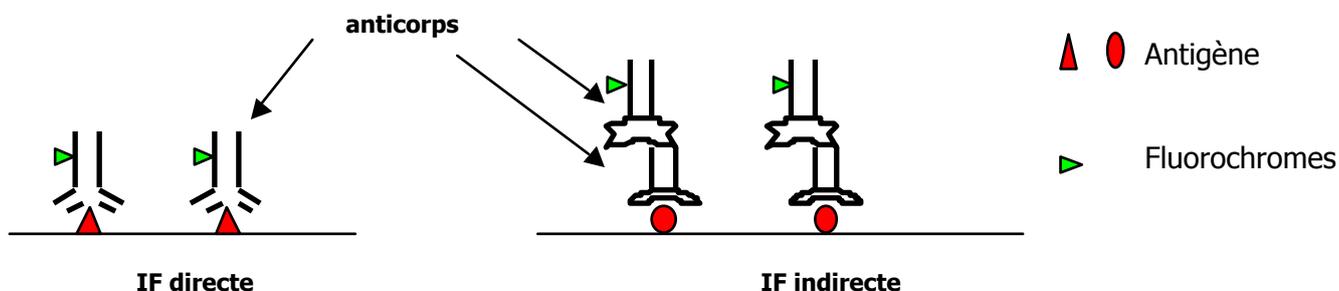
Les anticorps sont conjugués à des composants fluorochromes. Plusieurs variantes sont utilisées selon le but recherché. On distingue :

- L'immunofluorescence directe (IFD) : Le tissu, découpé en fines lamelles, ou la suspension cellulaire sont incubés avec un anticorps marqué par un fluorochrome et spécifique de l'antigène recherché. Un microscope à fluorescence est alors utilisé pour localiser l'antigène en question par l'intermédiaire de la fluorescence émise par l'anticorps marqué et fixé à cet antigène. Une variante de cette technique appelée immunohistochimie utilise des anticorps « révélateurs » marqués par des enzymes (peroxydase, phosphatase alcaline, etc.).

Cette technique est utilisée dans le diagnostic d'infections bactériennes (sérotypage des bactéries) et surtout dans l'identification et la numération des cellules du système immunitaire par l'intermédiaire de leurs CD de surface. Actuellement, avec l'utilisation d'un panel d'anticorps monoclonaux, l'identification est réalisée par un automate appelé cytomètre à flux. L'immunofluorescence est également utilisée pour la caractérisation des antigènes tissulaires.

- L'immunofluorescence indirecte (IFI) : en immunologie, elle trouve son application dans recherche des autoanticorps, d'un grand apport pour le diagnostic des maladies auto-immunes. De nombreux autoanticorps reconnaissent des antigènes cellulaires ou encore des antigènes tissulaires spécifiques ou non d'organe. L'IFI permet aisément de les déceler avec un triple avantage : facilité d'exécution, sensibilité et possibilité de déceler plusieurs anticorps à la fois. L'IF indirecte, sur frottis cellulaires ou sur coupes d'organe, reste actuellement la méthode de routine la plus utilisée pour le **dépistage** de nombreux anticorps. Elle permet la détection d'anticorps circulants, leur évaluation éventuelle ainsi que la détermination de leur classe.

Le titre en anticorps est déterminé en recherchant la dilution limite du sérum étudié à partir de laquelle on observe encore une fluorescence. La connaissance de ce titre et la classe des immunoglobulines en cause permettent de connaître le stade de la maladie lors de son dépistage et de suivre son évolution au cours du traitement.

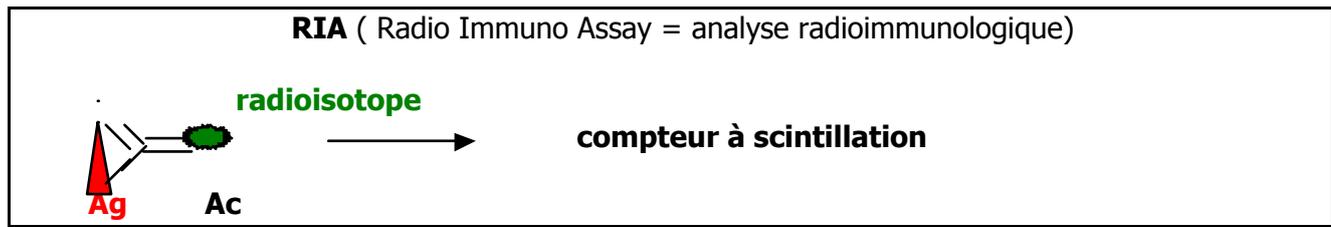


1.2.5. RADIO-IMMUNOLOGIE

L'introduction d'un signal radioactif très sensible constitue l'originalité fondamentale de la radio-immunologie (RI). Les isotopes les plus utilisés en biologie médicale sont :

- L'iode 125, qui constitue le marqueur de choix de la plupart des protéines.
- 3 H (tritium) marqueur de choix pour les stéroïdes et certains médicaments.

Les autres isotopes ^{32}P , ^{35}S , ^{14}C , ^{57}Co , ^{75}Se sont des marqueurs utilisés pour des circonstances précises, mais limitées.



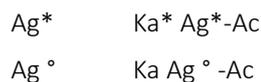
Deux grands groupes de méthodes (analyse par compétition et immunoradiométrie) se sont développés successivement et ont donné naissance à de nombreuses variantes.

a. Analyse par compétition :

Cette technique repose à la fois sur la loi d'action de masse et sur la dilution isotopique entre l'antigène non marqué ou froid (Ag°) et l'antigène marqué (Ag^*). Elle est encore appelée dosage radio-immunologique (DRI) ou radioimmunoanalyse (RIA). Le principe repose sur l'introduction :

- dans le milieu, des traceurs constitués de l' Ag^* en quantité fixe et très faible, pouvant fixer environ 60% de l'anticorps.
- du liquide biologique à examiner renfermant la substance à doser (identique au traceur) sous forme d' Ag° présent en quantité inconnue.
- et de l'anticorps en quantité constante.

La réaction globale atteindra son équilibre lorsque les deux combinaisons (réversibles et ayant chacune leur constante d'association propre) se seront produites conformément à la loi d'action de masse :



L' Ag^* est dilué dans l' Ag° réalisant ainsi une dilution isotopique. Les molécules d' Ag° et d' Ag^* vont entrer en compétition pour se combiner à l' Ac , intentionnellement mis en quantité limitée. Il y aura d'autant moins de molécules marquées combinées à l' Ac que l' Ag° froid à doser sera abondant. L'évaluation de la réaction s'obtient par le comptage du signal émis par le traceur, soit dans la phase libre, soit au sein du complexe $\text{Ag}-\text{Ac}$ formé. Dans les deux cas, il sera nécessaire d'effectuer la séparation des molécules libres de celles engagées dans la combinaison avec l' Ac , la quantité totale de traceur introduite dans le système étant par ailleurs connue. Différents protocoles ont été établis :

- **En phase liquide** : cette méthode appelée dosage radioimmunologique ou radioimmunoassay (RIA) est dans la majorité des cas effectuée pour le **dosage d'un antigène** (test de Farr appliqué au dosage des Ac anti-ADN natif).
- **En phase solide** : l'exemple en est le radioimmuno-sorbent test =RIST, qui permet le dosage des IgE totales, IgE à doser et IgE* entrant en compétition vis-à-vis d' Ac anti-IgE fixés sur un support. Un simple lavage suffit à séparer phase libre et liée du marqueur. La radioactivité de la phase solide est comptée. Une courbe étalon, établie avec une solution d'IgE de référence, est indispensable.

b. Immuno-radiométrie :

Dans cette méthode se sont généralement les molécules d'anticorps qui sont radiomarquées. La réaction s'effectue en présence d'un excès d'anticorps ; on distingue généralement deux types de techniques :

- soit utilisant l'antigène comme immunoabsorbent.
- Soit basées sur un protocole dit « sandwich » ou à « deux sites ». Elle suppose la présence d'au moins 2 épitopes sur la molécule antigénique que l'on veut doser. Ces déterminants peuvent être différents ou identiques (on parle alors de sites répétitifs).

En phase solide, ce protocole met à profit l'un des supports (disques de papier, cellulose, bille de sephadex, plastique, etc.). Le plus souvent, un anticorps froid (plus rarement un antigène) fixé sur une phase solide qui crée la formation d'une première combinaison $\text{Ag}-\text{Ac}$ insoluble. Un deuxième anticorps marqué agit ensuite sur l'antigène. De nombreux dosages (IgE totales spécifiques, certains marqueurs de tumeurs) ainsi que la mise en évidence de marqueurs viraux (tels que l' Ag HBs, anti- HBs etc.) ont ainsi été développés.

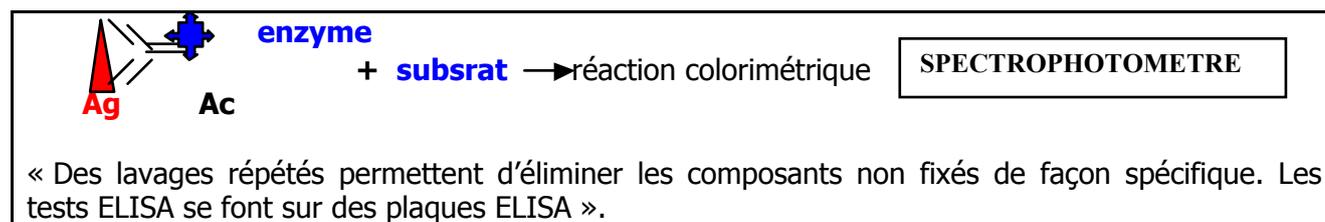
1.2.6. IMMUNO-ENZYMOLOGIE :

Les méthodes immunoenzymatiques reposent sur l'utilisation d'un marqueur enzymatique pour déceler une réaction spécifique $\text{Ag}-\text{Ac}$. Le marqueur enzymatique peut être porté par l'antigène ou l'anticorps. La réaction est révélée par l'utilisation d'un substrat spécifique de l'enzyme de marquage qui donne une coloration quantifiable par spectrophotométrie.

Il existe de nombreux supports capables de fixer des antigènes ou des anticorps, soit par simple adsorption passive, soit par liaison covalente. Du fait de sa grande simplicité, l'immobilisation des macromolécules par adsorption passive sur une surface de plastique est le procédé le plus largement employé pour les dosages immunoenzymologiques (polystyrène,

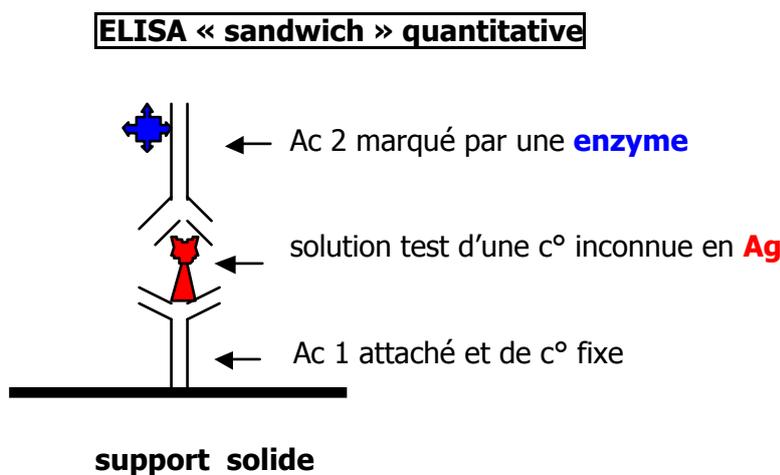
polycarbonate, latex qui peuvent se présenter sous forme de billes, de disques, de plaques de tubes ou de microplaques). Après chaque étape, des lavages éliminent les réactifs qui n'ont pas réagi.

ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)



ELISA « sandwich » :

La méthode « sandwich » utilise deux anticorps qui reconnaissent des épitopes différents de l'antigène dont on veut détecter la présence.



1.2.7. IMMUNO-EMPREINTE OU IMMUNOBLOT (WESTERN BLOTTING) :

Cette technique permet la visualisation d'antigènes préalablement séparés par électrophorèse grâce à leur réaction avec les anticorps correspondants.

Le mélange protéique antigénique est tout d'abord soumis à une séparation analytique par électrophorèse en gel de polyacrylamide en présence de SDS (Sulfate Dodecyl Sodium) de telle sorte que la position finale des différentes protéines dans le gel soit fonction de leur poids moléculaire. La gamme des protéines séparées est ensuite transférée du gel vers un support membranaire (nitrocellulose) par capillarité (blotting) ou sous l'action d'un champ électrique. Après incubation avec l'anticorps spécifique, le complexe Ag-Ac est révélé par un sérum anti-immunoglobuline marqué par une enzyme. Que l'on ait recours à des anticorps monoclonaux ou polyclonaux, l'immuno-empreinte peut être aussi utilisée pour étudier la spécificité d'un anticorps. Appliquée aux maladies auto-immunes, elle permet une analyse fine de la nature des autoantigènes cibles.

2. EXPLORATION DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

Différentes anomalies du système immunitaire, évoquées sur un ensemble d'investigations cliniques ou paracliniques simples (NFS, radio du thorax, troubles infectieux sévères ou récidivants...) sont définies par des tests de laboratoires qui affirment le diagnostic dans la quasi-totalité des cas. L'exploration du système immunitaire implique l'étude des différents facteurs de l'immunité spécifique et non spécifique. Cette exploration peut être quantitative ou qualitative.

2.1. EXPLORATION DE L'IMMUNITÉ SPÉCIFIQUE :

2.1.1. EXPLORATION DE L'IMMUNITÉ À MÉDIATION HUMORALE :

Elle s'intéresse à l'étude des immunoglobulines et des cellules qui les synthétisent (lymphocytes B et plasmocytes). Le prélèvement pour l'exploration de l'immunité humorale sérique doit être effectué sur tube sec, l'analyse des protéines sériques se faisant sur sérum. L'exploration du lymphocyte B circulant nécessite un prélèvement sur anticoagulant suivi d'une séparation des lymphocytes.

a. Électrophorèse des protéides

L'électrophorèse et l'immunoélectrophorèse sont très utiles et même indispensables pour le diagnostic d'un certain nombre de pathologies. L'analyse immuno-électrophorétique des protéines sériques est un moyen semi-quantitatif qui permet d'apprécier les différentes classes d'immunoglobulines G, A, M et de préciser le type de chaînes légères. Elle est basée sur la comparaison des arcs de précipitation formés, d'une part par les immunoglobulines du sérum à tester et les antisérums spécifiques anti-IgA, IgG et IgM, et d'autre part, par des standards de référence.

b. Dosage des immunoglobulines :

Le dosage immunochimique des immunoglobulines IgG, IgA, IgM donne le taux de chaque immunoglobuline en gramme par litre de sérum. En raison de sa simplicité, la méthode de Mancini est entrée dans la pratique courante du dosage des immunoglobulines IgG, A, M dans le sérum et autres liquides biologiques (IgA dans les sécrétions).

Le dosage des **IgE** sériques est réalisé par **ELISA**. Les taux sont interprétés en fonction de l'âge. On peut observer une augmentation importante du taux des IgE sériques au cours de certaines parasitoses chez des sujets non allergiques. (voir Ch. Hypersensibilité).

c. Numération des lymphocytes B

L'étude des cellules de l'immunité humorale est effectuée après une NFS (cf. plus loin) et consiste à pratiquer une **numération des lymphocytes B du sang** et une étude sur les **biopsies du tissu lymphoïde**. Les cellules B constituent 15 à 25% des lymphocytes sanguins, et sont identifiées par leurs immunoglobulines membranaires mises en évidence par une réaction d'immunofluorescence directe. Les valeurs sont habituellement exprimées en % de lymphocytes circulants ou en nombre absolu/mm³. Les biopsies du tissu lymphoïde peuvent être traitées à l'aide d'immuns-sérums fluorescents. On détecte ainsi la présence de plasmocytes sécréteurs d'IgA, G, M ou E.

2.1.2. EXPLORATION DE L'IMMUNITÉ À MÉDIATION CELLULAIRE :

a. Numération des lymphocytes :

La numération formule sanguine (NFS) permet d'apprécier le nombre absolu des lymphocytes. Il existe une lymphopénie lorsque ce chiffre est inférieur à 1000 éléments/mm³. Le nombre de lymphocytes présents dans les organes lymphoïdes périphériques peut être apprécié par biopsie ganglionnaire, amygdalienne, rectale et par l'étude des zones thymo-dépendantes de ces organes.

Après séparation des lymphocytes sanguins, la détermination du pourcentage des lymphocytes T est effectuée en immunofluorescence par l'utilisation d'anticorps monoclonaux (anti-CD3) dirigés contre les lymphocytes T humains. Le pourcentage normal des lymphocytes T se situe entre 60% et 80% des cellules lymphocytaires. Outre, les Anticorps monoclonaux reconnaissant toutes les cellules T matures (CD3), il existe des anticorps spécifiques des sous-populations de lymphocytes TCD4 pour les LT auxiliaires et CD8 pour les LT cytotoxiques. Le rapport des lymphocytes CD4/CD8 déterminé par ces anticorps est entre 1,5 et 2. Ce rapport est légèrement plus élevé chez le nouveau-né, et atteint les valeurs de l'adulte en quelques mois.

b. Exploration fonctionnelle :

La fonction des lymphocytes (qui n'est pas nécessairement directement liée au nombre) peut être évaluée in vivo par les intradermo-réactions (IDR) et in vitro par la réponse aux mitogènes spécifiques et à l'anticorps anti-CD3, par la réaction lymphocytaire mixte et la génération de cellules cytotoxiques.

- *in vivo* :

- **l'IDR à la tuberculine** : est un test cutané destiné à évaluer l'immunité cellulaire par une réaction d'hypersensibilité retardée après injection intradermique de tuberculine, de préférence à la face antérieure de l'avant-bras. La lecture se fait à J3 en appréciant l'induration par la palpation et en mesurant son étendue.

- **Le multitest IMC** : Test cutané évaluant la même réponse cellulaire, mais après injection intradermique simultanée de 7 antigènes différents (tétanos, diphtérie, streptocoque, Tuberculine, candida, trichophyton et proteus).

- *in vitro*

- **Le test de transformation lymphoblastique (TTL)** : Certains lymphocytes sanguins sont capables de se transformer en cellules d'aspect lymphoblastique en présence d'un mitogène. Il est important de noter que le test de transformation lymphoblastique teste la mémoire des cellules T pour un antigène, sans pour autant préjuger de l'immunité protectrice de l'hôte.

Le sang prélevé sur anticoagulant est dilué en solution isotonique puis déposé et centrifugé sur une suspension de Ficoll-isopaque : ce traitement sépare, par gradient de densité, les lymphocytes des autres cellules et des constituants plasmatiques. Les lymphocytes sont lavés et déposés dans un milieu de culture en présence de différentes concentrations de mitogènes (phytohématagglutinine, PWM, concanavaline A, lipopolysaccharide), d'antigènes spécifiques (tuberculine, anatoxine tétanique, candidine) ou d'anticorps anti-CD3 sous atmosphère enrichie en CO₂ à 37 °C pendant quelques jours. Les lymphocytes sensibilisés se transforment en cellules blastiques. La transformation s'accompagne d'une syn-

thèse d'ADN, évaluée par l'incorporation de thymidine tritiée (H3-Thymidine) ajoutée 16 heures avant la fin de la culture (la thymidine est un nucléotide utilisé par les cellules pour la synthèse d'ADN). Les cellules sont recueillies et leur radioactivité est mesurée dans un compteur à scintillation. Une radioactivité élevée indique que les cellules ont subi une transformation lymphoblastique qui traduit une réponse satisfaisante au stimulus utilisé. (Valeurs de référence : 50 à 80% des lymphocytes se transforment lors du test à la PHA. En présence de PWM : 20 à 30% des lymphocytes se transforment).

- **Culture mixte lymphocytaire (CML)** : (Voir Ch. HLA)

- **Test de cytotoxicité lymphocytaire (CTL)** : Les propriétés cytotoxiques des lymphocytes T CD8, classiquement restreints par les molécules HLA de classe I, peuvent être mises en évidence en les mettant en présence de cellules cibles spécifiques marquées au chrome 51 radioactif (51 Cr). La cytotoxicité est ainsi évaluée par l'importance de relargage du chrome radioactif par les cellules cibles lysées.

2.2. EXPLORATION DE L'IMMUNITÉ NON SPÉCIFIQUE :

2.2.1. EXPLORATION DU POLYNUCLÉAIRE :

a. Numération :

La NFS permet d'apprécier le nombre absolu de polynucléaires.

b. Étude fonctionnelle :

* *Activité chimiotactique* :

Elle peut être mesurée in vivo par la fenêtre cutanée de Rebeck et Crowley et surtout in vitro par la mesure du chimiotactisme des PNN sous agarose. Les PNN sont introduits dans un puits creusé dans une couche d'agarose placée dans une boîte de Pétri. Dans des puits voisins sont placés d'une part, une solution tampon et d'autre part, une substance chimiotactique. Après incubation, on mesure la distance parcourue par les polynucléaires vers la substance chimiotactique (A) et vers la solution tampon (B). L'index chimiotactique représente le rapport A/B.

* *Activité métabolique* :

Les fonctions des cellules phagocytaires peuvent être explorées par le test au nitrobleu de tétrazolium (NBT), indicateur de l'activité oxydasique des macrophages et des polynucléaires neutrophiles. Chez le sujet normal, la phagocytose s'accompagne d'une importante augmentation de cette activité enzymatique, responsable de la coloration violet foncé, presque noire, du NBT. Chez les patients atteints de granulomatose septique chronique, l'activité oxydasique des cellules phagocytaires est déficiente et l'on n'observe aucune coloration violette, même si les leucocytes ont phagocyté des microorganismes. L'étude de cette activité métabolique oxydasique peut être également faite par chimioluminescence. En effet, les formes actives de l'oxygène ou encore « radicaux oxygénés libres », hautement réactives, libérées lors de la phagocytose, sont dans un état électronique particulièrement instable et émettent ainsi des photons dans leur retour à un état stable. Ce phénomène de luminescence peut être quantifié grâce à des appareils de mesure appelés luminomètres.

2.2.2. ACTIVITÉ NATURAL KILLER (NK) :

La cytotoxicité naturelle non HLA restreinte des cellules NK peut être étudiée par un test de relargage du Chrome 51 radioactif avec pour cellules cibles des cellules tumorales K562.

2.2.3. EXPLORATION DU COMPLÉMENT : (VOIR CH. COMPLÉMENT).

2.2.4. EXPLORATION DES CYTOKINES :

Le dosage immunochimique des cytokines et de leurs récepteurs solubles se fait essentiellement par des tests immunoenzymatiques (ELISA) grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux fixés sur des plaques de microtitration et à la révélation des complexes Ag-Ac par d'autres anticorps monoclonaux marqués (ELISA « Sandwich »). Des tests dits « biologiques » de dosage fonctionnel utilisant des lignées cellulaires dépendantes d'une cytokine peuvent être utilisés.

2.3. AUTRES EXPLORATIONS :

2.3.1. LA RECHERCHE D'AUTOANTICORPS :

Différentes maladies auto-immunes (Lupus érythémateux disséminé, polyarthrite rhumatoïde...) se caractérisent par la présence d'autoanticorps dirigé contre les autoantigènes les plus divers. Deux types d'anticorps existent : les autoanticorps non spécifiques d'organe et ceux spécifiques d'organe. Parmi les autoanticorps non spécifiques d'organes, les anticorps antinucléaires (AAN) ont une place prépondérante de par leur fréquence et leur valeur diagnostique.

L'immunofluorescence est la technique la plus utilisée pour l'étude des AAN. Le sérum testé est appliqué sur une coupe de foie de rat ou sur des cellules tumorales Hep2.

La recherche des facteurs rhumatoïdes s'intègre également dans le bilan habituel des maladies auto-immunes. Ce sont des anticorps anti-immunoglobulines. On les détecte habituellement par la réaction de Waaler-rose et le test au latex. Les anticorps anti-érythrocytes sont détectés par le test de Coombs direct. On peut également rechercher des autoanticorps

spécifiques d'organes comme les anticorps antithyroïdiens, anti-estomac, anti-muscle lisse, anti-glomérule, anti-foie, anti-surrénale, anti-myocarde, anti-épiderme, anti-ilots de Langerhans, etc.

2.3.2. RECHERCHE DE COMPLEXES IMMUNS ET DE CRYOGLOBULINES :

a. Les complexes immuns :

La présence d'immunoglobulines dans les **tissus**, révélée par immunofluorescence, apporte des arguments en faveur d'un dépôt de complexes immuns, surtout quand ces dépôts présentent un aspect granuleux. Il faut cependant, réaliser que la fixation des immunoglobulines au niveau des tissus peut être liée à l'expression d'autoanticorps dirigés contre les structures tissulaires ou même parfois représenter des dépôts non spécifiques d'immunoglobulines plasmatiques.

Les méthodes permettant la détection des complexes immuns **circulants** relèvent de deux groupes principaux : les unes détectent les complexes immuns indépendamment de l'antigène qu'ils contiennent, les autres tentent de mettre en évidence la nature de l'antigène.

Ces méthodes sont fondées sur les différentes propriétés acquises par les molécules d'immunoglobulines complexées à l'antigène : augmentation de taille, modifications de solubilité et de charge électrique...

L'activation du système complémentaire par les complexes Ag-Ac est à l'origine de plusieurs techniques de détection des complexes immuns :

- **Le test de déviation du C1q** : consiste à incuber l'échantillon de sérum avec une source de complément, et à évaluer l'activité complémentaire résiduelle par un dosage hémolytique.
- **Le test de fixation du C1q** : est plus sensible et plus quantitatif (réalisé en phase solide : ELISA). Le sérum à tester est incubé dans des cupules en polystyrène recouvertes de C1q. La quantité de complexes immuns fixés sur les parois des cupules est évaluée après addition d'antiglobulines radiomarquées. L'utilisation d'anticorps spécifiques des différentes classes d'immunoglobulines permet de définir l'anticorps impliqué dans la composition des complexes immuns.

b. Les cryoglobulines :

Ce sont des immunoglobulines qui précipitent à une température inférieure à 37 ° C.

Le sang est prélevé dans des tubes gardés à 37 ° C jusqu'à coagulation complète.

Après centrifugation, le sérum est placé à 4 ° C pour déceler l'apparition d'un précipité blanchâtre signant la présence d'une cryoglobuline qui disparaît lors de la remise du tube à 37 ° C.

L'identification de la cryoglobuline se fait à partir des cryoprécipités par immunoélectrophorèse à 37 ° C qui va apprécier le nombre et la classe des immunoglobulines et leur éventuel caractère monoclonal.

PCEM2

THEME XVI
PHARMACOLOGIE
TOME 1

LE MÉDICAMENT : SON UTILISATION PAR L'ORGANISME, SES LIMITES

INTRODUCTION A LA PHARMACOLOGIE ET VIE D'UN MÉDICAMENT

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Définir le concept de médicament.
2. Définir les 4 types d'action des médicaments (préventive, substitutive, symptomatique et curative) en les illustrant par des exemples.
3. Identifier l'intérêt de chacune des 4 étapes (ou stades) nécessaires à la mise au point de chaque médicament.
4. Expliquer l'intérêt de déterminer pour chaque médicament :
 - la toxicité aiguë,
 - le coefficient chimiothérapeutique,
 - la toxicité à terme,
 - les effets tératogène, mutagène et cancérigène.
5. Décrire les principes des Phases I, II, III et IV de l'essai thérapeutique chez l'homme (ou essai clinique).

INTRODUCTION

De tout temps l'être humain a cherché à soulager ses maux. Ainsi, a-t-il depuis des millénaires, reconnu de façon empirique, l'effet bénéfique sur le cours des maladies de certains produits naturels, en particulier des substances d'origine végétale. Si l'effort de rationalisation de la médecine fut entrepris depuis longtemps avec Hippocrate, Galien, Razi, Ibn Sina... etc., le développement de la thérapeutique médicamenteuse scientifique n'a connu son véritable essor qu'au cours du siècle présent bénéficiant des formidables progrès réalisés en biologie et en chimie.

DÉFINITIONS :

Aujourd'hui le médicament peut se définir comme étant une **substance** ou une composition de substances possédant des propriétés **curatives** ou **préventives** à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical, ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques.

Cette définition du code de la Santé Publique est très large et touche en plus des médicaments au sens commun du terme, les sérums et vaccins, les produits utilisés dans un objectif de diagnostic ou de prévention, les produits vétérinaires... etc.

Exemples :

- propriétés curatives : Pénicilline G utilisée pour le traitement d'une angine.
- propriétés préventives : Vaccin BCG utilisé pour prévenir l'infection tuberculeuse.
- diagnostic médical : Iode radioactif utilisé pour l'examen de la thyroïde.
- correction des fonctions de l'organisme : Sérum physiologique perfusé en cas de déshydratation sévère.

Les médicaments peuvent agir de différentes manières et on peut globalement les regrouper en 4 types d'actions :

ACTION PRÉVENTIVE : les médicaments sont administrés dans ce cas à des sujets sains pour les protéger d'éventuelles maladies (ex. des vaccins) ou encore chez les femmes pour prévenir une grossesse (ex. des contraceptifs hormonaux).

ACTION SUBSTITUTIVE : certains éléments essentiels à la croissance de l'organisme jeune, ou intervenants à un stade quelconque du métabolisme peuvent être déficients. Le rôle du médicament dans ce cas est de pallier la carence provisoire ou définitive de l'organisme en ces éléments : exemples des vitamines, des oligo-éléments, des hormones comme

l'insuline chez les diabétiques, de certains œstrogènes lors de la ménopause, ou encore des hormones thyroïdiennes dans l'hypothyroïdie.

ACTION SYMPTOMATIQUE : le médicament diminue ou supprime provisoirement les troubles occasionnés par la maladie, mais ne s'attaque pas à la cause de la maladie. Ce groupe est le plus fourni en médicaments et représente la plus forte consommation. Exemple : les analgésiques, les antipyrétiques, les anti-inflammatoires, les antihypertenseurs, les antidiabétiques oraux, les antiasthmatiques... etc.

ACTION CURATIVE : elle est déterminée par les médicaments qui suppriment la cause de la maladie et qui entraînent, par conséquent, la guérison complète. Ce sont les meilleurs médicaments, mais malheureusement ils représentent le groupe le moins fourni qui se limite aux antibiotiques et antiparasitaires.

La Pharmacologie, ou science des médicaments couvre toutes les connaissances relatives au médicament depuis sa naissance (synthèse, préparation, contrôle des constantes physico-chimiques...) jusqu'à son utilisation en thérapeutique avec toutes les étapes intermédiaires que l'on peut imaginer.

Néanmoins au cours de cet enseignement, nous nous limiterons aux médicaments et aux données nécessaires au **médecin généraliste tunisien** pour lui permettre d'entreprendre une **thérapeutique adaptée**. Ainsi nous n'insisterons que sur la **pharmacologie médicale** ou **clinique** : c'est-à-dire la **pharmacodynamie** (action), la **pharmacocinétique** (devenir dans l'organisme) et les **effets indésirables chez l'homme**.

Une bonne connaissance de la Pharmacologie clinique vous permettra d'adapter pour chaque cas précis le meilleur médicament possible. Car il n'y a pas de « bons médicaments » ou de « mauvais médicaments » dans l'absolu, par contre il y a des médicaments adaptés à un malade donné en tenant compte de son état lors du traitement : pathologie à traiter, tares associées, habitudes alimentaires...

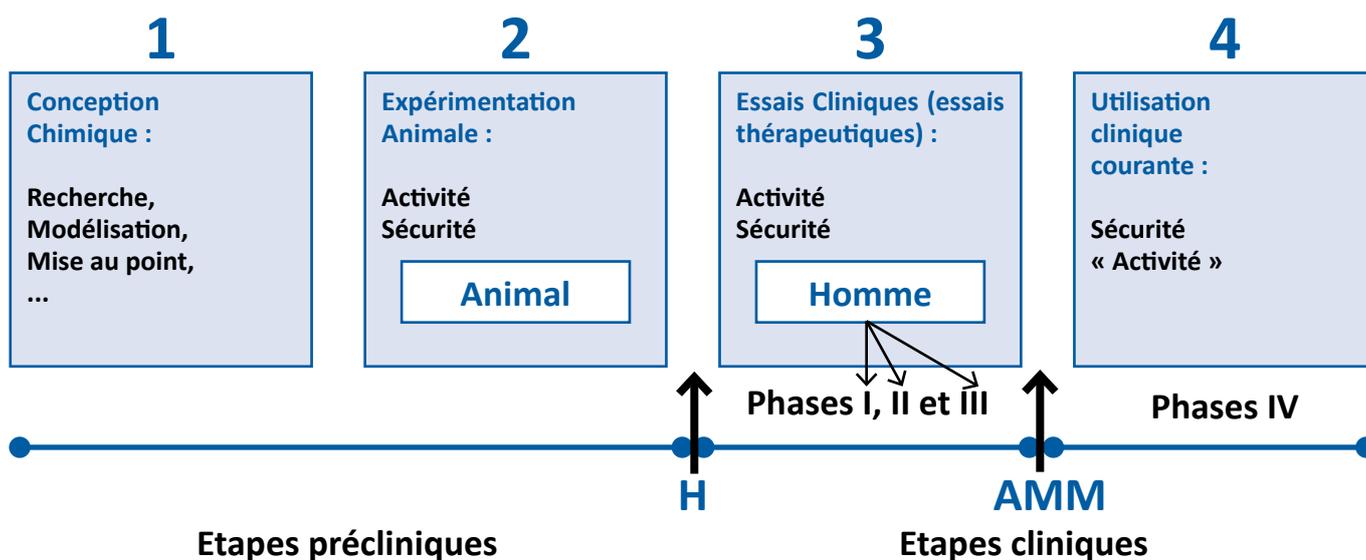
Et surtout, n'oubliez pas qu'à côté de l'action bénéfique et recherchée d'un médicament, il y a le revers de la médaille : les effets indésirables.

VIE D'UN MÉDICAMENT :

La naissance d'un médicament passe par de nombreuses étapes intriquant les études que mènent les experts (pharmacologues, toxicologues, cliniciens...) avec celles poursuivies par les fabricants. Ces études réalisent, à l'image d'une « course de haies » ou « d'un passage au tamis », une sélection sévère.

C'est ainsi qu'à partir de dizaines de milliers de **molécules chimiques** découvertes chaque année, seulement quelques-unes d'entre elles arrivent au stade de la commercialisation et de leur utilisation comme **médicament**.

La « Vie d'un Médicament » peut schématiquement être scindée en 4 étapes ou stades (voir schéma).



2 ÉTAPES PRÉCLINIQUES ou préalables à la première utilisation chez l'homme :

- Conception ou mise au point physico-chimique.
- Expérimentation animale.

2 ÉTAPES CLINIQUES :

- Essais cliniques et de thérapie expérimentale.
- Utilisation thérapeutique très large après commercialisation.

Il convient de préciser dès le début qu'il ne faut pas confondre les 4 étapes ou stades de la vie d'un médicament avec les 4 phases des essais thérapeutiques. Ces phases se situent, dans le temps, lors des essais cliniques c'est-à-dire lors des stades 3 et 4.

1. ÉTAPE DE CONCEPTION CHIMIQUE :

1.1. MISE AU POINT (CHIMIE ORGANIQUE) :

La mise au point chimique de nouvelles molécules peut se faire de différentes manières. Les plus fréquentes sont :

- **l'extraction** et l'étude des principes actifs à partir de plantes connues pour leurs vertus médicinales.
- la synthèse de molécules tout à fait **originales** par les chimistes.
- la synthèse de nouvelles molécules partant d'une découverte **scientifique** sur le rôle d'un transmetteur chimique ou d'une hormone (exemples : la L. Dopa dans le Parkinson, les anti-H₂ dans l'ulcère gastroduodéal, les bêtabloquants...).
- **l'amélioration** pharmacologique à l'intérieur d'une classe chimique déjà connue permettant d'obtenir des molécules plus actives, ou ayant une cinétique plus adaptée ou présentant moins d'effets indésirables.

La décision de développer une molécule pour en faire un médicament dépend de plusieurs facteurs, car il faut souvent concilier entre d'un côté, les intérêts économiques des fabricants (la recherche devenant de plus en plus chère) et de l'autre les objectifs de Santé Publique et l'intérêt des malades. Il peut même parfois, s'agir tout simplement d'une décision « commerciale », le service marketing préférant qu'on mette à sa disposition un antihypertenseur, un anxiolytique ou un antiulcéreux qui se vendent bien, plutôt qu'une « molécule de prestige », mais s'écoulant mal.

À partir de là les molécules sous forme de principe actif sont soumises à des études physiques et chimiques permettant de choisir la forme chimique la plus stable et la plus adaptée à son utilisation chez l'homme.

1.2. FABRICATION : PHASE GALÉNIQUE (VOIR COURS SUR LA BIODISPONIBILITÉ) :

Mise au point de la ou des formes pharmaceutiques à utiliser en tenant compte des excipients et du principe actif. Ensuite on passera à la fabrication d'une quantité artisanale qui servira aux expérimentations animales et aux premiers essais thérapeutiques chez l'homme.

2. ÉTAPE D'EXPÉRIMENTATION ANIMALE :

L'expérimentation animale peut s'effectuer sur l'**animal entier** ou sur des organes ou des cellules isolées.

2.1. TRI OU « SCREENING » :

Ce tri est une étape essentielle pour la sélection des molécules actives en tant que médicament. Ce tri peut se faire essentiellement de deux manières :

A. SCREENING TOTAL:

On passe toutes les molécules synthétisées sur des dizaines de tests touchant à toutes les activités pharmacologiques. Ceci se fait sur des lots de 4 ou 5 souris et à des concentrations différentes. Il est peu utilisé, car il est long et cher, mais est théoriquement le plus efficace.

B. SCREENING DIRIGÉ:

Dans ce cas on choisit un ensemble de tests adaptés à l'objectif à atteindre. Par exemple si on est orienté vers la recherche d'un antihypertenseur on choisira un des tests prouvant cette activité antihypertensive sur la fibre isolée et/ou l'animal entier.

Après ce tri, les pharmaco-toxicologues auront donc à leur disposition des molécules ayant une éventuelle efficacité thérapeutique. Mais avant leur première utilisation, chez l'homme, deux étapes doivent être franchies de façon plus ou moins concomitante.

- l'une concernant la **sécurité** (études de toxicité, tératogénèse...),
- l'autre l'**efficacité** (pharmacodynamie, pharmacocinétique...).

D'ailleurs la législation a insisté beaucoup plus sur l'étape sécurité, c'est ainsi qu'on commencera par elle.

2.2. ÉTAPE DE LA SÉCURITÉ :

Ces études sont celles qui coûtent le plus cher et elles éliminent le plus de molécules. En effet, ces expériences ont pour intérêt de vérifier que les produits ne sont pas toxiques et que les études pharmacologiques plus poussées, notamment les essais chez l'homme, peuvent être menées sans nocivité. Si un produit ne répond pas à ce critère de non-nocivité, il est inutile de poursuivre l'expérimentation et de dépenser du temps, de l'argent et de l'énergie pour rien.

Ces tests de toxicité sont de 4 types : toxicité aiguë, toxicité à terme (ou chronique), tératogène et finalement mutagène et cancérogène.

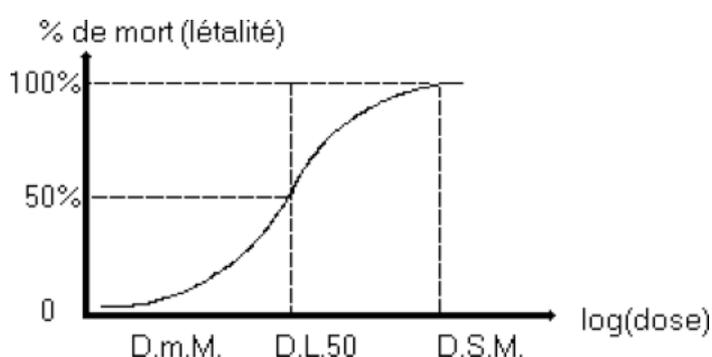
A. TOXICITÉ AIGUË :

C'est l'étude qualitative et quantitative des phénomènes toxiques après administration **unique** de la ou des substances actives contenues dans la future spécialité pharmaceutique.

L'épreuve de toxicité est effectuée généralement sur deux espèces de mammifères par, au moins, deux voies d'administration, les plus proches possibles de celles qui seront utilisées chez l'homme. C'est ainsi que cette étude est menée sur des lots de 4 à 5 animaux chacun, d'une même espèce : des souris ou des rats en général. Les animaux d'un même lot reçoivent la même dose en **une seule prise** (intraveineuse, intramusculaire ou orale). Le 1er lot reçoit une première dose et les lots suivants reçoivent des doses évoluant par progression mathématique. Après un temps qui est le même pour tous les lots (1 h ou 2 h ou 8 h ou 24 h) on compte les morts et on note la symptomatologie (excitations, convulsions...) et la cause de la mort (arrêt cardiaque ou respiratoire...).

Exemple :

Lots	1	2	3	4	n-3	n-2	n-1	n
Dose	X_1	X_2	X_3	X_4	X_{n-3}	X_{n-2}	X_{n-1}	X_n
Morts observés	0%	0%	20%	30%	60%	80%	100%	100%



D.m.M. : dose minimale mortelle qui correspond à la dose minimale à partir de laquelle on observe au moins un mort.

D.S.M. : dose sûrement mortelle qui correspond à la dose minimale à partir de laquelle on observe 100% de morts dans le lot étudié

On peut ensuite graphiquement déterminer la **Dose Létale 50 (D.L. 50)** qui correspond à la dose théorique à laquelle on aurait obtenu 50% de létalité. Cette D.L. 50 permet de comparer entre eux les différents produits du point de vue de la toxicité et permet de chiffrer le coefficient chimiothérapeutique (C.C.) d'un produit.

$$C.C. = \frac{\text{Dose toxique}}{\text{Dose Active (thérapeutique)}} = \frac{D.L. 50}{D.E. 50 \text{ (Dose efficace 50)}}$$

La dose efficace 50 est déterminée selon un protocole analogue à celui de la D.L. 50, mais au lieu d'observer la mort de l'animal, on mesure l'effet pharmacologique induit par le médicament en l'exprimant en pourcentage par rapport à l'effet pharmacologique maximal.

B. TOXICITÉ À TERME (OU CHRONIQUE) PAR ADMINISTRATION RÉPÉTÉE :

Ces études sont menées avec une administration de doses fractionnées (en 2 ou 3 fois) dans la journée et de façon **répétée** (6 mois à 2 ans), mimant exactement ce qui sera fait chez l'homme en utilisation courante. Les expériences sont poursuivies sur des lots d'une dizaine d'animaux chacun appartenant au moins à 2 à 3 espèces animales, dont une de non-rongeurs (exemple : souris, rat et chien ou mini-porc ou singe).

On utilise généralement 2 lots recevant des doses proches des doses thérapeutiques et 1 lot avec des doses relativement élevées. Un quatrième lot sert de témoin et reçoit seulement l'excipient.

On vérifie régulièrement et surtout à la fin de l'étude s'il existe ou non des altérations sur les différents organes et en particulier les reins, le foie, le cerveau, le sang, la peau, les glandes endocrines... Pour cela on fait des examens hématologiques et biochimiques, des radiographies de squelette et l'E.C.G.. Après sacrifice des animaux, on complète par des examens histologiques et d'anatomie pathologique par microscope optique, voire par historadiographie et microscopie électronique.

La réalisation de ces études nécessite l'utilisation d'animaux choisis, vivant dans des locaux appropriés conformes aux « Bonnes Pratiques de Laboratoires » et dont la température et le degré d'hygrométrie sont maintenus constants.

C. EFFET TÉRATOGÈNE :

Ces études sont faites sur des animaux **femelles** choisis dans au moins deux espèces animales et réparties en quatre lots (un témoin et trois lots recevant des doses différentes). Juste avant la mise à bas, on récupère les fœtus soit après sacrifice des mères soit par « césarienne ». On compte alors les fœtus, morts et vivants, on note leur état, leur poids et on pratique

généralement les mêmes tests que lors de la toxicité à terme (ou chronique) : examens hématologiques, biochimiques, histologiques, radiographiques, etc. ainsi que **génétiques**.

On peut y ajouter des expériences de **toxicité pré et postnatale** pour l'étude des modifications éventuelles de la fertilité faites sur des rats mâles et femelles.

D. MUTAGENÈSE ET CANCÉROGENÈSE :

Ces études sont faites actuellement de plus en plus systématiquement et en particulier en ce qui concerne :

- les molécules ayant une analogie chimique avec des composés reconnus cancérigènes,
- ou les produits qui seront utilisés à très long terme (traitement de certaines maladies chroniques).

Les tests de mutagenèse les plus simples, les plus couramment utilisés et ayant un bon pouvoir prédictif de cancérogenèse sont :

- le test d'Ames utilisant des souches mutantes de Salmonella Typhi Murium,
- le test de micronucléus : recherche de micronoyaux dans les G.R après prélèvement de moelle osseuse sur des rats traités préalablement pendant 30 heures par le produit.

On peut être parfois amené à faire des études complètes de cancérogenèse vraie en utilisant des rats et des souris prenant toute leur vie le produit testé. On pratique cela sur deux lots de 100 rats, un groupe traité et un groupe témoin, pendant plus de 100 semaines. On sacrifie ensuite ces animaux et on fait une étude anatomopathologique et histologique à la recherche systématique de tumeurs.

2.3. ÉTUDE DE L'EFFICACITÉ :

A. ACTIVITÉ :

L'étude de l'activité principale de ce composé porte essentiellement sur une comparaison aux produits déjà existants dans la même classe et sur les avantages éventuels qu'il apporte. Ceci peut être schématisé en trois types de renseignements :

- démonstration de l'**action pharmacologique** avec éventuellement relation dose/activité, durée d'action...
- étude du **mécanisme d'action** au niveau le plus fini possible (pharmacologie moléculaire, étude des récepteurs ou des médiateurs...).
- étude des effets **latéraux** éventuels et notification à ce stade des éventuels effets **indésirables**.

Les méthodes utilisées à ce niveau sont du même type que celles du Screening, mais elles sont plus variées et plus complètes. Elles se font in vivo ou sur les organes isolés, mais le plus souvent complétées par des expériences sur les animaux entiers chez lesquels on crée le syndrome à traiter.

B. PHARMACOCINÉTIQUE :

Il s'agit à ce stade de retrouver la ou les meilleures voies d'administration, et, dans la mesure du possible, les principales caractéristiques pharmacocinétiques chez l'animal : demi-vie, biodisponibilité, pourcentage de liaison aux protéines plasmatiques, biotransformation et métabolites éventuels et voies d'élimination.

En principe c'est à la fin de ces expériences et à la condition que le produit ait présenté une activité intéressante que se décidera le passage à l'homme. L'étape humaine d'expérimentation est nécessaire, car l'homme est un animal **unique** et l'efficacité de la molécule doit être redémontrée chez lui.

Mais il arrive parfois que l'étape humaine soit entamée sans que soit complètement achevée l'expérimentation chez l'animal. Dans ce cas il faut que les garanties soient suffisantes : il y aura au moins les études de toxicité et quelques éléments de pharmacodynamie et de cinétique qui se seront montrés concluants. Par ailleurs lorsqu'on décide le passage à l'homme, plusieurs questions se posent du point de vue pratique. Quels hommes ? Quelles doses ? Quels types d'essais ? À quels centres va-t-on confier ces travaux ?

3. ESSAIS DE THÉRAPIE EXPÉRIMENTALE CHEZ L'HOMME (ÉTAPE OU STADE 3) :

Ces essais sont subdivisés en quatre Phases : les I, II et III avant la commercialisation du produit et la phase IV après (voir schéma).

Ces derniers auront pour objectifs les études pharmacocinétiques (voir chapitre : sort du médicament dans l'organisme) ainsi que les études de l'activité principale (et des activités latérales) et éventuellement la recherche d'effets indésirables.

3.1. PHASE I :

Cette étude est faite chez des **volontaires sains**, généralement **peu nombreux** (quelques dizaines tout au plus).

Cette phase permet essentiellement d'obtenir les renseignements suivants :

- détermination de la plus petite dose unique ayant une activité,

- étude globale de la pharmacocinétique du médicament permettant de vérifier les voies d'administration, de trouver les concentrations efficaces (en commençant par des doses faibles et en les augmentant).
- vérification de l'innocuité et de la bonne tolérance du produit.

3.2. PHASE II :

Les objectifs de cette phase sont la mise en évidence **chez l'homme** des propriétés **thérapeutiques** entrevues chez l'animal. Elle débute chez **l'homme sain**, mais est vite continuée chez quelques dizaines de malades répartis en groupes traités et groupes témoins (prenant soit un placebo, soit un médicament de référence).

Ces essais faits avec toute la rigueur méthodologique et statistique permettront d'obtenir des résultats exploitables sur une large population. Ils permettront par ailleurs d'obtenir des résultats plus complets en cinétique et en particulier les différentes posologies : dose/action thérapeutique, dose/effets indésirables...

3.3. PHASE III :

C'est la phase véritable des essais cliniques faits par les experts pharmacologues et cliniciens.

C'est une étude extensive sur de **nombreux sujets malades** de ce qui a été trouvé en phase I et II. On prend soin de diversifier les populations et les maladies traitées.

Pendant cette phase on pratique en outre :

- des études pharmacocinétiques approfondies (en particulier chez l'insuffisant hépatique).
- l'étude du mécanisme d'action et des différents effets pharmacodynamiques.
- la recherche des effets indésirables.

À la fin de ce stade 3, le laboratoire décide la **commercialisation** ou non. Le dossier comprenant tous les travaux est présenté au Ministère de la Santé Publique (Service de la Pharmacie et du Médicament) pour obtenir l'**A.M.M.** (Autorisation de Mise sur le Marché). Cette A.M.M. est délivrée par le ministère de la Santé Publique après consultation de la **Commission Technique de l'A.M.M.**

4. UTILISATION COURANTE (STADE 4) :

Dès les premiers jours de la commercialisation, l'utilisation du produit change d'emblée d'échelle : de 200 ou 300 malades lors des essais, on passe à des milliers voire des centaines de millions de sujets. Il peut, à ce moment, apparaître des effets indésirables qui sont rares pour pouvoir se manifester sur un nombre peu important de sujets.

À ce stade se situe la phase IV des essais cliniques : permettant :

- de compléter la cinétique (enfants, vieillards, dénutris...)
- de rechercher de nouvelles indications.
- et surtout de colliger tous les effets indésirables pour essayer d'estimer leur fréquence et leur intensité (**Pharmacovigilance**).

5. CONCLUSION :

L'introduction d'un nouveau médicament en thérapeutique est une véritable aventure scientifique et commerciale. Elle nécessite une étroite collaboration entre chimistes, pharmacologues, cliniciens, et industriels et une grande somme d'efforts et de moyens. Cette coopération est la meilleure assurance pour l'obtention d'un produit fiable et efficace.

EVALUATION FORMATIVE

Pour les questions suivantes, indiquer dans l'espace réponse prévu la (ou les) lettre(s) correspondant à la (ou aux) proposition(s) correcte(s) :

Question N° 1 : La dose létale 50 (DL50) représente :

- A. 50% de la dose qui tue tous les animaux.
 - B. la dose qui entraîne l'effet pharmacologique chez 50% des animaux.
 - C. la dose qui entraîne la mort de 50% des animaux.
 - D. 50% de la dose qui entraîne 50% de l'effet pharmacologique.
-

Question N° 2 : Le coefficient chimiothérapeutique d'un médicament détermine :

- A. son effet pharmacodynamique.
 - B. sa polarité et sa solubilité.
 - C. sa marge de sécurité d'emploi.
 - D. son pourcentage d'activité.
-

Question N° 3 : L'effet tératogène des médicaments est expérimenté :

- A. sur au moins 2 espèces animales.
 - B. à la phase IV des essais cliniques.
 - C. selon la technique de la DL 50.
 - D. sur des cultures cellulaires.
-

Question N° 4 : Le SCREENING est une technique expérimentale qui permet :

- A. d'étudier le pouvoir létal du médicament.
 - B. de trier les molécules non-cancérigènes.
 - C. de reconnaître la meilleure voie d'administration du médicament.
 - D. de choisir les molécules actives.
-

Question N° 5 : La Phase I des essais cliniques :

- A. s'effectue chez un nombre limité de malades.
 - B. permet une étude globale de la pharmacocinétique du médicament.
 - C. vérifie la bonne tolérance du produit chez l'homme.
 - D. étudie le mécanisme d'action du médicament.
-

VOIES D'ADMINISTRATION DES MEDICAMENTS FORMES PHARMACEUTIQUES

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Reconnaître les différentes formes pharmaceutiques des médicaments.
2. Définir les concepts de voie générale et de voie locale.
3. Identifier les avantages et les inconvénients de chaque voie d'administration des médicaments.
4. Indiquer les précautions à prendre lors de l'administration des médicaments, pour chacune des voies injectables.

INTRODUCTION

Les modalités d'administration des médicaments doivent être bien expliquées aux patients afin de s'assurer de l'absence d'erreurs lors de l'usage des médicaments. Ces erreurs peuvent être à l'origine d'inefficacité du traitement ou d'effets indésirables.

1. DÉFINITIONS :

Classiquement on distingue deux grands types de voies :

- les voies générales,
- les voies locales.

Par voie générale le médicament doit, pour pouvoir atteindre son lieu d'action, d'abord pénétrer dans la circulation sanguine.

C'est le cas des :

- voies digestives ou entérales (sublinguale, orale, rectale),
- et des voies injectables ou parentérales (sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse, etc.).

Par voie locale : le médicament est mis directement en contact avec le tissu malade.

Cette présentation est trop schématique et ne reflète pas la réalité exacte.

C'est ainsi :

- qu'un médicament administré par voie orale, tel que la sulfaguanidine, n'a qu'un effet local au niveau du tube digestif, car elle n'est pratiquement pas résorbée par la muqueuse digestive,
- et qu'un médicament administré par voie locale peut avoir un effet général. C'est le cas des pommades à base de corticoïdes qui peuvent être résorbées au niveau de la peau.

Principe actif et excipient :

La plupart des médicaments contiennent un seul **principe actif**, alors qu'un certain nombre en comportent deux ou plusieurs. Le principe actif est la substance qui est responsable de l'effet pharmacodynamique. Il est souvent de l'ordre du milligramme ou du gramme et, pour pouvoir être administré, il doit être véhiculé par d'autres substances que l'on appelle **excipient**. Ainsi pour fabriquer un comprimé, on associe au principe actif, des substances comme : le talc, l'amidon, le lactose... etc.

2. ADMINISTRATION PAR VOIE DIGESTIVE OU ENTÉRALE :

2.1. LA VOIE SUBLINGUALE :

Les médicaments sont administrés sous forme de petits comprimés, de solutions aqueuses ou alcooliques, que le malade place sous la langue jusqu'à absorption convenable en évitant de les avaler (exemple : Trinitrine®).

L'absorption s'effectue en réalité au niveau de toute la paroi buccale.

Cette voie présente deux **avantages** :

- Elle met le médicament à l'abri de l'action des enzymes digestives et évite son mélange avec le bol alimentaire.
- Elle **permet d'éviter le foie**, puisque les veines jugulaires externes qui drainent les muqueuses buccale et linguale se jettent dans la veine cave supérieure.

2.2. LA VOIE ORALE PROPREMENT DITE :

Le médicament est avalé, la résorption s'effectue au niveau de l'estomac et de l'intestin.

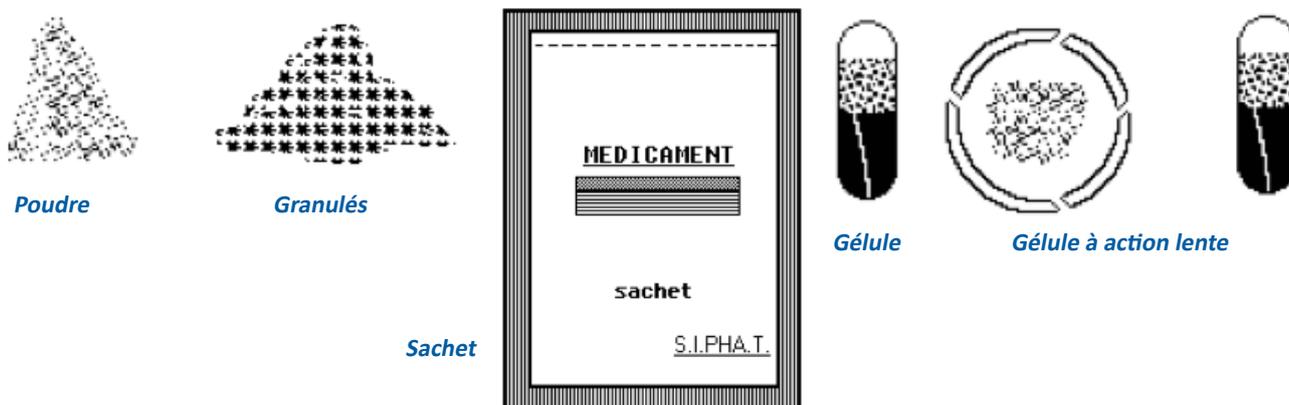
Les caractéristiques de cette résorption dépendent de la nature de l'épithélium digestif qui peut être comparé à une membrane lipodique à pores.

Dans cette résorption l'intestin grêle joue le rôle le plus important en raison de :

- sa surface considérable : présence de valvules conniventes, de villosités, de microvillosités ;
- sa riche vascularisation ;
- ses mouvements péristaltiques plus amples.

Toutefois dans l'estomac, où le pH acide crée des conditions particulières, la résorption des médicaments acides faibles (salicylates, barbituriques...) sera assez marquée.

A. FORMES PHARMACEUTIQUES UTILISÉES PAR VOIE ORALE :



Poudres : utilisables directement par le malade qui les dissout ou les dilue dans du liquide.

Exemple : poudre de Totapen® (ampicilline) ou d'Aspégic® (salicylate de lysine).

Granulés : le médicament n'est plus sous forme de poudre fine. Il est sous forme de petits grains de poudre agglomérée. Exemple : granulé de Kaologeais® (plusieurs principes actifs).

Sachets : ce sont des feuilles en papier d'aluminium pliées et scellées destinées à recevoir une poudre, un produit visqueux (exemple : sachets de Polysilane Upsa® [diméticone]) ou un granulé.

Gélules : faites de deux demi-capsules de diamètres légèrement différents, s'emboîtant l'une dans l'autre et contenant une poudre. L'enveloppe de ces gélules est à base de gélatine.

Ces gélules se délitent au niveau de l'estomac et dans certains cas les substances médicamenteuses peuvent irriter la muqueuse.

Dans ces cas on peut recourir aux **gélules gastro-résistantes**, c'est-à-dire des gélules dont la paroi n'est attaquée qu'en milieu intestinal : on les obtient en ajoutant à la gélatine du gluten ou de la kératine.

Gélules à action lente : outre les gélules gastro-résistantes ou entéro-solubles, il existe aussi les chronules : la substance médicamenteuse y est présente, non pas sous forme de poudre fine, mais sous forme de micrograins, et chacun de ces micrograins est entouré d'une membrane poreuse inerte permettant une diffusion lente du principe actif en douze heures environ. Exemple : chronules de Lénital® (trinitrine).

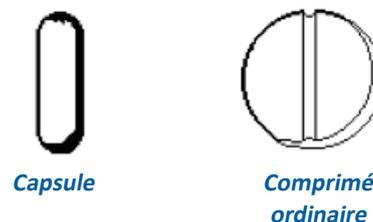
Remarque : les gélules ne doivent jamais être ouvertes. Elles doivent être administrées telles quelles, sinon cela modifiera la résorption du principe actif.

Capsules : formées d'un seul cylindre renfermant un produit visqueux.

Exemple : capsules d'Adalate® (nifédipine).

Comprimés ordinaires :

Comme leur nom l'indique, ce sont des préparations obtenues par compression du produit actif avec un excipient capable d'assurer une certaine solidité (talc, lactose, etc.)



Les fabricants proposent le plus souvent des comprimés sécables, permettant ainsi de les diviser en deux, voire en quatre parties égales de façon à adapter la posologie.

Exemples : comprimé d'Analgan® (paracétamol).
comprimés d'Avlocardyl® (propranolol).

À côté de ces comprimés ordinaires existent :

Les comprimés effervescents :

Qui outre le ou les principes actifs renferment de l'acide citrique ou tartrique et du bicarbonate de sodium. Au contact de l'eau, il se dégage du gaz carbonique qui favorise le délitement du comprimé. Exemple : comprimé de Calcium-Sandoz 500®.

Les comprimés dragéifiés :

Ce sont des comprimés ordinaires revêtus d'une couche de sucre, aromatisés et colorés.

Cet enrobage facilite l'ingestion du médicament et en dissimule parfois, le goût. Exemple : vitamine B1.

Les comprimés à action prolongée :

Différentes formes galéniques permettent d'obtenir une libération progressive du médicament et sa résorption sera étalée dans le temps. Ces formes permettent de réduire le nombre de prises.

Il en est ainsi des comprimés enrobés (gastro-résistants) à libération prolongée : Voltarène LP® (diclofénac).

Formes liquides :

Le médicament se trouve déjà à l'état dissous.

* **Sirop** : il s'agit de préparations aqueuses du médicament contenant une forte proportion de sucre, ce qui leur donne leur consistance et assure leur conservation (Eucamphine®).

* **Solutions buvables** : ce sont des préparations liquides obtenues par dissolution d'un ou plusieurs principes actifs dans un solvant approprié qui le plus souvent est l'eau, mais qui peut être l'alcool (exemples : Haldol® [halopéridol] prescrit sous forme de gouttes ; Dépakine® [acide valproïque]).

* **Ampoules buvables** (exemple : Hépagrume®).

B. AVANTAGES DE LA VOIE ORALE :

- C'est la voie la plus pratique lors des traitements ambulatoires, puisqu'elle ne nécessite aucun matériel particulier.
- Elle ne présente aucun risque d'infection.
- Elle permet de traiter facilement de grandes populations (exemple : le vaccin anti-poliomyélite buvable).
- Le prix de revient de l'utilisation des formes pharmaceutiques orales est moins élevé que celui des ampoules injectables.

C. INCONVÉNIENTS DE LA VOIE ORALE :

- Elle est impossible chez le sujet comateux et le nouveau-né qui vomit.
- Certaines formes (comprimés, gélules) sont mal acceptées par le jeune enfant.
- La prise orale de médicaments, au milieu des repas, diminue souvent leur résorption ; c'est pourquoi il faut prendre les médicaments en dehors des périodes de digestion, à l'exception de ceux qui sont irritants pour la paroi gastrique (exemple : Aspirine® et anti-inflammatoires qu'il est préférable de prendre au milieu des repas).
- Le ralentissement ou l'accélération du transit intestinal influence la résorption des médicaments.
- **Toute modification du pH gastrique** entraîne une modification de la résorption des médicaments. Ainsi les antiacides diminuent cette résorption en alcalinisant le milieu gastrique.
- Enfin il est évident que la voie gastro-intestinale ne peut pas servir dans les traitements d'urgence, alors que la voie sublinguale peut servir dans ces cas (exemple : la Trinitrine® dans les crises d'angine de poitrine).

2.3 LA VOIE RECTALE :

Les muqueuses rectale et colique ont une certaine possibilité de résorption.

Par conséquent, la voie rectale peut être utilisée pour administrer de nombreux médicaments ayant un effet local ou un effet général.

A. FORMES PHARMACEUTIQUES UTILISABLES PAR VOIE RECTALE :

Le suppositoire :

Cette forme sert tant à l'usage local (action anti-hémorroïdaire) que générale (Phénaspirine®).

Il existe deux types d'excipients pour les suppositoires :

* Excipient fondant (le beurre de cacao) : mettant le principe actif directement en contact avec la muqueuse rectale.

* Excipient soluble : se dissolvant lentement dans les sécrétions de la muqueuse rectale en libérant les principes actifs.

Les lavements :

Il s'agit de préparations liquides qui possèdent une action locale ou une action générale. On les classe selon le type d'action recherchée.

- * Les lavements évacuateurs. Exemple : Microlax®.
- * Les lavements médicamenteux. Exemple : soluté rectal de Betnesol®.
- * Les lavements barytés utilisés pour visualiser le rectum en radiologie.

B. AVANTAGES DE LA VOIE RECTALE :

- Pas d'altération des médicaments par les enzymes digestives.
- Le faible péristaltisme du rectum crée une forte concentration du médicament au contact de la muqueuse, ce qui favorise parfois la résorption.
- Elle est pratique chez le jeune enfant qui vomit et chez le malade occlus.
- Elle permet d'administrer des substances d'odeur ou de goût désagréables.
- Elle permet d'administrer des médicaments irritants pour la muqueuse gastrique, tels les anti-inflammatoires.

C. INCONVÉNIENTS DE LA VOIE RECTALE :

- La résorption se fait en grande partie par les veines hémorroïdaires supérieures qui se jettent dans la veine porte, donc elle n'évite guère la barrière hépatique (voir schéma de la vascularisation du rectum en annexe).
- Les enzymes des bactéries du côlon et du rectum présentent une activité importante pouvant dégrader certains composés, les antibiotiques par exemple et en particulier la Pénicilline G.
- Les suppositoires sont à éviter chez les porteurs d'hémorroïdes, sauf les préparations destinées à traiter cette affection.
- Elle est inefficace en cas de diarrhée.

3. LES VOIES PARENTÉRALES

3.1. VOIE SOUS-CUTANÉE :

La résorption des solutions aqueuses injectées sous la peau comporte une diffusion dans le tissu conjonctif sous-cutané, suivie d'une pénétration à travers l'endothélium des vaisseaux sanguins et lymphatiques.

Deux facteurs entrent en jeu :

A. LA VASCULARISATION :

En cas de choc, la circulation périphérique étant très diminuée, l'injection sous-cutanée est inefficace. De même, on peut retarder la résorption sous-cutanée en ajoutant à la préparation un vasoconstricteur. Citons l'exemple de la Noradrénaline associée à des anesthésiques locaux pour prolonger l'effet anesthésique au niveau du point d'injection.

B. LA SOLUBILITÉ DU MÉDICAMENT :

L'insuline ordinaire est rapidement résorbée. Par contre une suspension colloïdale d'insuline (tel que le mélange insuline-protamine-zinc) allonge le temps de résorption et prolonge ainsi l'effet thérapeutique (effet retard). Les lieux d'injection habituels sont : la face externe de la cuisse, la face postérieure du bras, la peau du ventre.

3.2. VOIE INTRAMUSCULAIRE :

A. AVANTAGES :

Le muscle étant richement vascularisé, la résorption est très rapide à son niveau, elle demande 10 à 30 minutes. L'injection intramusculaire est, en règle générale, peu douloureuse, car le muscle est peu riche en fibres sensibles, il y a cependant des exceptions (exemple : les injections intramusculaires de pénicilline).

B. RÈGLES À OBSERVER : POUR ÉVITER LES INCONVÉNIENTS.

- Lieu classique d'injection : quadrant supéro-externe de la fesse pour éviter de piquer le nerf sciatique.
- Asepsie rigoureuse.
- Avant de pousser le piston de la seringue, il faut toujours tirer sur celui-ci à la recherche d'un reflux sanguin possible (cela évite de pratiquer involontairement une intraveineuse ou une intra-artérielle).

3.3. VOIE INTRAVEINEUSE :

Par cette voie le médicament est introduit directement dans le système vasculaire et il n'est plus question de résorption.

A. AVANTAGES :

- Effet immédiat, utile en cas d'urgence.
- Effet contrôlable : on peut arrêter immédiatement l'injection si des effets fâcheux surviennent.
- Possibilité d'apport prolongé par perfusions continues (ce qui permet le maintien d'une concentration sanguine efficace).
- Possibilité d'injecter des substances qui par ailleurs sont nécosantes ou douloureuses par voie sous-cutanée ou intramusculaire (exemple : certains anticancéreux).

B. INCONVÉNIENTS :

- Cette voie peut être dangereuse en cas d'injection rapide, car le médicament arrive peu dilué dans le cœur (attention aux solutions riches en ions Ca^{++} : risque d'arrêt cardiaque !), mais aussi dans le système nerveux central qui risque d'être déprimé (les barbituriques sont déprimeurs des centres respiratoires).
- Par voie veineuse, les réactions anaphylactiques sont plus brutales que par les autres voies.
- Risque de transmission virale (Hépatite B, S.I.D.A.).

C. LIEUX CLASSIQUES D'INJECTION :

- veines du pli du coude ;
- veines de l'avant-bras et du dos de la main ;
- veines jugulaires externes ;
- veines sous-clavières.

D. RÈGLES À OBSERVER :

- **Asepsie rigoureuse.**
- Placer l'aiguille strictement dans la lumière veineuse sinon il y a un risque d'irritation de l'endoveine. Ainsi il est nécessaire de vérifier que le sang reflue bien dans la seringue.
- Injecter **lentement** : jamais en moins d'une minute, qui est le temps nécessaire pour un cycle complet de circulation sanguine.
- Ne pas gaspiller le capital veineux.

E. ACCIDENTS POSSIBLES :

- Si l'injection n'est pas strictement intraveineuse, il y a un risque de nécrose (exemple : anticancéreux, produits de contraste iodés).
- Danger d'embolie gazeuse quand on injecte de l'air.
- Danger d'embolie graisseuse : en cas d'utilisation de corps huileux.

3.4. AUTRES VOIES PARENTÉRALES :

A. VOIE INTRA-ARTÉRIELLE :

- Rarement utilisée.
- Vasodilatateurs dans l'artère fémorale chez les artéritiques.
- Substances opaques aux Rayons X dans les artères (exemples : l'aorte, la carotide...).

B. VOIE INTRACARDIAQUE :

- Pour les cas désespérés (adrénaline).

C. VOIE INTRARACHIDIENNE :

- Utilisée par les anesthésistes pour réaliser une anesthésie limitée aux membres inférieurs et au petit bassin (anesthésie locorégionale).
- En dehors des anesthésiques locaux, on peut injecter dans le liquide céphalo-rachidien des glucocorticoïdes, certains antibiotiques...
- Il faut éviter formellement les solutions alcalines ou acides susceptibles de provoquer des lésions nerveuses définitives.

D. VOIE INTRADERMIQUE :

Cette voie est utilisée essentiellement pour administrer des vaccins (exemple : BCG) ou des préparations pour tester les phénomènes d'allergie ou de sensibilisation.

3.5. FORMES PHARMACEUTIQUES UTILISÉES PAR LES VOIES PARENTÉRALES :

- Ampoules en verre de forme et de contenance variées (1 ml à 50 ml).
- Flacons en verre ou poches en matière plastique pour les gros volumes (125 ml à 1000 ml).
- Certaines préparations injectables sont réalisées au moment de l'emploi par dissolution ou mise en suspension d'une poudre dans un liquide approprié.

4. VOIES LOCALES :

Les médicaments administrés par cette voie sont destinés à traiter des affections localisées, ils ne sont pas destinés à pénétrer dans la circulation sanguine, mais ils peuvent y parvenir et exercer dans certains cas des effets parfois indésirables (exemple : corticoïdes).

4.1. APPLICATIONS SUR LA PEAU :

L'épiderme ne se laisse traverser ni par l'eau ni par les solutions aqueuses.

L'absorption des substances liposolubles s'y effectue par les follicules pileux et les glandes sébacées, car il s'y trouve une seule assise de cellules non-kératinisées et du sébum.

FORMES PHARMACEUTIQUES UTILISÉES :

pommades, crèmes, lotions...

bombes à aérosols (exemple : Pulvo 47®) où le médicament est présent sous forme de très fines gouttelettes dans un mélange de gaz propulseur et d'air atmosphérique.

Il existe deux types d'excipients pour ces produits :

- Les uns sont dépourvus de pouvoir de pénétration (vaseline, lanoline) sont réservés à une action locale, c'est le cas des **topiques**.
- Les autres possèdent un pouvoir pénétrant (émulsion huile-eau), dont il faut se méfier (cas des cortisoniques).

Il a été mis au point des Systèmes Thérapeutiques Transdermiques qu'on applique sur la peau et qui permettent de libérer de façon régulière le médicament dont l'excipient favorise la pénétration à travers la peau pour rejoindre la circulation générale (exemple : Nitriderm TTS® qui contient de la trinitrine).

4.2. APPLICATIONS SUR LES MUQUEUSES :

A. OCULAIRE :

- collyres,
- crèmes ophtalmiques.

Divers médicaments peuvent être appliqués au niveau de la muqueuse oculaire : anesthésiques locaux, anti-infectieux, anti-glaucomeux.

B. NASALE :

- gouttes, collutoires, nébuliseurs.

C. AURICULAIRE :

- gouttes, pommade pour le conduit auditif externe.

D. GÉNITALE :

- les ovules et les comprimés gynécologiques permettent le traitement local des infections vaginales bactériennes ou parasitaires.
- solutions d'antiseptiques (exemple : Mercryl®).

E. URINAIRE (URÈTRE, VESSIE) :

- Antiseptiques utilisés pour les lavages vésicaux.
- Aucune absorption ne se fait à partir de la muqueuse vésicale saine, mais il n'en est pas de même en cas de lésion et il y a un risque de passage dans la circulation des antiseptiques utilisés pour un lavage vésical.

F. ALVÉOLAIRE (INHALATION) :

Les produits administrés par voie alvéolaire peuvent avoir un effet général en raison de la riche vascularisation de la muqueuse alvéolaire et de la possibilité de résorption qui s'en suit. C'est pour cette raison qu'on administre par cette voie des anesthésiques généraux gazeux (peroxyde d'azote, éther).

La forme la plus utilisée par cette voie est représentée par les **aérosols** qui sont des brouillards de gouttelettes très fines pouvant exercer une action locale ou une action générale tout en évitant la barrière hépatique.

On administre ainsi :

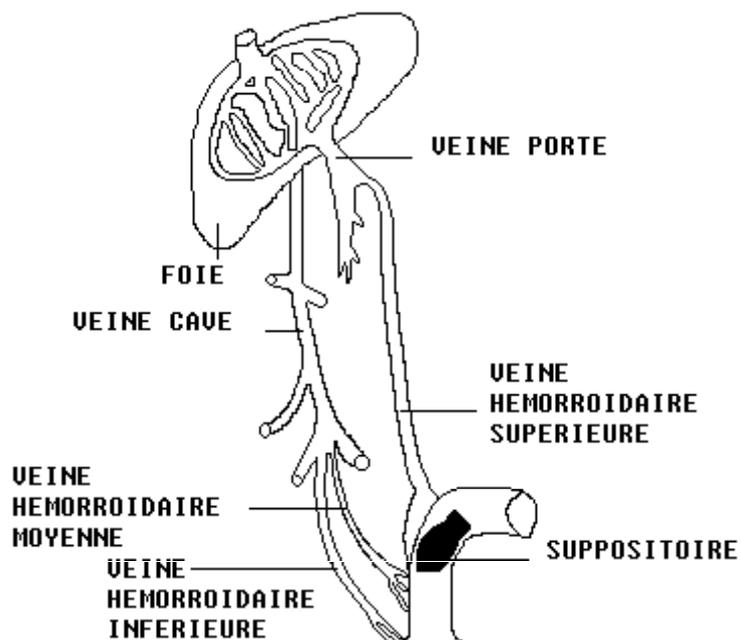
- des antihistaminiques (Lomudal®),
- des bronchodilatateurs (Ventoline®).

4.3. INJECTIONS INTRA-ARTICULAIRES ET INTRA-PLÉURALES :

Une **asepsie rigoureuse** est nécessaire, surtout en cas d'injection intra-articulaire de corticoïdes.
La voie intra-pleurale est utilisée surtout pour des injections d'antibiotique ou d'anti-inflammatoire.

ANNEXES

Vascularisation du Rectum



EVALUATION FORMATIVE

Pour les questions suivantes, indiquer dans l'espace réponse la (ou les) lettre(s) correspondant à la (ou aux) proposition(s) correcte(s) :

Question N° 1 : L'administration par voie sous-cutanée des médicaments :

- A. réalise toujours une voie locale.
 - B. ne comporte pas de risque infectieux.
 - C. est efficace en cas de choc.
 - D. permet l'injection de formes à résorption retardée.
-

Question N° 2 : Un patient est amené aux urgences dans le coma. On peut obtenir un résultat efficace et quasi immédiat en utilisant les médicaments de préférence par voie :

- A. sous-cutanée.
 - B. orale.
 - C. intraveineuse.
 - D. intramusculaire.
-

Question N° 3 : L'injection intramusculaire est utilisée :

- A. pour obtenir un effet immédiat.
 - B. pour l'injection de substances nécrosantes.
 - C. en tant que voie générale.
 - D. dans le cadran inféro-externe de la fesse.
-

Question N° 4 : La voie orale est pratique pour le traitement :

- A. par l'insuline.
 - B. à domicile.
 - C. de grandes populations.
 - D. de l'état de choc.
-

Question N° 5 : Par voie intraveineuse le médicament :

- A. peut être utilisé en cas d'urgence.
 - B. doit être injecté rapidement.
 - C. emprunte une voie générale.
 - D. est administré de façon contrôlable.
-

DEVENIR DU MEDICAMENT DANS L'ORGANISME PHARMACOCINETIQUE QUALITATIVE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Décrire les mécanismes de traversée des membranes biologiques.
2. Indiquer les facteurs déterminant la résorption digestive des médicaments.
3. Décrire les mécanismes par lesquels des facteurs physiologiques, pathologiques et pharmacologiques modifient la résorption digestive des médicaments.
4. Expliquer les conséquences pharmacocinétiques et thérapeutiques de la liaison des médicaments aux protéines plasmatiques.
5. Décrire les conséquences des biotransformations des médicaments.
6. Expliquer les variations physiologiques, pathologiques et pharmacologiques des biotransformations des médicaments.
7. Décrire les mécanismes de l'élimination rénale des médicaments.
8. Indiquer les variations physiologiques, pathologiques et pharmacologiques de l'élimination rénale des médicaments.
9. Citer les voies secondaires de l'élimination des médicaments.

INTRODUCTION

Une fois administré le médicament doit être le plus souvent amené à son site d'action. Durant ce parcours le médicament subit plusieurs phénomènes qui conditionnent sa concentration au site d'action. De cette concentration dépend l'effet du médicament. Ces phénomènes de pharmacocinétique contribuent ainsi à l'action du médicament, mais aussi à son élimination de l'organisme. La perturbation de ces phénomènes peut contribuer à l'inefficacité ou la toxicité des médicaments.

1. GÉNÉRALITÉS :

Le sort du médicament dans l'organisme représente l'ensemble des phénomènes physico-chimiques qui assurent le passage et la progression de ces substances dans l'organisme. On peut les subdiviser, pour des considérations didactiques, en 5 phases (cf. schéma).

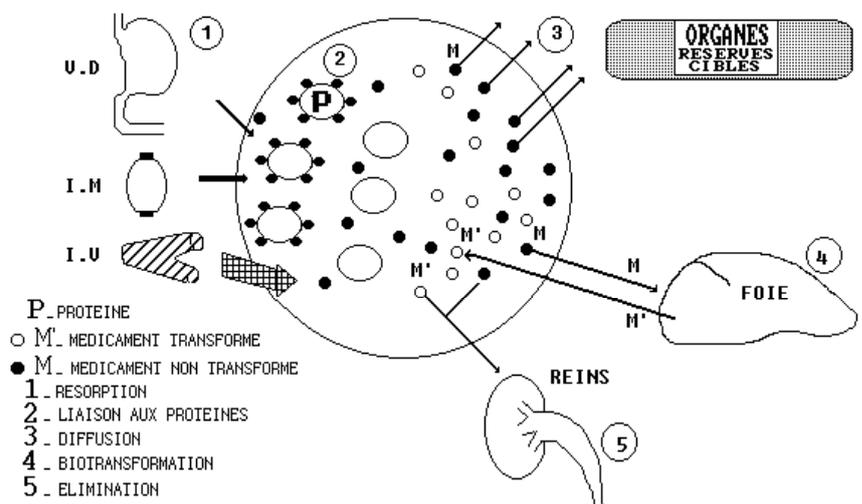
La résorption : c'est-à-dire le passage du médicament à partir des différentes voies d'administration dans la circulation générale.

Le transport sanguin : avec fixation d'une partie du médicament aux protéines plasmatiques.

La diffusion : ou distribution du médicament dans les tissus et organes où il peut se fixer. Cette fixation peut engendrer une action pharmacologique ou constituer une forme de stockage. La diffusion au foie et au rein est particulièrement importante pour le déroulement des 2 phases suivantes.

Les biotransformations : une certaine proportion du médicament est transformée en « métabolites » qui peuvent être actifs, inactifs et/ou toxiques.

l'élimination du médicament et de ses métabolites.

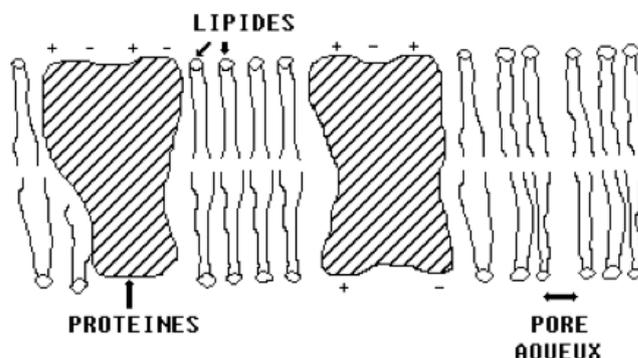


Cette progression du médicament comporte essentiellement des transferts à travers des membranes cellulaires (intestin, muscles, paroi vasculaire, organes cibles, foie, rein...) qui ont en commun certaines caractéristiques. Il nous a semblé préférable d'étudier préalablement ces caractéristiques fondamentales avant d'envisager les 5 grandes phases du devenir du médicament dans l'organisme.

2. « TRAVERSÉE » DES MEMBRANES BIOLOGIQUES :

Le caractère fondamental de ces membranes est leur nature **lipidoprotéique** (modèle « en mosaïque fluide »). Elles sont constituées par une double couche de lipides, peu régulière, peu rigide (« fluide ») dans laquelle sont incluses des « pelotes » protéiques et ménagées des pores transmembranaires.

Compte tenu de cette structure le transfert se fera suivant des processus différents : filtration, diffusion passive, transfert actif grâce à un transporteur et pinocytose.



2.1. FILTRATION :

L'eau et certaines substances hydrosolubles de très faible poids moléculaire (urée, ions K^+ et Cl^- , pentoses) traversent les membranes au niveau des pores par un mécanisme passif.

2.2. DIFFUSION PASSIVE :

C'est le phénomène le plus important pour le passage des médicaments. Il fait intervenir le gradient de concentration, la liposolubilité, l'ionisation et la fixation aux protéines.

A. LE GRADIENT DE CONCENTRATION :

La diffusion passive ne nécessite pas d'énergie, car elle se fait dans le sens du gradient de concentration : la substance passe du milieu le plus concentré au milieu le moins concentré.

B. LA SOLUBILITÉ :

Les substances qui pénètrent le plus rapidement à travers les membranes sont celles qui ont une **faible taille** et une **liposolubilité** importante. Ceci s'explique par la nature lipidique de la membrane : une molécule liposoluble (non ionisée, non polaire) diffuse bien et une molécule hydrosoluble (très ionisable, polaire) pénètre peu (exemple : les bases fortes telles que les aminosides).

C. L'IONISATION :

Elle joue en sens inverse de la liposolubilité. Plus une molécule est ionisable (donc hydrosoluble) moins elle passera.

Sachant que la plupart des médicaments sont des **acides faibles** ou des **bases faibles** ils sont ionisables en fonction du pH du milieu et ainsi peuvent voir leur liposolubilité changer. En effet l'ionisation accroît l'hydrosolubilité d'une substance, mais en diminue la liposolubilité et par conséquent la capacité de résorption.

Chez l'homme le pH digestif varie beaucoup : très acide dans l'estomac (pH = 1) il augmente dans le duodénum et l'iléon (pH = 5,5). Ainsi le même médicament aura une ionisation et une résorption variables en fonction de l'étage digestif. Les acides faibles (salicylés, barbituriques) sont en milieu gastrique, peu ionisés donc bien résorbés alors qu'en milieu intestinal, leur ionisation est forte et leur passage diminue.

Au contraire les bases faibles (alcaloïdes, quinine, amphétamines...) sont fortement ionisées au pH gastrique et ne seront résorbées que plus loin dans le jéjuno-iléon où elles sont peu ionisées. L'équation d'Henderson-Hasselbach lie la propor-

$$pH = pKa + \log \frac{[\text{ionisé}]}{[\text{non-ionisé}]} \quad \text{pour les acides}$$

$$pH = pKa - \log \frac{[\text{ionisé}]}{[\text{non-ionisé}]} \quad \text{pour les bases}$$

tion du produit non-ionisé au pH du milieu :

Ainsi nous avons :

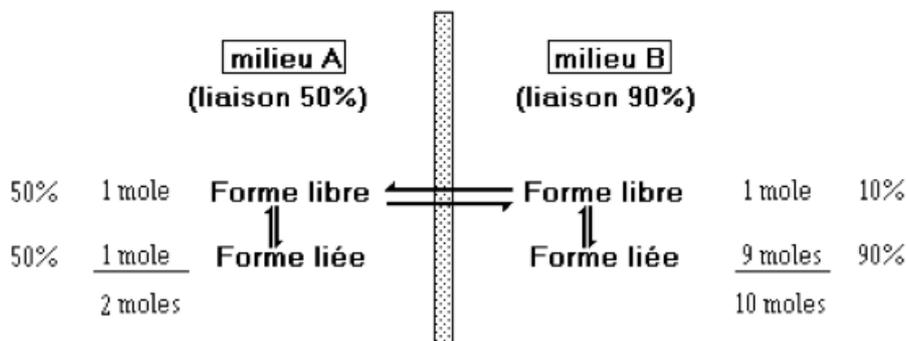
	pH du milieu	Acide faible Aspirine I/NI	Base faible Quinine I/NI
pKa		3	8.4
Estomac	1	1/100	25100000/1
Jéjunum	5.5	316/1	794/1
Sang	7.4	25000/1	10/1

I. : ionisé

N.I. : non ionisé

D. LA FIXATION PROTÉIQUE :

Seule la forme libre du médicament traverse les membranes biologiques. La proportion de formes libres dépend du pourcentage de fixation aux protéines (protéines tissulaires, protéines plasmatiques).



2.3. TRAVERSÉE PAR L'INTERMÉDIAIRE D'UN TRANSPORTEUR :

Les mécanismes passifs, importants pour la plupart des médicaments, n'expliquent pas la résorption de nombreuses molécules (acides aminés, sucres, bases puriques... etc.). Pour ces derniers le passage s'effectue sous une forme combinée avec une molécule transporteuse membranaire.

A. DIFFUSION FACILITÉE :

C'est le cas des produits passant dans le sens d'un gradient de concentration : résorption duodénale du Calcium, entrée de la Choline dans les terminaisons cholinergiques.

B. TRANSPORT ACTIF :

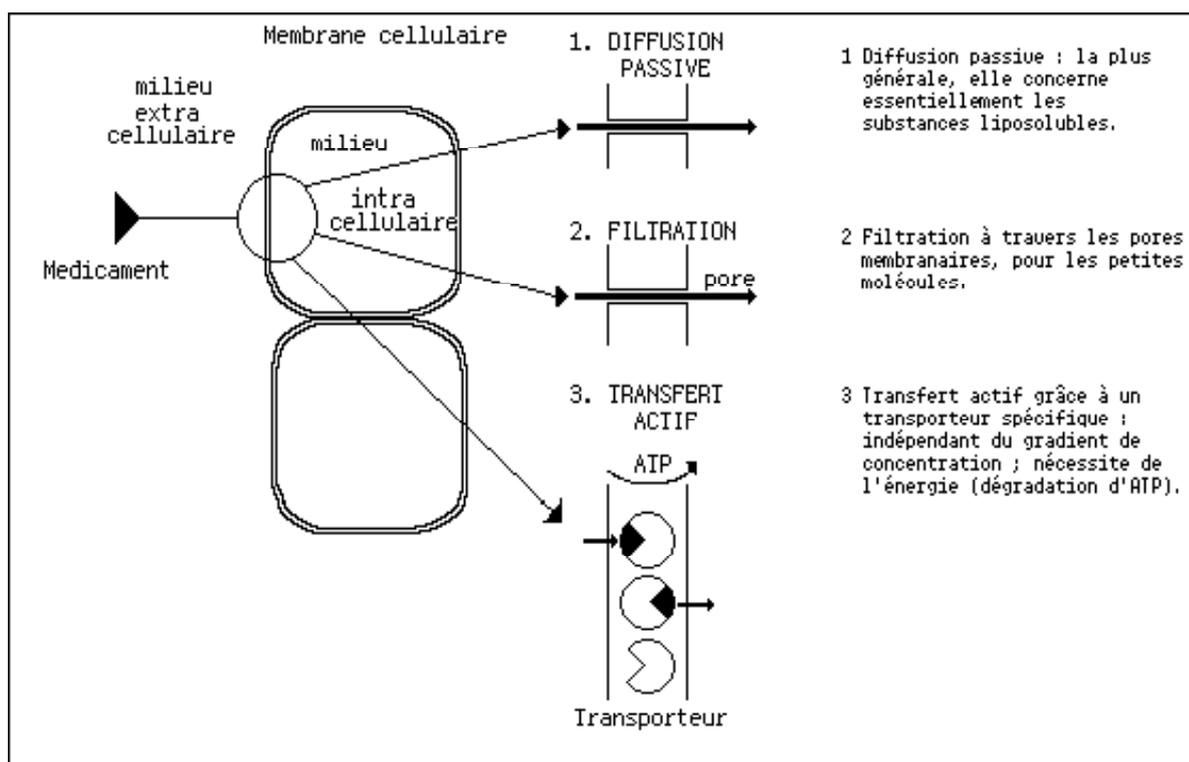
Il se fait **contre** un gradient de concentration et nécessite donc de l'**énergie**.

Il obéit à certains critères :

- saturation du transporteur (Tm comme celui du glucose),
- spécificité (le transporteur présente une structure spécifique adaptée à une seule substance ou parfois à quelques composés chimiquement très voisins).
- compétition entre molécules, de structures voisines ayant une affinité pour le même transporteur (Exemples : Sécrétion tubulaire de la Pénicilline ; Passage de la Pénicilline du liquide céphalo-rachidien vers le sang).

2.4. PINOCYTOSE :

Elle joue essentiellement pour les grosses molécules ou les gouttelettes lipidiques.



3. LA RÉSORPTION DIGESTIVE

Parmi les phénomènes théoriques décrits ci-dessus seule la diffusion passive aura de l'importance.

3.1. FACTEURS INFLUENÇANT LA RÉSORPTION DIGESTIVE :

A. LA LIPOSOLUBILITÉ DU MÉDICAMENT.

B. LE PH AU NIVEAU DU TUBE DIGESTIF.

C. LA TAILLE DES MOLÉCULES.

D. LE GRADIENT DE CONCENTRATION de la forme libre du médicament (d'où l'importance du pourcentage de fixation aux protéines plasmatiques).

E. LA SURFACE DE RÉSORPTION.

La surface de résorption est plus importante au niveau de l'intestin grêle (villosités et microvillosités) permettant une meilleure résorption : ainsi 38% d'une dose d'alcool seront résorbés en 1 h par l'estomac alors que 67% le seront en 10 minutes au niveau du grêle, ce qui explique la plus grande toxicité de l'alcool pris à jeun (pylore ouvert).

F. LE TEMPS DE CONTACT du médicament avec la muqueuse digestive.

G. LE DÉBIT SANGUIN SPLANCHNIQUE.

3.2. EXEMPLES :

A. Certains médicaments restant ionisés tout le long du tube digestif passeront peu ou pas et seront utilisés pour un traitement local (exemple : Sulfaguanidine dans le traitement des infections intestinales). De même les produits exclusivement liposolubles ne passeront pas : il en est ainsi pour la vaseline et la paraffine qui sont utilisées comme laxatifs.

B. ESTOMAC :

Les acides faibles (salicylés, barbituriques) sont peu ionisés en pH **acide** et peuvent passer facilement.

Les bases faibles (digitaliques, quinine, caféine) sont par contre très ionisées en milieu acide et traversent mal la barrière à ce niveau.

C. INTESTIN :

Les phénomènes sont inversés par rapport à l'estomac à cause du pH relativement « alcalin » (5 à 7). C'est ainsi qu'à ce niveau ce sont les bases faibles qui passeront fortement. Néanmoins pour les acides faibles le temps de contact et surtout la **surface** importante permettent le passage d'une grande quantité de ces produits au niveau intestinal.

3.3. FACTEURS MODIFIANT LA RÉSORPTION DIGESTIVE DES MÉDICAMENTS :

A. FACTEURS PHYSIOLOGIQUES :

Âge : chez le nouveau-né et le vieillard, on observe une diminution de la vidange gastrique et une augmentation du pH gastrique.

La vacuité de l'estomac qui laisse le pylore ouvert favorisant ainsi la résorption **intestinale** de certains médicaments ; ainsi des produits comme les tétracyclines, l'ampicilline, l'isoniazide, la rifampicine et le Lasilix® doivent être administrés loin d'un repas.

Cependant ceci n'est pas toujours vrai. C'est ainsi que plusieurs travaux ont montré que les aliments augmentent la résorption de certains médicaments comme l'Erythromycine®, l'Avlocardyl®, le Népressol® et la Griséofulvine® (cette dernière avec les graisses).

La grossesse : la résorption de l'ampicilline est diminuée.

B. FACTEURS PATHOLOGIQUES :

Les modifications du transit intestinal : accélération (diarrhée) et ralentissement (constipation) changent le temps de contact des médicaments avec la muqueuse digestive.

Lors des céphalées : diminution de la résorption de l'Aspirine.

Choc et insuffisance cardiaque : diminution de la résorption de la majorité des médicaments par réduction du débit splanchnique.

C. FACTEURS PHARMACOLOGIQUES :

Tous les médicaments qui modifient le transit intestinal vont influencer la résorption des produits qui leur sont associés. Ainsi les anti-diarrhéiques vont augmenter la résorption de certaines substances (digoxine).

Ce poly a été téléchargé depuis <http://med-tmss.blogspot.com/2016/08/cours.html>

Les pansements gastro-intestinaux diminuent le passage de nombreux médicaments. Exemples : digitaliques, anti-inflammatoires non stéroïdiens.

La cholestyramine (Questran®) utilisée pour le traitement des hypercholestérolémies chélate souvent des produits dont la formule ressemble au cholestérol. Exemples : digitaliques, paracétamol.

De même les tétracyclines forment un complexe avec des cations comme le fer, le calcium, le phosphore, le magnésium.

Les antiacides alcalinisent le pH gastrique et modifient ainsi la résorption des médicaments acides ou bases faibles.

Le Primpéran® accélère la vidange gastrique et diminue le temps de contact des médicaments avec la muqueuse gastrique. Ainsi les acides faibles normalement résorbés au niveau gastrique passeront rapidement dans l'intestin où les conditions de leur résorption sont moins favorables. À l'inverse les bases faibles gagneront plus rapidement l'intestin où leur résorption est maximale.

4. FIXATION PROTÉIQUE :

Au niveau du sang une fraction plus ou moins importante du médicament résorbé, va se fixer aux protéines plasmatiques. Le médicament se trouve alors sous deux formes plasmatiques :

- la forme **libre** dont dépend l'activité pharmacologique, car c'est la seule fraction qui diffuse à travers les membranes. Distribution, combinaison avec les sites récepteurs et élimination dépendent de cette fraction.
- la forme **liée**, non diffusible sert de réserve provisoire circulante.

4.1. CARACTÉRISTIQUES DE LA LIAISON AUX PROTÉINES :

a. La fixation aux protéines est **réversible** : il existe un équilibre entre la forme libre et liée.



Dès qu'une fraction du médicament libre quitte la circulation générale (par diffusion tissulaire ou par élimination) une autre fraction se libère des protéines pour rétablir l'équilibre.

- b. Tous les éléments figurés du sang comme toutes les protéines plasmatiques peuvent fixer les médicaments, les plus concentrés fixant le plus : globules rouges (Ht = 45 %), l'albumine (40 g/l), l'alpha1-glycoprotéine acide, les lipoprotéines et la gamma-globuline.
- c. Elle dépend de l'**affinité** du médicament pour la protéine et du **nombre de sites** de fixation sur celle-ci. Ces deux facteurs sont eux-mêmes déterminés par le degré d'ionisation du médicament qui est intimement lié au pKa puisque le pH du plasma est constant (7,4).

On distingue ainsi deux groupes de médicaments :

le groupe 1 : les acides faibles de pKa entre 3,5 et 6 sont presque totalement ionisés au pH plasmatique et se fixent avec une forte affinité sur des sites en nombre réduit.

Exemples : les anticoagulants oraux, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les benzodiazépines, les sulfamides, certaines pénicillines.

le groupe 2 : les acides très faibles (barbituriques), les bases faibles peu ionisées et les substances non ionisables se fixent avec une faible affinité sur des sites nombreux.

Exemples : les analgésiques centraux, les barbituriques, la digitaline, la rifampicine.

Principales caractéristiques et conséquences de la L.P.

	groupe 1	groupe 2
IONISATION au pH PLASMATIQUE	OUI	NON
NOMBRE DE SITES	réduit	élevé
AFFINITE	forte	faible
SATURATION A DOSES THERAPEUTIQUES	OUI	NON
INTERACTION MEDICAMENTEUSES	OUI	IMPROBABLES

4.2. MODIFICATIONS DE LA LIAISON AUX PROTÉINES :

A. PHYSIOLOGIQUES :

La liaison aux protéines est plus faible chez les enfants et les sujets âgés.

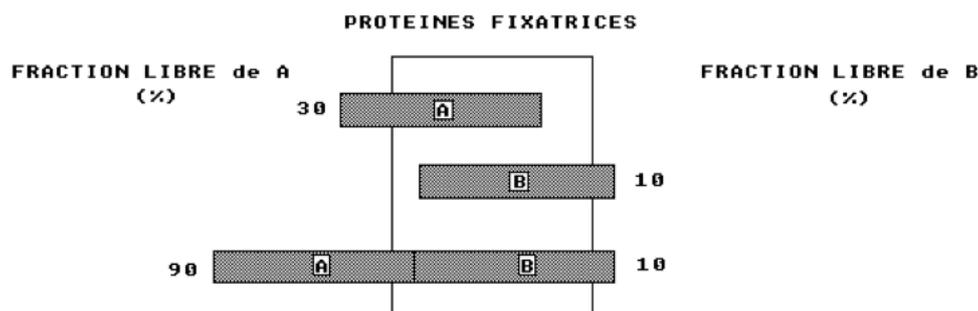
B. PATHOLOGIQUES :

Les hypoprotidémies (dénutrition, syndrome néphrotique) entraînent une diminution de la liaison protéique du médicament et une augmentation de sa forme libre. Il en est de même pour l'insuffisance rénale ou hépatique qui entraîne une modification des structures tertiaires et quaternaires des protéines. Il y a alors un risque de toxicité.

Les hyperprotidémies (maladie de Kahler) engendrent le phénomène inverse.

C. INTERACTIONS MÉDICAMENTEUSES :

Les médicaments du groupe 1 n'ayant à leur disposition que **peu de sites** de fixation, risquent d'être défixés par d'autres médicaments ayant une plus grande affinité pour les mêmes protéines, provoquant une augmentation de la forme libre et éventuellement un surdosage.



Ex : voir ci-dessous "les conséquences thérapeutiques"

Dans ce schéma nous notons que quand chacun de ces 2 médicaments du groupe 1 sont administrés séparément, ils vont occuper les sites de fixation disponibles en fonction de leur affinité respective pour les mêmes récepteurs, la proportion de formes libres étant de 30% pour A et de 10% pour B. Administrés simultanément, c'est le médicament qui a la plus forte affinité (ici le médicament B) qui va se fixer préférentiellement aux récepteurs, laissant peu de places au médicament de moindre affinité (ici le médicament A) qui va voir sa fraction libre augmentée. Dans l'exemple présent la fraction libre de A passe de 30 à 90%.

4.3. CONSÉQUENCES :

A. CONSÉQUENCES PHARMACOCINÉTIQUES :

La liaison aux protéines (L.P.) accroît la **solubilité** des médicaments. Ceci est important pour le transport des médicaments lipophiles (Digitaline®).

Seule la **forme libre est diffusible** à travers les membranes :

- La L.P. contribue à créer un gradient de concentration de la forme libre favorisant la résorption gastro-intestinale.
- Une L.P. importante ralentit la diffusion tissulaire et prolonge ainsi l'effet pharmacologique (Digitaline®).
- Au niveau du liquide céphalo-rachidien (L.C.R.) la teneur en protéines est faible. Pour une **même concentration totale** (libre et liée) dans le L.C.R. et le sang, c'est au niveau du L.C.R. que les Sulfamides antibiotiques sont plus actifs.
- La L.P. retarde l'élimination du médicament et augmente ainsi sa demi-vie.

B. CONSÉQUENCES THÉRAPEUTIQUES :

Pour les médicaments dont le pourcentage de fixation est élevé, l'obtention d'un effet rapide nécessite l'administration d'une dose de charge qui saturera les protéines plasmatiques. Elle sera suivie de doses d'entretien qui compenseront les pertes.

En cas d'hypoalbuminémie, il faut réduire les doses des médicaments.

Les interactions médicamenteuses par défixation protéique peuvent entraîner des accidents :

- hémorragiques par défixation des antivitamines K par les salicylés, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, l'Edécine®, le clofibrate (hypolipémiant).
- hypoglycémiques par défixation des sulfamides hypoglycémifiants par les sulfamides antibactériens, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les salicylés, le clofibrate.

Certains médicaments interfèrent au niveau de la L.P. avec des constituants physiologiques. La bilirubine est défixée par les sulfamides antibactériens chez le nouveau-né avec risque d'ictère nucléaire.

5. DIFFUSION TISSULAIRE DES MÉDICAMENTS :

5.1. CARACTÉRISTIQUES :

La diffusion tissulaire est liée à la nature du :

A. MÉDICAMENT (lipophilie, taille, ionisation...).

B. TISSU CONSIDÉRÉ : la quantité de médicaments qui passe dépend de :

l'**affinité** du médicament pour les protéines tissulaires. En fait c'est le rapport : affinité aux protéines tissulaires sur affinité aux protéines plasmatiques qui jouera puisque seule la forme **libre** traverse les membranes. (revoir schéma § 2.2. **d.**)

le **nombre de sites** récepteurs sur les protéines tissulaires.

la **taille du tissu**.

la **vascularisation sanguine** permet de différencier 4 groupes :

groupe 1 : tissus très vascularisés : cœur, poumons, cerveau et glandes endocrines.

groupe 2 : tissus moyennement vascularisés : peau et muscles squelettiques.

groupe 3 : tissus peu vascularisés : tissu adipeux.

groupe 4 : tissus à vascularisation négligeable : os, dents, tendons, ligaments et cartilages.

5.2. EXEMPLES :

A. SYSTÈME NERVEUX CENTRAL :

Les médicaments lipophiles (exemple : barbituriques) traversent rapidement la barrière hématoencéphalique. Au contraire certains antibiotiques hydrophiles (exemple : aminosides) sont inactifs dans les méningites par voie générale, car ils ne traversent pratiquement pas la barrière hémato-méningée.

B. PLACENTA :

Chez la femme enceinte, il faut se méfier des médicaments qui traversent le placenta et qui comportent des risques toxiques ou tératogènes pour l'embryon et le fœtus.

C. REIN ET VOIES BILIAIRES :

Lors d'une infection urinaire ou biliaire, il faut utiliser un antibiotique qui s'élimine sous forme **active** par voie urinaire ou biliaire. L'ampicilline et ses apparentés sont en pratique les seuls antibiotiques à s'éliminer sous forme active par ces deux voies.

6. BIOTRANSFORMATIONS :

La majorité des médicaments sont transformés avant d'être éliminés. Cette transformation donne généralement des métabolites plus hydrosolubles que la molécule-mère donc plus faciles à éliminer. On peut considérer ces biotransformations comme une fonction de détoxification.

6.1. LIEU :

Le principal organe de biotransformations est le **foie** compte tenu de sa richesse en matériel enzymatique et de sa vascularisation importante. Mais il n'est pas le seul puisque pour certains médicaments les poumons, les reins, les globules rouges et le tube digestif jouent un rôle non négligeable. Cette transformation se fait dans les **microsomes hépatiques** riches en « systèmes enzymatiques », dont le système du **cytochromeP₄₅₀**.

6.2. TYPES DE TRANSFORMATION :

On peut classiquement distinguer deux grands types de transformations :

A. RÉACTIONS DE TYPE 1 :

Elles aboutissent à des métabolites M' proches du médicament M. Les métabolites M' peuvent être actifs, inactifs voire toxiques. Les réactions de type 1 sont l'oxydation, la réduction, l'hydrolyse, la décarboxylation.

B. RÉACTIONS DE TYPE 2 :

Elles aboutissent à des métabolites M' assez différents de la molécule-mère. Ces métabolites M' sont très hydrosolubles, facilement éliminables donc non-toxiques pour l'organisme. Il s'agit de l'acétylation et des conjugaisons avec l'acide glucuronique, l'acide sulfurique ou certains acides aminés tels que la glycine ou avec un résidu méthyl (méthylation).

6.3. CONSÉQUENCES DE CES BIOTRANSFORMATIONS :

Ces transformations peuvent revêtir plusieurs aspects :

A. M ACTIF -----> M'INACTIF :

C'est le cas le **plus fréquent** où le métabolite n'est ni actif ni toxique et est facilement éliminable de l'organisme. C'est la fonction de **détoxification** du foie.

B. M PEU ACTIF OU INACTIF -----> M'ACTIF :

C'est un cas assez rare : M est appelé prodrug ou promédicament.

La spironolactone (Aldactone®) devient canrénone pour agir comme diurétique anti-aldostérone. D'ailleurs pour avoir une action plus rapide, cette canrénone a été commercialisée : Phanurane®.

La bacampicilline (Bacampicine®) médicament inactif traverse bien le tube digestif. Arrivée dans la circulation générale, elle devient de l'Ampicilline active.

C. M ACTIF -----> M'ACTIF :

Le diazépam (Valium®) se transforme en oxazépam (Séresta®) qui est moins actif, mais de durée d'action plus prolongée.

D. M -----> M' TOXIQUE :

La transformation aboutit à un métabolite M' instable dit « **réactif** » c'est à dire pouvant se combiner facilement avec des protéines tissulaires de façon irréversible. Il en découle souvent une toxicité hépatique importante.

L'exemple type est celui de l'isoniazide (Rimifon®) qui est un antituberculeux. Sa transformation se fait par acétylation, le produit acétylé se transformant ensuite en métabolite « réactif ». Dans la population il existe deux groupes d'individus déterminés génétiquement : les acétylateurs lents (A.L.) et les acétylateurs rapides (A.R.). Chez les A.R. il y a formation rapide et importante de produit « réactif » hépatotoxique.

6.4. « FIRST PASS EFFECT » OU « PHÉNOMÈNE DE PREMIER PASSAGE » :

Pour certains médicaments une fraction importante est transformée dès le premier passage hépatique et ceci diminue considérablement la quantité de médicaments actifs. Il est important de savoir si ce phénomène est saturable.

C'est le cas de la Rifampicine (antituberculeux majeur) qui est prescrite à la dose de 600 mg/j pour un adulte en **une prise quotidienne**. Le fractionnement en 2 prises de 300 mg entraîne une métabolisation rapide après chaque administration par le phénomène du premier passage. Alors que la dose unique de 600 mg permet de saturer les enzymes des microsomes hépatiques et d'avoir en même temps des concentrations plasmatiques suffisantes. « En affirmant dans ce cas que **2 x 300 = 0**, P. Simon n'avait pas l'intention d'inventer de nouvelles mathématiques ».

Un deuxième exemple est celui des bêtabloquants qui subissent aussi un phénomène de premier passage important.

6.5. VARIATIONS DES BIOTRANSFORMATIONS :

A. FACTEURS GÉNÉTIQUES :

Inhérents à l'espèce :

Le lapin est moins sensible à l'atropine que l'homme, car il possède une estérase plasmatique qui hydrolyse rapidement cet alcaloïde.

Le Madribon®, ancien sulfamide antibactérien, donnait après biotransformation : 41% de forme acétylée insoluble chez le lapin contre 5% seulement chez l'homme.

Cette discordance d'espèce explique la difficulté d'extrapoler les résultats de l'expérimentation animale à l'homme et justifie les essais thérapeutiques.

Inhérents à l'individu :

Le déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase (15% de la population d'Afrique Noire et du pourtour méditerranéen) génétiquement déterminé, entraîne des anémies hémolytiques en cas d'administration de Primaquine (antipaludéen), de Sulfamides, de Chloramphénicol, d'Aspirine.

L'isoniazide est métabolisé au niveau du foie par acétylation. Il existe des acétylateurs lents (A.L.) et des acétylateurs rapides (A.R.), ces deux groupes sont déterminés génétiquement et leurs proportions respectives dépendent de l'origine ethnique.

Origine ethnique	A.R. (%)	A. L. (%)
Esquimaux	95	5
Asiatiques	80	20
Américains du Sud	70	30
Européens et blancs d'Amérique du Nord	45	55
Indous	40	60
Egyptiens	17	83
Tunisiens	35	65

La détermination de la vitesse d'acétylation se fait par le test d'acétylation de l'I.N.H. (réalisé au Laboratoire de Pharmacologie de la Faculté de Médecine de Tunis) qui repose sur le calcul de l'indice d'inactivation de l'I.N.H. trois heures après la prise :

$$I_3 = \frac{C_3 + 0,6}{D}$$

C_3 : concentration d'I.N.H. plasmatique 3 h après la prise.

D : dose administrée en mg/kg.

si $I_3 < 0,65$ A.R.

$I_3 > 0,65$ A.L.

La connaissance de cette vitesse d'acétylation est importante pour fixer la dose thérapeutique adéquate et éviter les effets indésirables. Chez les A. L. il y a un risque d'accumulation de l'isoniazide (en cas de surdosage) et d'apparition de troubles neurologiques (polynévrites, troubles de la conscience).

Il faut savoir que le dérivé acétylé conduit à une acétylhydrazine laquelle est transformée au niveau du cytochrome P450 :
 - d'une part en diacétylhydrazine (sous l'action de la même enzyme qui acétyle l'INH)
 - et d'autre part en un métabolite réactif toxique pour le foie.

Ce métabolisme peut être stimulé par les inducteurs enzymatiques.

La diminution de l'acétylation de la dihydralazine entraîne chez les A. L. un lupus érythémateux disséminé.

La déficience partielle de l'hydroxylation de la diphénylhydantoïne chez certains sujets entraîne des troubles neurologiques (nyctagmus, ataxie...) par accumulation du produit.

B. FACTEURS PHYSIOLOGIQUES :

L'immaturation des systèmes enzymatiques du nouveau-né et la diminution de l'activité des microsomes hépatiques du vieillard expliquent la plus grande sensibilité aux médicaments que l'on observe aux deux extrémités de la vie.

C. FACTEURS PATHOLOGIQUES :

L'insuffisance hépatique entraîne une diminution des biotransformations des médicaments. Pour les médicaments normalement inactivés par le foie, il y a un risque de toxicité.

D. FACTEURS PHARMACOLOGIQUES :

L'induction enzymatique :

C'est un phénomène de stimulation des enzymes microsomiales hépatiques provoquée par un médicament appelé alors inducteur enzymatique.

Cette stimulation n'est pas spécifique, car elle intéresse non seulement les enzymes qui transforment le médicament inducteur (auto-induction), mais aussi les enzymes qui métabolisent tout autre médicament administré simultanément.

On distingue, en fonction de l'effet inducteur, trois groupes, par ordre de puissance décroissante :

groupe I :	phénobarbital	Gardéna®
	rifampicine	Rifadine®
	diphénylhydantoïne	Dihydan®
groupe II :	tolbutamide	
groupe III :	méprobamate	Equanil®
	griséofulvine	Griséofulvine®

L'induction enzymatique s'installe progressivement (en 2 à 3 semaines). À l'arrêt de l'inducteur, le métabolisme revient progressivement à la normale.

Les **conséquences** de l'induction enzymatique sont différentes selon la nature du (des) métabolite(s) résultant(s) de la biotransformation : métabolite actif, inactif ou réactif.

Inducteur	Médicament associé	Métabolite formé	Nature du métabolite	Conséquences
Phénobarbital	Antivitamines K	M'	inactif	Diminution de l'activité des AVK. Augmentation du T.P.
	Diphénylhydantoïne	M'	inactif	Diminution de l'activité antiépileptique.
Rifampicine	Oestroprogestatif (« pilule »)	M'	inactif	Disparition de l'effet contraceptif.
	Isoniazide	M'	réactif	Risque accru d'hépatotoxicité.
Phénobarbital	DOPA (inactive)	Dopamine	actif	Augmentation de l'activité anti-Parkinsonnienne.

L'Inhibition enzymatique :

Elle résulte d'une diminution de l'activité du système enzymatique sous l'effet d'un médicament qu'on appelle alors inhibiteur enzymatique. La Plupart des macrolides comme l'Erythromycine®, la Rovamycine®, le T.A.O.®, le Rulid® inhibent les biotransformations de :

- la théophylline avec risque de convulsions chez le nouveau-né,
- l'ergotamine avec risque de vasoconstriction périphérique.

La Cimétidine (Tagamet®) inhibe les biotransformations des antivitamines K.

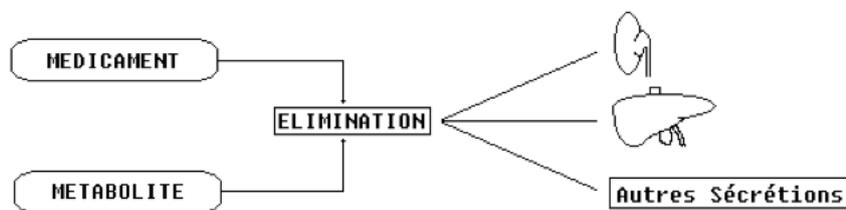
La Compétition entre 2 médicaments pour le même système enzymatique d'inactivation.

L'isoniazide et le P.A.S. sont tous les deux acétylés par l'acétyl-transférase. Quand ils sont administrés simultanément, l'affinité du P.A.S. pour l'acétyl-transférase l'emporte. L'isoniazide n'est pas acétylé et son effet sera accru.

7. ÉLIMINATION :

Tout médicament introduit dans l'organisme finit par être éliminé.

L'élimination intéresse le médicament et/ou ses métabolites. D'ailleurs certaines biotransformations, comme les réactions de conjugaison, en combinant de petites molécules polaires de l'organisme au médicament ou à son métabolite, conduisent à des dérivés inactifs hydrosolubles et facilement éliminés. L'excrétion des médicaments se fait par divers émonctoires, le plus important d'entre eux étant le rein.



7.1. L'ÉLIMINATION RÉNALE :

Le débit rénal constitue 25% du Débit Cardiaque. Sur 150 litres filtrés par 24 heures, on obtient 1,6 litre d'urines définitives. Les médicaments s'y trouvent sous forme inchangée ou métabolisée.

A. LES MÉCANISMES :

La filtration glomérulaire :

Elle consiste en une diffusion **passive** d'eau et de substances de faible poids moléculaire.

Elle dépend donc de :

1. la pression de filtration : $P.F. = P.H. - (P.O. + P.H.T.)$

Pression de Filtration (P.F.). Pression Hydrostatique (P.H.).

Pression Oncotique (P.O.). Pression Hydrostatique Tubulaire (P.H.T.).

Quand la pression hydrostatique est < 10 mm Hg la filtration glomérulaire chute. Cette dernière devient nulle quand la P.H. < ou = 6 mm Hg.

Ainsi la Filtration glomérulaire dépend du débit sanguin glomérulaire.

2. la taille des molécules :

	P.M.	taille (Å)	Filtrat/liquide à filtrer
eau	18	1	1,0
urée	60	1,6	1,0
insuline	5 500	14,8	0,98
Hb	68 000	32,5	0,03
Alb	69 000		<0,01

Ce tableau montre que plus la taille de la molécule augmente, moins on en trouve dans le filtrat en comparaison avec le liquide à filtrer.

3. la liaison protéique qui est caractérisée par :

- le degré de liaison,
- la quantité de protéines sériques,
- la qualité des protéines (ex. : le prématuré).

Ce processus dépend de la concentration plasmatique de la forme libre du médicament.

L'excrétion tubulaire :

Elle intéresse les cellules du tubule proximal et est réalisée par un système de **transport actif** qui comporte deux mécanismes, l'un intéressant les anions, l'autre les cations.

Acides faibles (anions)	Bases faibles (cations)
Pénicilline	Choline
Céfalotine	Hexaméthonium
Chlorothiazide	Tétraéthylammonium
Salicylates	Thiamine (vitamine B1)
Probénicide	Mécamylamine
Acide Para-aminohippurique	N-méthylnicotinamide
Substance glycuconjuguée	Dopamine
Substance sulfonoconjuguée	Dérivés de la guanidine
	Quinine
	Quinidine
	Histamine

Cette excrétion concerne ainsi des médicaments eux-mêmes ionisables ou bien conjugués à des acides faibles, comme l'acide glycuronique, qui sont des substances protonisables (anions ou cations).

S'agissant de transport actif, les processus mis en jeu nécessitent un apport d'énergie, car il utilise un transporteur qui permet la sécrétion contre un gradient de concentration.

Ces processus sont **saturables**. On peut ainsi saturer le transport des bases faibles par la quinine (ou la quinidine, mais à dose toxique) ou établir une compétition entre 2 acides faibles comme la pénicilline et le probénicide (cette propriété était auparavant utilisée pour ralentir l'élimination de la pénicilline et prolonger sa durée d'action).

La fixation aux protéines plasmatiques n'est pas un facteur limitant à cette sécrétion tubulaire.

Ainsi le furosémide (Lasilix®) se fixe à 97% aux protéines plasmatiques et pourtant sa demi-vie est courte de 0,8 heure. Ceci s'explique par le fait que son affinité pour le transporteur protéique tubulaire est plus grande que son affinité pour les protéines plasmatiques.

La réabsorption des médicaments :

Elle commence à la portion terminale du tubule proximal et consiste en une **diffusion passive** qui suit le gradient de concentration entre les liquides intratubulaire et pérítubulaire.

La principale caractéristique du médicament qui intervient est alors sa **liposolubilité** :

- cas du thiopental dont le séjour prolongé dans l'organisme s'explique par cette réabsorption due à sa liposolubilité,
- les formes conjuguées polaires sont peu liposolubles et moins bien réabsorbées,
- le pH de l'urine au niveau du tubule distal détermine la proportion de la forme non-ionisée d'acide faible ou de base faible. La forme non-ionisée étant celle qui diffuse.

Ceci conduit à l'alcalinisation des urines pour accélérer l'élimination des barbituriques et leur acidification pour accélérer celle des amphétamines.

Médicaments	pKa	rapport : $\frac{Cl. \text{ médicament}}{Cl. \text{ inuline}}$	
		urine acide	urine alcaline
<u>Bases faibles :</u>			
Quinine	8,4	0,62	0,05
Procaine	8,95	2,25	0,25
Mécamylamine	11,5	4,6	0,06
<u>Acides faibles :</u>			
Phénobarbital	7,2	0,1	0,7
Salicylates	3	0,02	1,6

On compare la clearance du médicament à celle de l'inuline, car celle-ci est uniquement filtrée. Le chlorure d'ammonium permet d'obtenir des urines de pH = 5 et le bicarbonate de sodium des urines de pH = 8.

Il existe une réabsorption tubulaire active qui concerne les acides aminés (sauf la proline) et l'acide urique, ou des médicaments de structure voisine de celles des acides aminés (ex. : l'alpha méthyl dopa = Aldomet®) et qui utilisent les mêmes transporteurs.

B. VARIATIONS DE L'ÉLIMINATION RÉNALE :

Physiologiques :

Diminution de l'élimination rénale aux deux extrêmes de la vie : nouveau-né et sujet âgé.

Pathologiques :

La diminution de l'élimination du médicament ou de ses métabolites actifs lors de **l'insuffisance rénale** va aboutir à une accumulation de ces produits dans l'organisme et risque d'engendrer une toxicité.

Cependant cette diminution de l'élimination est proportionnelle au degré d'insuffisance rénale. Des études ont montré une corrélation entre la diminution de l'élimination rénale des médicaments et la modification de certains paramètres biologiques qui permettent d'apprécier la fonction rénale comme la clearance de la créatinine. On peut ainsi ajuster individuellement les posologies en fonction du degré d'insuffisance rénale en s'aidant des abaques (comme l'abaque de Dettli) qui indiquent pour les médicaments usuels les doses à administrer en fonction de la clearance à la créatinine.

L'abaque de Dettli (voir annexes) permet la détermination de la posologie à employer chez l'insuffisant rénal en fonction de la clearance de la créatinine.

Les ordonnées de l'abaque représentent la fraction de dose, c'est-à-dire le rapport de la dose à utiliser chez l'insuffisant rénal sur la dose utilisée chez un patient à fonction rénale normale.

Les abscisses représentent la clearance de la créatinine en ml/min.

Le tableau fournit pour les médicaments importants la fraction estimée de la dose usuelle (celle d'un sujet à fonction rénale normale) à utiliser chez un patient dont la clearance de la créatinine est nulle (insuffisance rénale terminale) : Fraction de **DOSE₀**.

Pour estimer la fraction de dose chez un insuffisant rénal, on relève la fraction de **DOSE₀** sur le tableau qu'on reporte en ordonnée sur l'abaque et on trace la droite reliant ce point au sommet droit de l'abaque. Le point d'intersection entre la clearance de la créatinine mesurée du patient et cette droite indique sur l'ordonnée de gauche la fraction de dose qui correspond à cette clearance particulière de la créatinine.

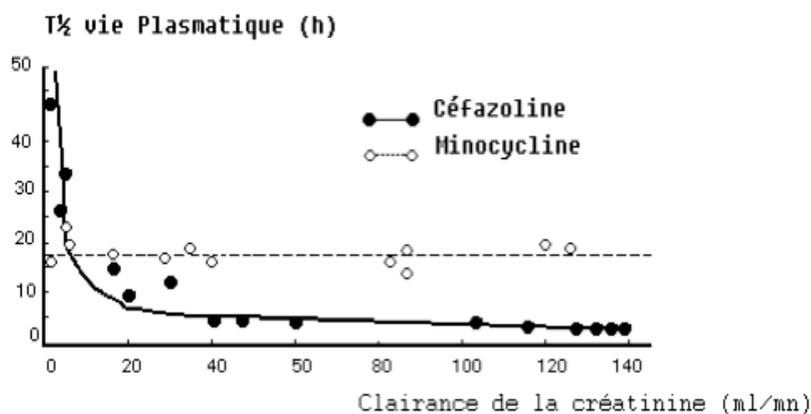
Prenons l'exemple d'un sujet dont la clearance de la créatinine est de 20 ml/min et qui requiert un traitement par la Pénicilline G.

Pour des patients dont la fonction rénale est normale, la dose usuelle est de 10 Millions d'unités/jour. Cette dose estimée est obtenue en rapportant la fraction de **DOSE₀** pour la Pénicilline G (0.1), lue sur le tableau, sur l'ordonnée gauche en traçant la droite reliant ce point au coin supérieur droit de l'abaque. Sur cette droite de fractions de dose pour la Pénicilline G, la clearance de la créatinine de 20 ml/min en abscisse indique une fraction de dose en ordonnée de 0.28. De ce fait la dose est de 0.28 x 10 Millions d'unités/jour.

Le rein n'apparaît comme un **facteur limitant** que pour les médicaments, dont l'élimination ou celle de leurs métabolites actifs se fait essentiellement par le rein.

Pour les médicaments éliminés par voie hépatobiliaire, l'insuffisance rénale n'entraîne pratiquement pas de modification de leur demi-vie plasmatique et la posologie ne sera pas modifiée. Dans ce cas le facteur limitant est le foie.

Céfazoline : excrétion essentiellement rénale.
 Minocycline : élimination essentiellement métabolique.



En pratique, lorsque dans la même classe thérapeutique, on dispose d'un médicament éliminé par le foie et l'autre par le rein on choisira :

- en cas d'insuffisance rénale le médicament éliminé principalement par la voie hépatobiliaire.

Ex. : Propranolol (Avlocardyl®) : bêtabloquant.
 Digitoxine (Digitaline®) : glucoside cardiotonique.

- et l'inverse en cas d'insuffisance hépatique.

Ex. : Aténolol (Ténormine®) : bêtabloquant
 Digoxine (Digoxine®) : glucoside cardiotonique.

Pharmacologiques :

Il s'agit des interactions médicamenteuses qui peuvent survenir à n'importe quel stade du processus de l'élimination rénale :

1. Filtration glomérulaire :

Les substances provoquant une diurèse osmotique comme le Mannitol entraînent une augmentation de la filtration glomérulaire.

2. Réabsorption tubulaire :

Le Sérum bicarbonaté alcalinise les urines et entraîne une plus grande élimination des acides faibles comme le Phénobarbital, qui sont davantage ionisés dans le liquide urinaire et donc moins réabsorbés.

3. Excrétion tubulaire :

Celle-ci est modifiée lorsqu'apparaît une compétition pour le transporteur. Voici quelques exemples :

Élimination préférentielle	Rétention
PROBENECIDE	PENICILLINE
QUINIDINE	DIGOXINE
AMIODARONE	DIGOXINE

7.2. L'ÉLIMINATION HÉPATOBIILAIRE :

Elle concerne les médicaments de poids moléculaire compris entre 500 et 1000.

Elle se fait contre un gradient de concentration (la concentration au sein de la bile est 20 à 500 fois plus élevée que celle plasmatique) par des mécanismes de transport actif saturables. Ainsi le probénécide retarde la sécrétion biliaire de la Rifampicine.

Le transport des anions organiques se fait par des protéines cytoplasmiques. Il intéresse : l'Ampicilline, les produits radio-opaques iodés, la pénicilline, le chlorothiazide et les substances devenues polaires par glycoconjugaison ou sulfonconjugaison.

L'élimination de cations organiques dans la bile concerne le transport d'ammoniums quaternaires : d-tubocurarine, dérivés de la procaïnamide.

Des composés non-ioniques sont également excrétés : certains glucosides digitaliques.

Toutes les substances excrétées dans la bile ne sont pas aussitôt éliminées, mais peuvent subir le **cycle entéro-hépatique** comme : le chloramphénicol, la novobiocine, la rifampicine, les tétracyclines. Certains médicaments sont éliminés sous

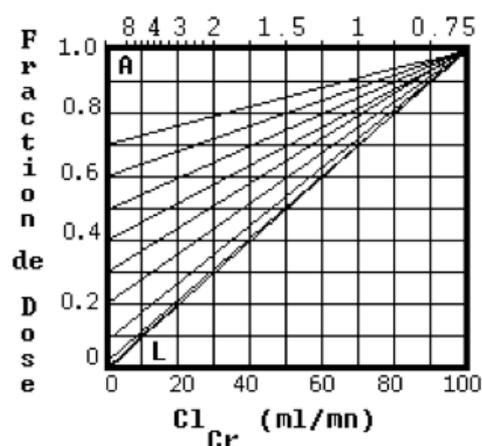
forme active dans les canalicules biliaires. Quand il s'agit d'un antibiotique, on peut mettre à profit cette propriété cinétique pour traiter les infections des voies biliaires. Notons que l'élimination hépatobiliaire peut devenir importante pour certains médicaments lorsque l'on est en présence d'une insuffisance rénale, exemple : le furosémide (Lasilix®).

7.3. LES AUTRES VOIES :

Elles sont d'importance mineure. L'élimination se fait par diffusion passive le plus souvent.

- a. **les larmes** : rifampicine ; iodures.
- b. **la salive** : amphétamines ; macrolides. On peut faire la preuve de leur administration en les dosant dans la salive.
- c. **l'estomac** : antidépresseurs tricycliques.
- d. **l'intestin** : Le furosémide et la phénytoïne que l'on retrouve après ligature du pylore et administration parentérale.
- e. **les sécrétions bronchiques** : iodures.
- f. **la sueur** : sulfamides ; salicylés ; bromures ; iodures ; quinine.
- g. **la peau et les phanères** : Les arsenicaux que l'on retrouve au niveau des phanères. La griséofulvine est présente dans les produits de desquamation de la peau.
- h. **l'air expiré** : Les substances gazeuses et volatiles comme le protoxyde d'azote, l'halothane, le fluothane, l'eucalyptol, le gaïacol.
- i. **l'appareil génital** :
 - vagin : métronidazole.
 - sperme : alcool.
- j. **le lait** : Il existe une corrélation un peu différée entre le taux plasmatique et le taux dans le lait (retard de passage). On doit donc choisir le moment de la tétée par rapport à la prise médicamenteuse. Leur excrétion dans le lait pose le problème du risque engendré par certains médicaments, chez le nouveau-né ou le nourrisson.

ANNEXES



Chacune des droites est associée à un groupe de médicaments qui sont métabolisés avec une même intensité dans l'organisme.

La droite **A** est relative à des produits qui sont exclusivement éliminés par voie métabolique et pour lesquels on ne retrouve pas de produit inchangé dans l'urine. Pour ces produits l'insuffisance rénale ne devrait jouer aucun rôle sur leur cinétique d'élimination (si seule cette fonction est altérée).

La droite **L** à l'autre extrémité est relative à des produits qui sont épurés essentiellement par le rein. La constante d'élimination sera alors fortement influencée par le degré de l'insuffisance rénale.

MEDICAMENT	FRACTION DE DOSE 0	MEDICAMENT	FRACTION DE DOSE 0
ANTIBIOTIQUES :			
Amikacine	0,02	Nafcilline	0,5
Amoxicilline	0,06	Oxacilline	0,4
Ampicilline	0,1	Oxytétracycline	0,2
Carbénicilline	0,1	Penicilline G	0,1
Céfalexine	0,04	Polymyxine B	0,12
Céfalaridine	0,08	Rifampicine	0,8
Céfalotine	0,04	Streptomycine	0,04
Céfazoline	0,06	Sulfadiazine	0,45
Chloramphénicol	0,95	Sulfaméthoxazole	0,8
Clindamycine	0,9	Tétracycline	0,12
Cloxacilline	0,25	Tobramycine	0,02
Colistine	0,3	Triméthoprime	0,45
Dicloxacilline	0,3	Vancomycine	0,03
Doxycycline	0,7		
Erythromycine	0,7	DIVERS :	
Gentamicine	0,02	Chlorpropamide	0,2
Isoniazide :		Lidocaïne	0,95
acétyleurs rapides	0,8	Sulfinpyrazone	0,55
acétyleurs lents	0,5		
Kanamycine	0,03		
Lincomycine	0,6	CARDIOTONIQUES :	
Méticilline	0,1	Digitoxine	0,7
Minocycline	0,85	Digoxine	0,3

EVALUATION FORMATIVE

Pour les questions suivantes, indiquer dans l'espace réponse la (ou les) lettre(s) correspondant à la (ou aux) proposition(s) correcte(s) :

Question N° 1 : La résorption gastrique d'un médicament est facilitée par :

- A. son importante liposolubilité.
- B. sa forte ionisation au pH gastrique.
- C. son faible poids moléculaire.
- D. sa faible liaison aux protéines plasmatiques.

Question N° 2 : Au pH du plasma, les médicaments qui présentent une forte affinité pour l'albumine plasmatique sont :

- A. les acides faibles.
- B. les bases faibles.
- C. les médicaments non-ionisés.
- D. les médicaments hydrosolubles.

Question N° 3 : L'association de troléandomycine (T.A.O.[®]) et de l'ergotamine est dangereuse, car :

- A. le T.A.O.[®] est un inhibiteur de l'excrétion tubulaire de l'ergotamine.
- B. le T.A.O.[®] déplace l'ergotamine de ses sites de fixation protéique.
- C. le T.A.O.[®] inhibe les biotransformations de l'ergotamine.
- D. le T.A.O.[®] chélate l'ergotamine au niveau du tube digestif.

Question N° 4 : L'administration de Primpéran[®] diminue la résorption gastrique de l'Aspirine[®], car le Primpéran[®] :

- A. modifie la fixation protéique de l'Aspirine[®].
- B. diminue le temps de contact de l'Aspirine[®] avec la muqueuse gastrique.
- C. diminue le débit sanguin splanchnique.
- D. inhibe les biotransformations de l'Aspirine[®].

Question N° 5 : Le phénobarbital est un inducteur enzymatique. Il augmente :

- A. l'activité des antivitamines-K.
- B. l'activité antiparkinsonienne de la L-DOPA.
- C. le Taux de Prothrombine d'un sujet qui prend des antivitamines-K.
- D. l'activité des oestroprogestatifs.

Question N° 6 : La diffusion passive des médicaments :

- A. se fait contre un gradient de concentration.
- B. dépend de leur liposolubilité.
- C. ne nécessite pas d'énergie.
- D. concerne les molécules liées aux protéines.

Réponse :.....

Question N° 7 : Un inhibiteur enzymatique :

- A. augmente l'élimination biliaire des médicaments.
- B. diminue la diffusion tissulaire des médicaments.
- C. diminue les biotransformations des médicaments.
- D. augmente la liaison protéique des médicaments.

Pour les questions suivantes, écrire votre réponse dans l'espace réponse.

Question N° 8 : On découvre une hypercholestérolémie chez M. Ali..., cardiaque connu, bien équilibré par de la Digitaline® (2 cp/j un jour sur deux) depuis 2 ans. Son médecin traitant le met sous Questran® à la posologie de 3 sachets par jour. Au bout de 3 jours, M. Ali... devient dyspnéique, tachycarde.
Comment expliquez-vous cette décompensation ? Quelle précaution préconisez-vous ?

Question N° 9 : On diagnostique une gastrite chez M. Amor..., hypertendu équilibré (T. A. = 14/9cmHg) par un comprimé de Lasilix®/j. Son médecin lui prescrit du Phosphalugel® (3 sachets/j). Quelques jours après, les chiffres tensionnels sont à 17,5/10 cm Hg. Comment expliquez-vous cette réascension des chiffres tensionnels ? Quelle précaution préconisez-vous ?

Question N° 10 : Un sujet porteur d'une prothèse valvulaire mitrale est équilibré depuis son intervention par du Sintrom® (1 cp/j) avec un Taux de Prothrombine (T.P.) entre 25 et 35%. À la suite de lombalgies itératives, sa voisine (qui se plaint aussi de son dos) lui a prêté une plaquette de Voltarène® (anti-inflammatoire non stéroïdien). Deux jours après, il consulte en urgence pour une hématurie survenue à plusieurs reprises. L'interne de garde trouve un T.P. à 10%. Expliquez pourquoi ?

PHARMACOCINÉTIQUE QUANTITATIVE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Décrire l'intérêt des paramètres pharmacocinétiques suivants :
 - demi-vie plasmatique,
 - clairance,
 - volume de distribution,
 - état d'équilibre.
2. Décrire les modifications des paramètres pharmacocinétiques (demi-vie plasmatique, clairance, volume de distribution, état d'équilibre) en fonction de l'état physiologique ou pathologique de l'individu.
3. Définir le concept de biodisponibilité d'un médicament.
4. Identifier les facteurs qui modifient la biodisponibilité d'un médicament.
5. Expliquer les objectifs du dosage plasmatique des médicaments en les illustrant par des exemples.

INTRODUCTION

Le terme de **pharmacocinétique** se définit comme l'étude des rapports qui unissent le médicament à son hôte.

Cette définition implique l'étude descriptive des phénomènes qui régissent la résorption, la distribution et l'élimination du produit et de ses éventuels métabolites. Ceci est l'objet de la pharmacocinétique **qualitative** ou **descriptive** (cf. chapitre Devenir du médicament dans l'organisme).

Elle implique également la pharmacocinétique **fondamentale** ou **quantitative** qui est l'étude quantitative du sort du médicament grâce à des techniques analytiques très sensibles. Elle utilise aussi des moyens de calcul importants permettant l'analyse statistique ainsi que l'élaboration de modèles mathématiques théoriques pour l'interprétation des données expérimentales. Ces modèles permettent de définir des paramètres pharmacocinétiques dont la connaissance permet au praticien d'adapter le mode d'administration et les posologies en fonction des caractéristiques du patient et du but thérapeutique à atteindre.

PARAMÈTRES PHARMACOCINÉTIQUES

1. PARAMÈTRES D'ÉLIMINATION :

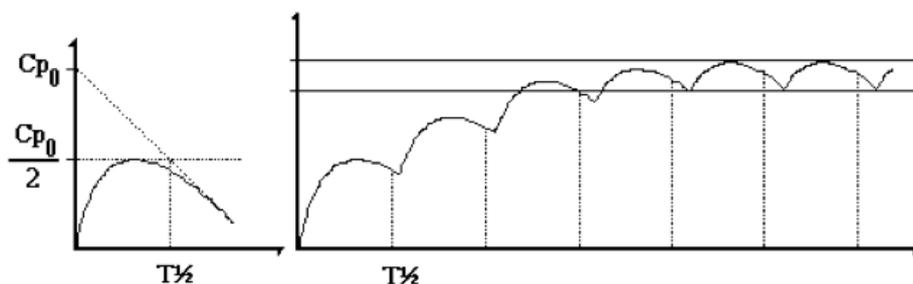
1.1. DEMI-VIE PLASMATIQUE ($T_{1/2}$) :

La demi-vie plasmatique indique le temps nécessaire pour que la concentration plasmatique du médicament diminue de moitié.

Dans le cas d'un modèle mono-compartmental (cf. § 2.3.) la $T_{1/2} = 0,693/Ke$ (cf. § 1.2.).

Elle présente un double intérêt :

- a. Déterminer le temps au bout duquel **l'état d'équilibre** des concentrations plasmatiques sera atteint après administrations répétées du médicament par la même voie. Ceci est atteint au bout de 4 à 5 demi-vies.



En général, un médicament doit être régulièrement réadministré au bout d'un intervalle de temps égal à une demi-vie pour avoir une **concentration plasmatique efficace**.

Si $T_{1/2} = 6 \text{ h}$ 4 prises / 24 h.

Si $T_{1/2} = 8 \text{ h}$ 3 prises / 24 h.

Si $T_{1/2} = 24 \text{ h}$ 1 prise / 24 h.

Toutefois si on devait respecter cette règle pour les médicaments dont la demi-vie est inférieure à 6 h ou supérieure à 24 h, on se retrouverait dans des situations embarrassantes : multiplication gênante des prises dans le premier cas et horaire difficile à respecter dans le deuxième cas.

Si $T_{1/2} < 6 \text{ heures}$:

On réduit le rythme des prises en augmentant la dose administrée. Ceci n'est valable que si le médicament présente un coefficient thérapeutique élevé. C'est le cas de la Pénicilline G ($T_{1/2}$ par voie intramusculaire = 60 min, mais administrée 4 fois par jour).

À l'opposé si le rapport entre la dose toxique et la dose thérapeutique est bas, on ne pourra pas administrer de fortes doses et on devra multiplier les prises en tenant compte de la demi-vie. À l'extrême on aura recours à une forme d'administration continue (perfusions continues).

À l'extrême limite la demi-vie peut être de quelques minutes : la dobutamine est administrée en continu à l'aide d'un perfuseur électrique.

Si $T_{1/2} > 24 \text{ heures}$:

On administre quotidiennement une seule dose qui doit correspondre à la quantité de médicaments éliminée en 24 heures.

Ainsi pour un médicament dont la $T_{1/2} = 36 \text{ heures}$, la quantité de médicaments éliminée au bout de 24 heures est égale aux deux tiers de celle éliminée au bout d'une demi-vie.

Si pour ce médicament la dose d'entretien est évaluée à 10 mg par exemple, quand on tient compte de la demi-vie, on pourra choisir un rythme d'administration quotidienne unique à condition de ne donner que la dose qui sera éliminée sur 24 h. Dans l'exemple cité, ce sera donc une administration unique de 6,66 mg/j.

En pratique :

On parlera le plus souvent de la **durée de vie d'un médicament** dans l'organisme, c'est-à-dire le temps au bout duquel il faut réadministrer le médicament à une dose déterminée pour maintenir une **concentration plasmatique efficace**.

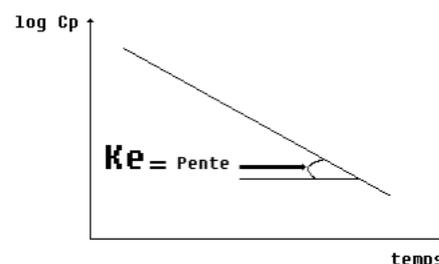
b. Cette $T_{1/2}$ est dite demi-vie d'élimination. Elle permet d'apprécier la **vitesse d'élimination** d'un médicament du plasma.

Étant liée à la clairance totale (cf. § 1.3.), elle varie chez l'insuffisant hépatique ou chez l'insuffisant rénal. Sa détermination dans de pareils états pathologiques permet d'adapter la posologie afin d'éviter l'accumulation du médicament et l'apparition de phénomènes de surdosage.

1.2. CONSTANTE D'ELIMINATION K_e :

Elle est inversement proportionnelle à la demi-vie.

Elle est obtenue graphiquement à partir de la droite d'évolution du logarithme de la concentration plasmatique (C_p) en fonction du temps.



1.3. CLAIRANCE (Cl) :

La clairance totale (Cl_T) se définit comme le volume du plasma épuré en principe actif par unité de temps :

$$Cl_T = K_e \times V_d$$

On distingue :

La clairance rénale (Cl_R) qui est le volume épuré par unité de temps par excrétion urinaire du produit métabolisé ou non.

La clairance non-rénale ou métabolique (Cl_M) qui témoigne de l'importance des biotransformations.

La somme des deux constitue la clairance plasmatique totale :

$$Cl_T = Cl_R + Cl_M$$

Intérêt : adapter la posologie s'il y a une insuffisance rénale (I.R.) ou une insuffisance hépatique (I.H.).

Si $Cl_R = Cl_T$, le médicament est peu métabolisé et risque de s'accumuler en cas d'I.R.

Si $Cl_R \ll Cl_T$, le médicament est très métabolisé et il faut adapter la posologie en cas d'I.H.

2. AUTRES PARAMÈTRES :

2.1. VOLUME APPARENT DE DISTRIBUTION (Vd) :

C'est un concept théorique, mais très important en pharmacocinétique.

Il représente l'espace **théorique** dans lequel le médicament se distribuerait de façon homogène à la même concentration que dans le plasma.

$$Vd = Q/Cp$$

Q : quantité de principe actif résorbé.

Cp : concentration plasmatique.

Un grand Vd signifie une large diffusion ou une fixation importante sur un tissu ou sur les protéines plasmatiques. Si le Vd est supérieur au volume corporel, ceci signifie que la concentration tissulaire est très supérieure à la concentration plasmatique.

Un Vd faible signifie une diffusion et une fixation très limitée du médicament qui est retenu dans le sang sous forme libre.

Exemples :

1. « Le volume de distribution apparent du propranolol (Avlocardyl®) est de :

- 1,06 litre pour un rat de 200 g,
- 253,4 litres pour un homme de 70 kg. »

Ce n'est pas une erreur de frappe, le volume de distribution est bien une **valeur théorique** !

2. Certains anticancéreux (ex. : doxorubicine) ont des Vd se chiffrant en milliers de litres traduisant la grande fixation de ces médicaments par les cellules cancéreuses.

2.2. ÉTAT D'ÉQUILIBRE OU STEADY STATE (S.S.) :

C'est le moment à partir duquel les doses résorbées (entrées) sont compensées par les quantités éliminées (sorties) dans l'intervalle de temps séparant 2 administrations (cf. schéma au § 1.1./a.).

Quand on administre régulièrement un médicament, les concentrations plasmatiques augmentent puis se stabilisent à un niveau d'équilibre appelé « Steady State ».

Il dépend de la dose administrée, de la biodisponibilité, de la demi-vie et du rythme d'administration.

Lorsqu'un médicament est administré à la même dose à chaque demi-vie, on atteint le steady state après cinq demi-vies.

2.3. NOTION DE COMPARTIMENT :

La notion de Vd implique une répartition homogène du médicament dans un ou plusieurs compartiments. L'organisme est alors assimilé à un ou plusieurs compartiments dans chacun desquels le médicament présente une répartition homogène et évolue selon une cinétique propre.

Un compartiment peut représenter le sang, le plasma, un organe, un tissu ou un ensemble de tissus ou même le corps entier.

Sans réalité anatomique, il n'est qu'un modèle pharmacocinétique qui représente une réalité physiologique simplifiée.

Cette représentation permet d'élaborer des modèles mathématiques servant à prédire le devenir du médicament dans l'organisme. Le modèle le plus simple est le modèle mono-compartmental. Les schémas qui suivent représentent ce modèle suite à une administration intraveineuse et à une administration par voie orale.

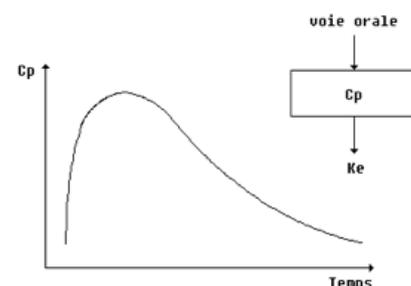
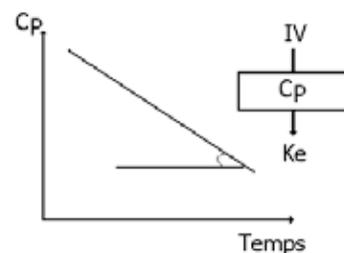
Exemple : Système mono compartmental.

Voie intraveineuse :

Dans le cas d'une administration par voie intraveineuse, il n'y a pas de phénomène de résorption et la cinétique du médicament n'est influencée que par le phénomène d'élimination. L'évolution des concentrations plasmatiques dans ce cas est décrite par une droite comme c'est illustré ci-dessus. La pente de cette droite permet de calculer Ke, le coefficient d'élimination et d'en déduire les autres paramètres pharmacocinétiques.

Voie orale :

Dans le cas d'une administration par voie orale il y a au départ un phénomène de résorption dont l'intensité va en diminuant et qui sera suivi par un phénomène d'élimination dont l'intensité va en augmentant. Sur la figure ci-dessus la portion ascendante de la courbe représente le phénomène de résorption. Au sommet de la courbe les phénomènes de résorption et d'élimination sont d'égale intensité. La partie descendante de la courbe représente le phénomène d'élimination. Ainsi la concentration plasmatique va augmenter progressivement à la faveur de la résorption, atteindre un maximum puis commencer à décliner quand la résorption est terminée.



3. FACTEURS DE VARIATION :

3.1. PHYSIOLOGIQUES :

a. âge :

L'âge est une source extrêmement importante de variations qui peuvent s'observer à différents niveaux :

La résorption digestive est moins bonne par suite d'une achlorhydrie relative pendant les premières semaines de vie.

La liaison aux protéines plasmatiques est souvent perturbée. Soit que l'albumine fœtale ait une affinité plus faible pour les médicaments que l'albumine adulte, soit que cette affinité décroisse avec l'âge.

De même la répartition de l'eau totale est très différente chez le nouveau-né, l'adulte ou la personne âgée.

Les substances sont métabolisées à des vitesses différentes chez le nouveau-né ou le prématuré (faible activité de conjugaison et d'hydroxylation), chez l'adulte ou chez les personnes âgées (baisse de l'activité enzymatique, diminution du flux sanguin hépatique et de la masse hépatique).

L'élimination est-elle aussi variable. Immaturité de la fonction tubulaire chez le nouveau-né et glomérulaire chez le prématuré. Réduction des processus de filtration glomérulaire, réabsorption et sécrétion tubulaire chez la personne âgée.

b. Grossesse :

C'est une deuxième circonstance physiologique au cours de laquelle les paramètres pharmacocinétiques vont être modifiés.

- Le pH gastrique est plus élevé pendant les 2 premiers trimestres.
- Augmentation de 40 à 50% du volume plasmatique avec un maximum entre la 30ème et la 34ème semaine, entraînant une hypoalbuminémie de dilution.
- Le débit sanguin rénal augmente d'environ 50%.
- L'activité métabolique hépatique est augmentée pendant la grossesse.
- La filtration glomérulaire est augmentée alors que la réabsorption tubulaire n'est pas modifiée.

Toutes ces variations physiologiques induisent des modifications des paramètres pharmacocinétiques dont il faut tenir compte.

Exemple : La théophylline a une demi-vie de 6 à 8 h chez l'adulte.
Chez le prématuré cette demi-vie est de 50 h.

3.2. PATHOLOGIQUES :

a. Insuffisance cardiaque :

Lors de l'insuffisance cardiaque, la baisse du débit cardiaque entraîne une stimulation du système nerveux sympathique qui provoque une redistribution du débit sanguin. Ainsi la distribution des médicaments au niveau du rein et des organes splanchniques est retardée et réduite, car le sang est réparti préférentiellement au cœur et au cerveau.

Par conséquent les concentrations plasmatiques toxiques sont très vite atteintes.

Il est donc recommandé de diminuer les doses orales et de faire, si l'insuffisance cardiaque est aiguë, des perfusions lentes pour éviter des accidents cardiaques et cérébraux.

b. Insuffisance rénale :

Liaison protéique :

L'insuffisance rénale altère la liaison protéique de certains médicaments. Ceci est dû à l'hypoalbuminémie et à la diminution de l'affinité de l'albumine.

Volume de distribution :

Chez l'Insuffisant Rénal le Vd peut être augmenté ou diminué, ou demeurer inchangé. L'altération de la liaison protéique explique l'augmentation du Vd pour les médicaments fortement liés.

Les médicaments faiblement liés ont généralement des Vd inchangés.

Élimination :

L'impact de l'atteinte rénale sur élimination des médicaments dépend du pourcentage de médicament non métabolisé éliminé par le rein et du degré d'insuffisance rénale.

Modifications pratiques :

Modifier l'intervalle d'administration en fonction de l'augmentation de la T_{1/2}.

Diminuer la posologie en fonction des concentrations plasmatiques et du degré de l'insuffisance rénale évaluée par la clairance de la créatinine. On peut utiliser les abaques (comme celle de Dettli) pour déterminer les doses de médicament nécessaires et suffisantes.

On peut combiner les 2 méthodes.

c. Insuffisance hépatique :

L'insuffisance hépatique entraîne les perturbations suivantes :

- réduction du débit sanguin hépatique,
- dysfonctionnement hépatocytaire,
- modifications quantitatives et qualitatives des protéines sériques,
- variations du débit biliaire.

Mais le retentissement de l'insuffisance hépatique sur la cinétique des médicaments est souvent difficile à évaluer vu qu'il est difficile de quantifier le degré et le type de dysfonctionnement hépatique d'une manière très précise comme on peut le faire pour l'insuffisance rénale.

Cette difficulté empêche de proposer des règles précises pour adapter la posologie en cas d'insuffisance hépatique.

Cette adaptation se fera en fonction du type de médicament, de son lieu de métabolisme et de son coefficient d'extraction hépatique.

BIODISPONIBILITÉ

1. GÉNÉRALITÉS :

Depuis 1945, Oser avait déjà signalé pour certains produits (aspirine, tétracyclines...) des variations de l'action en fonction des lots du médicament et on pouvait déjà parler d'**inéquivalence thérapeutique** entre les différents lots.

Vers les **années 70**, il y eut des accidents thérapeutiques avec la digoxine aux USA à la suite du changement de l'excipient. Stewart (1972) a dosé les quantités de principes actifs dans les 2 présentations et a trouvé que les malades prenaient toujours la même dose de principe actif (0,25 mg/24h). Pourtant les concentrations plasmatiques n'étaient plus les mêmes : 0,25 ng/ml avec l'ancien excipient et 2,03 ng/ml pour le nouveau, soit 8 fois plus. Il y a donc une **inéquivalence biologique** qui entraîne donc une **inéquivalence thérapeutique**.

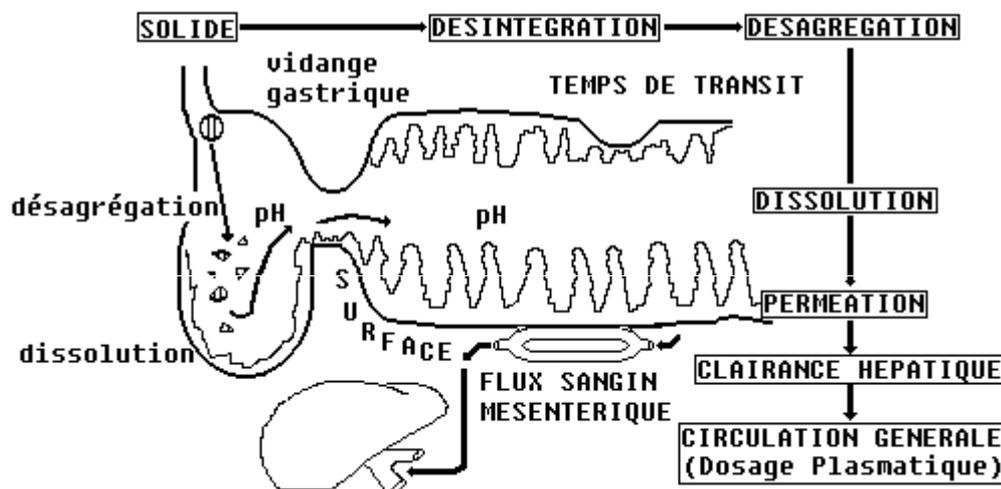
2. DÉFINITION :

C'est ainsi que la F.D.A. (Food and Drug Administration) et l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) ont défini la Biodisponibilité (B.D.) comme étant « **la FRACTION du principe actif administré qui passe dans la circulation générale et la VITESSE à laquelle elle y arrive** ».

On voit l'importance des 2 facteurs : quantité et vitesse.

La biodisponibilité est différente de la quantité absorbée, car il y a le phénomène de 1er passage hépatique qui en élimine une certaine quantité.

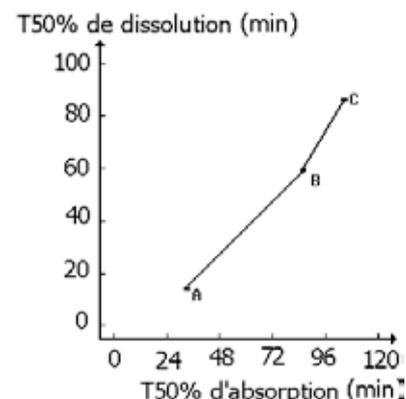
3. ÉTAPES CONDITIONNANT LA BIODISPONIBILITÉ :



Voir schéma ci-dessus pour les étapes.

Il faut noter qu'il y a une corrélation directe entre la vitesse de dissolution du produit et sa résorption (voir graphique n° 1).

Graphique n° 1 : Corrélation entre dissolution in vitro et vitesse d'absorption.



4. FACTEURS INFLUENÇANT LA BIODISPONIBILITÉ :

4.1. CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES MOLÉCULES :

a. Taille des particules (granulométrie) : voir exemple sur le graphique n° 2 : granulométrie de l'aspirine. Quand la taille des molécules est de 60 à 170 microns, la résorption est rapide avec atteinte de taux thérapeutique en 15 minutes. Par contre, il faut 55 min pour atteindre ce taux quand les molécules ont 800 à 1000 microns, car le passage est plus lent. On retrouve le même phénomène avec les différentes tailles de particules de Phénacétine (graphique n° 3).

b. Ionisation : médicament tamponné. C'est l'exemple de l'aspirine tamponnée.

Graphique n° 2

Graphique n° 3

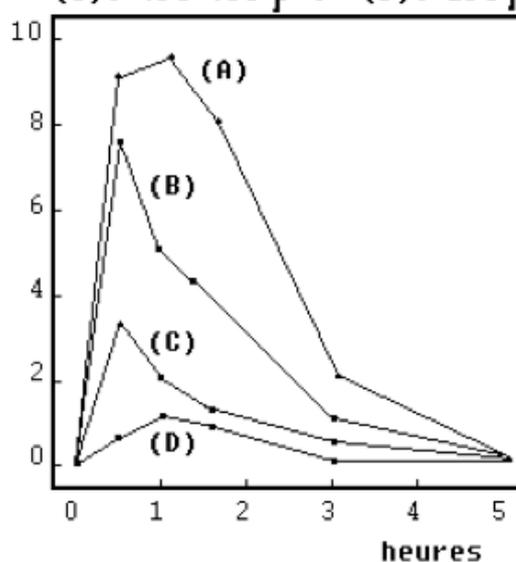
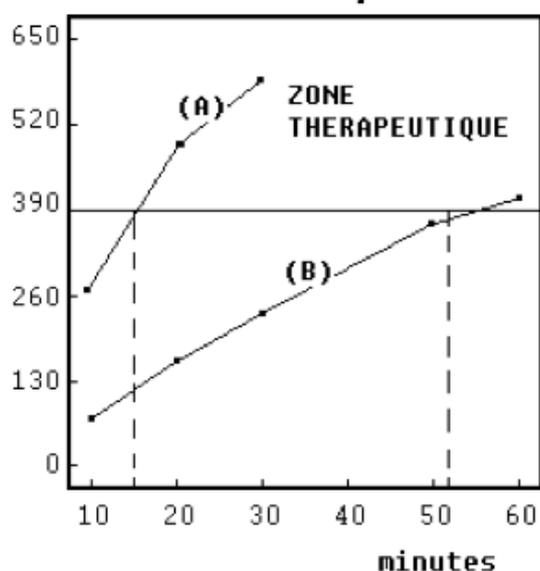
ASPIRINE :

(A) : 60-170 μ
(B) : 800-1000 μ

GRANULOMETRIE

PHENACETINE :

(A) : 75 μ + Tween. (B) : 75 μ
(C) : 150-180 μ . (D) : 250 μ



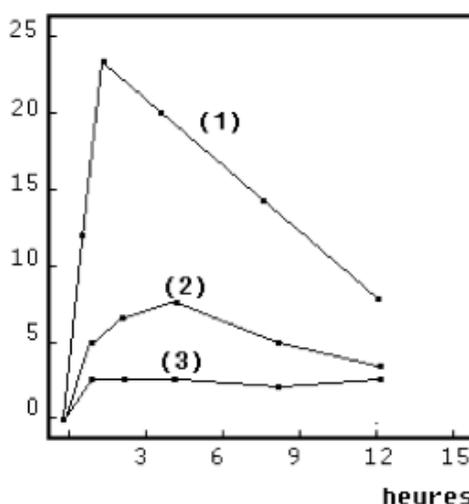
c. Solubilité : pour la solubilité interviennent plusieurs facteurs : le polymorphisme, l'état d'hydratation et la salification. Le médicament peut se présenter sous une forme amorphe ou présenter plusieurs formes cristallines : on parle de polymorphisme. C'est le cas de la cortisone, des barbituriques et surtout du chloramphénicol. Pour ce dernier on voit sur le graphique n° 4 que la présence en % important de la forme B fait augmenter la B.D. du produit de façon nette.

Par ailleurs l'état d'hydratation intervient énormément pour l'ampicilline, de même que la salification pour la pénicilline V.

4.2. FORMULATION GALÉNIQUE :

a. Formes pharmaceutiques (voir chapitre « Voies et Formes d'Administration des Médicaments »).

Graphique n° 4



CHLORAMPHENICOL :

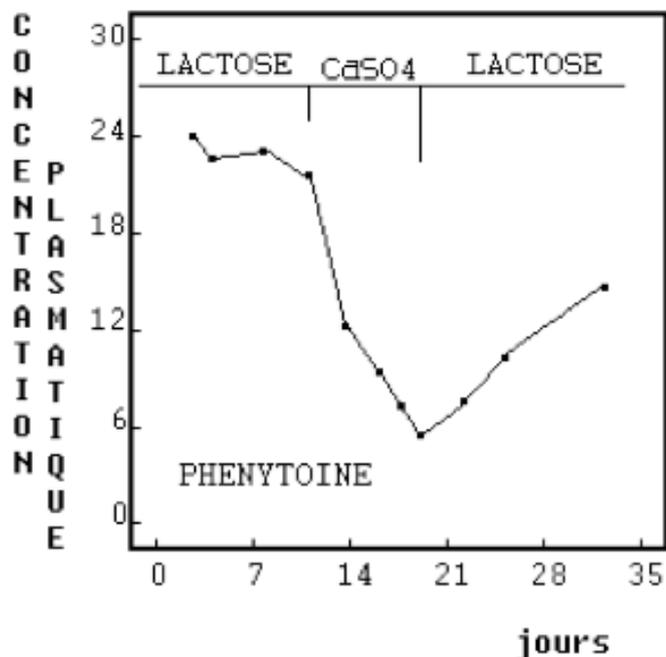
(1) : 100% de forme B
(2) : 25% de forme B
(3) : 8% de forme B

b. Véhicules ou excipients l'excipient principal intervient pour tous les produits. Exemple de la digoxine (cf. §1.). Un autre exemple classique est celui de la phénytoïne où le remplacement du lactose par du Ca SO₄ fait baisser la biodisponibilité à 25% de son niveau antérieur (graphique n° 5).

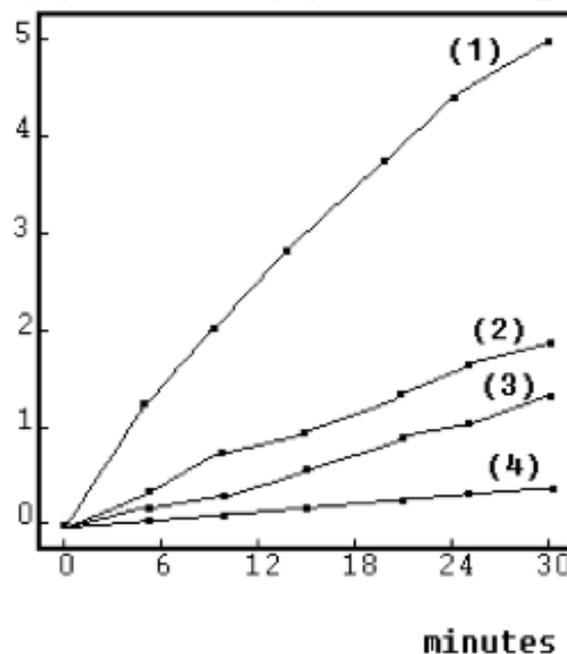
On peut rajouter d'autres véhicules secondaires comme des désintégrants, des lubrifiants (graphique n° 6), des délitants comme le tween qui est un agent tensioactif. Dans l'exemple de la phénacétine (graphique n° 3) on augmente la B.D. en

PHENYTOINE (400 mg/j)

LUBRIFIANTS



(1): ASA (2): TALC
(3): PRECIROL (4): STEARATE Mg



jouant sur la taille des particules et en rajoutant du tween.

c. Conditions de fabrication :

Les machines (mode de compression) l'emballage (verre, plastique) doivent rester toujours les mêmes. Sinon pour chaque changement, même minime, il faut refaire les études de B.D..

d. Conservation :

C'est un facteur important. Pour certains produits, il faut les garder à l'abri de la chaleur, de l'humidité et de la lumière. C'est ainsi que la B.D. du produit peut varier si la température de conservation n'est pas bonne.

Graphique n° 7

4.3. MODIFICATIONS PHYSIOLOGIQUES ET PATHOLOGIQUES :

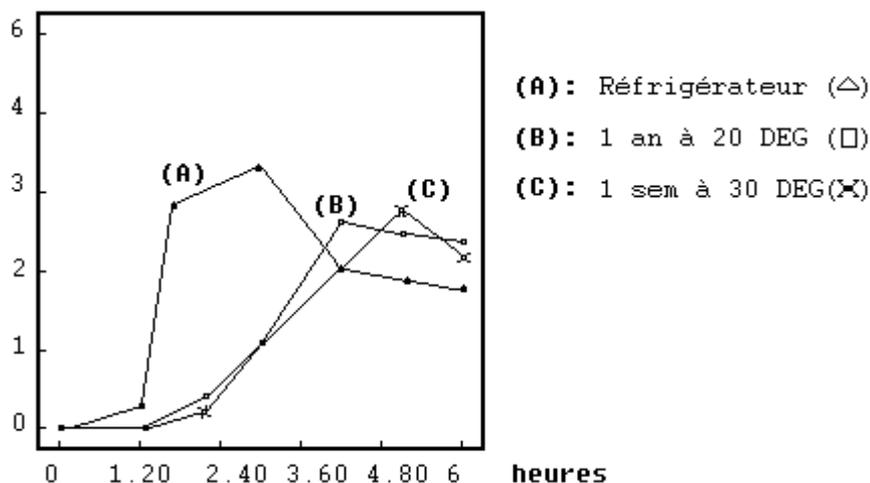
Âge.

État circulatoire (choc, insuffisance cardiaque, position couchée, activité physique...)

Tube digestif : pH gastro-intestinal (achlorhydrie...); motilité; vidange gastrique; flore intestinale perturbée; présence ou non d'aliments...

Grossesse.

Migraine.



4.4. INTERACTIONS MÉDICAMENTEUSES :

Voir mini-module « Devenir du médicament dans l'organisme ».

INTÉRÊT DU DOSAGE DES MÉDICAMENTS

Le dosage des médicaments, dans le plasma, vise trois objectifs :

1. Vérifier la prise ou non du médicament.
2. Déterminer si le taux plasmatique du médicament est dans la zone d'efficacité thérapeutique ou dans la zone toxique.
3. Déterminer si le malade a atteint son plateau thérapeutique d'équilibre.

Pour des raisons techniques et financières, les dosages des médicaments ne doivent pas être considérés comme des examens de routine. Il existe cependant plusieurs situations où le dosage médicamenteux se justifie pleinement. À titre d'exemple :

- chez l'insuffisant rénal et/ou hépatique,
- lors de certaines associations médicamenteuses,
- lors d'inefficacité du traitement malgré une posologie adaptée,
- chez le nouveau-né en raison de l'immaturation des fonctions de l'organisme,
- au démarrage d'un traitement à l'isoniazide chez un tuberculeux afin de connaître le caractère lent ou rapide de l'acétylation.

Les prélèvements de sang doivent être pratiqués au plateau thérapeutique d'équilibre (« steady state »), ce plateau est atteint à des délais plus ou moins variables selon le médicament considéré.

Les taux plasmatiques « efficaces » sont exprimés par un intervalle de concentrations. Ces chiffres sont déterminés statistiquement et peuvent varier avec la technique de dosage.

Il est ainsi raisonnable de dire qu'un sujet asthmatique dont la théophyllinémie est comprise dans la fourchette « thérapeutique » (8 à 20 mcg/ml) ne doit pas présenter de crise d'asthme. Si le malade en fait une alors que la théophyllinémie est « efficace », on doit envisager l'adjonction d'un autre bronchodilatateur.

Pour certains médicaments les dosages se font plus couramment que pour d'autres. En particulier ceux dont le coefficient chimiothérapeutique est bas (risque de toxicité) et pour lesquels existe une variabilité individuelle importante.

ANNEXES

Concentrations plasmatiques thérapeutiques de quelques médicaments couramment dosés :

1. Antiépileptiques :	Diphénylhydantoïne	8-15 mcg/ml
	Phénobarbital	15-25 mcg/ml
	Carbamazépine (Tégréto [®])	2-8 mcg/ml
	Ethosuccimide (Zarontin [®])	40-60 mcg/ml
	Valproate de sodium (Dépakine [®])	60-80 mcg/ml
	Diazépam	0,5-3 mcg/ml
2. Antiarythmiques :	Lidocaïne	2-4 mcg/ml
	Procaïnamide	3-6 mcg/ml
	Quinidine	2-5 mcg/ml
3. Cardiotoniques :	Digoxine	0,5-2 ng/ml
	Digitaline	20-40 ng/ml
4. Antibiotiques :	Amiklin	15-25 mcg/ml
	Gentamicine	5-12 mcg/ml
	Streptomycine	15-40 mcg/ml
5. Autres :	Lithium	0,5-0.8 Meq/l
	Isoniazide	1-2 mcg/ml
	Théophylline	8-20 mcg/ml

EVALUATION FORMATIVE

Question n° 1 : On injecte un médicament par voie intraveineuse à la dose de 2 grammes, à un adulte de 70 kg. La concentration plasmatique extrapolée au temps $t = 0$ est de 5 mg/l. On peut déduire que le volume de distribution est de :

- A. 400 litres
 - B. 140 litres
 - C. 10 litres
 - D. 350 litres
-

Question n° 2 : La détermination de la demi-vie plasmatique du médicament permet :

- A. d'apprécier la vitesse d'élimination du médicament.
 - B. d'évaluer le degré de liaison aux protéines plasmatiques.
 - C. d'estimer le degré de résorption digestive du médicament.
 - D. de fixer le rythme d'administration de médicament.
-

Question n° 3 : Une dose habituellement efficace et bien tolérée chez un adulte jeune peut conduire à une concentration plasmatique du médicament anormalement élevée chez le sujet âgé. Cela peut s'expliquer par :

- A. une réduction de l'activité microsomiale hépatique.
 - B. une amélioration de la résorption digestive.
 - C. une augmentation du volume du compartiment extracellulaire.
 - D. une réduction de la fonction rénale.
-

Question n° 4 : La biodisponibilité peut-être définie par :

- A. « le pourcentage du principe actif qui est résorbé par voie orale ».
 - B. « la quantité pondérale de médicaments qui est résorbée jusqu'à l'apparition de la concentration plasmatique maximale ».
 - C. « la fraction du principe actif administré qui passe dans la circulation générale et la vitesse à laquelle elle y arrive ».
 - D. « le pourcentage de principe actif qui subit une biotransformation lors du premier passage hépatique ».
-

Question n° 5 : La détermination de l'efficacité thérapeutique du taux plasmatique d'un médicament est le plus souvent déterminée :

- A. dès la première prise du médicament.
 - B. le 3ème jour d'administration du médicament.
 - C. au bout de la 3ème administration du médicament.
 - D. au bout de cinq demi-vies plasmatiques du médicament.
-

NOTIONS DE PHARMACODYNAMIE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Décrire les principaux types de mécanismes d'action des médicaments en les illustrant par des exemples.
2. Définir le concept de récepteur.
3. Décrire les caractéristiques de la liaison récepteur-médicament.
4. Décrire deux exemples de réactions métaboliques et/ou fonctionnelles consécutives à la stimulation des récepteurs membranaires par des médicaments.
5. Indiquer les conséquences à l'intérieur de la cellule de la liaison des médicaments aux récepteurs intracytoplasmiques.
6. Définir les concepts suivants :
 - constante d'affinité d'un médicament pour son récepteur,
 - antagoniste irréversible,
 - antagoniste compétitif.

INTRODUCTION

La pharmacodynamie s'intéresse à l'étude des aspects qualitatif et quantitatif de l'**action** des drogues sur les divers systèmes de l'organisme.

L'objet de la pharmacodynamie est aussi d'analyser le mécanisme d'action des médicaments. La connaissance du mécanisme d'action permet de comprendre les conditions d'efficacité du médicament et certains types d'interaction médicamenteuse.

1. LES DIFFERENT MECHANISM D'ACTION DES MEDICAMENTS :

Après diffusion dans l'organisme, les médicaments peuvent agir au niveau des sites d'action par plusieurs mécanismes :

MÉCANISMES	EXEMPLES
1. Modification physico-chimique du milieu : pH, pressions.	Antiacides. Diurétiques. Dextran.
2. Liaison de molécules.	Agents chélateurs. Neutralisation de l'héparine par la protamine
3. Réaction chimique.	Acétylation de la prostaglandine synthétase par l'aspirine.
4. Intégration aux membranes.	Anesthésiques locaux.
5. Interférence avec le métabolisme des acides nucléiques.	Sulfamides.
6. Interaction avec des récepteurs.	β -stimulants (isoprénaline). β -bloquants (propranolol).

1.1. MODIFICATION DES PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DES LIQUIDES INTRA OU EXTRA CELLULAIRES :

Modification du **pH** ou des **pressions osmotique** et **oncotique** :

Les antiacides neutralisent ou diminuent l'acidité gastrique.

Les diurétiques augmentent l'élimination urinaire d'eau et de sodium.

Le dextran est une macromolécule. Perfusé, il modifie la pression oncotique.

1.2. PARTICIPATION DU MÉDICAMENT A LA LIAISON AVEC DES MOLÉCULES PRÉSENTES DANS L'ORGANISME :

Agents chélateurs : la cholestyramine (Questran®) fixe les molécules de cholestérol qui ne sont plus résorbées.

Neutralisation de l'héparine qui est un acide par la protamine basique. L'héparine n'est plus active dans ces conditions.

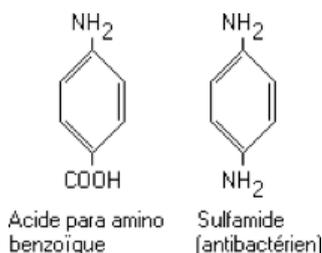
1.3. RÉACTION CHIMIQUE AVEC LES COMPOSÉS INTRA OU EXTRA CELLULAIRES :

Acétylation de la cyclo-oxygénase par l'aspirine d'où une inhibition de la synthèse des prostaglandines.

1.4. INTÉGRATION AUX MEMBRANES :

Les anesthésiques locaux en se fixant aux membranes cellulaires, modifient les échanges ioniques et perturbent la genèse de l'influx nociceptif, d'où la disparition de la sensation douloureuse au niveau du site d'injection de l'anesthésique.

1.5. INTERFÉRENCE AVEC LE MÉTABOLISME DES ACIDES NUCLÉIQUES :



L'acide para-aminobenzoïque (P.A.B.) est vital pour la multiplication bactérienne, car il conduit à la synthèse des acides nucléiques :

PAB → **Acide Folique** → **Acides Nucléiques.**

Les sulfamides, présentant une analogie structurale avec le P.A.B. (cf. schéma), prennent sa place selon un mode compétitif pour donner l'acide folinique qui se transforme en acides nucléiques anormaux empêchant ainsi la multiplication bactérienne.

1.6. INTERACTION AVEC DES RÉCEPTEURS :

Le récepteur correspond à un site macromoléculaire spécifique avec lequel la drogue réagit pour déclencher ou bloquer une réponse caractéristique de la cellule.

Exemples :

a. Les récepteurs adrénergiques sont stimulés par l'Adrénaline et la Noradrénaline.

- Les substances qui stimulent ces récepteurs, sont appelées : **agonistes** adrénergiques (isoprénaline).
- Les substances qui les bloquent sont appelées **antagonistes** adrénergiques (alphanbloquants et bêtabloquants).

b. Les récepteurs cholinergiques:

- Agoniste : Acétylcholine.
- Antagoniste : Atropine.

c. Les récepteurs histaminiques.

- Agoniste : Histamine.
- Antagonistes : Polaramine, cimétidine.

2. LES RÉCEPTEURS:

2.1. DEFINITION :

Le récepteur est une macromolécule protéique située :

- soit dans la membrane cytoplasmique,
- soit dans le cytoplasme (mitochondries, réticulum sarcoplasmique),
- soit dans le noyau.

Il est capable de fixer **spécifiquement** des molécules endogènes (neurotransmetteurs, hormones) ou exogènes (médicaments) appelées **ligands**.

2.2. LA LIAISON RECEPTEUR-LIGAND :

Cette liaison a les caractéristiques suivantes :

- elle est régie par la loi d'action de masse :



M = Médicament. R = Récepteur. MR = complexe Médicament-Récepteur.

- elle est spécifique,
- elle est de haute affinité,
- elle est réversible,
- elle est de type « ionique » ou de type Van der Waals.
 - ionique : charges électriques opposées.
 - Van der Waals : le noyau d'un atome (charge positive) est attiré par le nuage électronique (charge négative) d'une molécule voisine.

2.3. MÉCANISME DE L'ACTIVITÉ DES MÉDICAMENTS :

Une fois le médicament fixé sur son récepteur, des réactions intra-membranaires et intracytoplasmiques sont déclenchées en cascade et aboutissent à l'effet observé, par exemple : contraction d'une fibre musculaire, accélération de la fréquence cardiaque, hyperglycémie... etc.

a. Médicaments dont les récepteurs sont membranaires :

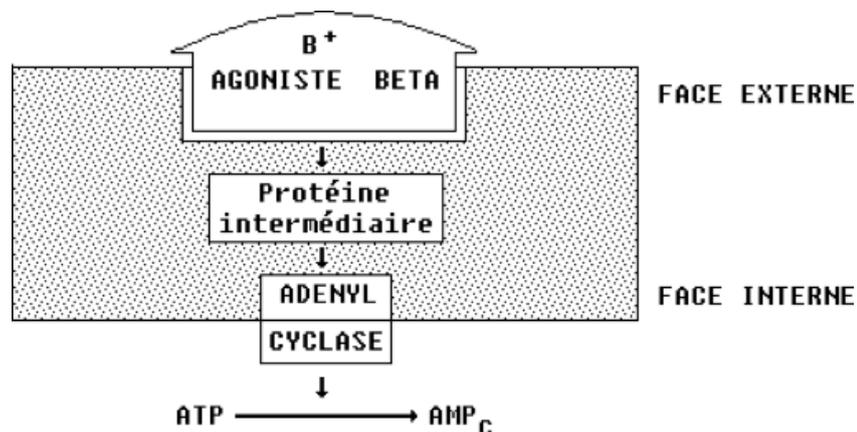
C'est le cas des agonistes adrénergiques qui stimulent les récepteurs adrénergiques membranaires.

Nous allons prendre l'exemple d'un agoniste bêta. C'est-à-dire un stimulant des récepteurs adrénergiques bêta (isoprénaline : Isuprel®).

La fixation de l'agoniste bêta-adrénergique sur son récepteur active une protéine intermédiaire. Cette dernière active à son tour l'adényl-cyclase.

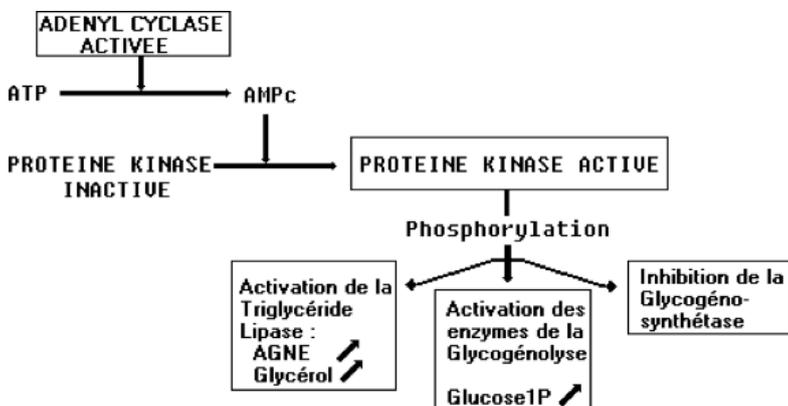
L'adényl-cyclase activée va permettre la transformation de l'adénosine triphosphate (ATP) en adénosine monophosphate cyclique (AMP_c).

Mécanisme d'activation des récepteurs bêta-adrénergiques membranaires.



L'AMP_c est le **second messenger** (le premier étant l'agoniste bêta) intracytoplasmique qui va déclencher une série de réactions responsables de l'effet observé.

L'augmentation intracytoplasmique de la concentration en AMP_c stimule l'activité des protéines kinases. Ce sont des enzymes qui permettent la **phosphorylation** d'autres enzymes cellulaires. Cette phosphorylation peut aboutir soit à une activation soit à une inhibition des enzymes cellulaires. L'activation ou l'inhibition des enzymes cellulaires déclenche à son tour une cascade de réactions métaboliques aboutissant à l'effet observé.



Ainsi les bêta-stimulants (isoprénaline) :

- activent les enzymes de la glycolyse d'où production de glucose -1-phosphate et inhibent (toujours par phosphorylation) la glycogène synthétase. L'effet de ces deux actions est hyperglycémiant.
- activent par phosphorylation la triglycéride lipase : d'où augmentation de la concentration plasmatique en acides gras non estérifiés et en glycérol.

- par l'activation de la protéine kinase entraînent une phosphorylation des protéines membranaires des fibres myocardiques qui à leur tour entraînent une augmentation de l'entrée d'ions Ca^{++} qui sont indispensables au couplage excitation-contraction. Il en résulte une augmentation de la force contractile du myocarde : effet inotrope positif.

b. Activité liée aux mouvements ioniques transmembranaires :

L'ion calcium joue également le rôle de **deuxième messager** intracellulaire. La liaison du médicament avec son récepteur provoque une augmentation du calcium intracellulaire. Le calcium à son tour va activer le système contractile (actine-myosine). Exemple : la liaison de la Digitaline® avec son récepteur sur les fibres myocardiques entraîne une inhibition de l'ATPase membranaire Na-K dépendante. La pompe à sodium jusque-là prédominante dans les conditions normales sur la pompe calcico-sodique va diminuer d'activité. Les échanges sodium-calcium sont alors favorisés induisant une augmentation du calcium intracellulaire qui conditionnera alors la force de contraction des fibres myocardiques.

c. Activité liée aux récepteurs intracytoplasmiques :

C'est le cas des hormones stéroïdes et thyroïdiennes.

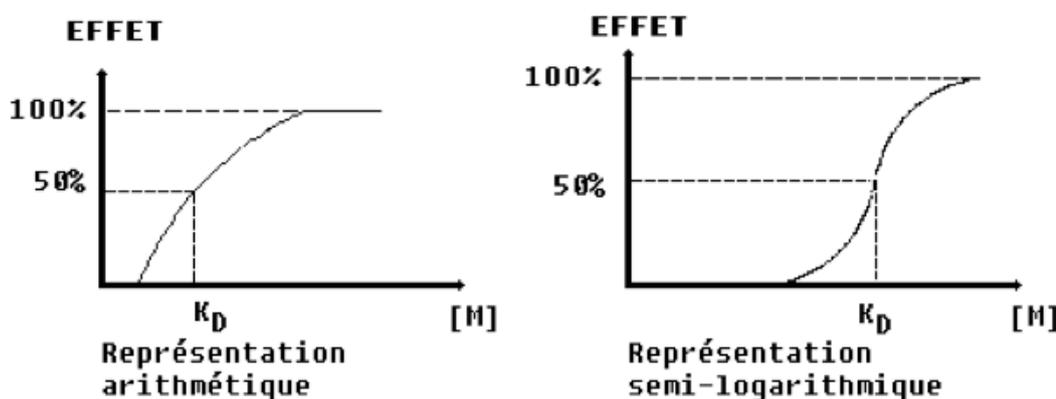
Schématiquement l'hormone traverse la membrane cellulaire et se fixe sur le récepteur intracytoplasmique, le complexe hormone-récepteur traverse la membrane nucléaire et se fixe sur la chromatine nucléaire. Il en résulte une augmentation de la synthèse de certains ARN messagers qui vont à leur tour passer dans le cytoplasme où ils vont induire la synthèse de protéines spécifiques à l'origine de leurs effets.

3. ASPECTS QUANTITATIFS DES INTERACTIONS AVEC LES RÉCEPTEURS :

3.1. COURBES DOSE-EFFET :

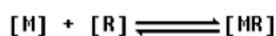
a. Représentation de l'effet en fonction de la concentration en médicament :

On obtient une hyperbole : l'intensité de l'effet croît rapidement avec la concentration, mais à partir d'une certaine concentration représentant l'occupation de tous les récepteurs, on obtient un plateau.



[M]: concentration du médicament.

b. Représentation de l'effet en fonction du logarithme de la concentration (représentation semi-logarithmique). On obtient une sigmoïde.



$$K_D = \frac{[M] \cdot [R]}{[MR]} = \text{constante de dissociation .}$$

3.2. CONSTANTE DE DISSOCIATION :

Lorsque 50% des récepteurs sont occupés :

$$[R] = [MR]$$

$$K_D = [M_{50\%}]$$

La constante de dissociation correspond à la concentration du médicament pour laquelle 50% des récepteurs sont occupés c'est à dire pour laquelle on obtient **50% de l'effet maximal**.

3.3. CONSTANCE D'AFFINITÉ D'UN MÉDICAMENT POUR SON RÉCEPTEUR :

L'affinité d'un médicament pour son récepteur est inversement proportionnelle à la facilité de dissociation du complexe médicament-récepteur :

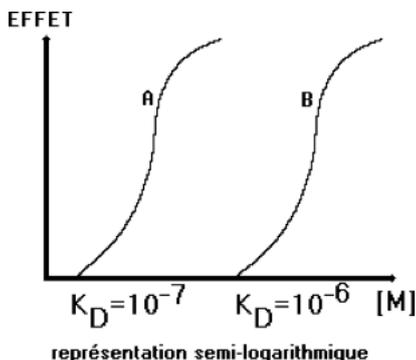
$$K_A = \text{constante d'affinité} = \frac{1}{K_D} \quad \boxed{K_A = \frac{1}{K_D}}$$

Exemple : Soit 2 médicaments A et B produisant le même effet et caractérisés par les constantes suivantes :

pour A : $K_D=10^{-7} \longrightarrow K_A=10^7$

pour B : $K_D=10^{-6} \longrightarrow K_A=10^6$

L'affinité du médicament A pour le récepteur est plus importante que celle du médicament B.



4. LES TYPES D'ANTAGONISTES:

4.1. LES ANTAGONISTES IRRÉVERSIBLES:

Ce sont des substances qui se fixent de manière irréversible sur les récepteurs et les bloquent définitivement.

Exemple : la phénoxybenzamine sur les récepteurs alpha-adrénergiques.

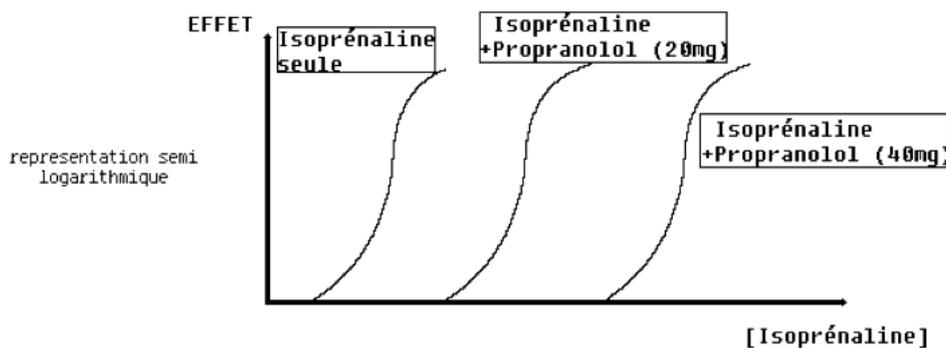
4.2. LES ANTAGONISTES COMPÉTITIFS:

Ce sont des substances qui se fixent de façon **réversible** aux récepteurs. Elles peuvent être déplacées de leurs sites de fixation par augmentation des doses d'agoniste.

Exemple : récepteurs adrénérgiques de type bêta.

Agoniste = isoprénaline.

Antagoniste = propranolol (bêta-bloquant).



Ainsi pour obtenir le même effet pharmacologique, en présence de l'antagoniste (propranolol), on est obligé d'augmenter les doses d'agoniste (isoprénaline). Cette augmentation est d'autant plus importante que la quantité d'antagonistes est plus élevée. Graphiquement cela se traduit par un déplacement des courbes effet-dose vers la droite.

EVALUATION FORMATIVE

Pour les questions suivantes, indiquer dans l'espace réponse la (ou les) lettre(s) correspondant à la (ou aux) proposition(s) correcte(s) :

Question n° 1 : Les sulfamides empêchent la multiplication bactérienne en :

- A. stimulant des récepteurs.
 - B. s'intègrent aux membranes cellulaires.
 - C. entrant en compétition avec l'acide para-amino benzoïque.
 - D. modifiant la pression osmotique de la bactérie.
-

Question n° 2 : Un médicament agoniste est une substance qui :

- A. inhibe de façon spécifique un récepteur.
 - B. modifie le pH du milieu intérieur.
 - C. provoque la neutralisation de molécules actives.
 - D. se fixe de façon réversible à un récepteur.
-

Question n° 3 : Certaines substances intracytoplasmiques voient leur taux cytoplasmique augmenter après stimulation de récepteurs membranaires. Ce qui entraîne des modifications métaboliques ou fonctionnelles. C'est le cas :

- A. de l'A.M.P.cyclique.
 - B. de l'A.T.P.
 - C. de l'A.D.P.
 - D. de l'ion calcium.
-

Question n° 4 : Pour un récepteur X :

- un médicament A1 a une constante de dissociation $KD1 = 10^{-8}$.

- un médicament A2 a une constante de dissociation $KD2 = 10^{-6}$.

On peut conclure que pour le récepteur X :

- A. l'affinité de A1 est inférieure à celle de A2.
 - B. l'affinité de A1 est 2 fois supérieure à celle de A2.
 - C. l'affinité de A1 est 100 fois supérieure à celle de A2.
 - D. l'affinité de A2 est 10 fois supérieure à celle de A1.
-

Question n° 5 : La liaison entre les récepteurs membranaires et un médicament agoniste est caractérisée par :

- A. son absence de spécificité.
 - B. sa haute affinité.
 - C. son absence de réversibilité.
 - D. son type qui peut être ionique.
-

LES INTERACTIONS MÉDICAMENTEUSES

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Expliquer les concepts de :
 - synergie,
 - potentialisation,
 - antagonisme.
2. Classer les interactions médicamenteuses selon leurs mécanismes (physico-chimiques, pharmacocinétiques, pharmacodynamiques).
3. Illustrer les interactions physico-chimiques par des exemples d'antagonisme.
4. Illustrer les interactions pharmacocinétiques et pharmacodynamiques par des exemples de synergie, de potentialisation et d'antagonisme.
5. Décrire les conséquences pratiques des interactions médicamenteuses en les illustrant par des exemples.

INTRODUCTION

Lorsqu'on traite un patient, il est souhaitable de lui prescrire le moins de médicaments possible afin de ne pas augmenter le risque de survenue d'effets indésirables. Cependant, dans un nombre élevé de cas on doit avoir recours à plus d'un médicament. Dans ces cas-là, il est important que le praticien identifie la possibilité d'interaction entre les médicaments pris simultanément et les conséquences bénéfiques ou néfastes que cela peut engendrer.

1. DEFINITION :

Une interaction médicamenteuse est la modification des effets d'une substance médicamenteuse due à l'administration **simultanée** d'une autre substance médicamenteuse.

La recherche d'interaction médicamenteuse doit être systématisée, car l'existence de celle-ci peut se traduire en pratique par 3 conséquences possibles :

- l'**inefficacité**,
- l'apparition ou la majoration des **effets indésirables**,
- un **intérêt pratique**.

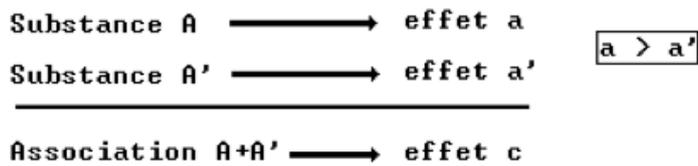
Ces interactions peuvent concerner la disponibilité du médicament sous sa forme active, elles intéressent alors les diverses étapes de la **pharmacocinétique** du médicament. L'augmentation ou la réduction de la quantité de médicaments dans l'organisme se traduira ainsi par des effets pharmacodynamiques majorés ou diminués.

Les interactions peuvent également se situer au niveau des effets pharmacodynamiques des médicaments en présence, que leurs effets aillent dans le même sens ou bien dans un sens opposé.

2. TYPES D'INTERACTION :

2.1. SYNERGIE :

On parle de synergie lorsque l'association de deux médicaments ayant la **même** activité pharmacodynamique (exemple : deux antibiotiques) engendre un effet dont l'intensité est au moins supérieure à l'intensité de l'effet du médicament le plus puissant.



SYNERGIE quand : $c > a$

L'intensité de cette synergie peut être de type :

- additive complète : $c = a + a'$
- additive partielle : $a < c < a + a'$
- potentialisatrice : $c > a + a'$

2.2. POTENTIALISATION :

Elle intéresse les médicaments qui ont une activité **qualitativement différente**. Un médicament **A** potentialise un médicament **B**, lorsque l'effet du médicament **B** est plus important que lorsque **B** est administré tout seul.

Ainsi les anti-inflammatoires non-stéroïdiens peuvent potentialiser les antivitamines-K (cf.§3.2./c.).

2.3. ANTAGONISME :

Il peut concerner des substances médicamenteuses ayant des effets pharmacodynamiques qualitativement les mêmes ou différents. L'effet résultant est inférieur à celui engendré par les substances prises isolément. Quand il s'agit du même effet pharmacodynamique, l'effet résultant est inférieur à celui engendré par la substance la plus puissante.

Médicaments administrés	Effets
A	a
B	b
A + B	c

Il y a **antagonisme quand $c < a$** (sachant que $a > b$). L'antagonisme est :

- partiel quand $0 < c < a$
- total quand $c = 0$

L'antagonisme peut intéresser :

- un effet pharmacologique principal : le travail cardiaque. Exemple : antagonisme β bloquants - β stimulants.
- un effet pharmacologique secondaire qui peut être un effet indésirable : modification de la kaliémie. Exemple : diurétique de l'anse de Henlé + diurétique antialdostérone. Le premier entraîne un risque d'hypokaliémie, le deuxième un risque d'hyperkaliémie, leur association diminue ces deux risques.

3. NIVEAUX D'INTERACTION :

3.1. INTERACTIONS PHYSICO-CHIMIQUES :

Il y a là inactivation de la substance par formation d'un précipité ou de tout autre complexe insoluble ou inactif. Ce problème se pose lors des mélanges extemporanés réalisés au lit du malade et administrés en perfusion intraveineuse. Il ne faut pas utiliser tout mélange ayant présenté la formation de précipité, d'opalescence ou de virage de couleur.

Exemples d'incompatibilité physico-chimiques :

- Précipitation de l'héparine ou de la vitamine C qui sont des acides en présence d'une solution alcaline comme celle contenant de l'aminophylline.
- Inactivation de la pénicilline G en milieu acide. Pénicilline G : maximum de stabilité entre pH 6 et 6,5. Inactivation rapide pour les pH < 5 et $> 7,5$. Or le sérum glucosé isotonique a un pH compris entre 4 et 5.
- L'amoxicilline en solution est incompatible avec le succinate d'hydrocortisone

3.2. INTERACTIONS PHARMACOCINÉTIQUES :

A. RÉSORPTION DIGESTIVE :

Nombreux sont les médicaments qui modifient les facteurs intervenant dans la résorption digestive :

- modification du pH gastrique : augmentation de la résorption des benzodiazépines par la ranitidine. En effet la ranitidine diminue les sécrétions gastriques acides.

- modification du transit intestinal : les parasympholytiques augmentent la durée de contact avec la muqueuse digestive des médicaments qui seraient pris en même temps. L'inverse s'observe avec les laxatifs.
- modification chimique : les molécules de tétracyclines peuvent être complexées par divers ions notamment par le Ca^{++} , dans le tube digestif. Elles précipitent alors et cela réduit leur résorption. Il faut donc éviter d'absorber le lait ou ses dérivés en même temps que les tétracyclines.

B. RÉSORPTION SOUS-CUTANÉE :

En ajoutant une substance vasoconstrictrice telle que la **noradrénaline** à une substance injectée par voie sous-cutanée telle que la procaïne, on retarde la résorption de la **procaïne** et on prolonge ainsi son effet local qui est l'anesthésie locale. Il y a là une potentialisation thérapeutique.

C. FIXATION PROTÉIQUE :

Ce mécanisme joue par l'intermédiaire de l'affinité des médicaments. Les antivitamines-K et les sulfamides hypoglycémifiants sont défixés par les anti-inflammatoires non-stéroïdiens. Cela augmente la fraction libre de ces médicaments et par conséquent le risque toxique : risque hémorragique pour les premiers, hypoglycémie pour les seconds.

D. BIOTRANSFORMATIONS :

On peut voir **une synergie par phénomène de compétition** pour le même système enzymatique. Le P.A.S. est biotransformé préférentiellement à l'isoniazide qui voit alors ses effets augmentés (cette propriété était utilisée dans les anciens protocoles de traitement de la tuberculose).

On peut également aboutir à un **antagonisme par induction enzymatique** d'un processus d'**inactivation**. C'est le cas des associations :

- d'un inducteur enzymatique comme le phénobarbital ou la rifampicine et
- de produits inactivés par les microsomes hépatiques comme les antivitamines-K ou les œstro-progestatifs (que l'on utilise dans la pilule contraceptive).

À l'inverse, on obtient **une potentialisation, par induction enzymatique** d'un processus d'**activation**. L'imipramine donne la desméthylimipramine métabolite plus actif que l'imipramine. Cette transformation est activée par les inducteurs tels que le gardénal ou la rifampicine.

Inhibition enzymatique : le chloramphénicol et la cimétidine sont des inhibiteurs enzymatiques. Ils réduisent l'inactivation hépatique des antivitamines-K.

E. ÉLIMINATION :

On peut obtenir **un antagonisme** en accélérant l'élimination rénale d'un médicament par l'adjonction d'une deuxième substance médicamenteuse. Cas du phénobarbital (Gardénal®) et du sérum bicarbonaté.

On peut obtenir **une potentialisation** par réduction de cette élimination rénale. Cas du méthotrexate dont la sécrétion tubulaire est inhibée par les pénicillines.

3.3. INTERACTIONS PHARMACODYNAMIQUES :

A. SYNERGIE :

Additive complète : lorsque l'action a lieu au niveau de récepteurs différents, pour donner le même effet.

Exemple des diurétiques : le furosémide (Lasilix®) agit sur l'anse de Henlé alors que la spironolactone (Aldactone®) agit sur le tube contourné distal, les deux médicaments augmentant l'élimination urinaire du sodium.

Additive partielle : on obtient cela lorsque les deux médicaments agissent sur le même point d'impact. Cas de :

- deux bêta-stimulants,
- deux antibiotiques bactériostatiques.

Potentialisatrice : l'effet résultant est obtenu par action à 2 niveaux différents. Cas de l'association d'antibiotiques, l'un appartenant à la famille des bêta-lactamines et l'autre à celle des aminosides. En effet les bêta-lactamines agissent sur la paroi des bactéries et facilitent la pénétration des aminosides qui agissent quant à eux à l'intérieur des bactéries.

B. POTENTIALISATION :

La chlorpromazine (Largactil®) potentialise les anesthésiques généraux et les analgésiques morphiniques.

La potentialisation peut intéresser un effet indésirable : l'association d'un digitalique avec un médicament qui entraîne une hypokaliémie (exemple de certains diurétiques), expose davantage au risque de trouble du rythme.

C. ANTAGONISME :

Compétitif :

Il s'agit d'un antagonisme direct de deux médicaments pour le même récepteur :

- * bêtabloquants - bêta stimulants.
- * acétylcholine - atropine.

Cet antagonisme est réversible.

Non compétitif :

L'action des substances se fait sur des récepteurs différents. Cet antagonisme est de type fonctionnel, cas des cholinergiques et des adrénérgiques.

Pour ces antagonismes le risque est théoriquement nul dans la mesure où on n'administre pas, en pratique clinique, simultanément des substances qui se neutralisent du point de vue pharmacodynamique, sauf dans le cas où on veut lutter contre une intoxication due à l'un des produits (exemple de l'intoxication au parathion traitée par l'atropine).

4. CONSÉQUENCES PRATIQUES :

La connaissance des interactions médicamenteuses permet donc :

4.1. D'EXPLIQUER OU D'ÉVITER LA RÉDUCTION DE L'ACTIVITÉ D'UNE SUBSTANCE :

- éloigner la prise d'un pansement gastrique, de celle d'autres médicaments (le pansement sera administré au moins 2 heures après).
- tenir compte de l'utilisation d'inducteur enzymatique pour ajuster les doses d'antivitamines-K ou pour prescrire une autre méthode contraceptive que la pilule.

4.2. D'EXPLIQUER LA MAJORATION DES EFFETS INDÉSIRABLES :

- par défixation protéique et augmentation de la forme libre active. Ceci aboutit à des accidents hémorragiques avec les antivitamines-K et des accidents hypoglycémiques avec les sulfamides hypoglycémifiants.
- par inhibition enzymatique. Le chloramphénicol inhibe l'inactivation des antivitamines-K et des sulfamides hypoglycémifiants.
- par induction enzymatique de métabolite réactif.
- par synergie d'effets toxiques. Comme pour les médicaments toxiques pour la moelle osseuse : amidopyrine, chloramphénicol, phénytoïne ou des médicaments déprimant la contractilité du myocarde : vérapamil et bêtabloquants.
- par réduction de l'élimination : les thiazidiques augmentent la réabsorption du lithium à cause de la fuite du sodium qu'ils entraînent.

4.3. DE NEUTRALISER LES EFFETS INDÉSIRABLES D'UN MÉDICAMENT PAR UN AUTRE :

- neuroleptique et antiparkinsonien anticholinergique, car les premiers entraînent des troubles nerveux de type cholinergique.
- diurétique thiazidique et diurétique épargneur de potassium. Ainsi certaines spécialités médicamenteuses contiennent d'emblée les deux types de diurétiques (Exemple : Modurétic®, Cyclotériam®).

4.4. DE RECHERCHER UNE SYNERGIE OU UNE POTENTIALISATION SANS AUGMENTATION DE LA TOXICITÉ :

Ceci permet d'obtenir un effet thérapeutique optimum pour des doses de médicament minimales permettant, ainsi de diminuer le risque d'apparition des effets indésirables relatifs à chaque médicament.

- bêtabloquant et diurétiques comme traitement antihypertenseur.
- diurétique + digitalique + vasodilatateur comme traitement de l'insuffisance cardiaque.
- association des antituberculeux.

4.5. DE RÉDUIRE LA TOXICITÉ DES MÉDICAMENTS SURDOSES :

- augmentation de l'élimination rénale du gardénal en cas de coma, par administration de sérum bicarbonaté.
- neutralisation de l'effet des antivitamines-K par le P.P.S.B., de la morphine par la nalorphine, de l'héparine par la protamine.

EVALUATION FORMATIVE

Pour les questions suivantes, écrire votre réponse dans l'espace prévu à cet effet.

Question N° 1 : À la suite d'une phlébite du post-partum, une femme de 30 ans est traitée par de la Coumadine® (anti-coagulant, antivitamines-K) à raison d'1 cp/j avec un taux de prothrombine (T.P.) satisfaisant stabilisé à 30%. La survenue ultérieure de convulsions a nécessité son hospitalisation et sa mise sous phénobarbital = Gardéna®. Le contrôle du T.P. au bout d'une semaine montre une réduction de l'hypocoagulabilité induite par la coumadine puisque le T.P. est passé à 50%. Comment peut-on expliquer cette modification ?

Question N° 2 : Une femme de 38 ans prend un contraceptif oral depuis 5 ans. À la suite du diagnostic d'une tuberculose pulmonaire, son médecin lui prescrit un traitement antituberculeux à base de : isoniazide, rifampicine, streptomycine et pyrazinamide. Au bout de 3 mois de ce traitement, alors qu'elle prend encore la pilule régulièrement, elle a un retard des règles et les analyses montrent qu'elle est enceinte. Comment expliquer l'inefficacité de la contraception dans ce cas ?

Question N° 3 : Un malade anémique est en cours de traitement par du FUMAFER® (pour compenser le déficit en fer) depuis 2 mois. Il présente une pneumopathie fébrile pour laquelle on lui a prescrit de la VIBRAMYCINE® (antibiotique de la famille des tétracyclines) par voie orale. Cependant on ne note aucune amélioration de l'état pulmonaire après 4 jours de traitement malgré une prise régulière et une sensibilité du germe à cet antibiotique. À quoi peut être due cette inefficacité ?

Question N° 4 : Un diabétique est bien équilibré par 2 comprimés/j de tolbutamide (sulfamide hypoglycémiant). À la suite d'une entorse, il a reçu de l'Indocid® (anti-inflammatoire non stéroïdien). Après la 3ème prise d'Indocid®, il a présenté un malaise avec sueurs, tachycardie. Son médecin traitant a évoqué un malaise hypoglycémique. Quelle peut être l'origine de cette perturbation ?

Question N° 5 : Un patient, insuffisant cardiaque est traité et équilibré par de la Digoxine® à raison d'un comprimé un jour sur deux. À la suite d'un trouble du rythme auriculaire, son médecin lui prescrit en plus de la Quinidine® à la dose d'un comprimé, 4 fois par jour.

Deux jours après, le malade se présente aux urgences avec des vomissements et des vertiges. L'interne de garde évoque une intoxication digitalique. Comment en expliquez-vous le mécanisme ?

LES EFFETS INDÉSIRABLES DES MÉDICAMENTS PHARMACOVIGILANCE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Définir les concepts de médicament et d'effet indésirable dû au médicament.
2. Expliquer l'intérêt et les limites de l'étude de la fréquence des effets indésirables des médicaments.
3. Expliquer le rôle des facteurs favorisant la survenue des effets indésirables des médicaments.
4. Indiquer les mécanismes qui sous-tendent l'apparition des effets indésirables des médicaments.
5. Citer des exemples d'effets indésirables.
6. Définir le concept de pharmacovigilance.
7. Énumérer les objectifs de la pharmacovigilance.
8. Décrire les étapes d'une enquête d'imputabilité d'un événement indésirable à l'administration d'un médicament.

INTRODUCTION

L'utilisation des médicaments a pour but de soulager ou de guérir le malade. Cependant ces substances introduites dans l'organisme peuvent être à l'origine de manifestations morbides qui peuvent être expliquées par la variabilité des caractéristiques physiologiques d'un individu à l'autre. En effet bien que des études sont faites avant la commercialisation des médicaments pour déterminer les conditions de leur utilisation en toute efficacité et sécurité, il est quasi impossible d'assurer que ces médicaments n'entraînent jamais d'événements fâcheux qu'on appelle effets indésirables : chaque individu réagit aux médicaments selon les particularités propres à son organisme.

Le praticien doit avoir une bonne connaissance de ces effets indésirables et de leur mécanisme afin de contribuer à les prévenir en modulant les prescriptions en fonction des caractéristiques physiologiques ou pathologiques du patient, caractéristiques qui peuvent parfois augmenter le risque de leur survenue.

1. GÉNÉRALITÉS :

Il n'existe pas de médicaments parfaitement inoffensifs, et chacun entraîne en même temps que le résultat thérapeutique recherché, un certain nombre d'effets indésirables.

Lorsqu'on traite un patient par un médicament, il faut mettre **en balance** d'un côté les **effets bénéfiques** recherchés et de l'autre le risque d'apparition d'**effets indésirables** liés à ce médicament.

Il faut toujours :

« Peser le pour et le contre »

- Pour chaque médicament,
- Pour chaque malade (âge, sexe, état général, autres pathologies associées... etc.),
- À chaque prescription (à un temps donné).

2. DÉFINITIONS :

Médicament : « On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme ayant des **propriétés curatives ou préventives** à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical, ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques ».

Principe actif : « est la substance qui confère au médicament son effet thérapeutique ».

Excipients : « substances associées qui facilitent l'administration du principe actif ».

Ce poly a été téléchargé depuis <http://med-tmss.blogspot.com/2016/08/cours.html>

Princeps : premier médicament fabriqué comportant un nouveau principe actif.

Générique : médicament ayant la même composition et la même forme pharmaceutique qu'un médicament princeps dont le brevet est tombé dans le domaine public.

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définit un effet indésirable comme « **toute réaction nuisible se produisant fortuitement aux doses utilisées chez l'homme à des fins prophylactiques, diagnostiques ou thérapeutiques** ».

Par effet indésirable (E.I.) d'un médicament, on entend des incidents dus à un médicament alors que celui-ci est administré dans des **conditions normales**. Ainsi sont éliminés les effets liés à l'intoxication médicamenteuse due à l'utilisation du médicament dans des conditions inhabituelles (exemples : tentative de suicide ; accident domestique avec absorption par un enfant d'un médicament qui ne lui était pas destiné).

Toutefois les événements nuisibles résultants d'un mésusage (ou utilisation erronée) du médicament sont actuellement considérés comme des effets indésirables des médicaments.

3. INTÉRÊT DE L'ACTIVITÉ DE PHARMACOVIGILANCE :

3.1. DÉTECTION DES EFFETS INDÉSIRABLES ET INTÉRÊT DE LA NOTIFICATION :

Les effets indésirables les plus fréquents sont détectés dès les essais cliniques¹. Cependant, les effets indésirables **très rares** peuvent ne pas être observés lors de ces essais durant lesquels le médicament est testé uniquement sur un nombre limité de patients (la probabilité de voir apparaître les effets indésirables très rares est donc faible à ce stade). La fréquence des effets indésirables se précise ainsi après la commercialisation des médicaments qui sont alors utilisés chez un nombre élevé de malades (jusqu'à plusieurs millions).

Ainsi il est important de notifier les événements indésirables observés chez les patients qui prennent des médicaments et d'essayer d'établir la relation de cause à effet entre la prise de médicament et la survenue de l'événement indésirable.

Le rôle des agents de santé et notamment celui du médecin est fondamental pour assurer un recueil systématique des données relatives aux événements indésirables².

Tout nouveau cas suspect doit être notifié au **Centre National de Pharmacovigilance (Tél. : 71564763 / 71578488 / 71569888/71572300. Fax : 71 571390. Adresse : 9, avenue Dr Zouheïr Essafi. Tunis 1006)**.

3.2. RELATION DE CAUSE A EFFET :

Il peut être difficile d'établir avec exactitude la relation de cause à effet entre la prise d'un médicament et l'apparition d'un phénomène pathologique. On est souvent amené à se poser plusieurs questions :

Le phénomène pathologique en question n'est-il pas une évolution naturelle de la maladie pour laquelle le sujet a été traité (ex. : développement d'une insuffisance hépatique chez un cirrhotique) ou l'expression d'une tare naturelle (ex. : sujet connu allergique à la laine et qui présente une éruption cutanée après l'utilisation d'un médicament, alors qu'il a manipulé de la laine durant la même période) ?

Le phénomène pathologique, est-il dû au médicament suspecté ou à un autre médicament lorsque le sujet est soumis à une polythérapie ?

3.3. FRÉQUENTE ET GRAVITE DES EFFETS INDÉSIRABLES :

La fréquence des E.I. n'est pas le seul paramètre important. On doit tenir compte de la gravité de l'E.I. Plusieurs cas de figure peuvent être envisagés :

Effet indésirable très fréquent, mais bénin. On poursuit l'utilisation du produit. Cependant on doit en tenir compte pour veiller au confort du malade ou à sa sécurité (ex. : informer un conducteur de voiture que le médicament qui lui a été prescrit entraîne une somnolence) et éviter à long terme l'apparition d'une complication (ex. : ne pas oublier de boire de l'eau pour le patient qui prend des diurétiques surtout s'il s'agit d'une personne âgée).

Effet indésirable peu fréquent, mais qui peut mettre en jeu la vie du malade alors qu'il existe une alternative thérapeutique à ce médicament. Cela peut conduire à arrêter la commercialisation d'un médicament. Exemple du Tandénil[®], anti-inflammatoire utilisé comme antirhumatismal et qui a donné quelques aplasies médullaires (destruction des lignées sanguines) mortelles. Il a été supprimé du commerce.

¹ Essai clinique : avant d'être commercialisé, le médicament est testé auprès de patients volontaires afin de prouver que l'efficacité observée chez l'animal est confirmée chez l'homme. Le nombre de patients est limité. Il est déterminé par des calculs statistiques qui permettent d'affirmer que le résultat trouvé peut être généralisé à tous les patients.

² Un incident observé pendant l'administration d'un médicament est d'abord appelé **événement indésirable** ; lorsqu'une relation de cause à effet entre cet incident et la prise de médicament est établie ou fortement suspectée, on parle alors d'**effet indésirable**.

Effet indésirable grave, mais la maladie pour laquelle le médicament est utilisé, met elle-même en jeu la vie du malade. C'est le cas souvent des médicaments anticancéreux qui comportent beaucoup de risques, mais qui par ailleurs soulagent le malade au moins partiellement, voire le guérissent.

4. FACTEURS FAVORISANTS :

La survenue d'un effet indésirable dépend de plusieurs facteurs.

4.1. LA POLYTHÉRAPIE :

Le risque de survenue d'effets indésirables croît de manière exponentielle avec le nombre de principes actifs ingérés.

En dehors des pathologies très complexes, **il faut prescrire le minimum de médicaments simultanément.**

4.2. L'ÂGE DU PATIENT :

Le foie et le rein sont les principaux organes d'épuration de l'organisme.

Chez le nouveau-né : l'absence de nombreuses enzymes microsomiales au niveau du foie diminue l'inactivation de nombreux médicaments et augmente ainsi leur toxicité. Ce risque de toxicité est majoré par l'immaturation de la fonction rénale qui élimine de l'organisme de nombreux médicaments.

Chez le vieillard : les fonctions hépatique et rénale ont tendance à se détériorer avec l'âge. Ainsi des posologies adéquates pour un adulte de 50 ans peuvent entraîner un surdosage important chez un vieillard de 80 ans.

4.3. LE SEXE :

Il a été noté une plus grande fréquence des E.I. chez les femmes. Les raisons ne sont pas bien établies.

4.4. FACTEURS GÉNÉTIQUES :

Pour être inactivés ou éliminés, les médicaments subissent en général une biotransformation. La vitesse de biotransformation varie selon l'équipement enzymatique qui est déterminé génétiquement :

- Les cholinestérases responsables de la dégradation de l'acétylcholine inactivent un médicament curarisant la succinylcholine (Suxaméthonium®) dont l'effet est une relaxation musculaire généralisée intéressant en particulier les muscles respiratoires. Chez certains sujets, leurs cholinestérases réalisent plus lentement cette inactivation. D'où un relâchement musculaire prolongé et un risque de problème respiratoire au réveil de l'anesthésie.
- L'acétylation de l'INH qui est un antituberculeux est génétiquement déterminée : une posologie standard donne des taux efficaces chez certains sujets et peut donner des taux toxiques chez d'autres. La conséquence peut être une atteinte hépatique ou une atteinte neurologique.

4.5 L'ALIMENTATION DU PATIENT :

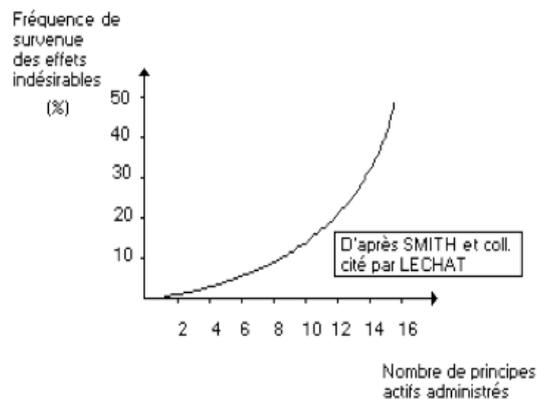
Il y a augmentation par l'alcool des effets sédatif et/ou hypnotique des médicaments psychotropes (qui agissent sur le système nerveux central) comme le phénobarbital³ (Gardéнал®) et le diazépam⁴ (Valium®).

4.6. L'AUTOMÉDICATION :

Le recours individuel aux médicaments expose à certains risques comme :

- le phénomène de dépendance aux médicaments tranquillisants (ex. : diazépam),
- la sélection de germes résistants aux antibiotiques,
- la toxicité pour l'embryon et le fœtus, des médicaments qui traversent le placenta durant la grossesse et qui peut se traduire à la naissance par des malformations plus ou moins graves.

L'automédication est dangereuse en particulier à cause des erreurs d'indication et de posologie ainsi que de l'ignorance des contre-indications et des précautions d'emploi.



3 Médicament utilisé pour traiter les convulsions.

4 Médicament dit tranquillisant utilisé pour traiter les anxiétés.

4.7. LES MODIFICATIONS DES FONCTIONS RENALE ET/ OU HEPATIQUE :

Le foie et le rein sont les principaux organes d'inactivation et d'élimination des médicaments.

En cas d'insuffisance rénale et/ou hépatique, la réduction de ces fonctions d'épuration a pour conséquence une augmentation des taux sanguins des substances actives. Ceci expose à un plus grand risque de voir apparaître les effets indésirables.

4.8. LE CONTACT ANTÉRIEUR AVEC LE MÉDICAMENT :

Il peut être considéré comme facteur de sécurité ou comme facteur de risque, selon le type d'effet indésirable considéré ; en effet si un sujet a bien toléré un traitement dans le passé, on peut penser qu'il ne présente pas d'anomalie métabolique constitutionnelle (ex. : déficit enzymatique) et qu'il ne risque pas de surdosage.

Par contre, en ce qui concerne les effets indésirables de type immunoallergique, un contact antérieur peut avoir été sensibilisant et favoriser la survenue de la réaction allergique lors d'une nouvelle administration de la même substance.

Cependant sur le plan médico-légal, il est indispensable d'interroger le patient sur ces antécédents : l'existence d'un événement indésirable antérieur pendant la prise d'un médicament peut vous amener à ne pas prescrire ce médicament (notamment s'il s'agissait d'un événement allergique) ou à en modifier la posologie.

5. MÉCANISMES :

5.1. MÉCANISME TOXIQUE :

Le médicament est :

- soit accumulé dans certains organes. On parle de Thésaurismoses. Ex. : accumulation de l'Amiodarone (Cordarone®) dans la cornée et dans le foie.
- soit transformé en un métabolite toxique. Ex. : le dérivé acétylé de l'INH peut conduire à un métabolite toxique pour le foie.

5.2. MECANISME IMMUNOALLERGIQUE:

Il a pour caractéristique d'entraîner un effet indésirable totalement imprévisible. On distingue selon la classification de Gell et Coombs :

Type I : anaphylaxie liée à la production d'anticorps IgE (ex. : Pénicillines). La réaction antigène-anticorps provoque la libération d'histamine qui est un puissant vasodilatateur et un agent responsable des phénomènes inflammatoires. D'où des manifestations morbides comme l'état de choc anaphylactique, l'urticaire, l'œdème de Quincke.

Type II : cytolyse directe. L'anticorps étant fixé sur les cellules sanguines, la réaction antigène-anticorps peut provoquer une lyse cellulaire avec diverses manifestations :

- Purpura Thrombopénique (ex. : Sulfamides).
- Anémie hémolytique (ex. : Alphaméthylidopa).
- Leucopénie (ex. : Sulfamides).

Type III : la maladie sérique qui résulte du dépôt de complexes médicament-anticorps sur les surfaces endothéliales (complexes immuns). Une réponse, inflammatoire apparaît là où les complexes se sont déposés (arthralgies, adénopathies, glomérulonéphrite...). L'allergie à la pénicilline est une cause possible de la maladie sérique.

Type IV : allergie tissulaire : eczéma. Allergie de contact (ex. : Streptomycine).

Signalons que certains effets indésirables sont en rapport avec un mécanisme auto-immun : c'est la production d'autoanticorps par l'organisme, due à l'administration répétée du médicament. Exemple : apparition d'un syndrome lupique dû à la Procainamide.

5.3. MODIFICATION DE L'INTENSITE DE L'ACTION DU MEDICAMENT :

Il peut s'agir d'une :

a. Une exagération de l'effet attendu du médicament malgré une posologie standard. Ceci serait dû le plus souvent à une plus grande sensibilité des récepteurs au médicament chez le patient.

Exemple : hypotension orthostatique (c'est-à-dire chute de la pression artérielle lors du passage à la station debout) à la suite d'utilisation d'un médicament antihypertenseur.

b. Du phénomène de tolérance qui est l'épuisement de l'effet d'un médicament administré de façon répétée à la même dose (ex. morphine utilisée à visée antalgique). D'où la nécessité d'augmenter la posologie pour obtenir le même effet recherché. Mais cette augmentation des doses s'accompagne d'un plus grand risque d'apparition des effets indésirables.

6. PHARMACODÉPENDANCE OU TOXICOMANIE :

Il s'agit d'un effet indésirable particulier. Elle est constamment observée avec les stupéfiants. Il s'agit de substance dont l'utilisation n'est autorisée que pour un usage médical de traitement de la douleur.

La toxicomanie implique trois notions :

La tolérance (cf. ci-dessus).

La dépendance physique : qui se manifeste à l'arrêt d'administration du stupéfiant par un syndrome de sevrage qui dans le cas des morphiniques comporte : grande angoisse, mydriase, diarrhée, contractures musculaires et douleur abdominale.

La dépendance psychique : il s'agit d'un désir irrésistible de répéter les prises du produit. Elle se traduit par la recherche impérieuse de la drogue parfois au moyen d'actes délictueux (vol, violence...).

7. EFFETS INDÉSIRABLES SYSTÉMATIQUES :

Certains médicaments provoquent systématiquement des effets indésirables dus à un effet pharmacologique accessoire.

Exemples :

- Insuffisance surrénale après administration prolongée de glucocorticoïdes (Cortancyl®, Unidex®) qui bloquent par un rétrocontrôle négatif la sécrétion des glandes surrénales.
- Vomissements avec les anticancéreux.
- Virilisation par les anabolisants (ou dérivés des hormones androgènes).
- Constipation avec les morphiniques.
- Diminution de la vigilance avec les antihistaminiques (Phénergan®, Polaramine®).

8. PHARMACOVIGILANCE :

8.1. DÉFINITIONS :

En 1972, elle a été définie comme « toute activité tendant à obtenir des indications systématiques sur les liens de causalité probables entre médicaments et réactions adverses dans une population » (OMS. Rapport technique N° 498, 1972).

La pharmacovigilance est donc une pratique scientifique puisqu'elle apparaît comme « systématique ». Elle doit s'appuyer sur une méthodologie stricte et rationnelle afin de conduire à des résultats fiables et reproductibles. Son terrain est la rencontre entre l'homme et le médicament, son sujet est les « réactions adverses » (cette terminologie vient de l'anglais : adverse reaction) appelées effets indésirables.

L'OMS entend par « **réactions adverses** » toute réaction **nocive, non recherchée**, qui apparaît **aux doses normalement utilisées** chez l'homme (OMS. Rapport technique N° 498, 1972). La limitation aux conditions habituelles d'emploi élimine les intoxications aiguës, accidentelles, suicidaires ou criminelles par une dose excessive. Ces dernières sont du ressort des centres antipoison et des services de toxicologie.

8.2. OBJECTIFS :

La pharmacovigilance, organisée sur un plan local, national et mondial, tend à mieux connaître au niveau individuel et collectif la nature et la fréquence des effets indésirables des médicaments et à essayer de comprendre leur mécanisme de survenue. Elle a, d'après les directives de l'OMS, pour objectifs de :

- a. Déceler, aussi précocement que possible, les effets indésirables graves et inattendus dus aux médicaments nouvellement introduits en thérapeutique.
- b. Établir la fréquence et la gravité des effets indésirables connus ou nouvellement découverts. Établir ainsi les éléments rationnels qui entrent dans l'évaluation par les cliniciens du risque thérapeutique.
- c. Informer le corps médical sur les effets indésirables des médicaments en vue d'une prescription rationnelle.

8.3. CONDUITE A TENIR DEVANT UN E.I. :

A. ALERTE :

Tout personnel de Santé doit notifier au Centre National de Pharmacovigilance ou au Service régional de Pharmacovigilance le cas constaté.

B. IDENTIFICATION ET IMPUTABILITÉ :

Ensuite se fait au niveau de l'unité de Pharmacovigilance une **étude clinique** permettant d'identifier l'effet indésirable et d'établir la **relation de cause à effet** (ou imputabilité) entre cet effet et la prise du médicament. Cette relation doit être faite suivant des critères stricts qu'on classe, en :

- **Critères intrinsèques** portant sur l'étude du cas concerné, qui évaluent l'imputabilité intrinsèque (imputabilité propre au cas étudié).
- **Critères extrinsèques** portant sur la recherche bibliographique et les cas déjà notifiés, qui évaluent l'imputabilité extrinsèque. Cette imputabilité extrinsèque dépend de la fréquence des cas observés. L'étude des cas similaires publiés permet de comparer les caractéristiques de l'événement à ceux des cas déjà publiés dans la littérature.

L'imputabilité intrinsèque dépend elle-même de :

Critères chronologiques portant sur

- le délai d'apparition : l'événement indésirable est apparu combien d'heures, de jours après la première prise ? Est-il apparu après l'arrêt du traitement et après combien de temps ?
- l'évolution à l'arrêt du médicament : l'événement indésirable a-t-il disparu après l'arrêt du traitement ou malgré la poursuite du traitement.
- éventuellement à sa réintroduction. La réintroduction volontaire du médicament ne peut être faite que dans des conditions particulières et en milieu spécialisé. Parfois la réintroduction est accidentelle et en cas de récurrence de l'événement, elle confirme alors la relation de cause à effet.

Critères sémiologiques : ce sont tous les examens cliniques et paracliniques qui tendent à prouver l'origine médicamenteuse de l'effet indésirable. Les signes cliniques et paracliniques ne sont pathognomoniques de l'origine médicamenteuse sauf le cas de l'érythème pigmenté fixe (éruption cutanée qui est très prurigineuse et qui a tendance à brunir). L'étude sémiologique a pour but de voir dans quelle mesure l'origine **non**-médicamenteuse peut être évoquée.

9. CONCLUSION :

Chaque fois où vous devez prescrire, il faut avoir à l'esprit « **la balance** » des avantages et des inconvénients et le fait qu'aucun médicament n'est anodin chez les sujets à risque. Il faut donc y penser quand vous vous trouvez en présence d'un nouveau-né, d'un nourrisson, d'un sujet âgé ou ayant une tare quelconque (Insuffisance Rénale, Insuffisance Hépatique) ainsi qu'en présence d'une femme enceinte ou allaitante.

Il faut, par ailleurs, combattre « l'automédication sauvage et non éclairée » et la polychimiothérapie.

EVALUATION FORMATIVE

Pour les questions suivantes, indiquez votre réponse dans l'espace prévu à cet effet.

Question N° 1 : Citez un exemple d'effet indésirable de médicament par :

- mécanisme toxique.
- mécanisme immunoallergique.

Question N° 2 : L'administration de tout médicament entraîne :

- A. toujours un effet indésirable.
- B. aux doses toxiques, un effet indésirable.
- C. parfois aux doses thérapeutiques un effet indésirable.
- D. plus souvent un effet indésirable chez le vieillard que chez l'adulte.
- E. moins souvent d'effet indésirable chez le nouveau-né que chez l'adulte.

Question N° 3 : La prévalence des effets indésirables est moindre :

- A. avec la monothérapie.
- B. avec l'âge avancé.
- C. avec l'altération de la fonction hépatique.
- D. avec l'automédication.
- E. avec l'altération de la fonction rénale.

Question N° 4 : La pharmacovigilance :

- A. est l'étude de la toxicité des médicaments.
- B. est une activité de contrôle des médicaments après leur commercialisation.
- C. permet d'évaluer la prévalence des effets indésirables.
- D. étudie l'effet thérapeutique des médicaments.
- E. ne concerne pas le corps médical.

Question N° 5 : L'imputabilité extrinsèque repose sur l'étude des :

- A. critères chronologiques.
- B. critères sémiologiques.
- C. critères bibliographiques.
- D. cas précédemment notifiés.
- E. le délai d'apparition de l'événement indésirable.

Réponses :
Question N° 1 : - mécanisme toxique : atteinte hépatique liée au dérivé toxique de l'INH.
- Mécanisme immunoallergique : urticaire due à la pénicilline.
Question N° 2 : - C, D.
Question N° 3 : - A.
Question N° 4 : - B, C.
Question N° 5 : - C, D.

MODIFICATIONS LIÉES AU MALADE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Expliquer, par des exemples, les modifications du devenir du médicament dans l'organisme selon l'âge du sujet.
2. Expliquer, par des exemples, les modifications de la cinétique des médicaments, engendrées par les facteurs suivants : morphotype, constitution génétique et alimentation.
3. Expliquer, par des exemples, la répercussion de l'état pathologique sur la diminution ou la majoration des effets des médicaments.
4. Décrire les mécanismes et les circonstances de sensibilisation qui peuvent conduire à l'allergie à un médicament.
5. Indiquer les différents types d'expression clinique des réactions allergiques aux médicaments.
6. Définir la chronopharmacologie.
7. Indiquer l'intérêt de l'étude de la chronopharmacologie.

INTRODUCTION

Les protocoles thérapeutiques appliqués aux malades résultent d'études qui démontrent l'efficacité d'un type de traitement dans le cadre d'une pathologie donnée. L'efficacité observée est en général jugée appréciable quand l'issue de la maladie est meilleure avec ce traitement comparativement avec l'issue naturelle en absence de traitement. Toutefois il est exceptionnel qu'une thérapeutique utilisée dans les mêmes conditions chez tous les patients entraîne des résultats identiques sur le plan de la guérison ou des effets indésirables. Ces différences d'efficacité ou de nocivité peuvent s'expliquer par des paramètres liés au patient.

FACTEURS PHYSIOLOGIQUES ET PATHOLOGIQUES

L'effet d'un même médicament varie chez plusieurs sujets en fonction de nombreux facteurs : **physiologiques** (âge, sexe, morphotype, génétique, grossesse, allaitement), **pathologiques** (insuffisances rénale ou hépatique, allergie...) ou liés à l'environnement (essentiellement **chronopharmacologie**).

1. AGE :

La pharmacocinétique d'un médicament varie selon l'âge. Par rapport à l'adulte, la cinétique du médicament est différente chez le nouveau-né, l'enfant et le vieillard.

1.1. LA RÉSORPTION :

a. chez le nouveau-né :

La résorption gastro-intestinale est augmentée pour certains antibiotiques (aminosides). Elle se normalise vers l'âge d'un an : elle devient alors pratiquement nulle comme chez l'enfant et l'adulte.

La résorption cutanée est très importante.

b. chez le vieillard :

Augmentation du pH gastrique, diminution du péristaltisme.

1.2. LA DIFFUSION :

a. chez le nouveau-né :

La liaison aux protéines est diminuée, devenant normale vers l'âge d'un an.

La barrière hématoencéphalique est plus perméable que celle de l'adulte à de nombreuses substances (barbituriques, morphine).

b. chez le vieillard :

La diminution de la fixation protéique explique l'augmentation de la toxicité des médicaments acides faibles.

Le taux d'albumine diminue.

1.3. LES BIOTRANSFORMATIONS :

a. chez le nouveau-né :

Les systèmes enzymatiques des microsomes hépatiques sont immatures. Par exemple : le chloramphénicol non métabolisé, risque de s'accumuler sous sa forme active, ce qui explique les intoxications aiguës par ce produit (en particulier s'il s'agit de prématurés) et sa contre-indication à cet âge de la vie.

Les barbituriques ont un effet prolongé chez le nouveau-né, par insuffisance des systèmes enzymatiques qui en assurent normalement l'oxydation.

b. chez le vieillard :

On note également une diminution des biotransformations puisque la capacité fonctionnelle hépatique est systématiquement diminuée après l'âge de 70 ans.

1.4. L'ÉLIMINATION :

a. chez le nouveau-né :

La fonction rénale est immature, nécessitant de réduire la posologie des médicaments.

b. chez le vieillard :

Il peut exister un certain degré d'insuffisance rénale : les médicaments peu métabolisés sont dans ce cas plus lentement éliminés, augmentant le risque d'accumulation.

2. SEXE :

Peu de différences ont été établies dans l'activité des médicaments selon le sexe, dans l'espèce humaine. Néanmoins il y a quelques exemples : les barbituriques et la morphine sont plus actifs chez la femme.

3. MORPHOTYPE:

Les drogues liposolubles se fixent en forte proportion sur les lipoprotéines du tissu adipeux (anesthésiques généraux, L.S.D. = lysergamide qui est un réactif utilisé en pharmacologie expérimentale, mais c'est aussi un stupéfiant).

L'anesthésie générale, chez les obèses, nécessite des posologies plus élevées que celles nécessaires pour endormir les sujets de poids normal. Ceci s'explique par l'importance de la fixation sur les lipoprotéines (la forme liée aux protéines n'est pas active). Par ailleurs l'anesthésique se libère progressivement au fur et à mesure que le taux plasmatique diminue : le réveil de l'anesthésie est ainsi plus tardif chez l'obèse.

On peut citer également l'exemple des obèses drogués au L.S.D.. En cas d'amaigrissement important, on note un état d'euphorie intense même en cas d'arrêt de la drogue. La fonte de la masse graisseuse entraîne une importante libération de L.S.D. de ses sites de fixation.

4. CONSTITUTION GÉNÉTIQUE :

L'isoniazide et l'hydralazine sont acétylés plus ou moins rapidement selon que le sujet est un acétyleur rapide ou lent. Ce phénomène doit conditionner la posologie. Il s'agit d'un caractère génétiquement déterminé (autosomique dominant).

L'anémie hémolytique provoquée chez certaines personnes par la primaquine et les sulfamides, est due à un déficit spécifique en glucose -6 -phosphate déshydrogénase érythrocytaire. Cette anomalie est génétique liée au sexe (chromosome X).

Le suxaméthonium (Célocurine® qui est un curarisant) est hydrolysé plus ou moins rapidement selon que le sujet est porteur d'une cholinestérase atypique ou non (caractère autosomique semi-dominant). Ainsi l'effet anormalement prolongé du suxaméthonium chez certains sujets s'explique par la présence dans leur plasma d'une cholinestérase atypique, hydrolysant beaucoup plus lentement ce produit que la cholinestérase normale.

Il existe des médicaments qui sont méthémoglobinisants (sulfamides, dérivés nitrés) chez les sujets déficients en méthémoglobine réductase.

5. ALIMENTATION :

Le jeûne favorise l'absorption digestive de certains médicaments : ampicilline, isoniazide, rifampicine, furosémide, tétracyclines. Ces produits doivent être administrés loin des repas.

Par contre d'autres médicaments voient leur absorption digestive améliorée lorsque des **aliments** sont présents dans la lumière digestive : propranolol, griséofulvine (cette dernière avec les graisses).

6. ÉTAT PATHOLOGIQUE :

Les médicaments sont destinés aux malades et non aux personnes bien portantes. Or l'état pathologique lui-même peut modifier les effets des médicaments soit en les majorant soit en les diminuant.

6.1. DIMINUTION DES EFFETS :

a. Par réduction de la résorption digestive :

- l'ictère par obstruction des voies biliaires, empêche la résorption de la vitamine-K par absence de bile.
- l'absence de facteur intrinsèque chez le Biermérien empêche l'absorption de la vitamine B12.
- l'achlorhydrie diminue la résorption de l'aspirine.
- l'accélération du péristaltisme intestinal (diarrhée) diminue la résorption des médicaments.

b. Par réduction de la résorption parentérale :

Au cours de l'état de choc (diminution du débit cardiaque) la diminution du débit sanguin périphérique réduit significativement la résorption de la morphine injectée par voie sous-cutanée. Ceci est valable aussi pour d'autres médicaments, d'autres voies (I.M.) et pour toute diminution importante des débits périphériques (insuffisance cardiaque).

c. Par accélération de l'élimination rénale :

L'alcalose accroît l'élimination de l'aspirine ($pK_a = 3$) et des barbituriques.
L'acidose accélère l'élimination de l'amphétamine ($pK_a = 9,8$).

6.2. MAJORATION DES EFFETS :

a. Augmentation de la résorption :

La présence de lésions cutanées favorise la résorption de médicaments appliqués sur la peau (pommades renfermant des cortisoniques).

b. Facilitation de la diffusion :

Le passage de la Pénicilline G dans le liquide céphalo-rachidien est augmenté au cours de la méningite.

c. Ralentissement de l'inactivation hépatique :

L'insuffisance hépato-cellulaire réduit l'inactivation de certains médicaments. Il en résulte une exaltation de leurs effets (digitaline, antivitamines-K.).

d. Insuffisance rénale :

L'insuffisance rénale allonge la demie-vie des médicaments à élimination rénale. L'adaptation de la posologie médicamenteuse est indispensable, en particulier pour les produits à faible coefficient chimiothérapeutique (streptomycine, kanamycine, digoxine...).

CHRONOPHARMACOLOGIE

1. GENERALITES ET DEFINITIONS :

Alain Reinberg : « L'activité rythmique est une propriété fondamentale de la matière vivante ».
Comme il est dit dans cette citation, le phénomène existe depuis la création du monde.

De nombreux auteurs (Virey en 1814, Claude Bernard : notion du temps en physiologie...) ont parlé de « rythmes » dès le 19^{ème} siècle. Néanmoins il faut attendre 1960, Reinberg et Halberg en particulier, pour que la notion de « **rythmes biologiques** » (ou « **horloges biologiques** ») soit précisée et mise en évidence de façon scientifique.

Ainsi est née une science rigoureuse et stricte : la **Chronobiologie**.

Dans la vie courante, de nombreux phénomènes rythmés sont connus :

- le pouls, la température, le cycle veille-sommeil et le cortisol qui sont rythmés par 24 h (« cycle circadien »),
- le cycle menstruel (28 j),
- et la pousse des dents (« circannuel »).

L'existence des rythmes relève d'une programmation **génétique** permettant la réalisation de nombreuses activités métaboliques, endocrines, nerveuses, intellectuelles...

L'organisation temporelle de tous ces rythmes semble être la résultante d'un ajustement à un mode de vie diurne au cours de l'évolution. Ainsi le cycle du cortisol donne un taux élevé diurne chez l'homme (cf. fig. 1.), et nocturne chez le rat à activité nocturne.

Par ailleurs le cycle de l'A.C.T.H. précède celui du cortisol qui lui-même se situe avant le pic des activités musculaires, nerveuses... etc.

Cette notion d'organisation temporelle a un intérêt pratique important. En effet il a été montré que l'activité physique et intellectuelle est minimale à 3 h du matin, ce qui explique que la majorité des accidents dus à une erreur humaine se situe dans cette tranche horaire.

En plus de ce concept de chronobiologie sont nés d'autres concepts. C'est ainsi que l'on parle de :

- **Chronoesthésie** ou **Chronopathologie** : variation cyclique de la réactivité des organes cibles (voir asthme et infarctus du myocarde).
- **Chronothérapeutique** et de **chronoeffacité** (ou **chronoergie**) : variation cyclique de l'action d'une même dose d'un médicament en fonction du moment de la prise.
- **Chronopharmacologie** et en particulier **chronopharmacocinétique** ou variations circadiennes du devenir du médicament dans l'organisme, en fonction du moment de la prise médicamenteuse.

Le meilleur traitement sera obtenu quand la chronocinétique et la chronoesthésie sont **en phase** : Réceptivité maximale des récepteurs des organes cibles concordant avec la concentration plasmatique ou tissulaire de médicament le plus efficace.

2. CARACTÉRISTIQUES D'UN RYTHME BIOLOGIQUE :

L'étude d'un rythme commence en premier lieu par la **période**. Ainsi on parlera de rythmes :

- **circadien** : pour une période de **24 h** plus ou moins 4 h (cf. fig. 1.),
- **infradien** : pour une période supérieure à **28 h** (exemple : cycle menstruel),
- **supradien** : pour une période inférieure à **20 h**.

On définit aussi un cycle biologique par son **amplitude**, son **mésor**, son **acrophase**.

(cf. figure 2 et 3).

Figure 2

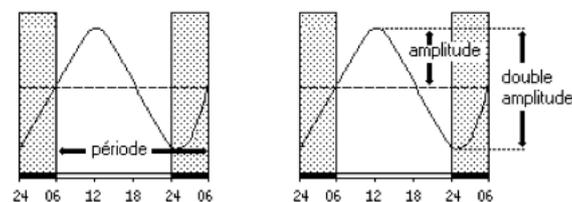
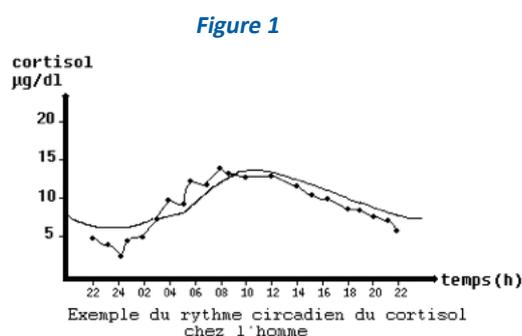
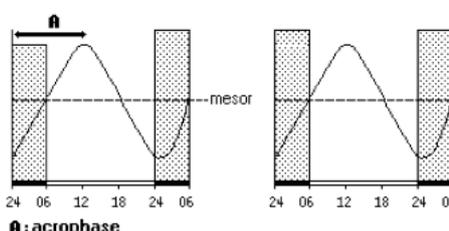


Figure 3



3. DÉTERMINISME DES RYTHMES BIOLOGIQUES :

L'activité rythmique des processus biologiques peut avoir un caractère héréditaire (rythmes endogènes) ou dépendre de l'environnement (rythmes exogènes).

La plupart des rythmes ont un déterminisme **génétique** et sont donc endogènes. Ils peuvent ne pas apparaître à la naissance sous leur aspect définitif. C'est ainsi que le rythme du pouls s'acquiert à la 6ème semaine, celui de la température à l'âge de 2 à 5 ans et le cycle menstruel à la puberté.

De façon exceptionnelle, certains rythmes, naissent sous l'action de facteurs environnants : par exemple l'activité de l'hydroxy-indol-oxy méthyltransférase (H.I.O.M.T.), permettant la transformation de la sérotonine en mélatonine, est induite chez le rat par la présence de lumière (photopériode).

Par ailleurs interviennent sur les rythmes endogènes, des facteurs du milieu ambiant : les « **synchroniseurs** ». Ceux-ci ne créent pas de rythmes, mais influencent ou modulent des rythmes déjà existants. Les synchroniseurs les plus connus sont :

- l'alternance lumière-obscrité et la distribution dans le temps de l'alimentation, deux phénomènes importants chez les animaux et en particulier les rongeurs.
- l'alternance bruit-silence : importants chez les animaux, mais aussi chez les non-voyants,
- l'alternance repos-activité, très importante chez l'homme, elle conditionne de nombreux rythmes circadiens. En leur absence les rythmes changent leur périodicité (expériences de M. Siffre en spéléologie et des décalages horaires lors des vols en avion).

Il existe, d'autre part, une relation entre les différentes horloges biologiques faisant parler de « structure temporelle » pour leur ensemble. Celle-ci peut, bien entendu, subir un grand nombre d'influences ou d'altérations parmi lesquelles on peut citer :

- variations sociologiques : travail de nuit, vol long-courrier...
- variations dues à la maladie : avec modifications d'un rythme existant ou création d'un nouveau rythme (chronopathologie). Voir figures 4 et 5.
- variations dues aux médicaments et toxiques (chronopharmacologie et chronotoxicité).

Figure 4

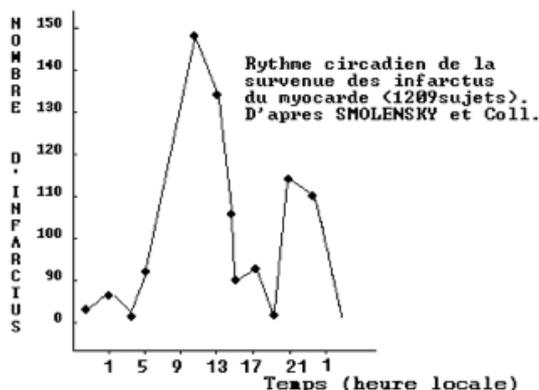
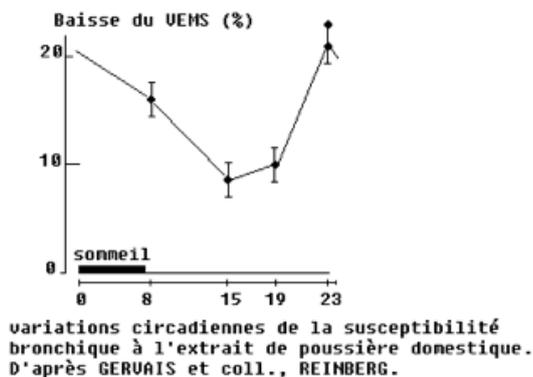


Figure 5



4. EXEMPLES :

A. CHRONOERGIE OU CHRONOPATHOLOGIE :

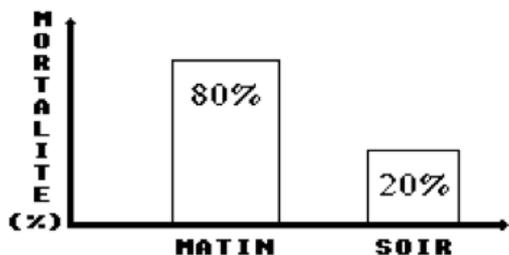
D'après ces deux figures, on comprend qu'un effort de prévention et de traitement doit être particulièrement porté sur :

- la tranche horaire de fin de nuit pour l'infarctus du myocarde,
- la tranche horaire de début de nuit pour l'asthme puisque la baisse du V.E.M.S. est la plus importante à cette période.

B. CHRONOTOXICITÉ EXPÉRIMENTALE:

Exemple de l'Ouabaine.

Figure 6



Rythme circadien de la toxicité (% de mortalité) de l'ouabaine chez la souris. REINBERG et HALBERG.

Cela démontre que les études comparatives de toxicité doivent donc être faites aux mêmes horaires.

C. CHRONOPHARMACOCINÉTIQUE :

Les variations cycliques touchent toutes les étapes du sort du médicament dans l'organisme et on retrouve des études montrant des différences lors de la résorption, la liaison aux protéines, le métabolisme et l'élimination.

En conséquence la cinétique globale variera également.

Exemples de la théophylline, de l'aspirine et d'un digitalique (figures 7, 8 et 9).

Figure 7

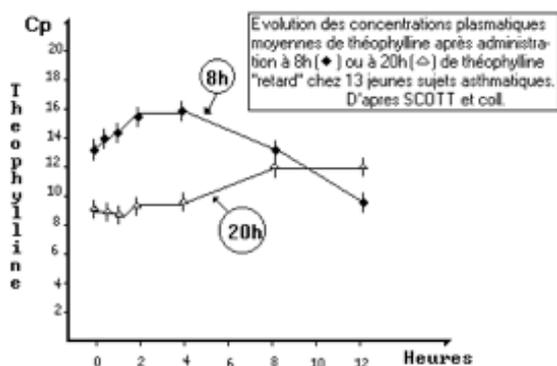


Figure 8

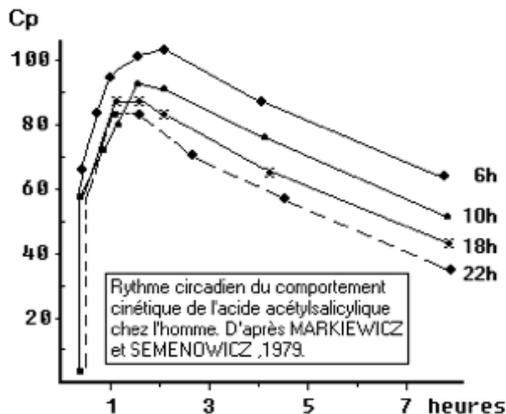
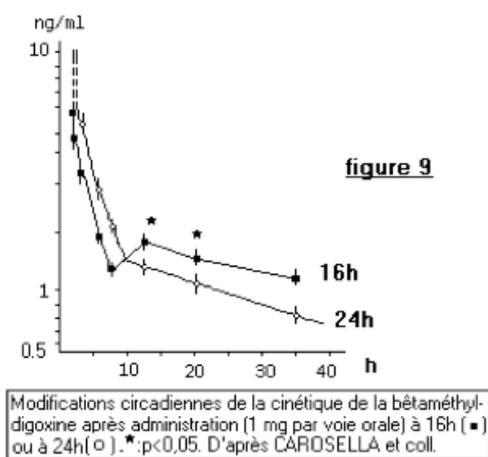


Figure 9



5. CONCLUSION :

Il faut tenir compte de ce facteur temps et des horloges biologiques en particulier lors de l'interprétation des résultats des examens biologiques et de l'instauration d'un traitement. Dans le doute et lors de comparaison, il faudra s'assurer que les examens ou les traitements ont été faits aux mêmes heures dans la journée.

EVALUATION FORMATIVE

Pour les questions suivantes, écrire votre réponse dans l'espace prévu à cet effet.

Question N° 1 : Lorsqu'on administre du chloramphénicol chez un nouveau-né même à une posologie normale, on observe le plus souvent une intoxication aiguë. Quel est le mécanisme pharmacocinétique qui explique cet accident ?

Question N° 2 : Comment la constitution génétique peut-elle favoriser les accidents hémolytiques par les sulfamides ?

Question N° 3 : Expliquer comment l'achlorhydrie diminue la résorption gastrique de l'aspirine ?

Question N° 4 : Citer 2 circonstances non-thérapeutiques qui peuvent conduire à la sensibilisation aux médicaments.

Question N° 5 : Est-ce que le test intradermique à la Pénicilline G ne donne jamais de choc anaphylactique ? Pourquoi ?

Question N° 6 : Pourquoi, lorsqu'on utilise une théophylline (médicament antiasthmatique) à prise quotidienne unique, il est préférable de l'administrer plutôt à 20 heures qu'à 8 heures.

MÉTHODOLOGIE DES ESSAIS THÉRAPEUTIQUES

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Justifier l'intérêt des essais thérapeutiques.
2. Décrire les objectifs et le protocole des Phases I à III des essais thérapeutiques.
3. Indiquer les différentes informations sur le médicament, recueillies à la Phase IV des essais thérapeutiques.
4. Expliquer l'intérêt du « groupe témoin » et du « placebo » dans l'essai thérapeutique.
5. Différencier le jugement de signification du jugement de causalité dans l'analyse des résultats d'un essai thérapeutique.

INTRODUCTION

La pharmacologie clinique est l'étude, **chez l'homme** sain ou malade, du métabolisme des médicaments, de leurs effets pharmacodynamiques, de leurs effets indésirables et de l'incidence d'éventuelles associations.

Comme le montre cette définition, la pharmacologie clinique est une discipline qui est à la base de toute thérapeutique sérieuse. Pourtant il a fallu longtemps pour qu'elle soit bien implantée et qu'elle devienne rigoureuse et scientifique. Elle étudie la **cinétique** et surtout les **effets thérapeutiques** des médicaments en **pathologie humaine** laissant à l'expérimentation animale l'étude des mécanismes d'action.

La nécessité d'une expérimentation chez l'homme est due à la difficulté, voire à l'impossibilité, d'extrapoler de façon complète à l'homme les résultats de l'expérimentation animale. En effet il existe des différences importantes entre l'animal et l'homme, les exemples suivants illustrant bien ces différences :

- **différence dans le devenir** : le Tromexane® (ancien anticoagulant oral) est métabolisé beaucoup plus vite chez l'homme que chez le chien.
- **différence dans l'activité** : l'histamine, vasoconstrictrice chez le rat, est vasodilatatrice chez l'homme.
- **différence dans les effets indésirables** : certains effets indésirables ont été observés pour la première fois chez l'homme : lésions oculaires de la Cordarone®, tératogénèse de la thalidomide...

Par ailleurs il est difficile d'étudier certaines maladies difficilement reproductibles comme modèle expérimental chez l'animal : maladie de Parkinson, hypertension artérielle essentielle. Il en est de même pour l'étude des sensations subjectives : douleurs, céphalées, euphorie...

Pour toutes ces raisons, les essais chez **l'homme** sont nécessaires pour confirmer, infirmer ou modifier ce qui a été trouvé chez l'animal. Le professeur J. Bernard disait bien : « **Les essais cliniques sont moralement nécessaires, mais nécessairement immoraux** ».

Les essais thérapeutiques sont organisés en **phases** (ou période d'étude) classiquement classées de **I à IV** par la Food and Drug Administration (USA). Elles se réalisent chronologiquement de I à IV, néanmoins il existe souvent un certain chevauchement d'une phase sur l'autre.

1. PHASE I :

Pendant cette phase se réalise le premier contact entre l'homme et la nouvelle substance médicamenteuse.

1.1. OBJECTIFS :

Les objectifs de la phase I ne sont pas la mise en évidence d'un effet thérapeutique. Il s'agit de s'assurer que ce premier contact de l'homme avec un produit dont on ne connaît pas encore les effets sur l'espèce humaine se fera sans danger. C'est pourquoi il faut mener ces essais de phase I avec toute l'objectivité et la rigueur scientifique nécessaires. On peut schématiquement dire que les renseignements fournis à ce niveau seront : voie d'administration, volume de distribution, demi-vie, voies métaboliques, voies d'élimination... etc., donc essentiellement les paramètres pharmacocinétiques.

Pour la sécurité de cette phase, on utilise la dose minimale active qui sera recherchée très graduellement et avec précaution : on commence par des doses faibles qu'on augmente progressivement.

On recueillera également les éventuels effets indésirables ou toxiques.

1.2. PROTOCOLE :

A. LA PREMIÈRE DOSE :

La détermination de cette première dose est faite à partir du dossier expérimental chez l'animal en confrontant les doses efficaces et les doses toxiques. Habituellement elle est fixée à un taux allant du 1/10 au 1/100 de la Dose Minimale Active (D.M.A. en mg/kg de poids) retrouvée chez l'animal.

B. LES SUJETS :

Il s'agit essentiellement de **volontaires sains**, en nombre restreint, **quelques dizaines** en général.

À la fin de cet essai, on a une idée globale sur le comportement de ce produit chez l'homme, mais il ne s'agit pas encore d'un médicament.

2. PHASE II :

2.1. OBJECTIFS :

L'objectif essentiel est la mise en évidence de propriétés **thérapeutiques** chez l'homme avec détermination d'une posologie adéquate par l'étude de la relation dose-effet. Ceci se fait de façon très rigoureuse, en milieu hospitalier approprié, généralement chez peu de sujets sachant que l'extrapolation de ces études se fera ensuite en phase III chez des groupes entiers de malades.

2.2. PROTOCOLE :

Il s'agit essentiellement de **malades volontaires** ayant donné leur consentement **éclairé** ou parfois aussi, au début des essais, de volontaires sains. Leur nombre est **restreint**.

On utilise ici des épreuves physiologiques ou des tests biologiques pour évaluer l'efficacité du produit. Cette étude est faite par rapport à un placebo ou un médicament de référence. On commence souvent prudemment avec des posologies basses sur les premiers sujets et on augmente progressivement pour les sujets suivants avec un contrôle des concentrations plasmatiques du produit testé et une surveillance stricte et rigoureuse du point de vue clinique et biologique, de l'éventuelle apparition d'effets indésirables.

La confrontation des effets thérapeutiques observés, des doses données et des concentrations plasmatiques, permet la détermination de la **posologie efficace** et de la relation dose/activité.

À la fin de cette phase, on ne peut encore considérer le produit comme un médicament bien que l'on connaisse déjà ses vertus thérapeutiques essentielles. Il faut vérifier ces dernières sur une large population.

3. PHASE III :

3.1. OBJECTIFS :

C'est la grande phase des **expertises cliniques** pendant laquelle se déroule l'essentiel des essais thérapeutiques chez l'homme. Cette phase permet l'étude des propriétés thérapeutiques du produit sur des populations importantes, variées et de façon prolongée. Il s'agit donc d'études **extensives** dans le temps et dans l'espace, qui ont pour but de démontrer d'une manière rigoureuse que cette nouvelle substance médicamenteuse est au moins aussi active que les médicaments existant déjà. Cette démonstration se fait nécessairement chez le malade. Dans certains cas où la nouvelle substance n'est pas plus active, on cherche à démontrer sa meilleure tolérance ou son utilisation plus pratique du fait de ses caractéristiques pharmacocinétiques (prise unique par jour par exemple).

3.2. PROTOCOLE :

Ces études se font sur des **lots importants** d'une cinquantaine à une centaine de malades chacun. Pour plus d'efficacité, on choisit plusieurs centres (essais multicentriques) dans un même pays ou dans des pays différents.

Ces études extensives sont obligatoirement faites :

- sur une population ayant des pathologies variées et surtout dont les tares sont variables : par exemple cinétique chez l'insuffisant rénal ou hépatique.
- sur une durée longue : permettant une meilleure garantie d'innocuité même si le risque d'effets indésirables ne pourra être estimé à sa juste valeur que lors de la phase IV (post-commercialisation ou pharmacovigilance).

À la fin de cette phase, si l'analyse des différents dossiers d'expertise par une commission spécialisée est concluante, l'autorisation de mise sur le marché (A.M.M.) est délivrée.

4. PHASE IV :

C'est une phase qui se situe **après la commercialisation**, ce qui permet une étude à **très grande échelle** touchant des dizaines, voire des centaines de milliers ou des millions d'individus. Cela permet :

- d'affiner les indications en les limitant ou en les élargissant,
- de toucher certains types de malades (enfants, vieillards, femmes enceintes ou allaitantes),
- de trouver éventuellement d'autres indications,
- mais **surtout** de permettre l'étude des **interactions médicamenteuses** et des effets indésirables éventuels (**Pharmacovigilance**) qui ne peuvent être faits méthodiquement et rigoureusement qu'à ce niveau. La collecte de ces effets indésirables doit être faite à tous les niveaux (régional, national, international) avec mise en commun de ces données pour une meilleure connaissance de ce médicament.

5. COMMENT MENER UN ESSAI THÉRAPEUTIQUE ?

Quelle que soit la phase de l'expérimentation clinique (II ou III en particulier) l'essai thérapeutique doit répondre à une méthodologie rigoureuse ! Ainsi il y a plusieurs points qu'il faut préciser pour mettre sur pied cet essai.

5.1. DÉFINITION DE L'ESSAI :

Il faut choisir **le médicament** (les doses, la voie d'administration...) le type de malades et les critères d'observation des réponses obtenues. L'ensemble de ces choix (ou définitions) doit être consigné dans le protocole de l'essai qui doit être clairement rédigé et rigoureusement suivi.

A. LE MÉDICAMENT :

Il peut s'agir d'un médicament nouveau déjà connu ou commercialisé dont on veut vérifier la dose, le mode d'administration, ou rechercher de nouvelles indications.

Pour un médicament nouveau, l'étape animale réalisée préalablement est très importante. Elle permet d'avoir des indications sur les doses toxiques.

B. LES MALADES:

Le choix primitif de la maladie est souvent artificiel, car comme le dit Nalshe : « **il n'y a pas de maladies, il n'y a que des malades** ». Ainsi il est nécessaire de définir avec précision les critères cliniques et biologiques qui conditionnent la participation des sujets à l'essai. En pratique, cela revient à définir dans le protocole de l'essai ce qu'on appelle les critères d'inclusion et d'exclusion qui permettent le choix précis des sujets.

Par exemple pour l'essai d'un diurétique dans le traitement de l'hypertension artérielle, il faut préciser que l'étude sera faite chez les sujets ayant une hypertension artérielle **essentielle**.

Ces critères de choix sont nécessaires pour constituer des lots **homogènes** ce qui facilitera les études statistiques et les conclusions.

Tout ceci doit, par ailleurs, être assujéti à la volonté des malades dont le **choix doit être libre** (de toutes pressions morale ou matérielle) et **éclairé** (par le médecin qui doit tout leur expliquer concernant les avantages et les inconvénients connus de ce nouveau traitement).

On procède ensuite à un **tirage au sort** qui fera entrer le sujet dans le groupe témoin ou traité, ce qui assurera une meilleure objectivité.

C. CRITÈRES D'ÉVALUATION DES EFFETS :

Il est nécessaire de définir un certain nombre de critères **cliniques et biologiques** permettant de juger l'action d'un médicament et ses effets indésirables. Ces critères doivent être simples et sans équivoque tout en étant **précis, fidèles** (avec résultats reproductibles) et **sensibles** (permettant de voir les plus petites variations).

Il y a par ailleurs une **recherche systématique des effets indésirables** sur certains organes. Par exemple le foie, les reins, le cœur par des examens biologiques simples. Exemple : hémogramme à la recherche d'une anémie ou d'une aplasie médullaire. Surveillance clinique pour saisir toute modification fonctionnelle.

5.2. CHOIX DU PROTOCOLE :

Les observations « anecdotiques » ou « incontrôlées » ne correspondent plus actuellement aux besoins de l'objectivité médicale, ce qui a amené à un protocole de plus en plus strict essayant d'éliminer tout ce qui est **jugement subjectif** que ce soit au niveau du malade, du traitement ou du médecin. Il existe plusieurs méthodes :

A. ESSAI « OUVERT » :

Étude du produit pris seul sur un groupe de sujets.

B. COMPARAISON AVEC UN GROUPE TÉMOIN :

Ce type d'essai a paru, pendant longtemps, donner les meilleurs critères de sécurité. Pour des raisons d'éthique, il ne s'agit généralement pas de comparer des malades traités à des sujets souffrant de la même affection et que l'on priverait de toute thérapeutique, mais de confronter les résultats obtenus entre un groupe bénéficiant du meilleur traitement connu et un groupe recevant le médicament à expérimenter.

Une autre modalité est le choix du malade comme son propre témoin. Il reçoit dans ce cas alternativement les deux thérapeutiques, ou bien on compare son état avec traitement avec son état sans traitement. Cette dernière éventualité n'est évidemment envisageable d'un point de vue éthique que si l'état du malade sans traitement ne se détériore pas.

Il est évidemment impossible de juger de l'effet psychologique du remède et de l'environnement si on ne prend pas certaines précautions. C'est pourquoi on s'intéresse à « l'effet placebo » et on utilise les « **méthodes aveugles** ».

C. L'ACTIVITÉ « PLACEBO », L'ESSAI EN SIMPLE AVEUGLE :

Le « blind test » des Anglo-saxons consiste à éliminer de façon en principe mathématique, les effets psychologiques et subjectifs venant fausser l'expérience. On déterminera l'effet **placebo** en administrant au sujet témoin un produit fait d'une substance inactive (en principe l'excipient seul), les malades ignorant naturellement qu'ils reçoivent un composé inerte.

Malheureusement lorsqu'il s'agit de tester une amélioration fonctionnelle, sur la douleur par exemple, le médecin risque d'être influencé dans son appréciation des résultats, de là l'idée du « double aveugle » : le médecin et le malade ne savent pas lequel est le médicament et lequel est le placebo.

D. L'ESSAI EN DOUBLE AVEUGLE :

On en arrive à l'idée de l'essai « complètement anonyme » ou « en double aveugle », dans lequel ni le malade, ni le médecin, ni l'infirmière ne savent le traitement appliqué. Seul le pharmacologue qui coordonne l'essai connaît la clef du code des produits utilisés pendant le test.

6. ANALYSE DES RÉSULTATS :

Les méthodes statistiques permettent de vérifier si l'hypothèse formulée **avant** la réalisation de l'expérience est correcte. L'hypothèse expérimentale peut être du type :

- le médicament expérimenté est efficace,
- le médicament expérimenté est plus efficace qu'un autre médicament connu ou qu'un placebo.

La finalité des études est donc d'infirmier ou de confirmer ces hypothèses de départ.

Dans tous les cas on a à comparer les résultats obtenus dans deux groupes distincts de sujets soumis à l'expérience. Ces résultats peuvent être :

- des pourcentages de succès. Le succès est défini comme la réalisation de l'événement recherché. Exemple : « disparition de la céphalée en moins d'une heure ».
- des moyennes. Exemple : « taux de cholestérol moyen après un mois de traitement ».

L'analyse statistique des résultats comporte deux étapes.

LE JUGEMENT DE SIGNIFICATION :

Des tests statistiques appropriés permettent de vérifier si la différence entre les résultats observés dans les deux groupes est imputable au hasard ou non.

La différence observée est dite **significative** quand elle n'est pas imputable au hasard.

LE JUGEMENT DE CAUSALITÉ :

Une fois que la différence est jugée significative, on cherche à l'interpréter. À ce stade, on vise à imputer au médicament expérimenté l'origine de la différence entre les résultats observés.

L'interprétation causale n'est possible que si les deux groupes de sujets sont strictement comparables, c'est-à-dire que rien ne les différencie mis à part le traitement administré.

7. INTÉRÊT DE LA RANDOMISATION :

Lors de la constitution des groupes au début de l'expérience, on utilise le tirage au sort appelé aussi « randomisation », car cela permet de répartir de façon équilibrée les différents sujets recrutés sans que l'expérimentateur ne soit tenté d'inclure dans le groupe recevant la nouvelle molécule les sujets qui pourraient donner les meilleurs résultats.

Exemple : le cas de l'étude de médicaments réduisant la mortalité après infarctus du myocarde. Si la répartition par tirage au sort n'est pas faite, on risquerait d'avoir un groupe avec des sujets ayant de nombreuses tares en plus de leur infarctus et un deuxième groupe avec des sujets ayant uniquement l'infarctus. Dans un cas pareil, si on observait de meilleurs résultats dans le deuxième groupe (avec une différence significative), cela ne serait pas nécessairement imputé au nouveau médicament à étudier, car on pourrait évoquer le fait que dans le premier groupe, l'existence de tares associées a contribué à l'obtention de mauvais résultats dans ce groupe.

EVALUATION FORMATIVE

Pour les questions suivantes, écrire votre réponse dans l'espace prévu à cet effet.

Question N° 1 : Citer 2 exemples pharmacologiques qui justifient la nécessité de l'expérimentation des médicaments chez l'homme.

Question N° 2 : Décrire les objectifs des phases I et III des essais thérapeutiques.

Question N° 3 : À quelle phase des essais thérapeutiques, identifie-t-on le mieux les effets indésirables ? Pourquoi ?

Question N° 4 : Définir les concepts de Placebo, « Simple aveugle », « Double aveugle ».

Question N° 5 : Lors d'un essai thérapeutique, si on trouve une différence significative entre deux groupes, quelle condition doit être vérifiée pour que l'on puisse imputer la différence au nouveau médicament étudié ?

CONSOMMATION DES MÉDICAMENTS ET CAUSES DE L'ÉCHEC THÉRAPEUTIQUE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Expliquer les risques liés à l'automédication.
2. Décrire les facteurs qui conduisent à l'abus de la prescription de médicaments.
3. Citer les causes de l'échec thérapeutique.

INTRODUCTION

La part des médicaments dans les dépenses de santé croît de façon importante. Cette augmentation est liée à plusieurs facteurs, dont l'amélioration de l'accès aux soins. Cependant elle n'est pas nécessairement synonyme d'amélioration systématique de la santé. En effet seul l'usage rationnel des médicaments qui doit tenir compte de plusieurs paramètres (indications, contre-indications, coût), permet d'utiliser au mieux les médicaments et d'éviter les échecs thérapeutiques.

CONSOMMATION DES MÉDICAMENTS

Le médicament est un bien consommable au même titre que l'ensemble des produits mis sur le marché commercial. Cependant l'évolution croissante des dépenses de santé en matière de médicaments ne peut être analysée selon un schéma économique classique. En effet plusieurs facteurs interviennent pour expliquer cet accroissement.

La consommation des médicaments dépend au moins de trois acteurs : le malade demandeur de soins, le médecin ordonnateur de la prescription et le pharmacien distributeur du médicament.

1. FACTEURS LIÉS AU MALADE :

Devant la maladie, on peut signaler schématiquement deux types de comportements.

1.1. L'AUTOMÉDICATION :

Le patient sans consulter le médecin, constitue son traitement à partir de schémas thérapeutiques traditionnels ou de médicaments modernes réputés auprès de la population, comme étant efficaces lors de l'apparition d'un certain type de symptomatologie.

L'**automédication**, principal recours thérapeutique pendant les siècles antérieurs, reste une tradition assez répandue de nos jours. En effet une enquête menée auprès de 500 familles tunisiennes, en 1982, a montré que le taux moyen de recours à l'automédication est de 67,4%⁵.

Cette même étude a montré que la majorité des classes médicamenteuses est concernée. Les chiffres indiquent que le recours individuel aux antibiotiques et aux tranquillisants est loin d'être négligeable et amène à tirer la sonnette d'alarme. D'autant plus qu'un tel usage des médicaments peut exposer à de multiples risques dont notamment :

- l'évolution à bas bruit de la maladie (méningite décapitée par des antibiotiques : certains signes cliniques et paracliniques qui conduisent au diagnostic vont disparaître, mais la maladie continue à évoluer),
- l'apparition de phénomène de tolérance voire de dépendance (utilisation de tranquillisants),
- les modifications physiologiques engendrées par un usage prolongé de médicaments comme les laxatifs (perte d'ions K⁺ conduisant à une diminution du péristaltisme intestinal, ce qui aggrave la constipation),
- le développement de souches microbiennes résistantes à des antibiotiques jusque-là efficaces,
- les méfaits des médicaments touchant le fœtus durant la grossesse... etc.

Ainsi si l'automédication peut sembler commode pour le traitement d'affections mineures, elle est cependant dangereuse en particulier du fait des erreurs d'indications et de posologie ainsi que de l'ignorance des contre-indications et des précautions d'emploi.

5 Yaacoubi Nouredine - L'automédication en Tunisie - Thèse de doctorat en médecine. Tunis 1983.

Ce poly a été téléchargé depuis <http://med-tmss.blogspot.com/2016/08/cours.html>

D'ailleurs l'automédication est un des facteurs responsables de l'apparition des effets indésirables : sur 121 cas d'effets indésirables graves ayant entraîné une hospitalisation dans un service de médecine, 11 résultaient d'une automédication ⁶ (soit environ un cas sur dix).

1.2. LE PATIENT CONSULTE :

La fréquence de consultations du médecin est très variable. Elle dépend de la sensibilité de l'individu, de la gravité de la maladie, de son caractère invalidant et surtout des structures socio-économiques qui conditionnent l'accessibilité du malade aux soins et par conséquent au médicament.

La majorité des consultations s'accompagne d'une prescription de médicaments, car la plupart des individus attendent une ordonnance à la fin de la consultation et mettent parfois le médecin dans une position psychologiquement inconfortable de « devoir prescrire quelque chose ».

2. FACTEURS LIES AU MÉDECIN :

Le malade et la société peuvent courir des risques du fait d'un abus de prescription, de prescription incorrecte ou insuffisante.

2.1. L'ABUS DE PRESCRIPTION :

L'abus de prescription s'observe lorsque le médecin :

- élabore une stratégie thérapeutique reposant essentiellement sur la notion de traitement symptomatique. Ainsi a-t-on pu observer, une prescription de 11 médicaments chez un bébé de 1 mois 26 jours qui pesait 3 kg 100 (ceci doit rester anecdotique !!!!!!!!!!!),
- cède à la demande pressante du patient de lui prescrire quelques médicaments,
- se laisse influencer, sans discernement, par la pression commerciale.

Il faut insister ici sur le fait que la multiplication des médicaments consommés simultanément induit des interactions le plus souvent imprévisibles (modifications des modèles pharmacocinétiques classiquement décrits) et surtout accroît de façon exponentielle la fréquence d'apparition des effets indésirables.

2.2. LES ERREURS DE PRESCRIPTION :

Elles peuvent être évitées par :

- une connaissance pharmacologique et une information correcte concernant les médicaments commercialisés,
- une utilisation de doses adaptées à chaque cas sans que la crainte de l'apparition des effets indésirables n'amène à prescrire des doses trop faibles pour être efficaces,
- une durée de traitement suffisante.

Ainsi quand un antibiotique est prescrit à dose trop faible ou pendant une durée trop courte, il y a un risque de faire apparaître des résistances microbiennes, ce qui est un danger pour l'individu et la collectivité. Cependant il faut reconnaître que pour des raisons financières, le malade ne peut pas parfois acheter tous les produits. Dans un pareil cas ne serait-il pas **plus judicieux** de ne lui prescrire que les médicaments indispensables, mais en quantité suffisante ?

3. FACTEURS LIES AU PHARMACIEN :

Le pharmacien a un rôle important à jouer dans le contrôle de la consommation médicamenteuse. Il doit contribuer à réduire les risques liés à l'automédication. Ainsi est-il fondamental que le pharmacien ne délivre aucun médicament inscrit à l'un des tableaux, sans ordonnance médicale.

4. CONCLUSION :

En 1984 le budget du Ministère de la Santé Publique était de 225 millions de Dinars. La même année les dépenses en médicaments se sont élevées à 58 millions de Dinars.

L'accroissement de la consommation médicamenteuse est annuellement de l'ordre de 10 à 15%.

Pour pouvoir maîtriser de telles dépenses de santé, il est important d'accorder une place de choix à la prévention dans toute politique de santé, de veiller à la meilleure formation et information des personnels de santé et surtout d'éduquer le public.

6 Ben Youssef Mohamed Kamel. *Les effets indésirables des médicaments. Thèse de doctorat en médecine. Tunis 1985.*

Ce poly a été téléchargé depuis <http://med-tmss.blogspot.com/2016/08/cours.html>

CAUSES DE L'ÉCHEC THÉRAPEUTIQUE

Devant un échec thérapeutique, le praticien doit penser aux causes suivantes :

1. UN MAUVAIS DIAGNOSTIC INITIAL.

2. LE MALADE NE PREND PAS SON MÉDICAMENT :

Une étude britannique portant sur 3000 foyers a montré que les patients ne prenaient pas la moitié des médicaments qui leur étaient prescrits : ce non-respect des prescriptions médicamenteuses était plus fréquent chez les personnes âgées vivant seules.

La seule méthode permettant de contrôler, avec certitude, la prise médicamenteuse est la détermination du taux plasmatique au plateau thérapeutique d'équilibre. Mais tous les médicaments ne sont pas dosables et la méthode est coûteuse. L'interrogatoire du patient reste ainsi capital.

3. MODIFICATIONS D'ORDRE PHARMACOCINÉTIQUE :

Exemples :

- le BELLERGAL RETARD® est protégé par une enveloppe gastro-résistante ; si le malade écrase le comprimé dans sa bouche la résorption se fait rapidement dès le niveau gastrique, on n'aura plus le même effet retard.
- Les pansements gastriques et les antiacides modifient la résorption d'autres médicaments (anti-inflammatoires non-stéroïdiens, Aspirine...)
- La gastrectomie est un facteur limitant de la résorption.
- Les biotransformations de certains médicaments sont variables :
 - * variations liées à la génétique : acétylation de l'INH.
 - * modifications pharmacologiques : l'induction et l'inhibition enzymatiques.

4. MÉDICAMENT PERIMÉ.

5. POSOLOGIE INADAPTÉE AU POIDS OU À LA SURFACE CORPORELLE DU MALADE.

On peut dire en définitive que trois acteurs peuvent être à l'origine de l'échec thérapeutique.

- Le Médecin,
- Le Malade,
- Le Médicament.

Le rôle du médecin est capital, car c'est le seul partenaire qui peut intervenir efficacement : il doit éviter les ordonnances chargées et opter dans la mesure du possible, à la recommandation de **Razi : Monothérapie, Monodose**. On peut ainsi obtenir une bonne adhérence du patient à son traitement.

EVALUATION FORMATIVE

Pour les questions suivantes, écrire votre réponse dans l'espace prévu à cet effet.

Question N° 1 : Décrire deux exemples de risques liés à l'automédication.

Question N° 2 : Décrire le rôle du médecin et du pharmacien dans la lutte contre l'abus de consommation de médicaments.

Question N° 3 : Décrire deux causes de l'échec thérapeutique.

ORDONNANCE MEDICALE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Décrire l'intérêt et les qualités d'une ordonnance médicale.
2. Expliquer les effets suivants induits par les produits toxicomanogènes : l'euphorie, la dépendance et la tolérance.
3. Indiquer les obligations légales qui concernent la prescription des médicaments inscrits aux tableaux A, B, C et de ceux qui n'y sont pas inscrits.

INTRODUCTION

L'ordonnance est un document important qui sert à indiquer au patient la prescription médicale ordonnée par le médecin. Ce message adressé au patient, mais aussi aux professionnels habilités à exécuter les prescriptions médicales, doit être rédigé avec beaucoup de soins afin de permettre une application de ces prescriptions sans erreur.

La rédaction de l'ordonnance doit être faite selon une réglementation qui vise à protéger la sécurité des patients. Le médecin doit savoir que sa responsabilité civile et pénale peut être engagée du fait du non-respect de cette réglementation.

1. DESCRIPTION DE L'ORDONNANCE MEDICALE ET REGLES GENERALES :

1.1. DEFINITION :

L'ordonnance médicale se définit comme étant un message écrit, contenant une prescription ordonnée par le médecin au destinataire. Ce dernier peut être un malade, un pharmacien, un confrère biologiste ou une Caisse de Sécurité Sociale... etc. Elle pourra comprendre, soit une prescription médicale, soit une demande d'examen complémentaires, mais aussi des conseils diététiques et d'hygiène.

1.2. DESTINATAIRES :

Le destinataire peut être

le malade : dans ce cas le médecin devra indiquer par écrit les médicaments à utiliser, leur posologie, leur mode d'administration ; parfois il devra rédiger des règles d'hygiène précises ou des conseils diététiques.

un confrère biologiste ou radiologue : quand le médecin aura à demander des examens complémentaires ou une exploration.

le pharmacien pour la délivrance des médicaments et parfois l'infirmier qui serait amené à pratiquer des injections ou des soins, voire le technicien pour une kinésithérapie...

d'autres destinataires :

Les Caisses de Sécurité Sociale : C.N.S.S. (Caisse Nationale de Sécurité Sociale), C.N.R.P.S. (Caisse Nationale de Retraite et de Prévoyance Sociale) et autres mutuelles ou assurances.

Le représentant de l'autorité légale qui interviendra par un aspect répressif ou un aspect social.

Aspect répressif : le médecin doit appliquer certaines obligations que les autorités administratives et judiciaires sont chargées de faire respecter.

Aspect social : l'ordonnance ouvre droit aux prestations des Caisses de Sécurité Sociale.

1.3. QUALITÉS D'UNE ORDONNANCE :

Il est indispensable qu'une ordonnance médicale soit :

- **présentable** : sur un papier propre, non froissé.
- **claire et explicite** : la rédaction de l'ordonnance doit éviter au malade de faire des confusions sur la posologie et les modalités d'administration du médicament. Ainsi l'indication « 3 comprimés par jour » est source d'erreur, le patient pouvant alors s'administrer le médicament dans la journée selon un rythme irrégulier. Ceci peut conduire à une inefficacité du traitement ou à une survenue d'effets néfastes. Par conséquent il faut que la posologie soit formulée sans ambiguïté et dans ce cas il vaut mieux écrire « un comprimé matin, un comprimé midi, un comprimé le soir avant (ou après ou pendant) le repas ».
- **lisible** : le malade doit pouvoir lire sans peine les instructions qui lui sont destinées. Cela permettra également au pharmacien et à son aide d'éviter les confusions de noms de médicaments tels que :
 - Phénergan® (antihistaminique),
 - Phénobarbital® (antiépileptique).

Pour éviter ces confusions, il est recommandé d'écrire le nom du médicament en majuscule. Il faut savoir qu'en cas d'incident résultant d'une telle erreur, il y a une **coresponsabilité** du médecin et du pharmacien.

1.4. VARIÉTÉS D'ORDONNANCE :

Les médicaments étant des substances comportant un risque de produire des effets indésirables plus ou moins sévères, certains d'entre eux ont été classés dans des tableaux (A, B et C). Ces tableaux répondent à une réglementation de leur prescription, de leur détention et de leur délivrance, comportant des contraintes de plus en plus restrictives respectivement pour les tableaux C, A et B.

- Pour les médicaments non-inscrits aux tableaux et ceux des tableaux A et C**, on utilise du papier ordinaire, mais la rédaction de l'ordonnance répondra à des obligations légales différentes d'un groupe de médicaments à l'autre.
- Pour les médicaments inscrits au tableau B** (tableau des substances toxicomanogènes), on rédige la prescription sur des ordonnances numérotées provenant d'un carnet à souches. Ce carnet est délivré à chaque médecin par le Conseil de l'Ordre des médecins. Les souches permettent au Conseil de l'Ordre de contrôler de façon rigoureuse l'usage des médicaments toxicomanogènes.

2. CLASSIFICATION DES MÉDICAMENTS :

Les médicaments peuvent être constitués de principes actifs comportant un risque d'effets indésirables d'une certaine gravité. Ils sont alors classés dans les tableaux des substances dites « vénéneuses ».

2.1. TABLEAU C :

Le tableau C groupe les substances dites « **dangereuses** » de toxicité généralement relativement faible (ex. : Procaïne ; antibiotiques). Les substances nouvelles y sont généralement inscrites, et cela par prudence, même si le caractère de toxicité n'a pas été démontré avec évidence.

2.2. TABLEAU A :

C'est le groupe des substances dites « toxiques » qui

- possèdent une toxicité intrinsèque forte (atropine),
- peuvent provoquer des effets indésirables importants (corticoïdes),
- présentent des risques sérieux de potentialisation avec d'autres médicaments associées (anticoagulants),
- ou dont l'administration nécessite une surveillance médicale suivie (sulfamides hypoglycémiant).

Cependant la classification en tableau C et A peut ne pas être évidente même si on se réfère :

Aux critères de toxicité : les barbituriques peuvent entraîner rapidement la mort par surdosage et ils ne sont classés qu'au tableau C.

Aux critères de posologie : la dose quotidienne de sulfamides hypoglycémiant (tableau A) est de 1 g, mais la clonidine (tableau C) se prescrit à une dose inférieure au milligramme dans les traitements de l'HTA.

Aux critères logiques : les sulfamides hypoglycémiant existent au tableau A, alors que l'insuline ne figure à aucun tableau.

2.3. TABLEAU B :

Il comporte les substances « **toxicomanogènes** » : ce sont en général des analgésiques centraux comme la morphine, l'opium, la péthidine...

Ces substances sont appelées « stupéfiants » ou encore « narcotiques ».

Classiquement on considère comme toxicomanogène, une substance entraînant simultanément les 3 effets suivants :

A. L'EUPHORIE :

Correspond à une sensation de bien-être, de satisfaction. Elle est « anormale » lorsqu'elle se produit comme un épanouissement exagéré de la personnalité, et ce, sous l'influence de certains stupéfiants.

B. L'ASSUÉTUDE (OU DÉPENDANCE) :

Elle comporte deux composantes :

- une **dépendance physique** qui se manifeste à l'arrêt de l'administration du stupéfiant par un syndrome de sevrage, qui dans le cas des morphiniques, se traduit par : une grande angoisse, une mydriase, une diarrhée, des contractures musculaires et une douleur abdominale ;
- une **dépendance psychique**. Elle résulte en partie de la peur du syndrome de sevrage et se traduit par un désir irrésistible de répéter les prises du produit. Elle conduit à la recherche impérieuse de la drogue parfois au moyen d'actes délictueux (vol, violence...).

C. UNE ACCOUTUMANCE (OU TOLÉRANCE ACQUISE) :

C'est l'épuisement de l'effet d'un médicament administré de façon répétée à la même dose. Il est alors nécessaire d'augmenter la posologie pour obtenir le même effet recherché. Mais cette augmentation des doses s'accompagne d'un plus grand risque d'apparition des effets indésirables.

3.OBLIGATIONS LÉGALES RELATIVES À LA PRESCRIPTION DES MÉDICAMENTS :

3.1. MÉDICAMENTS NON-CLASSES AUX TABLEAUX :

La délivrance de tels médicaments par le pharmacien ne nécessite pas, d'un point de vue réglementaire, la présentation d'une ordonnance. Cependant lorsque le médecin en prescrit, la rédaction de l'ordonnance correspondante comportera des :

A. MENTIONS OBLIGATOIRES :

- Nom et prénom (s) du médecin.
- Prescription : nom du médicament, la posologie, le mode d'administration et la durée du traitement.

On indiquera le fractionnement de la dose quotidienne de façon explicite.

Par exemple : 2 comp. matin, 2 comp. midi et 2 comp. soir au lieu de 2 comp. x 3/j ou bien 6 comp. en 3 fois/j.

- Date.
- Signature du médecin.

B. MENTIONS FORTEMENT SOUHAITÉES :

- Adresse du médecin et son téléphone.
- Nom et prénom (s) du malade.
- Âge du malade s'il a moins de 15 ans.

3.2. MÉDICAMENTS DU TABLEAU C :

La rédaction de l'ordonnance comportant ces médicaments doit comprendre les indications suivantes :

- Nom, prénom (s) et adresse du médecin.
- Prescription. Dans ce cas il est souhaitable que la posologie soit écrite en toutes lettres.
- Date.
- Signature du médecin.
- Âge du malade s'il a moins de 15 ans.

Après exécution de la prescription, le pharmacien rendra l'ordonnance au malade, revêtue du cachet de l'officine, et y indiquera le numéro d'inscription à l'**ordonnancier** (registre tenu par le pharmacien) et la date de délivrance.

Le **renouvellement d'achat** est possible avec la même ordonnance sauf s'il y a eu une indication contraire de la part du médecin.

3.3. MÉDICAMENTS DU TABLEAU A :

La rédaction et l'exécution de l'ordonnance comportant ces médicaments répondent aux mêmes obligations que celles du tableau C.

Cependant ici la posologie sera écrite obligatoirement en **toutes lettres** et le **renouvellement d'achat** n'est pas possible sauf si c'est le médecin qui l'indique explicitement sur l'ordonnance.

3.4. MÉDICAMENTS DU TABLEAU B :

La réglementation du tableau B est encore plus restrictive puisqu'elle vise en outre la nature des substances prescrites, le document sur lequel la prescription doit être établie et la durée de la prescription.

La morphine ne pourra être prescrite que sous forme de soluté injectable ou de sirop et non à l'état naturel. D'autre part le médecin devra inscrire sa prescription sur un **carnet à souches**.

Pour la rédaction, les obligations sont les mêmes que pour le tableau A, mais en plus le médecin devra indiquer le nom, le prénom et l'adresse du malade (le médecin doit s'assurer de l'identité du patient). Même la date sera inscrite **en toutes lettres**. La durée de la prescription **ne devra pas dépasser 7 jours**. Il est interdit de formuler, d'exécuter, ou de renouveler une prescription du tableau B au cours d'une période couverte par une prescription antérieure.

Dans le cas où la prescription n'a pas été adéquate, un **chevauchement** aura lieu, **une seule fois**, pour « rectifier le tir » ; le médecin devra indiquer dans ce cas que la deuxième ordonnance complète ou remplace la première dont il faut rappeler le numéro, car le pharmacien aura à faire le décompte de ce qui a été déjà délivré sans être consommé. La durée de cette nouvelle ordonnance ne peut excéder 7 jours.

Le **renouvellement** d'achat avec la même ordonnance est **interdit** même si le médecin l'indique sur l'ordonnance.

4. ÉTIQUETAGE DES BOÎTES CONTENANT DES SUBSTANCES « VÉNÉNEUSES » :

Toutes les préparations ou spécialités pharmaceutiques inscrites aux tableaux C,A et B portent une étiquette rouge comportant, inscrite en noir sur le fond rouge la mention : « Ne pas dépasser la dose prescrite » s'il s'agit de médicaments pour usage par voie générale (sirops, ampoules, suppositoires... etc.) ; « Ne pas avaler » s'il s'agit de médicament pour usage par voie locale (pommade, collyres).

On peut identifier à quel tableau appartient le médicament en retrouvant sur la boîte :

- un rectangle vert pour le tableau C.
- un rectangle rouge pour le tableau A.
- deux rectangles rouges pour le tableau B.

5. TABLEAU RÉCAPITULATIF :

TABLEAUX	C	A	B
Médicaments	Dangereux	Toxiques	Toxicomanogènes
Nom, prénom(s) et adresse du médecin	obligatoire	obligatoire	obligatoire
Posologie en toutes lettres	souhaitable	obligatoire	obligatoire
Durée du traitement par ordonnance	<ou= 30 jours	<ou= 30 jours sauf "pilule"	< ou = 7 jours
Date	obligatoire	obligatoire	obligatoire
Signature du médecin	obligatoire	obligatoire	obligatoire
Nom et prénom(s) du malade	souhaitable	souhaitable	obligatoire + Adresse
Age du patient si <15 ans	obligatoire	obligatoire	obligatoire
Renouvellement d'achat	OUI sauf indication contraire	NON sauf si indiqué	IMPOSSIBLE
Chevauchement	—	—	1 seule fois
Inscription à l'ordonnancier	obligatoire	obligatoire	obligatoire

EVALUATION FORMATIVE

Pour les questions suivantes, indiquer dans l'espace réponse, la (ou les) lettre(s) correspondant à la (ou aux) proposition(s) correcte(s) :

Question N° 1 : L'ordonnance comportant un médicament du tableau B :

- A. nécessite l'utilisation du carnet à souches.
 - B. est renouvelable si le médecin l'indique.
 - C. se fait pour une durée de 15 jours au maximum.
 - D. comporte la posologie en toutes lettres.
-

Question N° 2 : La délivrance d'un médicament du tableau A :

- A. nécessite une ordonnance du carnet à souches.
 - B. est renouvelable si le médecin l'indique.
 - C. doit être inscrite à l'ordonnancier.
 - D. se fait pour une durée de 7 jours au maximum.
-

Question N° 3 : Une ordonnance pour un médicament du tableau C :

- A. doit comporter l'adresse du médecin.
 - B. peut être renouvelée si le médecin n'indique pas le contraire.
 - C. doit être tirée du carnet à souches.
 - D. ne doit pas être inscrite à l'ordonnancier.
-

Question N° 4 : La prescription de morphine à un patient :

- A. peut être faite pour 21 jours avec la même ordonnance.
 - B. nécessite d'inscrire l'adresse du patient sur l'ordonnance.
 - C. doit comporter la posologie en toutes lettres.
 - D. peut faire l'objet uniquement de deux chevauchements.
-

Question N° 5 : Tous les types d'ordonnance comportent obligatoirement :

- A. les titres universitaires et honorifiques du médecin.
 - B. la durée du traitement.
 - C. la signature du médecin.
 - D. le nom du malade.
-

LES « MÉDECINES ALTERNATIVES »

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Citer les différents types de « médecines alternatives ».
2. Définir ces techniques et pour chacune d'elles, indiquer les bases du traitement et les indications préférentielles.

INTRODUCTION

La thérapeutique repose sur plusieurs supports comme le médicament, l'acte chirurgical et la radiothérapie dont l'efficacité est prouvée, mais aussi sur d'autres techniques moins bien validées scientifiquement.

En effet la médecine dite scientifique, malgré sa technicité, connaît ses limites et ne peut proposer de tout guérir. Par ailleurs, elle ne s'intéresse malheureusement que modérément aux aspects psychologiques de la souffrance et n'accepte que ce qui a été prouvé par des méthodes vérifiables et répétables.

Pour toutes ces insuffisances actuelles et d'autres, un espace couvrant tout ce qui est irrationnel est laissé libre pour d'autres types d'essais et de propositions. C'est dans ce cadre, qu'il faut placer ce qu'on appelle les médecines « douces », ou « naturelles », ou « parallèles » et pour lesquelles nous préférons les termes de médecines « **alternatives** » (à la médecine officielle) ou les « médecines non expérimentales ».

Ces pratiques, très différentes les unes des autres, ont en commun de se définir en réaction plus ou moins affirmée contre la médecine expérimentale et scientifique. Celle-ci s'adresse essentiellement à la raison et néglige la non-raison. Or l'être humain, s'il a besoin de certitudes et de croyances, a en lui une part d'irrationnel dont le médecin doit tenir compte pour trouver la thérapeutique efficace.

À notre avis, le médecin diplômé doit connaître toutes les techniques et c'est à lui, en toute connaissance de cause et en toute conscience, de choisir celle qui est la plus utile pour son malade. Il n'y a rien d'anormal à ce que des médecins instruits dans la médecine scientifique pratiquent les médecines « alternatives » de leur choix en **complément** de la médecine de preuve. **Ce qui serait criminel, c'est que des charlatans le fassent à leur place.**

Comme nous l'avons dit plus haut, les « médecines alternatives » sont nombreuses. Nous allons les définir toutes et pour, les mieux codifier entre elles, donner les bases essentielles de leur théorie.

1. ACUPUNCTURE :

Le mot acupuncture est formé de la juxtaposition de deux mots latins : **acu** (aiguille) et **punctura** (piqûre). Pour les Chinois, l'acupuncture est un des quatre claviers thérapeutiques utilisés et qui a pour but de remettre l'homme en harmonie avec l'univers. L'aiguille est donc un agent de liaison entre deux « rythmes » l'un perturbé (corporel) et l'autre de référence (cosmique) permettant le contact entre eux grâce à des points de résonance bien déterminés. C'est ainsi qu'il existe des **points** externes correspondant aux organes ainsi que des **méridiens** les reliant entre eux permettant d'agir localement ou à distance de ces points par des processus de conduction et de résonance.

De nombreuses études ont été faites sur cette technique empirique et efficace dans certaines pathologies, par des scientifiques occidentaux. On a ainsi vu naître une acupuncture « scientifique » qui essaie d'apporter des preuves objectives de l'existence des points et des méridiens externes qui les relient et de comprendre les mécanismes de leur action. Tout n'est pas expliqué, loin de là. Néanmoins il y a de nombreuses données vérifiées et en particulier une confirmation expérimentale de l'existence des points et méridiens dans un service de Médecine Nucléaire d'un Hôpital parisien (Pr. Vernejoul).

Indications préférentielles : anesthésie, maladies rhumatismales, maladies psychosomatiques.

2. HOMÉOPATHIE :

Homéo (semblable) en opposition à médicaments allopathiques (médicaments ordinaires).

L'homéopathie, découverte par Samuel Hahnemann au siècle dernier, repose essentiellement sur trois principes :

PRINCIPE DE LA SIMILITUDE :

les produits sont capables de produire chez l'homme sain des symptômes analogues à ceux qu'ils sont capables de faire disparaître.

PRINCIPE DE LA DILUTION :

les produits hautement dilués non seulement conservent leur efficacité, en évitant les effets indésirables, mais voient le champ de leur action s'étendre et s'approfondir.

PRINCIPE DE LA DYNAMISATION :

Les produits sont malaxés et agités (« dynamisés ») pour qu'ils acquièrent leur efficacité.

Ainsi on peut **définir** l'homéopathie comme « une méthode thérapeutique, qui utilise à dose non toxique chez un individu malade, des substances médicamenteuses capables de déclencher à dose toxique ou subtoxique, chez un individu sain, un ensemble de symptômes semblables à ceux de la maladie observée ».

De nombreuses questions restent posées par rapport à la science contemporaine :

PROBLÈME DE LA DILUTION :

Les dilutions sont faites au 1/100ème. Ainsi entre la 11ème et la 12ème dilution, normalement il n'y aurait plus de principe actif si on se tient au nombre d'Avogadro ($6,02 \times 10^{23}$ molécules pour une molécule-gramme d'un corps chimique). Et pourtant les Homéopathes affirment que ces dilutions donnent des résultats cliniques. Est-ce un effet **placebo** (voir définition en fin de chapitre) ou la « mémoire de l'eau » (solvant) ?

PROBLÈME DE LA SIMILITUDE :

Pourquoi un produit aurait-il une certaine action à dose normale et l'action inverse à dose homéopathique ? Les homéopathes s'appuient sur de récentes découvertes en biologie ; sur des préparations tissulaires et cellulaires d'une inversion d'effet en fonction de la dilution (neurotransmetteurs de l'influx nerveux).

Certains chercheurs d'organismes français (CNRS - INSERM) dont les Drs B. Poitevin et Benveniste ont essayé de trouver des arguments expérimentaux à l'action des produits homéopathiques avec plus ou moins de succès. En effet, les travaux sont difficiles à mener en homéopathie, car les protocoles expérimentaux classiques ne sont pas toujours applicables à elle, par suite des principes mêmes de cette discipline, le remède devant être choisi en tenant compte de la spécificité du malade.

Laissons le Dr Bernard Poitevin conclure : « Notre objectif est de faire en sorte que le remède homéopathique, dont l'efficacité n'a pour l'instant qu'une valeur empirique, devienne peu à peu un médicament à part entière. Il nous faut des preuves irréfutables, et nous avons bon espoir de les obtenir ».

3. PHYTHÉRAPIE :

Il s'agit d'une **méthode ancestrale et millénaire** qui fait appel aux **plantes médicinales**. En 1948, on a découvert des tablettes d'argile gravées de signes cunéiformes, datant de l'époque sumérienne (4000 ans av. J.-C.). Il s'agit des premiers « recueils » de formules de « plantes médicaments ». On y dénombre près de 250 plantes utilisées déjà en suspension, en onguent, ou en tisanes.

Hippocrate, 300 ans av. J.-C., traite de la médecine par les plantes (le « Cornus Hippocrate » cite plus de 250 plantes).

Dioscoride (1^{er} siècle de notre ère), écrit le fameux « De Materia Medica » qui traite de 600 plantes et qui resta un ouvrage de référence pendant plus de 15 siècles. Au siècle suivant, Galien père de la pharmacie galénique, écrit un recueil de recettes à base de plantes.

Ibnou Sina (né en 980) appelé le premier des sages a écrit le « Canon de la Médecine », utilisant les plantes comme thérapeutique.

Maïmonide né en 1135, a laissé une œuvre monumentale sur les plantes et était considéré comme le meilleur médecin de son époque.

L'École de Salerne, très réputée, du 11ème au 14ème siècle, a publié en particulier vers 1066 le « régime de santé de Salerne » qui met l'accent sur les vertus curatives d'un très grand nombre de plantes, en particulier la sauge.

L'essor actuel de la phytothérapie est dû à une prise de conscience d'une partie du corps médical de la nécessité d'utiliser les molécules de synthèse, efficaces, mais ayant des effets indésirables, dans les cas où c'est vraiment indispensable et de

les remplacer quand cela est possible par la phytothérapie. Celle-ci occasionnerait moins d'effets indésirables et peut bénéficier des progrès de l'industrie pharmaceutique pour une meilleure présentation et une facilité d'utilisation.

La phytothérapie utilise des posologies dites « pondérales » (mg, cg, g). Avant de prescrire, le médecin doit examiner son malade et poser un diagnostic, ensuite choisir à valeur thérapeutique égale plutôt la phytothérapie qu'une autre variété de médicaments.

Les possibilités de cette thérapeutique sont vastes, mais elle a une place de choix dans certaines indications : l'arthrose, les affections veineuses, les dystonies neurovégétatives et les troubles du sommeil, le diabète dit gras (comme appoint) les troubles circulatoires et la prévention de l'athérosclérose.

4. THÉRAPEUTIQUE THERMALE :

Dès l'antiquité, on faisait une grande utilisation des **eaux minérales**, mais plus par voie externe (bains) qu'interne (boissons).

Actuellement on peut distinguer deux thérapeutiques :

- la Crénothérapie : utilisation des eaux aux sources mêmes.
- La Balnéothérapie : utilisation des bains, se divisant en bains liquides classiques, en bains mous (boue), secs (sable) ou gazeux (vapeur) modulés en fonction de la température du bain et la durée d'immersion.

Actuellement très utilisée en Tunisie pour les maladies rhumatismales (Jebel Ouest et Korbous) et les affections de la sphère ORL (Hammam Bourguiba près de Aïn Draham).

5. OSTÉOTHERAPIE:

Possède de nombreux **synonymes** : médecine orthopédique, médecine manuelle, chiropraxie, spondylothérapie, vertébrothérapie, chirosomatothérapie.

Elle consiste en des **manceuvres manuelles** à des fins thérapeutiques sur le système ostéo-articulaire et plus spécialement la colonne vertébrale.

Elle comporte essentiellement trois procédés :

- le massage : peau, muscles, ligaments...
- la mobilisation articulaire : passive et/ou active...
- et la manipulation articulaire, surtout sur la région vertébrale, qui grâce à un mouvement brusque et limité donne des résultats spectaculaires et immédiats.

Cette pratique, exercée par des non-médecins de façon plus ou moins empirique, doit être réservée au corps médical ayant acquis une compétence et une expérience dans ce domaine, car les contre-indications sont fréquentes et les risques encourus sont parfois graves.

6. MÉSOTHÉRAPIE : (Dr Pistor : médecin de campagne, vers 1960).

Il s'agit, en fait, d'un mode de traitement, qui consiste en des micro-injections répétées à l'aide d'aiguilles spéciales très courtes et très fines de médicaments utilisés couramment. (Procaïne : anesthésique local, iodogluthional, vitamine B1, antalgiques, anti-inflammatoires). Le principe semble logique et donne de bons résultats dans les cas limités et précis où la douleur est locale.

7. DIÉTOTHERAPIE:

Elle consiste à utiliser une **alimentation choisie** ou **régime** pour corriger totalement ou partiellement une maladie dépendant de l'alimentation. Elle élargit donc le concept de régime à celui d'une hygiène de vie : alimentaire, physique et psychique. Elle se base sur l'apport calorique ainsi que la nature et la répartition des aliments. La nutrition dépasse le domaine de la diététique puisqu'elle s'intéresse en plus aux caractéristiques biochimiques des aliments à leurs transformations ainsi qu'à leur action sur la santé, sur les plans physique, psychique et épidémiologique. Il s'agit donc d'une discipline médicale à part entière la plus naturelle qui soit et dont les résultats nécessitent du temps.

Malheureusement ces objectifs sont souvent détournés par la recherche du « sensationnel ». On voit utiliser ainsi des régimes fantaisistes, souvent inefficaces et parfois dangereux destinés, soi-disant, à faire perdre rapidement quelques kilos à des sujets complexés par leur aspect physique.

Les diététiciens sérieux ont par contre une place de choix dans le traitement de l'obésité, du diabète, de l'hypertension artérielle, de l'hypercholestérolémie et de l'hyperuricémie. Ils peuvent aussi aider au traitement de certains troubles digestifs (ulcère, gastrite, calculs biliaires, constipation...), de la fatigue, de certaines maladies infantiles et même à la prévention de certains cancers...

8. AURICULOTHÉRAPIE ET IRIDOLOGIE (NÉES VERS 1960).

Ces techniques « fantaisistes » reposent sur l'idée que le pavillon de l'oreille et le conduit auditif d'une part et l'iris de l'autre peuvent constituer une zone de représentation pour le reste du corps.

9. LES « GUÉRISSEURS »:

Ils utilisent différentes techniques et malgré le peu de résultats, les clients sont souvent « satisfaits », car il y a une adhésion totale du patient.

C'est ainsi que sont nés les « charlatans du cancer » qui sont consultés par 1/3 des cancéreux n'ayant plus foi que dans ce qui est irrationnel.

Ceci appelle les médecins à se poser plusieurs questions qui devraient les aider à faire leur autocritique :

- Pourquoi ces charlatans ont-ils tant de « clients » ?
- Le corps médical informe-t-il correctement ses malades sur les techniques utilisées et les résultats escomptés pour obtenir leur adhésion complète au traitement ?
- Le médecin fait-il preuve dans tous les cas d'humanisme vis-à-vis de ses malades... ?

Nous devons trouver, au niveau de chacun d'entre nous, mais aussi au niveau de toute la profession, les réponses à ces questions pour essayer de rendre le traitement le plus efficace et le plus humain possible.

10. CONCLUSION :

Il serait dommage et illusoire d'interdire l'usage des médecines dites alternatives si un médecin diplômé estime qu'elles peuvent être utiles à son patient. C'est le fait de soigner sans diplôme qui est illégal et non la technique employée qui l'est. **C'est aux médecins et à eux seuls, de juger de la meilleure manière d'être utiles à leurs patients, en sachant « qu'aussi longtemps que l'homme vivra, jamais la raison ne triomphera complètement de la déraison ».**

EFFET PLACEBO

Le **placebo** (« je plairai ») est un traitement **inactif** administré à la place d'un traitement actif à un malade ignorant cette substitution.

Dans une série d'expériences portant sur 1000 sujets, traités par des placebos imitant divers remèdes, 35% environ d'entre eux ont ainsi été guéris de troubles tels que : douleur postopératoire, douleur angineuse, céphalée, mal de mer, nausée, anxiété, toux, rhume... Ils peuvent, par ailleurs, entraîner des effets indésirables : palpitations, diarrhées, urticaire, fièvre, chute de tension artérielle...

Ces effets ne sont pas imaginaires et s'accompagnent parfois de phénomènes objectifs quantifiables. Ils sont d'ordre psychosomatique.

L'effet « placebo » peut être provoqué par un médicament, mais également par une intervention chirurgicale, une radiothérapie... etc., ou même résulter des seules relations avec le médecin. Il est actuellement admis que la foi du thérapeute dans son traitement peut influencer les résultats de celui-ci.

On peut ainsi considérer que l'effet global d'un traitement comporte deux parts : la première **spécifique**, liée à ses particularités pharmacologiques et la seconde **générale**, liée à la façon dont est administré le traitement.

De nombreux moyens ont été utilisés pour essayer d'éliminer l'effet « placebo », mais sans résultats. Le seul moyen est d'égaliser ces effets dans les deux groupes (groupe traité et groupe témoin) par la conduite de l'essai « à l'aveugle » (voir cours sur les essais thérapeutiques).

EVALUATION FORMATIVE

Pour les questions suivantes, écrire votre réponse dans l'espace prévu à cet effet.

Question N° 1 : Expliquez pourquoi les patients sont tentés d'avoir recours aux « médecines alternatives » ?

Question N° 2 : Indiquez les limites des « médecines alternatives ».

Question N° 3 : Définissez le concept de placebo en l'illustrant par un exemple.
