

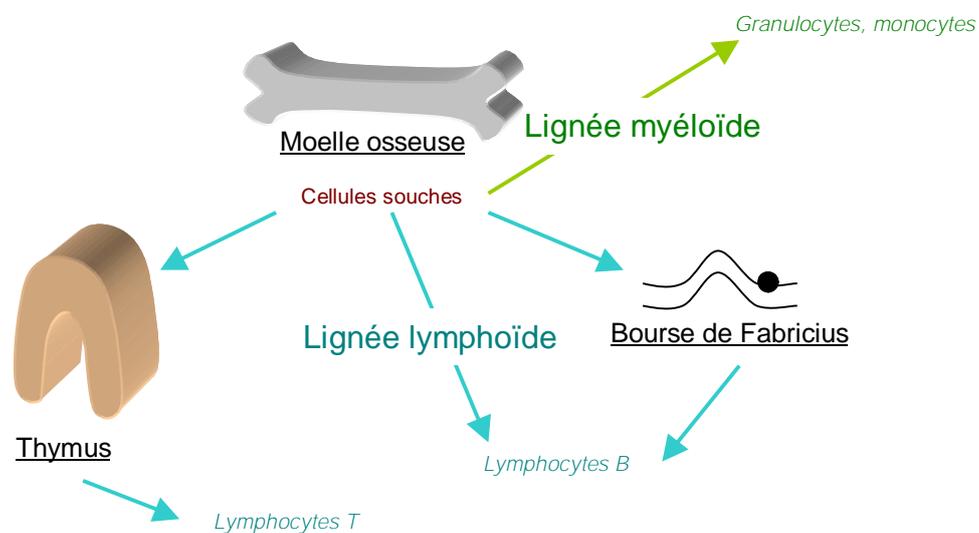
Immunologie

I Les organes lymphoïdes

Ce sont les organes qui produisent les cellules du système immunitaire.

A. Organes lymphoïdes primaires (ou centraux)

Les organes lymphoïdes primaires sont les endroits où les cellules immunitaires sont produites, amenées à maturation (indépendamment des antigènes) et sélectionnées (élimination des cellules auto-immunes ou inactives).



Trois organes font partie des organes lymphoïdes primaires. La moelle osseuse est l'organe dont les cellules souches vont générer l'ensemble des cellules immunitaires. Le thymus, qui régresse lors de la puberté, sélectionne les lymphocytes T tandis que la bourse de Fabricius, uniquement chez les oiseaux, active les lymphocytes B.

B. Les organes lymphoïdes secondaires (ou périphériques)

Ces organes sont colonisés par les cellules immunitaires venant des organes lymphoïdes primaires. C'est là que sont produites les cellules effectrices.

Les ganglions lymphatiques sont très nombreux et disséminés partout dans le corps, ils filtrent les antigènes circulant dans le système lymphatique. La rate à l'instar des ganglions, filtre les antigènes du sang. Enfin des tissus lymphoïdes sont associés aux muqueuses pour leur procurer une barrière immunitaire contre les micro-organismes pouvant emprunter cette voie pour pénétrer l'organisme.

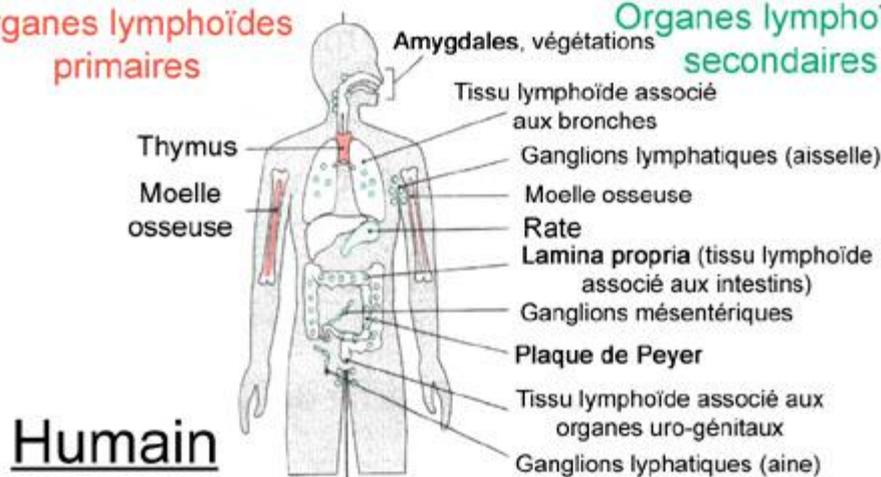
Remarques : _ Le système lymphatique est un système circulatoire en parallèle avec le système sanguin, contenant du sérum venant du sang. Ainsi, les antigènes du sang sont plus facilement repérés.

_ Dans presque tous les organes, la plupart des lymphocytes présents sont les lymphocytes T, sauf dans la rate où on retrouve autant de lymphocytes B que de lymphocytes T.

C. Anatomie

Organes lymphoïdes primaires

Organes lymphoïdes secondaires



II_ Les cellules du système immunitaires

A. Lignée lymphoïde

La *lignée lymphoïde* produit en majeure partie les cellules de l'immunité spécifique. On appelle ces cellules *lymphoblastes*, puis *lymphocytes* une fois différenciées.

Parmi les lymphocytes, on distingue :

- q Lymphocytes B : Ils se différencient en plasmocytes au contact d'un antigène, puis sécrètent des anticorps contre cet antigène.
- q Lymphocytes T
 - q $T_{\text{cytotoxiques}}$ (ou T_8) : Au contact d'une cellule présentant un antigène, ils se différencient et détruisent cette cellule.
 - q T_{helper} (ou T_4) : Au contact d'un antigène, ils stimulent les autres lymphocytes pour accélérer la réponse immunitaire.
- q Cellules NK (*Natural Killer*) : ce lymphocyte fait partie de l'immunité naturelle, il phagocyte les antigènes.

B. Lignée myéloïde

La *lignée myéloïde* produit presque toutes les cellules de l'immunité naturelle. Ces cellules sont appelées *myéloblastes* (ou *monoblastes*), puis *myélocytes* une fois différenciées. On distingue deux types de myélocytes : les granulocytes (ou polynucléaires) et les monocytes.

Parmi les granulocytes, on trouve :

- q Neutrophiles : Ils phagocytent les micro-organismes, très rapidement mais une seule fois par cellule.
- q Éosinophiles : Ils auraient un rôle contre les parasites.
- q Basophiles : Ils sont responsables des inflammations.

Les monocytes (ou macrophages) sont les phagocytes par excellence. Selon l'endroit où ils se trouvent, ils sont appelés différemment : *cellules de Kupffer* dans le foie, *microglie* dans le cerveau, *cellules de Langerhans* dans la peau ...

III Caractérisation et différenciation

A. Propriétés physiques

1) Morphologie

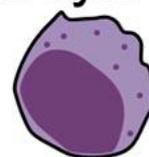
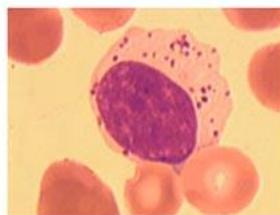
On peut observer les cellules immunitaires au microscope optique, en utilisant une coloration au May-Grinwald-Giemsa.

Petit lymphocyte



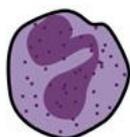
Le noyau prend presque tout l'espace cytoplasmique (elle n'est pas encore différenciée). Cette cellule a une taille proche de celle des globules rouges.

Grand lymphocyte



Noyau bien rond. Espace cytoplasmique légèrement augmenté. Parfois présence de granules.

Éosinophile



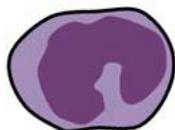
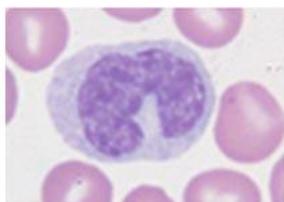
Noyau souvent bilobaire. Beaucoup de petites granules. Cellule volumineuse.

Neutrophile



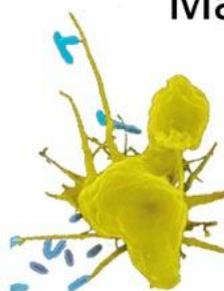
Noyau très segmenté. Cellule de taille moyenne.

Monocyte



Noyau fortement édenté. Cellule volumineuse.

Macrophage



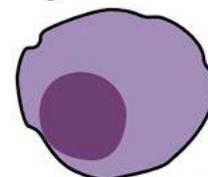
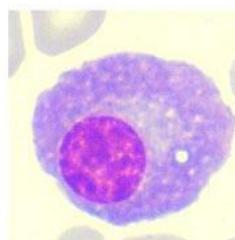
Cellule complètement différenciée, souvent avec de nombreux bras. Elle est très volumineuse.

Basophile



Noyau segmenté. Beaucoup de granules. Cellule assez volumineuse.

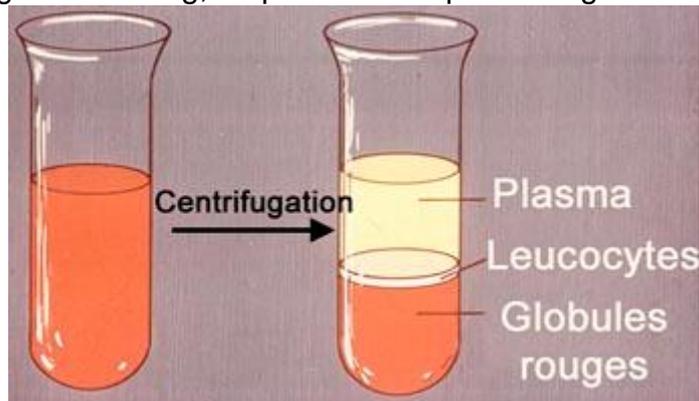
Plasmocyte



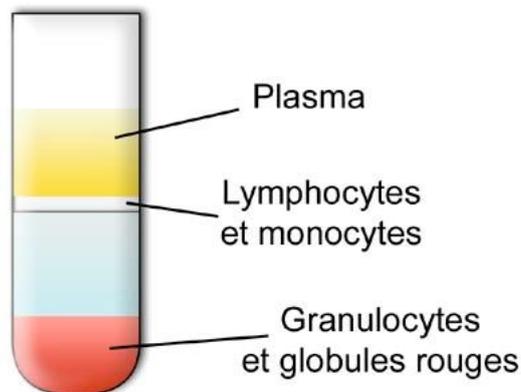
Noyau bien rond. Cellule volumineuse et cytoplasme important (cellule différenciée pour sécréter).

2) Densité

En centrifugeant du sang, on parvient à séparer les globules blancs.



On peut ensuite séparer les globules blancs grâce à un gradient de densité dans le ficol.



Cette technique est simple et possède un bon rendement. Cependant la pureté de l'échantillon est relative.

B. Propriétés biochimiques

1) Composition des granules cytoplasmiques

La coloration au MGG révèle au microscope optique des couleurs différentes des granulations :

- _ rouge vif pour les éosinophiles
- _ violet pour les basophiles

2) Activité enzymatique

Selon le type de cellule, leurs enzymes seront différents. Ainsi, on peut déterminer quelles sont les cellules présentes.

Type de cellule	Activité enzymatique		
	Peroxydase	Phosphatase acide	Phosphatase alcaline
Basophile	-	-	-
Éosinophile	+	+	-
Neutrophile	+	+	+
Monocyte	+	-	+

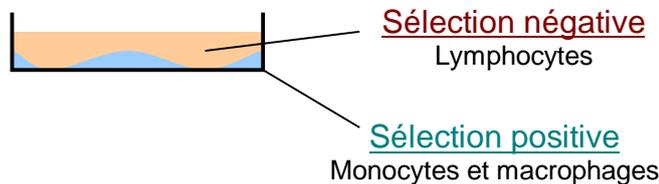
C. Propriétés biologiques

1) Adhérence

Certaines cellules immunitaire ont la capacité d'adhérer à certaines matières, permettant alors leur séparation.

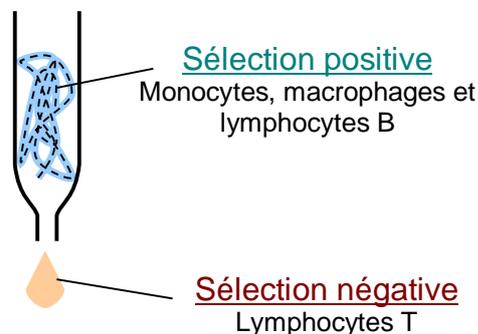
Adhérence simple :

On laisse les cellules dans une boîte de Pétri. Les monocytes et les macrophages se fixent sur le fond en plastique.



Adhérence au Nylon :

On fait passer les cellules dans une colonne remplie de fibres de Nylon. Les macrophages, monocytes et lymphocytes B restent fixés.



2) Phagocytose

Seuls les monocytes, les macrophages et les neutrophiles peuvent phagocyter. En injectant une substance identifiable (ex : encre noire), on repère facilement les cellules phagocytaires qui ingèrent ces molécules.

3) Choc osmotique

Cette technique permet de lyser les hématies. Plusieurs substances peuvent être employées :

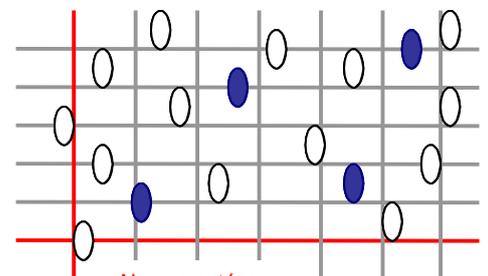
- q Eau : les hématies sont très sensibles au choc osmotique, ainsi la pression osmotique de l'eau suffit à les faire éclater. On parle d'hémolyse.
- q NH₄Cl : L'ammonium entre dans les hématies qui ne peuvent pas l'éliminer. La cellule meurt car ce composé est toxique.
- q Acide acétique

4) Viabilité cellulaire

Pour connaître le nombre de cellules vivantes, on les compte sur un hématimètre. Les cellules sont déposées sur une cellule qui possède un quadrillage, et on compte le nombre de cellules immunitaires par unité d'aire. Les cellules communément utilisées pour compter les leucocytes sont la cellule de Malassez et la cellule de Thoma.

Cellule de Malassez :

La quadrillage de la cellule de Malassez est découpé en plusieurs rectangles, chacun contenant de **0,01 μ L** de cellules, eux-mêmes découpés en 5 rectangles sur 6. On ne



compte pas les cellules à cheval sur les bords inférieur et gauche.

Afin de compter les cellules plus facilement, il faut souvent les diluer. Pour différencier les cellules mortes des cellules vivantes, on les mélange à du Bleu Trypan. Ce colorant n'entre que dans les cellules mortes.

On peut alors connaître la concentration de ces cellules, ainsi que le pourcentage de cellules viables.

Ex : on compte sur le schéma 14 cellules vivantes et 4 cellules mortes. On a donc 14 cellules / 0,01 μ L, soit 14×10^5 cellule.mL⁻¹. Le pourcentage de cellules viables (ou vivantes) est de 77%.

D. Propriétés immunologiques

Les cellules sont recouvertes de protéines membranaires, appelées marqueurs cellulaires. Le système immunitaire peut identifier certains marqueurs cellulaires :

- q Les marqueurs du soi permettent d'identifier ses propres cellules
- q Les marqueurs de groupe d'individu permettent de reconnaître certains phénotypes.
- q Les marqueurs d'espèce sont commun à une même espèce
- q Les marqueurs de population cellulaire sont spécifiques du type de cellule portant ces marqueurs.
- q Les marqueurs de maturation cellulaire apparaissent selon le stade de la cellule (différenciée ou indifférenciée, par exemple)

Ainsi, il est possible pour le système immunitaire de fabriquer des anticorps contre ces marqueurs. On injecte la cellule à marquer dans un anticorps étranger, qui va se mettre à fabriquer des anticorps contre cette cellule. Il suffit ensuite de les récupérer.

1) Observation d'une population cellulaire

On marque les anticorps avec une enzyme, un fluorophore ou bien un radio-isotope, spécifique de la cellule à observer. C'est le marquage direct.

On peut aussi injecter ces anticorps pour ensuite révéler leur position en injectant d'autres anticorps spécifiques des premiers. C'est le marquage indirect.

2) Adhérence immune (ou *panning*)

Des anticorps sont fixés au fond d'un récipient, que l'on remplit d'un liquide qui contient les cellules à obtenir. Celles-ci restent fixées sur le fond, on les récupère par grattage.

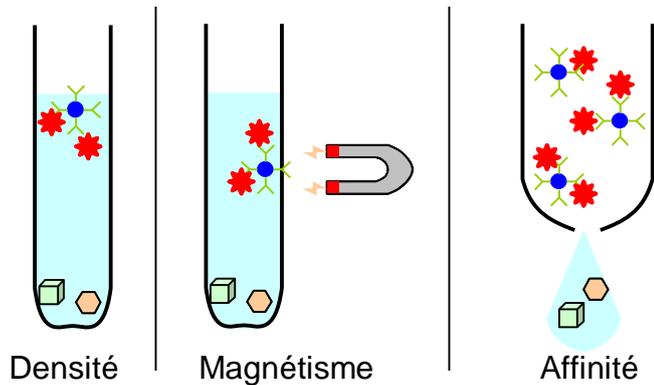


3) Couplage d'anticorps avec des billes

En fixant les anticorps à des billes, on peut les récupérer (ainsi que l'antigène complexé) selon les caractéristiques de ces billes :

à Selon la densité : En utilisant des billes moins denses que l'eau (ex : agarose, polystyrène), on les récupère flottant à la surface de l'eau.

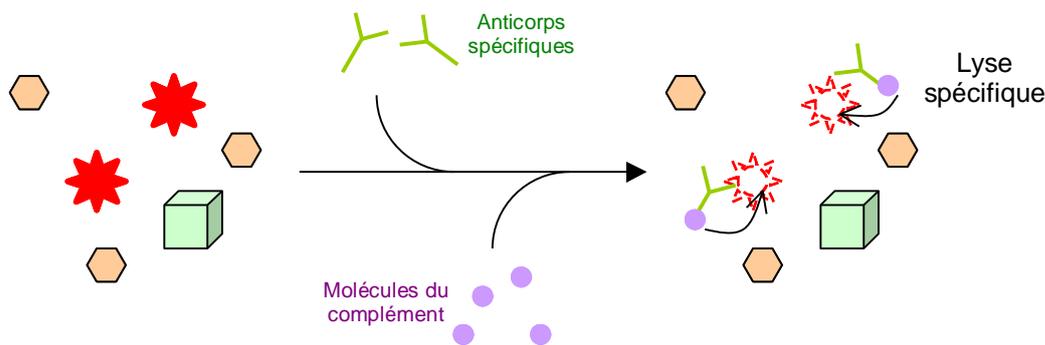
à Par magnétisme : En utilisant des billes contenant du fer.



à Sur colonne d'affinité : Les antigènes restent accrochés aux billes dans la colonne.

4) Déstructuration d'une population cellulaire par cytotoxicité

En utilisant des anticorps fixant les molécules du complément (les IgM et certains IgG), on peut spécifiquement lyser certaines cellules.



Cette méthode est simple et très sensible. Elle peut être réalisée stérilement. Cependant il est possible de tuer des cellules de manière non spécifique.

Remarque : si les cellules à lyser sont des globules rouges, on parle d'immunohémolyse, si ce sont des lymphocytes, on dit que l'on fait une lymphocytotoxicité.

E. Obtention de cellules immunitaires

1) Prélèvement

Les cellules immunitaires peuvent être obtenues à partir du sang, de la moelle osseuse, des ganglions, de la rate ou du thymus. Les populations de ces cellules seront différentes dans leur proportion et leur stade de différenciation, selon l'échantillon prélevé.

Si l'on prélève du sang, il faut penser à utiliser un anticoagulant afin de le garder sous forme liquide. Quelques anticoagulants :

- _ l'héparine, toxique pour certaines cellules
- _ l'EDTA qui inhibe les activateurs du complément

2) Conservation des cellules

On peut conserver ces cellules dans des étuves, régulées en température (37°C), gaz (20% d'O₂) et humidité (80% d'eau). Elles survivent *quelques heures à plusieurs jours*.

Ou bien, on peut les conserver pendant *plusieurs semaines à plusieurs années* en les conservant à une température très faible (-80°C à -169°C), à l'aide d'un cryoprotecteur qui protège les membranes.

V_ Choix de la méthode

La méthode a utiliser dépend des conditions dans lesquelles on veut l'utiliser. On peut privilégier la qualité ou la quantité de cellules obtenues, en fonction du but recherché.

Par exemple, pour isoler une population cellulaire, on utilisera une sélection précise et spécifique ; tandis que pour cultiver des cellules, on essaie d'avoir le maximum de cellules vivantes, dans des conditions stériles et dans le même état qu'à l'origine.