

CHU
GRENOBLE
ALPES

IBP

Le Complément... pour le meilleur et pour le pire!

créak

Federica DEFENDI
Praticien Hospitalier, PhD
Service d'Immunologie
LBMR Complément et Angioedème Bradykinique
Institut de Biologie et Pathologie – CHU Grenoble Alpes

MaRIH
Fédération Française des Malades de l'Angio-Œdème

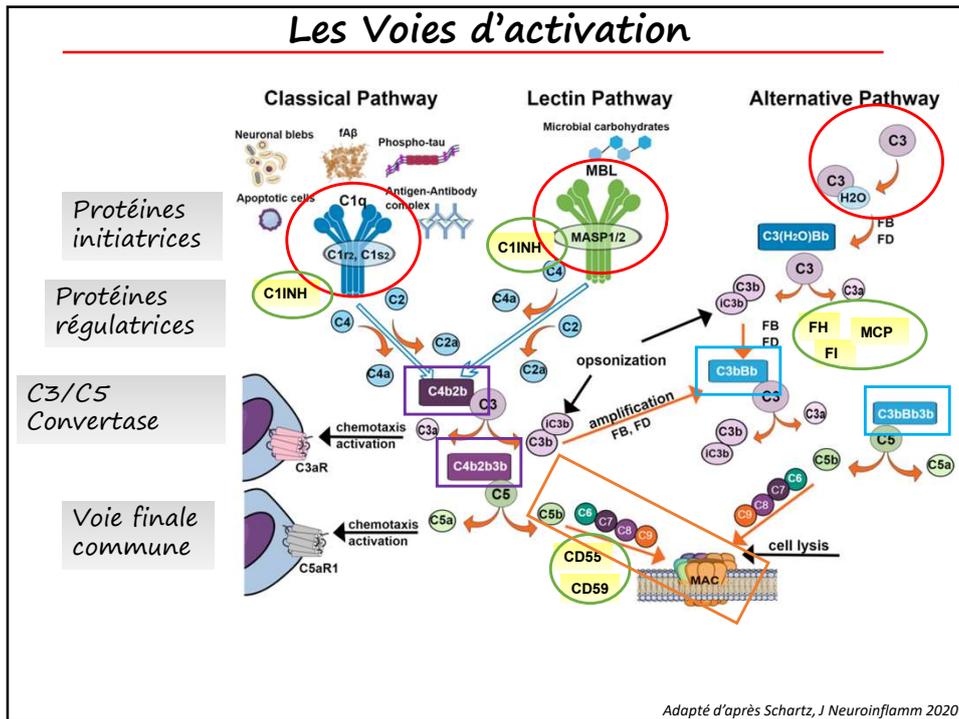
1

Le Système du Complément

- Réponse immunitaire immédiate, innée
- Cascade constituée de > 50 protéines
 - ✓ protéines effectrices circulantes sous forme inactive capables de s'activer séquentiellement en cascade générant de fragments biologiquement actifs
 - ✓ Protéines de régulation
 - ✓ Récepteurs membranaires
- 3 Voies d'activation

2

Les Voies d'activation



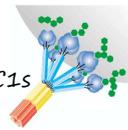
3

La Voie Classique

Activée par:

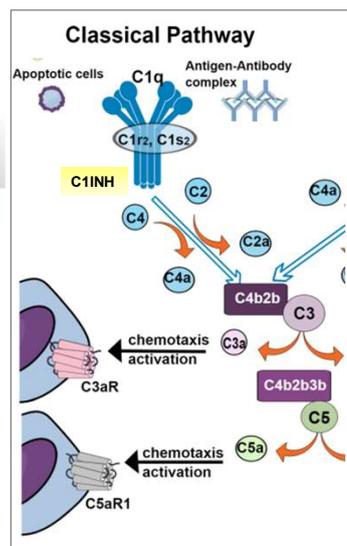
- Fragment Fc des Ig complexes: IgG1, IgG2, IgG3, IgM
- Autres: cellules apoptotiques, acides nucléiques, CRP, protéines enveloppe virale (VIH, EBV)

Protéine de reconnaissance: C1q associée à 2 Ser-protéases : C1r, C1s (complexe C1)



Auto-activation de C1r et activation de C1s
 → Clivage de C4 et de C2
 → Formation de la C3 convertase classique: C4b2b (anciennement C4b2a)

- **Inhibiteur:** C1 Inhibiteur (C1INH)



4

La Voie des Lectines

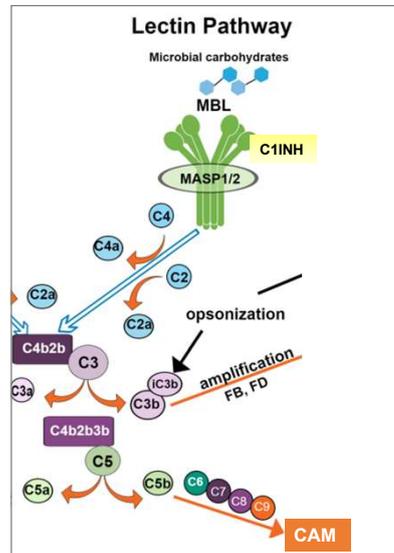
Activation par carbohydrates bactériens

Protéines de reconnaissance: MBL, Ficolines

Protéases associées: MASP-1 et MASP-2
(40% d'analogie avec C1r et C1s), qui clivent C4 et C2

Aboutit à la formation de la C3 convertase classique: C4b2b
(anciennement C4b2a)

- Inhibiteur: C1 Inhibiteur (C1INH)



5

La Voie Alterne

Activation permanente à bas-bruit (hydrolyse de C3)

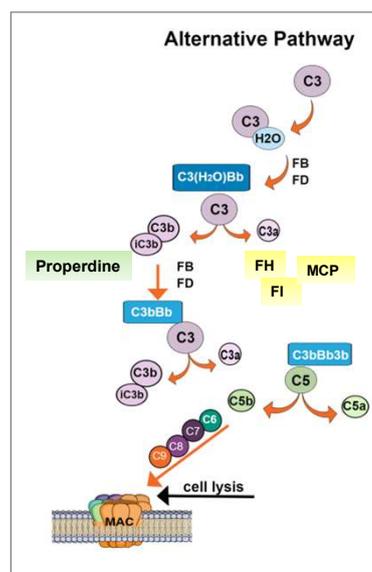
Mécanisme de défense naturelle qui a précédé l'apparition des Anticorps

Activée par structures polysaccharidiques de: bactéries, virus, cellules transformées

En présence d'une surface activatrice: clivage du FB par FD
formation de la C3 convertase alterne: C3bBb

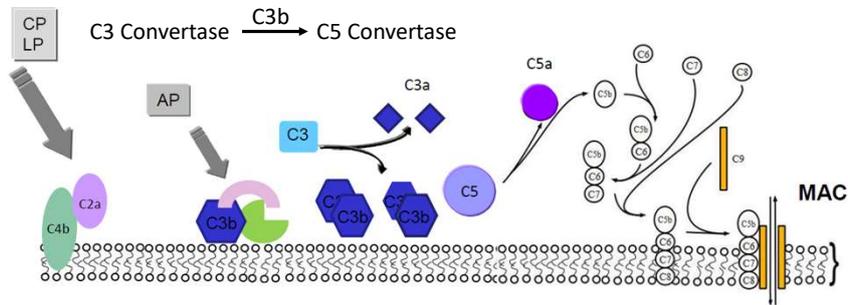
Boucle d'amplification ++

Inhibiteurs: Facteur H, Facteur I, MCP (CD46)
Régulateur positif: Properdine



6

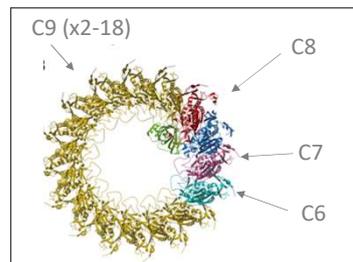
La Voie Finale commune



Complexe d'Attaque Membranaire (CAM, C5b-9):

→ Lyse de cellules inertes, érythrocytes, microbes (Gram neg, ex: *Neisseria*)

→ Déficit en CAM: risque accru de méningites

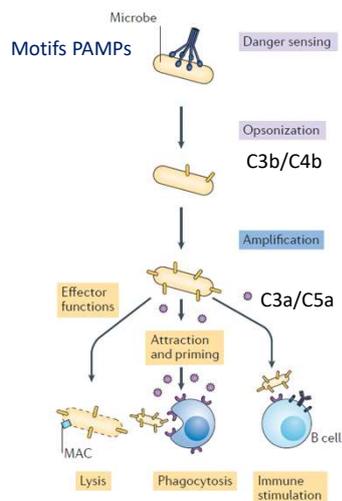


LL Lovelace, J Biol Chem 2011

7

Fonctions « canoniques » du Complément

- Défense antimicrobienne
- Immuno-surveillance
- Homéostasie



→ Une réponse adaptée aux niveaux de menace



D Ricklin, Nat Reviews Nephrol 2018

8

Rôles du Complément

- **1er mécanisme de défense contre l'infection**, par 3 outils :
 - **Lyse directe** des agents infectieux (composants C5 à C9 formant le Complexe d'attaque membranaire ou CAM à activité cytolytique)
 - **Opsonisation (C3b, C4b)**: le système activé recouvre la surface cellulaire d'un nombre très important de molécules, ce qui favorise la phagocytose
 - **Activation cellulaire** menant à la réaction inflammatoire : production de nombreux fragments de clivage (anaphylatoxines: C3a et C5a)
- **Transport et élimination des complexes Ag-Ac**, et maintien en solution, pour éviter leur précipitation dans les tissus
- **Modulation de la réponse immunitaire spécifique** : interface en RI innée et acquise

9

Exploration biologique du Complément

- **Les activités fonctionnelles** Voie Classique, Voie Alterne, Voie Lectines (Hémolyse, ELISA, Liposomes)
- **La concentration des fractions (C3, C4, C1Q,...) et des protéines de régulation (C1INH, Facteur H, Facteur I,...) par immunoprécipitation (néphélobimétrie, turbidimétrie, IDR), ELISA ou cytométrie de flux**
- **Les auto-anticorps anti-protéines du Complément (anti-C1Q, anti-C1INH, anti-FH) par ELISA**
- **Les produits d'activation (C3a, C5a, C5b9) par ELISA**
- **Etude génétique**

10

Bilan de 1^{ère} intention pour l'exploration du Complément

CH50, C3, C4

Le CH50 explore la voie classique et la voie finale commune;
L'antigénémie des protéines C3 et C4 est dosée par immunoprécipitation

Les autres tests dépendent des résultats et du contexte clinique

→ Démarche diagnostique « raisonnée » et « en cascade »

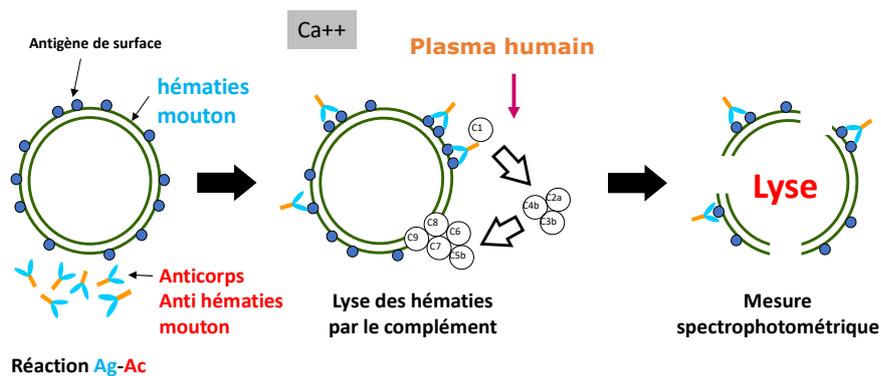


- Privilégier le plasma (citrate, EDTA) pour les dosages fonctionnels, le sérum pour les dosages antigéniques
- Respect des conditions pré-analytiques
- Demander un contrôle sur un nouveau plvm en cas de résultats hors normes
- Demander des renseignements cliniques et thérapeutiques avant de faire des explorations complémentaires

11

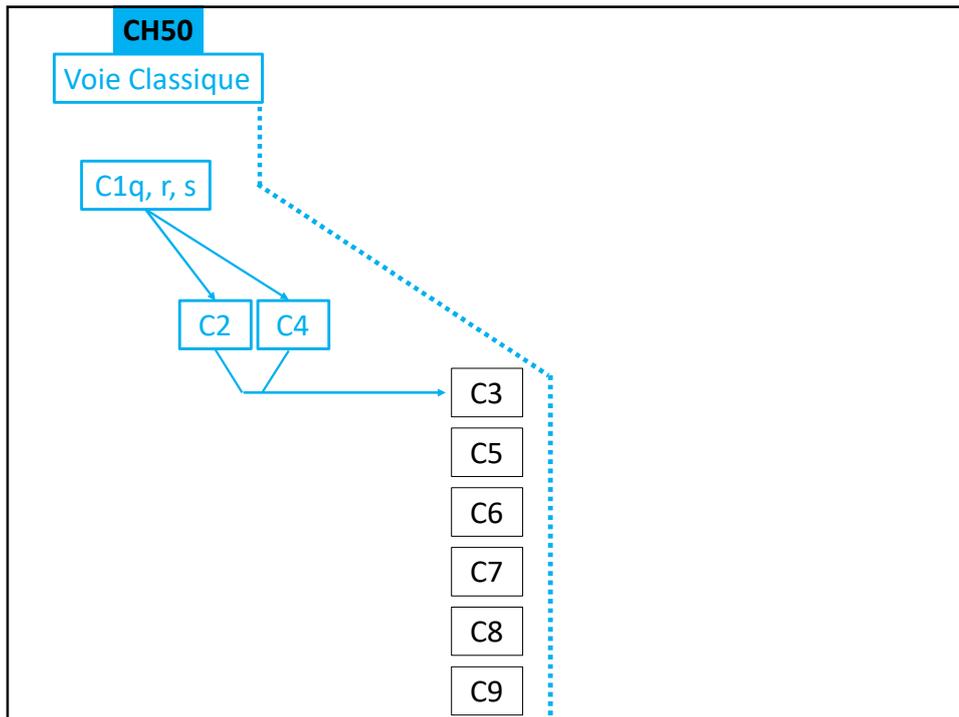
CH50: test fonctionnel voie classique

- Test hémolytique: évalue la lyse par le Complément

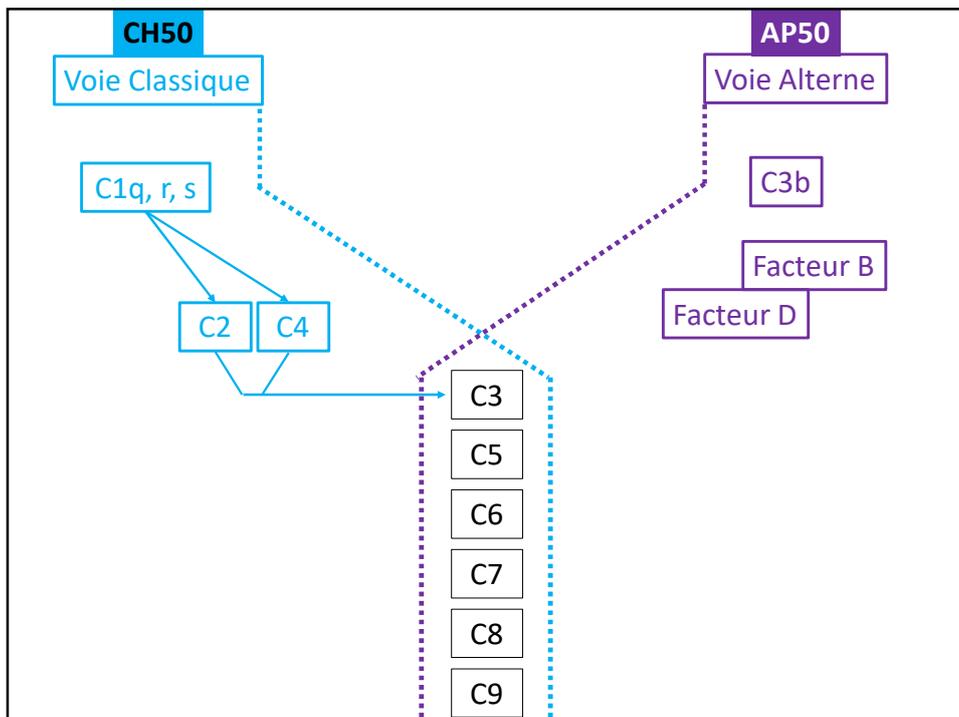


CH50 = complément hémolytique 50 = Quantité d'échantillon capable de lyser 50% des hématies (point final).
TH50 = temps hémolytique 50 = temps pour lyser 50% des hématies (cinétique)

12



13



14

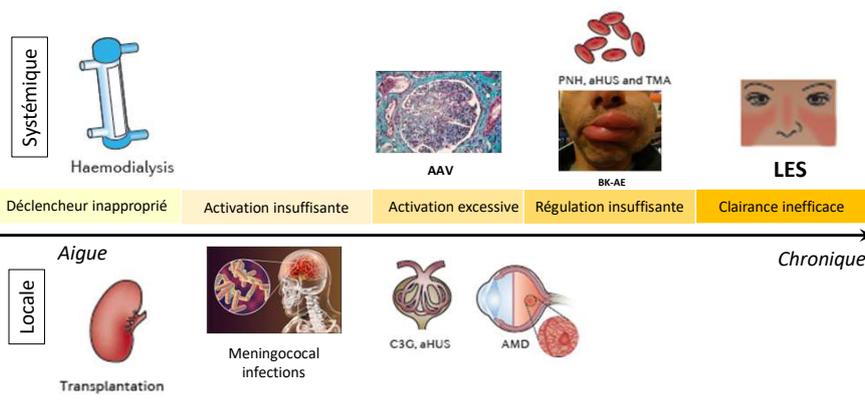
Interprétation du bilan CH50, C3, C4

CH50	C3	C4	Interprétation	Examens complémentaires	Explorations complémentaires du Complément
Normal	Normal	Normal	Bilan Normal		

15

Pathologies liées au Complément

Principaux mécanismes d'implication du Complément dans les maladies systémiques et locales



Adapted from D Ricklin, Nat Reviews 2018

16

Défaut de clairance et pathologies auto-immunes :
Lupus Erythémateux Systémique (LES)

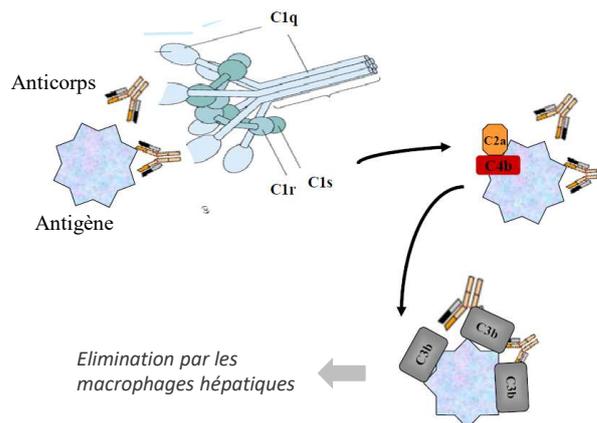
17

Complément et LES: défaut d'élimination de complexes immuns



SLE

- LES: maladie à C1
- Auto-Ac dirigés contre les constituants nucléaires
 - Dépôt de C1 dans les organes → signes cliniques



Elimination par les macrophages hépatiques

➡ Pas d'inflammation

La perturbation de ce processus peut conduire au développement de **maladies auto-immunes (lupus)**:
Les patients avec **déficits génétiques en C1q** (ou en C4, C2) sont plus à risque de développer un lupus.

18

L'exploration du Complément dans le LES

→ Bilan : CH50, C3, C4

1/ Recherche d'un déficit en protéines de la voie classique: C1q, C4, C2

→ Rôle de ces protéines dans l'élimination des CI et la clairance des corps apoptotiques

Protection croissante : C1q > C4 > C2

Component deficient	Frequency of lupus (%)	Clinical features	Autoantibodies	Notes
C1q	>90	Early onset >80% cutaneous 30% glomerulonephritis 19% CNS 22% mucosal ulcers		
C1r/C1s [105, 106]	65	Early onset >80% cutaneous 40% glomerulonephritis	100% ANA 20% dsDNA	Type I IFN signature observed. Treatment with JAK inhibitor or Rituximab reported effective
C4	>75	Early onset >80% cutaneous		High rate of copy number variation at this locus; C4 deficiency requires absent expression of both C4A and C4B genes. Partial deficiencies enriched in SLE cohorts
C2 [107]	10-30	Adult onset lupus >80% cutaneous >80% arthritis 7% vasculitis 4% CNS	25% ANA 8% dsDNA 45% RNP 9% Ro	Most C2 deficient patients of European ancestry have 28bp deletion. Atherosclerosis common. 7% mortality from myocardial infarction, 13% mortality from infections
C3 [108]	19	19% early onset SLE 22% Membranoproliferative GN		81% severe infections 60% recurrent meningitis 22% sepsis/bacteremia

KE Sullivan, Clin Exp Immunology 2022

19

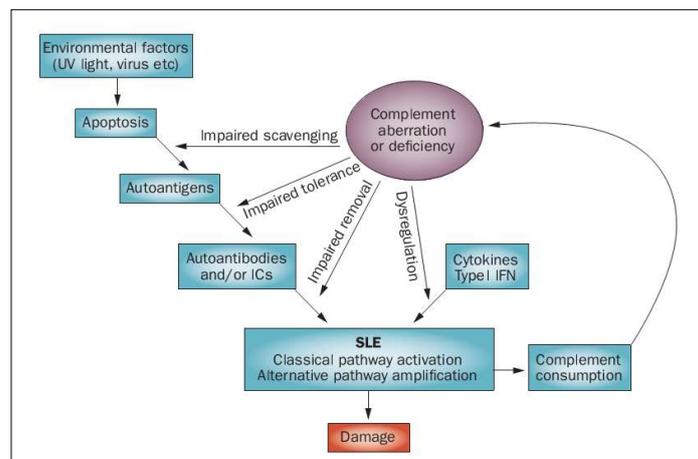
Interprétation du bilan CH50, C3, C4

CH50	C3	C4	Interprétation	Examens complémentaires	Explorations complémentaires du Complément
Normal	Normal	Normal	Bilan Normal		
Normal/ Diminué*	Normal	Diminué*	Maladie AI (LES)		Recherche déficit en C4
Diminué*	Normal	Normal			Recherche déficit en C1q et C2

*Résultats confirmés sur 2 plvm, hors poussée

20

Le Complément dans l'étiopathogénie du LES: ami/ennemi



AMI - rôle protecteur
Elimination des CIC
Elimination des cellules
apoptotiques, tolérance
immune



ENNEMI - rôle
pathogène
Inflammation et dépôts
du Complément avec
lésions tissulaires

(Sturifelt et al, Nature Reviews Rheumatology-2012)

21

L'exploration du Complément dans le LES

→ Bilan : CH50, C3, C4

1/ Recherche d'un déficit en protéines de la voie classique: C1q, C4, C2
→ Rôle de ces protéines dans l'élimination des CI et
la clairance des corps apoptotiques

2/ Recherche d'une consommation par la voie classique:

CH50 ↓ C4 ↓ C3 N/↓

→ Déficit « acquis », transitoire en protéines du complément
→ Aggrave le défaut de clairance des complexes immuns
→ marqueur biologique de poussée lupique

22

L'exploration du Complément dans le LES

→ Bilan : CH50, C3, C4

1/ Recherche d'un déficit en protéines de la voie classique: C1q, C4, C2
 →Rôle de ces protéines dans l'élimination des CI et la clairance des corps apoptotiques

2/ Recherche d'une consommation par la voie classique:

CH50 ↓ C4 ↓ C3 N/↓

→Déficit « acquis », transitoire en protéines du complément

→Aggrave le défaut de clairance des complexes immuns

→marqueur biologique de poussée lupique

3/ Recherche d'anticorps anti-C1q

30 à 50% des patients LES:

→participeraient à la pérennisation de l'activation de la voie classique

→facteur de risque d'une atteinte rénale (néphrite lupique, VPN>95%)

23

Interprétation du bilan CH50, C3, C4

CH50	C3	C4	Interprétation	Examens complémentaires	Explorations complémentaires du Complément
Normal	Normal	Normal	Bilan Normal		
Normal/ Diminué	Normal	Diminué	Maladie AI (LES)		Recherche déficit en C4
Diminué	Normal	Normal			Recherche déficit en C1q et C2
Diminué	Normal/ Diminué	Diminué	Maladie AI (LES) poussée		(Anti-C1q)

24

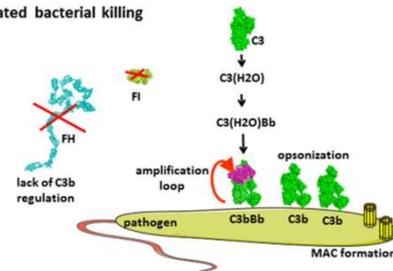
**Activation insuffisante du Complément:
Infections récidivantes, méningites**

25

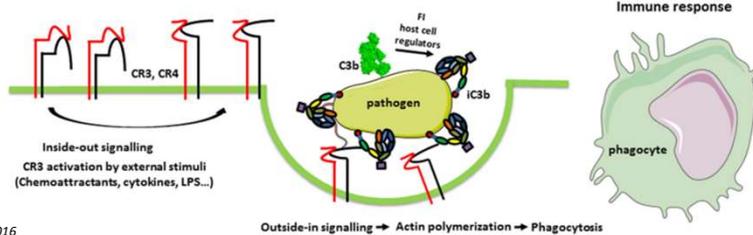
Rôles du Complément dans la défense anti-microbienne

- Molécules de reconnaissance: C1q, MBL, ficolines...
- Opsonisation (C3b/iC3b)
- Phagocytose (CR3, CR4)
- Bactéricidie directe (CAM)

A Complement-mediated bacterial killing



B Engulfment of C3 fragments-opsonized pathogens



N Merle, Front Immunol 2016

26

Exploration du Complément dans un contexte d'infections récidivantes

Recherche d'un déficit en Complément indispensable si:

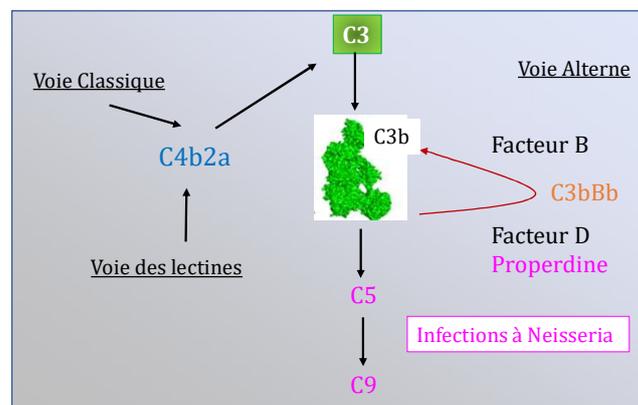
- Méningocoque de sérogroupe rare
- Infections récidivantes à germes encapsulés
- Age de survenue >5 ans
- Antécédents personnels ou familiaux de méningites
- Méningite fulminante



27

Exploration du Complément dans un contexte d'infections récidivantes

→ Bilan : CH50, AP50, C3, C4



Adapté d'après N Merle, Frontiers in Immunology 2015

28

Déficits en Complément et infections récidivantes

Deficiency	Inheritance	Published number of patients	Associated symptoms/disorders
C3	AR	~40 patients	Pyogenic infections, neisserial infections, glomerulonephritis,
C5	AR	Rare	Neisserial infections; recurrent meningitis
C6	AR	~1:2000 Afro-Americans. Rare in Caucasians	
C7	AR	~1:10,000 in Moroccan Jews. Rare in other populations	
C8 α - γ /C8 β	AR	Rare	
C9	AR	1:1000 in Japan	Neisserial infections (mostly asymptomatic)
Factor B	AR	One case	Neisserial and pneumococcal infections, aHUS
Factor D	AR	2 families	Bacterial infections
Properdin	X-linked recessive	Rare	Meningitis (<i>Neisseria</i>)
MBL	Polymorphism	5%	Data regarding clinical impac

Adapté d'après Brodzski, J Clin Immunol 2020

29

Interprétation du bilan CH50, C3, C4

CH50	C3	C4	Interprétation	Examens complémentaires	Explorations complémentaires du Complément
Normal	Normal	Normal	Bilan Normal		
Effondré	Normal	Normal	Déficit d'une protéine de la VC ou de la VF		AP50 -si normal: doser C1q et C2 -si effondré: doser C5 à C9
Normal	Normal	Normal	(contexte infectieux)		Properdine MBL

30

Notre expérience au Laboratoire:

Déficits en Complément et infections à *Neisseria meningitidis*:

~80 déficits en protéines du Complément
diagnostiqués par le Service d'Immunologie – CHU Grenoble
(1985 – 2019)

Protéines de la Voie Finale (75):
C5= 8; C6=25; C7=25; C8=17

>80% de patients avec 1 ou +
infections à *N. meningitidis*

Properdine=4

Facteur H=3;
Facteur I=2

- Déficits en Complément: 5% des DIP
- Environ 600 cas décrits dans la littérature

31

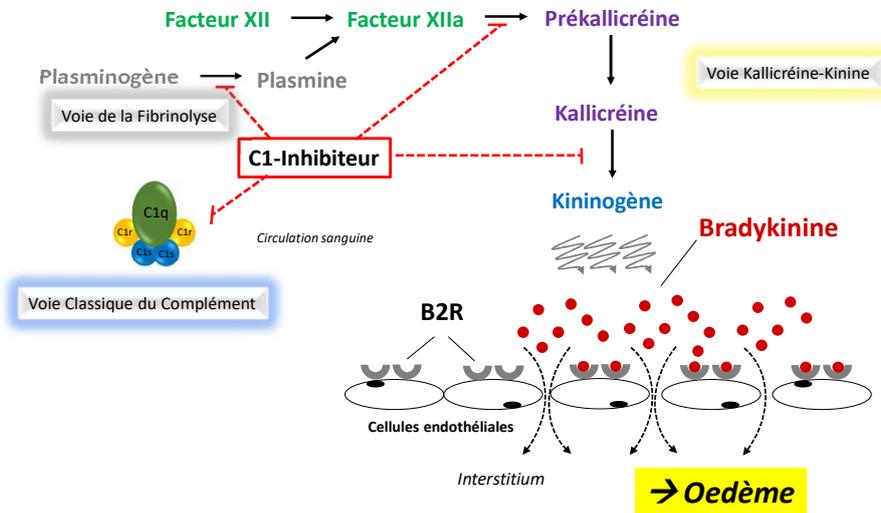
Régulation insuffisante (du Complément):

Angioedème Bradykinique



32

C1 Inhibiteur: régulateur de la voie classique et de la voie de la kallibréine



Le déficit en C1INH provoque une perte de contrôle sur la production de BK et est responsable de l'AE

33

Exploration biologique de l'angioedème bradykinique

Objectif: distinguer angioedème avec ou sans déficit en C1 Inhibiteur.

Le bilan de 1^{ère} intention:
Dosage pondéral ET fonctionnel de C1 Inhibiteur

- Dosage pondéral de C1 INH: méthode immunochimique (néphélométrie, turbidimétrie)
Valeurs référence: >50%. Pas de corrélation avec le phénotype clinique.
- Dosage fonctionnel de C1 INH: méthode spectrophotométrique - test enzymatique
Valeurs référence: >50%

Quel type de prélèvement?

Le dosage de la concentration des protéines et des auto-anticorps est réalisé sur sérum (ou EDTA)

Le dosage de l'activité fonctionnelle est réalisé sur plasma (citrate ou EDTA)



BK-AE

34

C1 Inhibiteur fonctionnel < 50% VR



Angioœdème par déficit en C1 Inhibiteur:

- Héritaire
- Acquis

35

Diagnostic d'AEH par déficit en C1 Inhibiteur

Evoqué chez un sujet avec histoire familiale:

- ✓ Prévalence estimée: 1:50 000
- ✓ Secondaire à des mutations sur le gène *SERPING1* codant C1 INH
- ✓ Transmission autosomique dominante.
- ✓ La mutation causale est héritée d'un parent ou apparaît *de novo* chez le patient (15% de mutations *de novo*).

Confirmation du déficit sur un 2^{ème} plvm

Cas index: dépistage des apparentés, recherche anomalie moléculaire

36

Angioedème Héritaire par déficit en C1 Inh

AEH de type I

La concentration et la fonction de C1 INH sont diminuées (généralement <50% de la valeur référence)

→ l'anomalie du gène *SERPING1* provoque un **défaut de la synthèse de la protéine**, et la **baisse de la fonction de C1 INH** dans le plasma

85% des cas d'AOH

AEH de type II

La concentration de C1 INH est normale/ augmentée et la fonction de C1 INH est diminuée (généralement <50% de la valeur référence)

→ l'anomalie du gène *SERPING1* conduit à la **synthèse d'une protéine anormale, non-fonctionnelle** avec **diminution de la fonction de C1 INH** dans le plasma.

15% des cas d'AOH

Ces deux formes sont cliniquement identiques

C1 INH fonction	C1 INH concentration	C4	C1Q	Diagnostic évoqué
↓ (<50%)	↓ (<50%)	↓ (80% des cas)	N	AEH type I
↓ (<50%)	N ou ↑	↓ (80% des cas)	N	AEH type II

37

Angioedème acquis (AEA) par déficit en C1 INH

Evoqué chez un sujet >40 ans sans histoire familiale, avec début tardif des signes cliniques

- Prévalence 1 : 500 000
- Souvent associé à hémopathie lymphoïde B de bas grade, ou à GM

→ Recherche maladie sous-jacente

→ Hyperactivation de la VC

→ Présence d'Ac anti-C1 INH dans ~50% des patients (Ac anti-C1q absent!)

Tableau 2

Pathologies associées aux angioedèmes par déficit acquis en C1-inhibiteur dans la série de 92 cas français [2]

Hémopathies lymphoïdes	Gammapathies monoclonales	Autre entités
Lymphome de la zone marginale n = 24	Gammapathie monoclonale de signification indéterminée n = 24	Adénocarcinome bronchique n = 1
Lymphome lymphoplasmocytaire / leucémie lymphoïde chronique B n = 6	Myélome n = 3	Aucune étiologie n = 19
Lymphome B de bas grade non typé n = 6	Amylose AL n = 1	
Lymphome lymphocytaire n = 4		
Lymphome B de haut grade cérébral n = 1		

C1 INH fonction	C1 INH concentration	C4	C1Q	CH50	Ac anti-C1 INH	Diagnostic évoqué
↓ (<50%)	↓	↓	↓	↓	+ /-	AOA

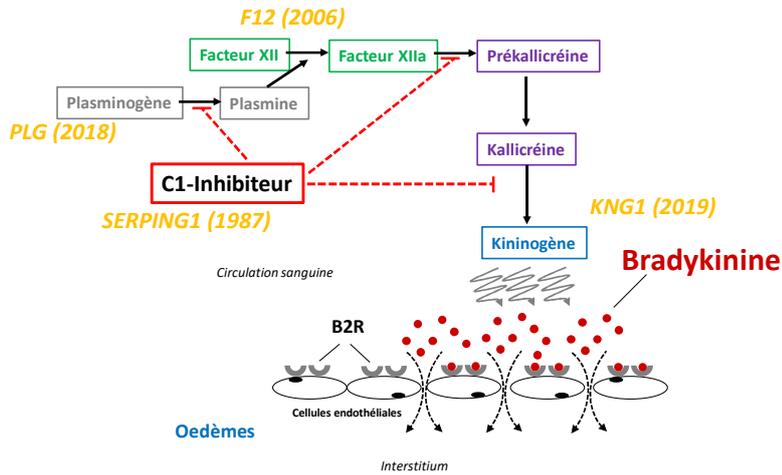
D Launay, Rev Med Interne 2023

38

Angioedème Héritaire à C1 Inhibiteur normal

Diagnostic:

- Clinique
- Dosage de C1INH pondéral et fonctionnel normal
- Etude génétique (gène F12, PLG, KNG1)



39

Angioedème Héritaire par déficit en C1 Inhibiteur vs Acquis

	Forme héréditaire		Forme acquise	
	Type I	Type II	Sans Ac anti-C1INH	Avec Ac anti-C1INH
C1-INH pondéral	Bas	Normal ou Augmenté	Bas	Bas
C1-INH fonctionnel	Bas	Bas	Bas	Bas
C4	Bas	Bas	Effondré	Effondré
C1q	Normal	Normal	Effondré	Effondré
CH50	Normal ou faiblement abaissé	Normal ou faiblement abaissé	Effondré	Effondré
Ac anti-C1 INH	/	/	/	Présent
Mutation	Gène <i>SERPING1</i>			
Pathologie associée			Lymphome	GMSI

40

**Régulation insuffisante /Hyperactivation du Complément:
Syndrome Hémolytique et Urémique atypique**

41

Le SHUa: prototype des maladies liées au Complément

MAT caractérisé par la triade:
Anémie hémolytique, Thrombocytopénie, Insuffisance rénale



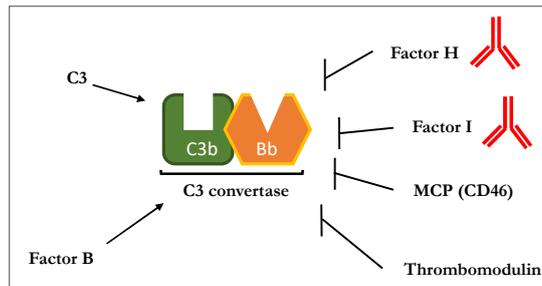
→ **Maladie due à des anomalies de la voie alterne du Complément:**

-Anomalies génétiques (60% des cas) -Anomalies acquises (10% des cas)

• Mutations "*Gain of function*"
Protéines de la C3 convertase alterne:
C3, Facteur B

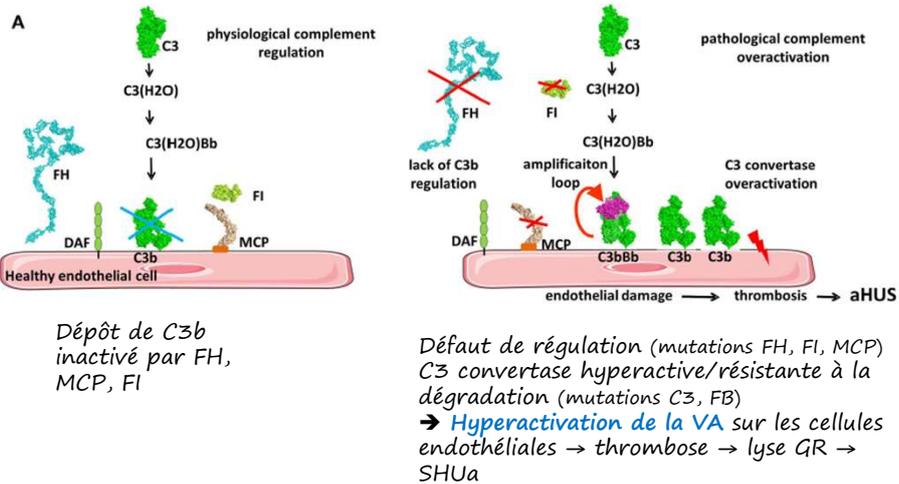
• Anticorps anti-proteines de regulation VA
Anticorps anti-FH (anti-FI)

• Mutations "*Loss of function*"
Protéines de regulation VA:
Facteur H, Facteur I, MCP



42

Le SHUa: conséquences



N Merle, Front Immunol 2015

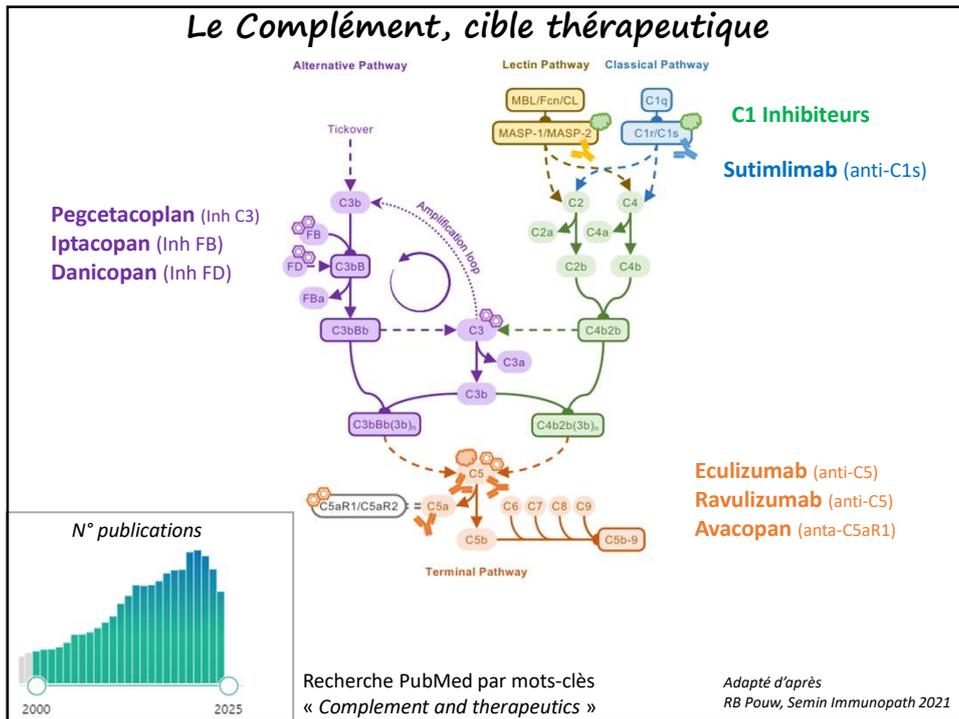
43

Le SHUa: exploration du Complément

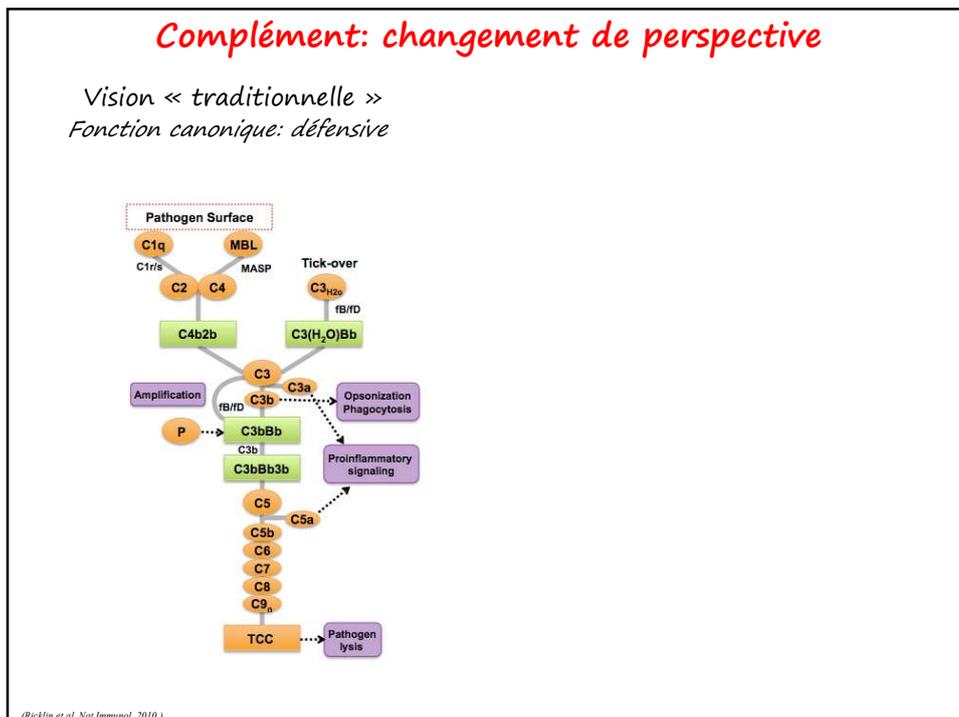
Prélèvement avant toute thérapeutique :

- Bilan standard
 - . CH50 + AP50 (tests fonctionnels hémolytiques)
 - . C3, FB, C5
- Protéines de régulation solubles :
 - . Facteur H
 - . Facteur I
 - . Anticorps anti Facteur H
- Protéine de régulation membranaire :
 - MCP ou CD46
- A prélever ultérieurement:
 - Étude de gènes impliqués dans le SHUa

44



47



48

Diagnostic du Complément: challenges

- *Nomenclature!!*
- *Complexité d'un système avec 3 voies d'activation et des composants multiples*
- *Hétérogénéité des pathologies médiées par le Complément*
- *Hétérogénéité des patients*
- *Echantillonnage*
- *Standardisation*

49

Take-home messages

- *Le complément appartient à l'immunité innée*
- *Exerce des fonctions "canoniques": protection et immuno-surveillance*
- *Et des fonctions "non canoniques": modulation de l'activité des cellules immunitaires*
- *La perte d'équilibre entre activation et régulation du complément est responsable des nombreuses pathologies*
- *Des anomalies acquises ou héréditaires du complément sont à l'origine de ces dysfonctionnements*
- *L'inhibition du Complément est une approche thérapeutique utilisée/à l'étude dans différentes pathologies*

50



Federica DEFENDI

Praticien Hospitalier, PhD
Service d'Immunologie

LBMR Complément et Angioedème Bradykinique
Institut de Biologie et Pathologie – CHU Grenoble Alpes

