

COURS 1 | INTRODUCTION A L'HEMATOLOGIE

Le sang = tissu liquide contenu, circulant dans le système sanguin (le cœur, les artères, les veines et les capillaires)

SANG = PLASMA + CELLULES

Cellules de plusieurs types :

- **anucélées :**
 - hématies = érythrocytes = globules rouges
 - plaquettes ou thrombocytes
- **nucléées = leucocytes = globules blancs :**
 - Granulocytes/polynucléaires (neutrophiles, éosinophiles, basophiles)
 - lymphocytes
 - monocytes

Les organes hématopoïétiques : moelle osseuse, ganglions et système lymphatique (Foie, Rate)

Sang = « lieu passage » des cellules sanguines circulantes.

Hémogramme = numération sanguine + formule sanguine (NFS)

- **Numération** = données quantitatives concernant 3 lignées
- **Formule** = données quantitatives concernant les globules blancs (avec possibilité de description des anomalies morphologiques des cellules = données qualitatives)

Réaliser un hémogramme :

→ Prélèvement sanguin au pli du coude (peu invasif, aisément fait, possibilité de prélever des quantités faibles -enfants)

Numération sanguine et NFS par un automate (intervention humaine seulement si anomalie : si anomalie on fait un frottis sanguin au MGG)

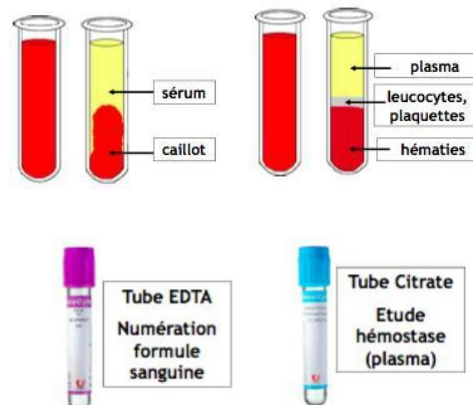
Tube sans anticoagulant : il coagule et forme un caillot au fond + sérum en surface (dans lequel il n'y a ni cellules ni protéines de coagulation)

Tube avec anticoagulant :

le sang reste liquide. Quand on centrifuge on obtient → tout au fond il y a les hématies, au dessus les leucocytes et plaquette, et en haut, le plasma (qui contient les protéines de coagulation).

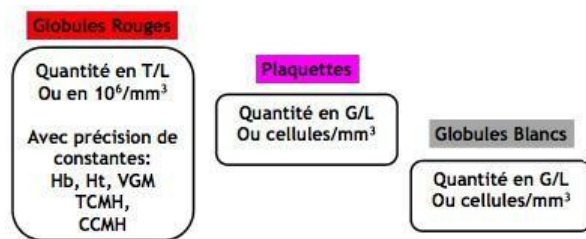
Sang recueilli sur un anticoagulant (chélateurs du Calcium) :

- tube violet = tube EDTA → NFS
- tube bleu : tube citrate → étude hémostase



LE SANG DEFINITION : LES 3 TYPES DE CELLULES : GR, PLAQUETTES, ET LEUCOCYTES

Aspect quantitatif (NFS), numération (données quantitatives des 3 lignées sanguines)



PN neutrophiles:	2 à 7,5 x 10 ⁹ /l	(40-75 %)
PN éosinophiles:	< 0,5 x 10 ⁹ /l	(<5 %)
PN basophiles :	< 0,1 x 10 ⁹ /l	(< 1 %)
Lymphocytes :	0,8 à 4 x 10 ⁹ /l	(20-40 %)
Monocytes :	0,08 à 1 x 10 ⁹ /l	(2-10 %)

Méthodes d'étude : formule sanguine/aspects morphologiques

a) Frottis sanguin :

→ Contrôle au microscope : des leucocytes (proportions) et GR et plaquettes (aspect)

→ Préparation des frottis :

- Déposer 1 goutte de sang sur une lame propre
- A l'aide d'une lame plus étroite, étaler le sang
(le frottis doit être correctement étalé afin de bien séparer les cellules)
- Laisser sécher à l'air
- Coloration May Grünwald Giemsa

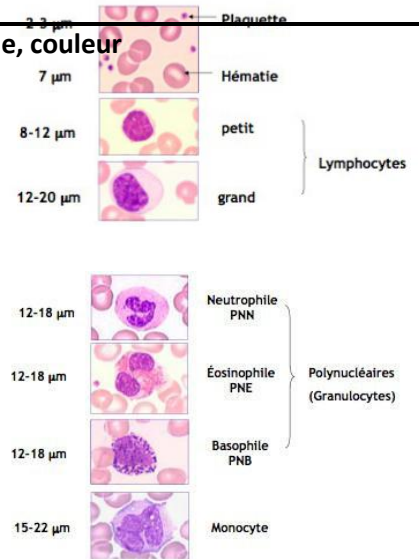
Coloration de May-Grünwald Giemsa (Coloration panoptique)

Noyau	: rouge violet ou rose
Cytoplasme	
- acidophile	: rose
- basophile	: bleu ciel ou bleu foncé
- polychromatophile	: grisâtre
Granulations	
- neutrophiles	: violet/marron
- éosinophiles	: orangées
- basophiles	: bleu foncé/noir
- azurophiles	: rouge pourpre

b) Critères de reconnaissance : taille, forme du noyau, aspect de la chromatine, couleur du cytoplasme, granulations

Cellules anucléées :

- Hématies (7 μm)
 - Durée de vie 120 jours
 - Hémoglobine
 - Fonctions transport de l'oxygène
(roses, plus claires au centre, cellules de référence pour la taille)
- Plaquettes (2-3 μm)
 - Durée de vie 8 à 10 jours
 - Granules
 - Fonctions : hémostasie (clou plaquettaire, coagulation)
(seules cellules plus petites que le GR)



Cellules nucléées :

Lymphocytes :

- Petits (8-12 μm) : chez qui le noyau prend presque toute la place → rapport n/c élevé
- Grands (12-20 μm) : rapport n/c plus petit, noyau situé d'un côté de la cellule

Polynucléaires (12-18 μm) : noyau en plusieurs lobes, chromatine très condensée, cytoplasme rosé avec des granulations

- Neutrophiles : grains rose
- Eosinophiles : grains orange
- Basophile : gros grains violet/noir → on distingue difficilement le noyau

Monocytes : grand noyau, chromatine fine, cytoplasme grisâtre « ciel d'orage »

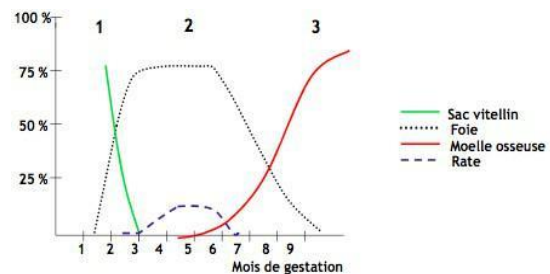
	Taille μm	Cytoplasme		N/C	Noyau	
		Teinte	Granulations		Forme	Chromatine
PNN	12 à 15	beige	Nombreuses fines, violettes/marron	0,3	3 à 5 lobes	dense
PNE	12 à 15	beige	"billes" orangé à chamois	0,3	2 à 3 lobes	dense
PNB	12 à 15	à peine teinté	"tâches" irrégulières violet foncé	0,5	lobes peu marqués	dense, peu visible
Petits lymphocytes	8 à 9	très réduit bleu foncé	absence	0,9	rond, ovalaire excentré	très dense violet foncé
Grands lymphocytes	10 à 15	bleuté ou hyalin	parfois 10 à 15 rouge vif	0,7	régulier, ovalaire ou quadrangulaire	aspect laqué
Monocytes	20 à 25	gris, cendré, bords irréguliers	très fines rouges, à peine visibles	0,5	irrégulier, réniforme ou forme de « fœtus »	aspect martelé "spongieux"

LA MOELLE OSSEUSE

Production permanente de cellules du sang à partir d'une cellule souche hématopoïétique, régulée pour s'adapter aux besoins de l'organisme

L'hématopoïèse a lieu :

- sac vitellin à 1 à 2 mois (stade primitif mésodermique)
- foie et rate 2 à 5 mois (stade hépatosplénique)
- MO à partir de 5 mois (stade médullaire)



Chez l'adulte : 2 types de Moelle osseuse situées dans les os plats (côtes, sternum, crâne, vertèbres)

- Rouge = active (GR, érythroblastes, vaisseaux sanguins)
- Jaune = inactive (riche en adipocytes)

De 0 à 4 ans (100% de moelle rouge), > 4 ans (involution adipeuse)

La MO : organe volumineux et diffus localisé dans les logettes osseuses de l'os spongieux (représente 5% du poids)

- Les cellules souches mésenchymateuses sont le tissu de soutien des cellules hématopoïétiques
- présence de vaisseaux sanguins
- et de cellules de l'os (ostéoblastes et ostéoclastes)

La vascularisation = élément central de la microstructure médullaire

- Permettant le passage de substances stimulantes et la libération des cellules sanguines
- Permet de définir une unité structurale élémentaire hématopoïétique (disposée de manière adjacente entre une artériole et un sinus = groupe de cellules hématopoïétiques adhérent un même réseau de cellules stromales)

- permet la diabase = le passage de la MO vers le sang
- et le homing : une cellule qui retourne dans la MO

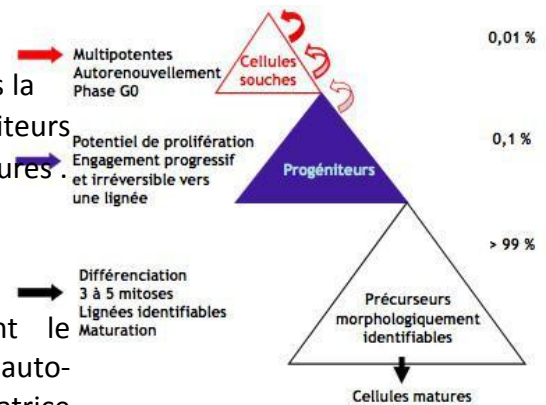
Stroma médullaire = cellules stromales + MEC, composé de :

- **cellules stromales mésenchymateuses** (réseau tridimensionnel lâche qui structure les niches hématopoïétiques : synthèse de collagène III, laminine, fibronectine, cytokines)
- **D'adipocytes** (90% chez le sujet âgé)
- **De macrophages** : dans les Ilots érythroblastiques, synthèse de facteurs de croissance et de cytokines, et hémolyse physiologiques → fonction de destruction et de renouvellement des lignées
- **De cellules endothéliales** : cytokines, facteurs de croissance, passage transendothélial des cellules matures.

- Rôle majeur dans l'hématopoïèse

LES CELLULES HEMATOPIETIQUES

- Ensemble des cellules qui vont donner naissance aux différentes cellules du sang circulant.
- Les cellules souches (vont se différencier ET rester dans la MO = niche hématopoïétique) vont donner des progéniteurs (multipotents) puis des précurseurs et des cellules matures



Les différents types de cellules

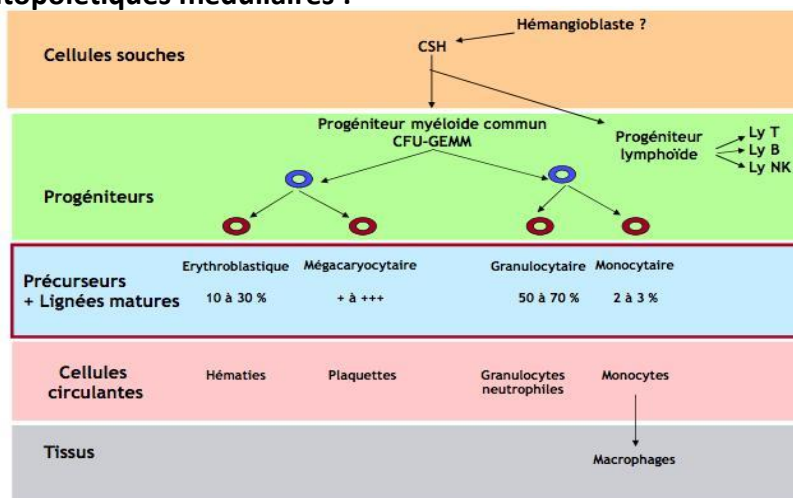
• Cellules souches

« homing » des cellules souches : « Niche » permettant le maintien des propriétés de multipotence et d'auto-renouvellement (rôle des cellules de l'endoste, de la matrice extracellulaire, du réseau vasculaire)

Caractéristiques : Phase G0 + Marqueurs (CD34, lin, CD33) + Multipotence et Auto-renouvellement

- **Progéniteurs** : cellules souches engagées dans 1 ou plusieurs lignées (CFU = colony forming unit et BFU = burst forming unit)
- **Lignées hématopoïétiques**

Les lignée hématopoïétiques médullaires :



RÉGULATION DE L'HÉMATOPOÏÈSE

Adaptation aux besoins physiologiques et pathologiques

- Facteurs circulants : EPO (synthèse rénale), TPO (synthèse hépatique)
- Cytokines : SCF (stem cell factor), interleukines (IL2, IL5, IL6)
- Colony stimulating factor (CSF) : GM-CSF, G-CSF, M-CSF

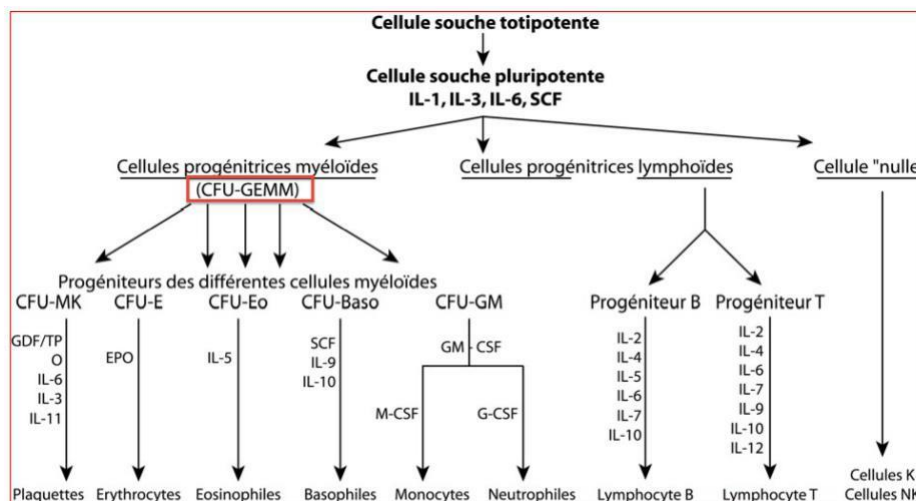
COURS 2 : HEMATOPOÏÈSE ET CYTOKINES HEMATOPOÏÉTIQUES

UN MODELE HIERARCHIQUE COMPOSE DE TROIS COMPARTIMENTS

- Un compartiment de cellules souches → le plus souvent hors cycle cellulaire
- Un compartiment de progéniteurs → en cycle, grande capacité de prolifération (puis ils vont maturer, et passer au stade de précurseurs)
- Un compartiment de précurseurs → en cycle, en phase de différenciation (se différencieront en cellules matures)

HEMATOPOÏÈSE NORMALE :

- Hématopoïèse = remplacement continu et régulé des cellules sanguines
 - Continue : vie intra-utérine jusqu'à la mort
 - Régulée: homéostasie à l'état de base et adaptation aux situations pathologiques
- Production de 10^{13} cellules/ jour (2 millions de GR / seconde)
- Cellules souches hématopoïétiques
- Moelle osseuse:
 - à partir du 4ème mois de la vie fœtale dans tous les os jusqu'à 5ans
 - Puis os courts et plats (sternum, os iliaques...)



CFU = colony forming unit
ce sont des cellules.
(pas reconnaissables directement au microscope, ce qu'on mettra en évidence c'est les colonies qu'elles forment)

CFU-GEMM : donnera toutes les différentes lignées, dans la lignée myéloïde

Cellule progénitrice lymphoïde : lymphocytes B et T (étapes de maturation pas toujours dans la moelle osseuse)

Qu'est-ce qu'une cellule souche hématopoïétique (CSH) ?

- Cellule multipotente capable de régénérer plusieurs populations cellulaires
- Chez l'homme : présentes dans moelle osseuse et sang de cordon
- Faible % dans le sang circulant périphérique en l'absence de stimulation (« mobilisation ») par des facteurs de croissance

On sera capable de quantifier les cellules souches dans le sang par des marqueurs : en particulier le marqueur CD34+ (et autres marqueurs de différenciation). CD34 présent sur les cellules souche, progéniteurs, et précurseurs

PROPRIETES DES CS :

1. Quiescence : maintien hors du cycle cellulaire
2. Production continue des cellules sanguines
 - auto-renouvellement : retour en G0 après mitose
 - multipotence : génération de toutes les lignées
 - expansion ou différenciation

Définition fonctionnelle : Reconstituer l'hématopoïèse d'un animal irradié

Test fonctionnels pour l'étude de l'hématopoïèse → en pratique : identification des cellules souches humaines

1. Test in vivo de transplantation xénogénique : sur des souris immunodéprimées qui pourront recevoir des c. humaines (sur des souris irradiées, seules les cellules souches seront restantes : capable de recoloniser un animal irradié)
2. Culture de moelle, sur des MEC de composition différentes, et on va regarder la formation de colonies : tests clonogéniques.

Tests in vitro de culture : cultures à long terme : culture de quelques mois avec combinaison de MEC et de stroma, et on pourra regarder la formation de colonies et la différenciation en les différentes lignées

Propriétés des progéniteurs (multipotence pour les plus immatures, prolifération, détermination : engagement dans la spécialisation)

- Production continue de cellules sanguines
- Progéniteurs multipotents : CFU-GEMM
 - Progéniteurs bipotents : CFU-E-M (érythro et méga)
 - Progéniteurs monipotents : CFU-E (érythro)

PROPRIETES DES PRECURSEURS

- Production des cellules sanguines matures, en réponse à un facteur de croissance (→ survie, prolifération, différenciation)

REGULATEURS PRINCIPAUX :

- Régulation des CSH : Les propriétés de ces cellules (quiescence, l'auto- renouvellement, la différenciation) sont régulées par des **facteurs extrinsèques** (cytokines, adhésines, facteurs de membrane) et **facteurs intrinsèques** (facteurs de transcription)

Interactions directes cellules stromales - CSH : contacts

Niche des CS = microenvironnement médullaire :

- Au niveau de la zone trabéculaire, supportées par des contacts cellulaires avec : les cellules stromales, les ostéoblastes/ ostéoclastes, et les cellules endothéliales
- Niche procure aux CS les facteurs de communication intercellulaire permettant :
- D'attirer les CS vers cet environnement (chimiokines)
 - Adhésion à cet environnement (molécules d'adhésion)
 - Survie, prolifération et différenciation des CS (facteurs de croissance)
 - Contrôle de la mobilisation des CS vers circulation

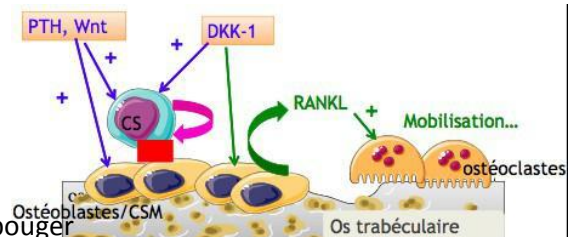
Il existe 2 niches distinctes dans la moelle osseuse

- Niche Ostéoblastique : Ostéoblastes et autres CSM (les CSH s'accrochent aux ostéoblastes et CSM)
- Niche vasculaire : moins bien définie et mal comprise → endothélium spécialisé dans la prolifération, différenciation et mobilisation des CS.

Modulateur de la Niche ostéoblastique

Les CS vont se loger au contact des cellules des travées osseuses

- principalement des ostéoblastes
- La N-cadhérine lie les CS aux ostéoblastes + maintien des CSH de rester dans la niche grâce aux morphogènes (3 grandes familles : Notch, BMP, SHH)
- Lorsque les ostéoblastes se modifient : permet aux CSH de bouger dans la moelle.



MOBILISATION DES CS/PROGENITEURS :

→ Pour être mobilisée il faut couper la liaison CS-cellule stromale par des protéases (MMPs (MMP2, MMP9), Elastase des Neutrophiles, Cathepsines)

→ Ligands spécifiques qui entraînent une mobilisation :

- SDF1 sécrété en forte quantité par les CSM.
- Les CSH ont le récepteur (CXCR4), et vont venir s'accrocher et rester dans les niches hématopoïétiques
- Un bloqueur de CXCR4 → entraîne la migration (peut être une cible thérapeutiques pour mobiliser des CS)

→ C'est en détachant la liaison que les cellules peuvent sortir de la niche

MEDIATEURS : CYTOKINES, CHIMIOKINES ...

LES CYTOKINES

= glycoprotéines de 8 à 50kDa, ce sont des messagers de la communication cellulaire.

Ont de nombreuses propriétés :

- Effet pléiotropique : les cytokines ont des rôles très différents et complexes
- Cascade : elles entraînent souvent des événements en cascade
- Redondance

LES DIFFERENTS MODES DE SECRETIONS DES CYTOKINES POUR L'HEMATOPOÏÈSE

-> **Endocrine** : consommation à grande distance (EPO → rein : facteur de croissance utilisé en thérapeutique pour les anémies où pour augmenter la concentration de GR (hypoxies rénales) → stimule la production de la lignée rouge)

-> **Paracrine** (c'est le cas de SDF-1 qui est sécrété par des cellules stromales et il va agir sur la CSH voisine)

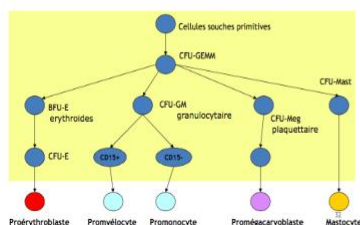
-> **Autocrine** (permet des boucles de régulation)

FAMILLES DE CYTOKINES

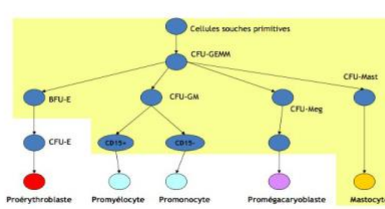
Ont des fonctions à la fois complémentaires, et différentes :

- interleukines
- interférons
- Colony stimulating factor (CSF) : c'est un facteur de croissance et non des cellules (ex GM-CSF, M-CSF, G-CSF)
- Tumor necrosis factor : TNF, ...
- Growth factor :
- Chémokines : CXC, CXCL : importantes dans la mobilisation des cellules de la moelle vers le sang (ex : SDF-1/CXCL12 et son récepteur CXCR4)

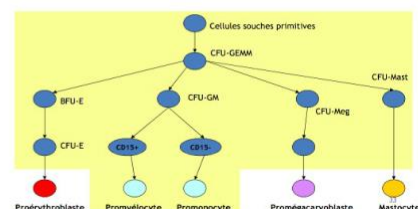
SCF, IL-1, IL-4, IL-6



IL-3

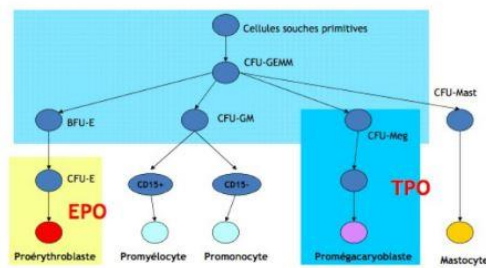


GM-CSF



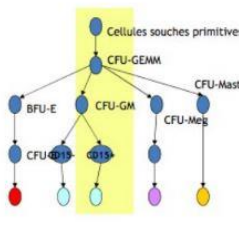
IL3 : Cytokine qui agit sur ttes les CS. GM-CSF (Action multipotente) : agit sur toutes les cellules immatures, et action sur les cellules précurseurs proche de maturité

EPO et TPO



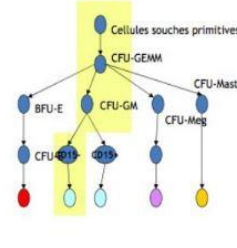
EPO : que sur les progéniteurs déjà engagés sur la lignée rouge
TPO : que sur ligné mégacaryocytaire : médicament difficile

CSF-1 ou M-CSF



CSF1 ou M-CSF lignée directement orientée → Que sur lignée monocyttaire
G-CSF : Activation de la lignée granuleuse → formation des polynucléaires

G-CSF



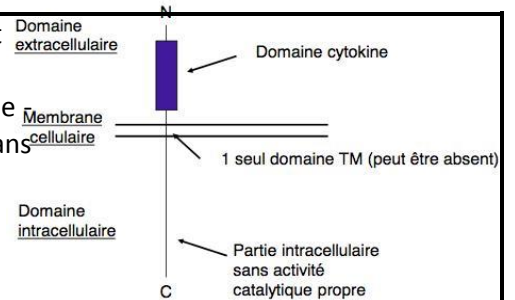
EPO :

L'érythropoïétine, est une glycoprotéine de demi-vie= 4 à 7h. Sa production est rénale à 90% (par les cellules tubulaires)

- Si O₂ normale : EPO est hydrolysée au niveau du domaine HIF (rajout de HO) puis captée par VHL (protéine Von Hippel-Lindau) et dégradée dans le protéasome
- Si le rein détecte une hypoxie : HIF ne sera pas hydrolysé mais phosphorylé : activera la synthèse d'EPO qui se rend dans la moelle pour induire la production de GR

- Le Rc de l'EPO, dont le gène est sur le chromosome 9 est constitué de 5kb, et de 8 exons.

Le rc est une protéine de 508 aa, est un rc à tyrosine kinase, la transduction du signal se fait par JAK-2 (une de ses mutations conduit à une maladie du sang).



STRUCTURE GENERALE DES RECEPTEURS DE CYTOKINES :

- 1 domaine extracellulaire = domaine cytokine
- 1 domaine transmembranaire (présent ou absent)
- 1 domaine intracellulaire (sans activité propre)

POLYGLOBULIE = augmentation du volume total occupé par les GR dans le sang (augmentation du volume globulaire total). Une polyglobulie se traduit sur l'hémogramme (ou NFS) : Ht augmentée et Hb augmentée.

-Une polyglobulie est toujours la conséquence d'une augmentation de production des GR par la moelle.

-Cette augmentation peut être secondaire (liée à une stimulation de la MO et une augmentation de l'EPO) ou primitive (*) :

- *polyglobulie de Vasquez : les progéniteurs érythroblastiques de cette polyglobulie présentant une indépendance à l'EPO → colonies spontanées en absence d'EPO : il y a une activation constitutionnelle de JAK2 qui augmente le nombre de GR

PARMI LES FACTEURS DE REGULATION, IL N'Y A PAS QUE DES CYTOKINES

- Vitamines A (acide rétinoïque) : lignée granuleuse
- Vitamine B12/Folates : lignée érythroblastique (GR)

UTILISATION CLINIQUE DES CYTOKINES :

- 1- Accélérer la reconstitution hématopoïétique in vivo
- 2- Mobilisation des précurseurs hématopoïétiques CD34 dans le sang P en vue d'une greffe hématopoïétique
- 3- Expansion des précurseurs hématopoïétiques in vitro
- 4- Correction d'anomalies génétiques par transfert de gènes dans les précurseurs hématopoïétiques
→ Granulocyte-Colony stimulating factors (G-CSF), SDF-1/CXCR4, EPO, TPO

COURS 3 | PHYSIOLOGIE DE L'ERYTHROPOÏÈSE

Erythropoïèse : Production permanente de GR à partir d'une cellule souche hématopoïétique, régulée pour s'adapter aux besoins de l'organisme.

ORIGINE ET CINÉTIQUE DES GR :

Développement

- Avant le 5ème mois du développement embryonnaire : l'érythropoïèse a lieu dans le mésoblaste embryonnaire puis dans le foie et la rate
- A partir du 5ème mois (hématopoïèse médullaire) = colonisation progressive de la MO jusqu'au 9ème mois

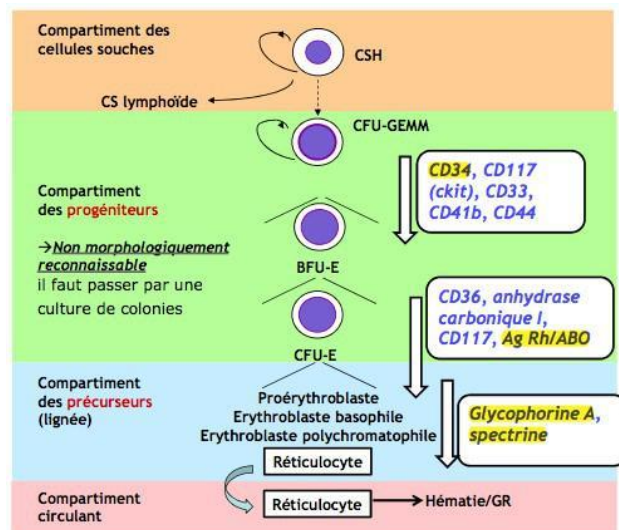
L'Erythropoïèse résulte de 3 événements distincts :

- Engagement de la cellule souche pluripotente dans la lignée des GR
- Maturation du progéniteur érythroblastique
- Programme de différenciation érythroblastique

Burst forming unit = BFU

Ag Rh/ABO : antigènes de grp sanguins

A l'état normal, il y a des réticulocytes dans le sang circulant.



Cinétique de la lignée érythroblastique

(15 à 30% des cellules médullaires) : 5 à 6 jours à l'état physiologique pour aller du progéniteur au GR.

→ Au fur et à mesure de la maturation, la chromatine se condense

→ Cytoplasme basophile se dilue, par plus il y a de synthèse d'Hb qui diminue la basicité

Le proérythroblaste : grande cellule à cytoplasme

basophile (bleu), très peu de granulations.

oreilles de mickey". T=20-25 µm

chromatine fine (petits points blancs). Présence dans le noyau de nucléoles



Erythroblaste basophile I puis II : chromatine plus condensée, cytoplasme toujours basophile à "aspect feuilleté". Noyau rond



Erythroblaste polychromatophile I

T=10-12 µm, production Hb



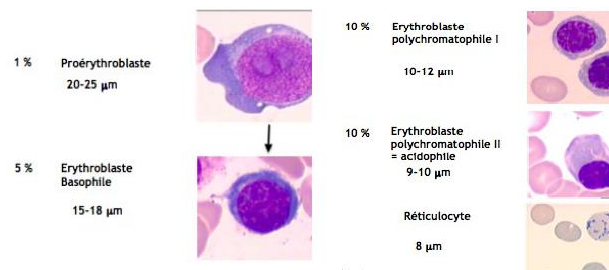
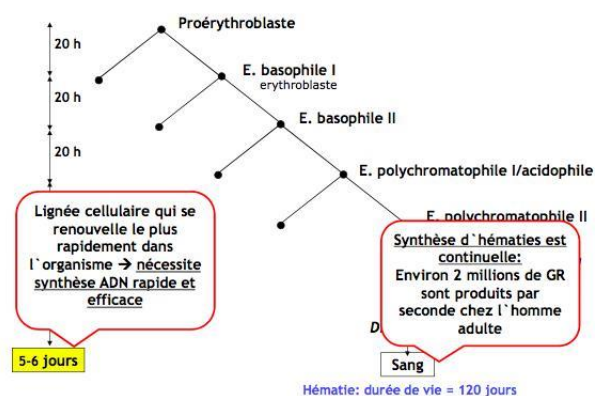
Erythroblaste polychromatophile II : noyau plus petit, et excentré, donne réticulocyte par expulsion du noyau, puis passage dans le sang par diabase



Réticulocyte : gros GR, traces d'ARN (bleu de crésyl) en 48h devient une hématie, reflet de la prod de GR

- Sidéroblastes en couronne (érythroblastes qui ont une anomalie du stockage du fer)
- Anémie régénérative (Hb diminuée)

Cinétique de la lignée

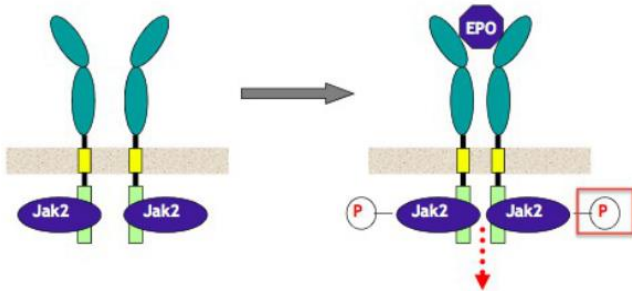


REGULATION DE L'ERYTHROPOÏÈSE

Par différents moyens :

1. Facteurs nucléaires
2. Facteurs de croissance

EPO, dont le Rc est JAK2, efficace de fou au stade BFU-E (si mutation de JAK2 → polyglobulie)



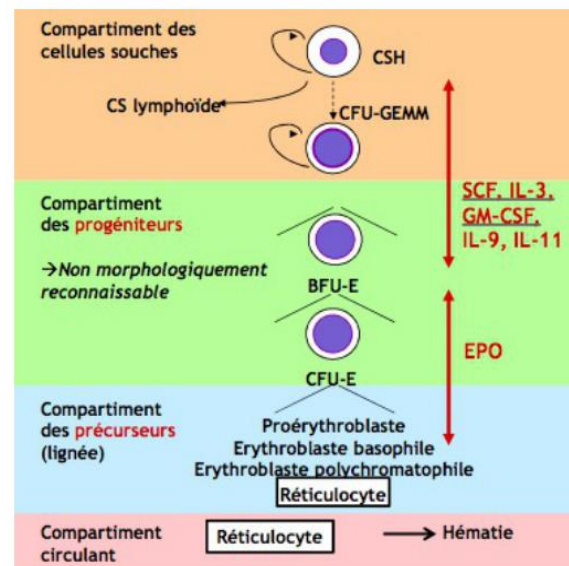
3. Synthèse de l'ADN dans la lignée érythrocytaire

→ Fondamental dans la physiologie lignée érythrocytaire à cause de la quantité importante et de la rapidité de production des GR

La Vit B12 (apport alimentaire : prot animales) digérée, couplée à des protéines au niv de l'estomac, migre au niveau de l'intestin, et se lie au facteur intrinsèque : absorption dans le sang.

Les folates (apport : légumes verts), digérées dans les c. intestinales et absorbées.

→ La Vitamine B12 et les folates sont indispensables à la synthèse d'ADN



	VITAMINE B12	FOLATES
METABOLISME	hépatique	hépatique
RESERVES	2 à 5 mg, stock = 3-4 ans	10 à 15 mg, stock = 3 semaines
BESOINS QUOTIDIENS	2 à 5 µg	50 à 100 µg > si grossesse
APPORTS ALIMENTAIRES	Protéines animales	Légumes verts
ABSORPTION	Iléon distal	Jéjunum proximal
TRANSPORT	TC I et III : granuleux TC II : foie libère la B12 aux tissus	Plasmatique (libre ou lié aux protéines)

TROIS CONSTITUANTS PRINCIPAUX GR → DIFFÉRENTES FONCTIONS DU GR

Erythropoïèse → Formation des GR (formation et « assemblage » des 3 principaux constituants (membrane/enzymes/hémoglobine))

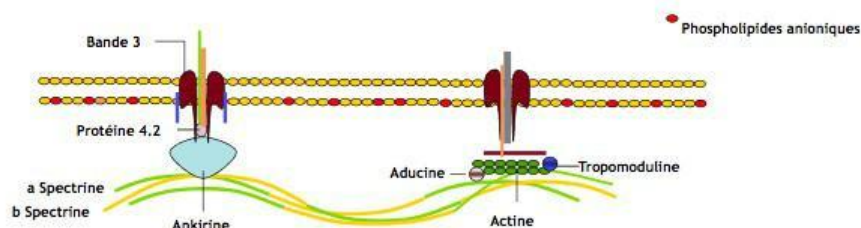
1- LA MEMBRANE : ANOMALIE : SPHEROCYTOSE (MM RIGIDE)

→ Permet la déformabilité (cytosquelette), et l'intégrité structurale des GR pendant 120 jours

- Membrane cytoplasmique = bicouche lipidique, où s'intercalent des protéines dont groupes sanguins érythrocytaires (ABO, Rh...)
- Cytosquelette érythrocytaire
 - a et b spectrine : triple hélice
 - actine, ankirine, protéine 4.2, adducine, tropomoduline, tropomyosine

→ Complexe vertical : ankyrine (protéine d'ancrage), bande 3, bande 4.2 (liaison membrane-cytosquelette)

→ Complexe horizontal : spectrine, protéine 4.1



2.SYSTEMES ENZYMATIQUES → PRODUCTION DE MOLECULES 'ENERGETIQUES' ANOMALIE : DEFICIT EN G6PD

→Le rôle des enzymes est d'assurer les fonctions vitales du GR

- Apport d'énergie pour maintenir la forme biconcave du GR ainsi que les échanges transmembranaires
- Lutte contre agents oxydants

3 voies enzymatiques permettent d'obtenir de l'énergie à partir du Glucose

- **Voie principale** : cycle d'Embden-Meyerhoff - ATP (adénosine triphosphate) - NAD (nicotinamide dinucléotide)
- **Shunt des pentoses** : cycle de Dickens-Horecker produit: NADP (nicotinamide dinucléotide phosphate)
- **Shunt de Rapoport-Luebering** : 2-3 DPG (2-3 diphosphoglycérate)

3-HEMOGLOBINE ANOMALIE : DREPANOCYTOSE

- Hb = 95% des protéines du GR → transport de l'O₂
- Valeurs Normales
 - Hommes adultes : 130 à 170 g/L
 - Femmes adultes : 120 à 160 g/L
- Valeur de l'Hb qui permet de définir une ANEMIE Et non pas le chiffre de GR !!!
- Exploration/caractérisation d'une Anémie comporte : VGM: volume globulaire moyen TCMH/CCMH: teneur ou concentration moyenne en Hb

Synthèse de l'Hémoglobine :

Hb : pigment coloré qui donne sa couleur rouge aux hématies

→Plusieurs Hb identifiées chez l'homme

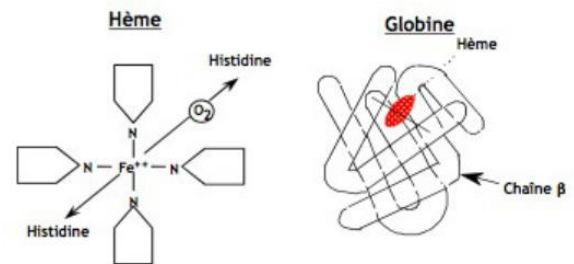
→Ces différentes Hb se succèdent au cours du développement

Tétramère d'Hb = 4 hèmes + 4 globines ($\alpha_2\beta_2$)

→4 chaînes peptidiques de GLOBINE, identiques 2 à 2 :

la cohérence entre les 4 chaînes de globines est assurée par des *liaisons à faible énergie* permettant l'établissement de la structure quaternaire de la molécule d'hémoglobine

→chaque molécule de globine renferme une molécule d'Hème (protoporphyrine IX, à laquelle est liée un atome de Fer ferreux)



*Hème : O₂ ne peut se fixer à l'hème que si Fer à l'état ferreux
Structure primaire : différents types de chaînes→ chez l'adulte, 2 alpha et 2 beta*

3 Hb principales		Période de la vie
A	$\alpha_2\beta_2$	Vie Adulte
A2	$\alpha_2\delta_2$	Vie Adulte, (foétale, néonatale)
F	$\alpha_2\gamma_2$	Vie Foétale, (foétale, néonatale)

Les Hémoglobines

- Hb normale naissance : HbA (10%) et HbF (90%)
- Hémoglobine normale adulte : Hb (A > 96%)
Hb A2 (= <3%) Hb F (< 1%)

Anomalies :

- Anomalie quantitative de l'Hb = défaut de synthèse = thalassémies
- Anomalie qualitative de l'Hb = défaut de structure = drépanocytose

CONFORMATIONS DU TETRAMERE D'HB → MÉCANISMES DE TRANSPORT DE L'O₂

2 conformations de l'Hb

- Forte affinité pour O₂ (état R, pour Relâché) → au niveau pulmonaire (car PaO₂ élevée) OxyHb.
- Faible affinité pour O₂ (état T, pour tendu) → au niveau tissulaire, DesoxyHb.

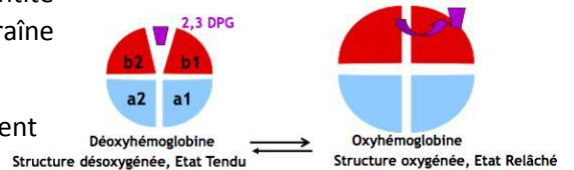
⇒ Si T°, 2-3 DPG, CO₂, H⁺ augmentent (fièvre, acidose) → Diminution de l'affinité pour l'O₂

⇒ Si T°, 2-3 DPG, CO₂, H⁺ diminuent (hypothermie, alcalose) → Augmentation de l'affinité pour l'oxygène

EFFET DE L'OXYGENATION/DESOXYGENATION SUR LA STRUCTURE QUATERNAIRE DE L'HB

->Le 2,3 DPG (2,3 diphosphoglycérate) est produit en grande quantité en cas d'hypoxie, il pénètre dans la cavité centrale de l'Hb, et entraîne une diminution de son affinité pour l'oxygène.

->La première molécule d'O₂ qui se fixe sur DéoxyHb se lie faiblement à l'hème mais cette liaison → changement de conformation qui se communique aux sous unités voisines facilitant la fixation des autres molécules d'O₂.



HOMEOSTASIE DU FER

Pour l'érythropoïèse, il faut une synthèse d'Hb, pour ça il faut du fer.

Il y a 2-4g de Fer chez l'adulte (dont 65% dans l'Hb).

La Ferritine et la transferrine: protéines porteuses dans le sang pour garder le **Fe³⁺** soluble et non réactif :

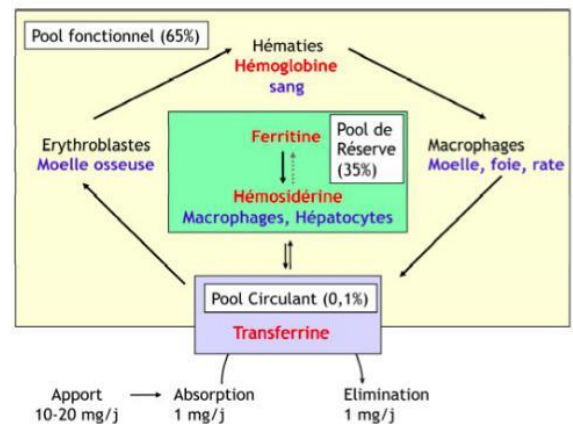
->Ferritine :

- Stockage intracellulaire (pp hépatique), précurseur de l'hémosidérine
- Forme sécrétée marqueur des réserves en fer

->Transferrine

- Synthétisée par le foie, sécrétée dans la circulation
- 2 atomes de fer ionisés par molécule

METABOLISME DU FER



→ On peut doser la ferritine pour évaluer les réserves de fer dans l'organisme

UNE CARENCE EN FER ENTRAINE UNE ANEMIE

-s'installe progressivement, car au début on puise dans les réserves avec la ferritine, ensuite diminution du fer circulant. Quand il n'y a plus aucun des deux, c'est là qu'il y aura une diminution de l'Hb

→ Quand on traite une carence en fer : on doit corriger le taux d'Hb et la correction des réserves en Fer

La dégradation de l'Hb se fait par les macrophages : qui participent donc au métabolisme du fer 80% du fer de l'organisme est utilisé pour la synthèse de l'Hb

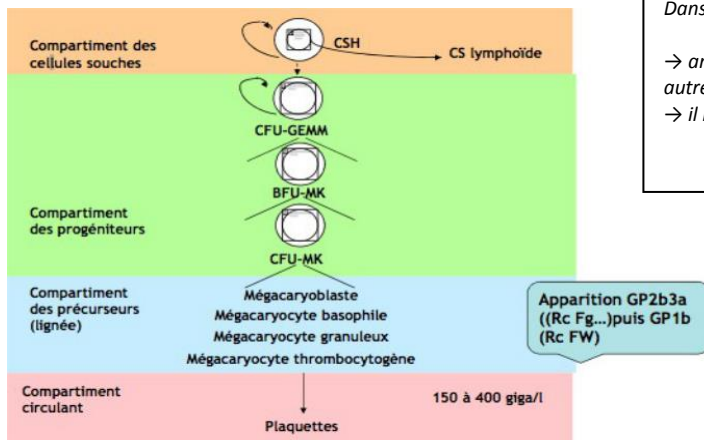
DESTRUCTION DES GR = HEMOLYSE

Durée de vie GR 120 jours, au bout desquels il y a diminution :

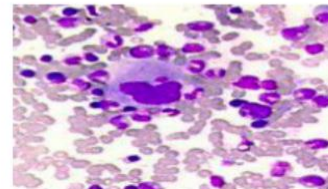
- des activités enzymatiques, de la plasticité
- de la capacité à lutter contre l'oxydation, de la capacité à lutter contre une hyper-hydratation

Le GR sera détruit par les macrophages, les constituants seront libérés, surtout l'Hb qui sera métabolisée en bilirubine, pour être éliminée

COURS 4 | MEGACARYOCYTOPIESE PLAQUETTES



- Dans le sang circulant, ce sont les plus petites cellules
 - Dans la MO, les mégacaryocytes sont les plus grosses de la MO, et les plus rares
 - Richesse globale de la MO en mégacaryocytes
- analyse à faible grossissement (objectif x10) : alors que pour tous les autres précurseurs il faut un fort grossissement
- il n'y a pas à faire un dénombrement quantitatif (juste x, xx, xxx)



Morphologie des précurseurs :

→ Au fur et à mesure, le noyau grossit, et la ploïdie augmente sur 12h (de 4N à 64N = endoréplication) avec multiplication du noyau au sein d'une même cellule.

Mégacaryoblaste : petit, rapport n/c élevé, chromatine fine et cytoplasme basophile T=10-25µm



Mégacaryocyte basophile



Mégacaryocyte granuleux



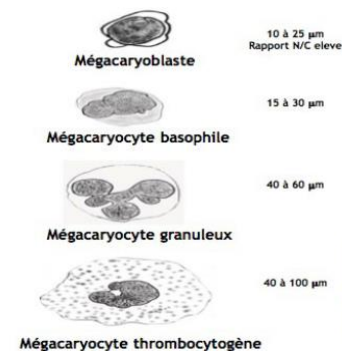
Mégacaryocyte thrombocytoène (énorme T : 40-100µm) : cyto basophile, ce cyto va se fragmenter dans les vaisseaux sanguins = lib des plaquettes
abs de division car son noyau reste dans le cyto = « ploïdie »
↗ maturation = ↗ nb de lobes = ↗ nb de plaquettes

- 1 Mégacaryocyte donne 1000 à 8000 plaquettes

Formation des granules par 2 mécanismes :

- biosynthèse : facteur willebrand, « platelet factor 4 (PF4) »
- capture : fibrinogène, immunoglobuline

marqueurs de surface : CD41 = glycoprotéine IIb/IIIa (CD41b : spécifique lignée mégacaryocytaire) et CD42 (GPIIb)



REGULATION DE LA THROMBOPOÏÈSE

- **TPO = thrombopoïétine** (glycoprotéine de 322aa) présente dans le plasma (synthétisée de façon hépatique et rénale), c'est une cytokine qui agit sur les progéniteurs et précurseurs. TPO a un récepteur (c-mpl) sur les plaquettes et mégak

→ Si le taux de plaquettes diminue → TPO se fixe moins sur son rc = il y a plus de TPO libre, qui stimule les Mégak et produit des plaquettes.

- **TPO 1er Gen** : objectif = augmenter les plaquettes (mais pas de dev clinique complet)
- **TPO 2eme Gen** : utilisable par vo ou voie sous-cutanée, avec applications restreintes (thrombopénies idiopathiques -autoimmunes)

PLAQUETTES : MORPHOLOGIE

Caractéristiques	→ Cellule anucléé, → 2-4µm → forme discoïde	
Granules	• granules α : - fibrinogène /FV - facteurs de coagulation/facteur Willebrand/PF4 - protéines de MEC (fibronectine et thrombospondine) • granules denses : -sérotonine ADP/ATP, activation des plaquettes, Ca²⁺, lysosomes	
Membrane	• Sur la membrane GPIIb/IIIa (CD41), et P sélectine	

La membrane plaquettaire :

- double couche lipidique : asymétrique avec de l'acide arachidonique
- glycoprotéines

Ligands	Glycoprotéines
FACTEUR WILLEBRAND	GPIb-V-IX
FACTEUR WILLEBRAND	αIIbβ3 (GPIIb/IIIa)
COLLAGENE	α2β1
COLLAGENE	GPIV

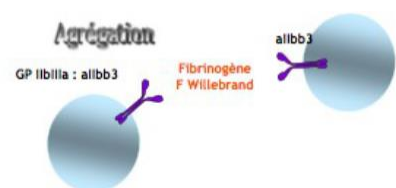
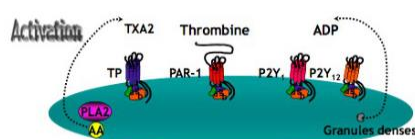
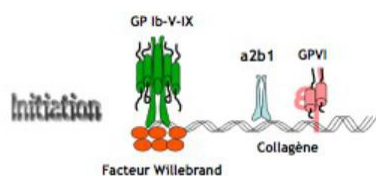
- Récepteurs à 7 domaines transmembranaires

Agonistes	Récepteurs
THROMBINE	PAR1 (protein activated receptor)
THROMBINE	PAR4
ADP	P2Y1 (agrég transitoire)
ADP	P2Y12 (agrég irréversible)
Thromboxane A2	TP

Vert : molécule (coagulation) ,activation des plaquettes et formation de caillots de fibrine (agoniste de la cascade de coagulation)

Rose : agonistes synthétisés par les plaquettes (plq)

HEMOSTASE	
Permet la transformation du sang liquide en gel → arrête l'écoulement du sang	
HEMOSTASE I 	• Agrégation des plaquettes • Lésion vasculaire ou inflammation au nv de la paroi vasculaire faite d'endothélium ⇒ une vasoconstriction reflexe. • Puis intervention des plaquettes qui s'agrègent par l'émission de pseudopodes (thrombus plaquettaire) • Adhésion des plaquettes au collagène sous endothélial via FVW • Activation et l'agrégation se fait par fixation de la thrombine, de l'ADP et de la tromboxane A2 sur leurs récepteurs , discocyte -> echinocyte • Puis il y a sécrétion par des granules et de leur contenu : granules α : fibrinogène, facteur Willebrand granules denses = sérotonine, ADP/ATP, Ca²⁺
HEMOSTASE II	Coagulation • Transformation du fibrinogène plasmatique en fibrine • Formation d'un caillot de fibrine grâce à la thrombine
FIBRINOLYSE	Lyse d'un caillot de fibrine via la plasmine
Fonctions plaquettaires	• La déformation : émission de pseudopodes • Adhésion : l'endothélium abimé libère le collagène et le FW qui se fixe sur ses récepteurs • Activation/sécrétion : se fait par fixation de la thrombine, de l'ADP et de la tromboxane A2 sur leurs récepteurs → sécrétion de granules • Agrégation : grâce à GPIIb/IIIa (Rc de FW) → agrégation irréversible (la GP est peu présente au départ sur la membrane plaquettaire, mais au fur et à mesure, elle passe de l'intra-cellulaire à l'extra-cellulaire → plus d'agrégation)



IMPLICATION CLINIQUE/PATHOLOGIQUES DES PLAQUETTES :

Situations pathologiques :

- **↓ de plaquettes = thrombopénie** (centrale ou périphérique). On utilise des analogues de TPO pour les traiter.

⚠️ **Attention : si on trouve une thrombopénie, possibilité de fausse thrombopénie à l'EDTA → tube de prélèvement de contrôle**

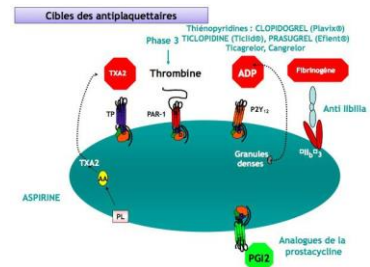
- **↑ (de + de 400 G/L) = thrombocytose** (ou Hyperplaquettose ou Thrombocytémie)

Les Thrombopathies peuvent être génétiques (anomalies de GPIIb/IIIa, ou GP1b), ou acquises.

Les plaquettes sont les cibles des médicaments anti plaquettaires.

EXEMPLE DE ROLE DES PLAQUETTES

- Plaque d'athérome
- rupture de plaque (libération de lipides très thrombogéniques)
- activation plaquettaire
- formation d'un thrombus et occlusion
- IM, AVC, Artérite des membres inf.

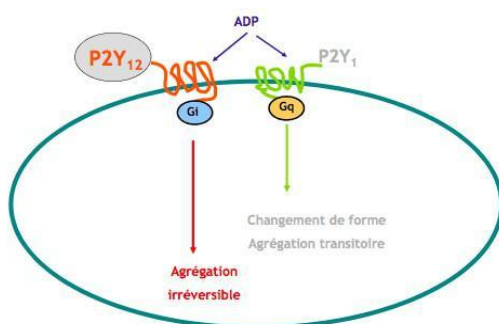


Les inhibiteurs du Rc à l'ADP = P2Y12 (on cible des agonistes de RCPG)

- **Les thiénopyridines :**
 - ticlopidine (Ticlid®)
 - clopidogrel (Plavix®)
 - prasugrel (Efient®)
- **Les inhibiteurs directs :**
 - ticagrelor (Brilique®) (voie orale)
 - cangrelor (voie IV)
 - elinogrel (voie IV ou orale)

Ceux qui bloquent le TP (récepteur de thromboxane A2)

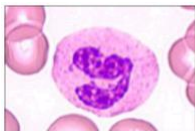
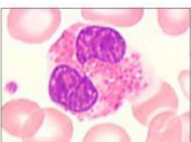
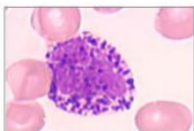
→ Aspirine



P2Y₁₂ → Agrégation irréversible
P2Y₁ → Agrégation transitoire

Cours 5 | La lignée granuleuse

- Grandes cellules, noyau polylobé, chromatine condensée
- Les différences sont les granulations et le cytoplasme

Neutrophile	Éosinophile	Basophile
 Granulocyte neutrophile 40 à 75 % des leucocytes 2 à 7,5 giga/l	 Granulocyte éosinophile 1 à 5 % des leucocytes < 0,5 giga/l	 Granulocyte basophile < 1 % des leucocytes < 0,1 giga/l
Granulations rondes et orangées		

CFU GEMM sous l'action de IL3 et GM-CSF

→ donne CFU-GM, CFU-Eo et CFU-Ba

Les pointillés = exactement les mêmes précurseurs, mais différences sur les granules dans les derniers stades

→ On va au fur et à mesure vers une cellule plus petite avec une chromatine plus condensée et au cytoplasme de moins en moins basophile

→ En tout, une vingtaine de jours (5 : prolif/met. Et 15 en réserve)

Myéloblaste (1%)

- chromatine fine, nucléole,
- fines granulations rouges, cytoplasme basophile



Promyélocyte (4%)

- chromatine fine, nucléole + présent,
- + de granulation qui prennent plus de place



Myélocyte (10%)

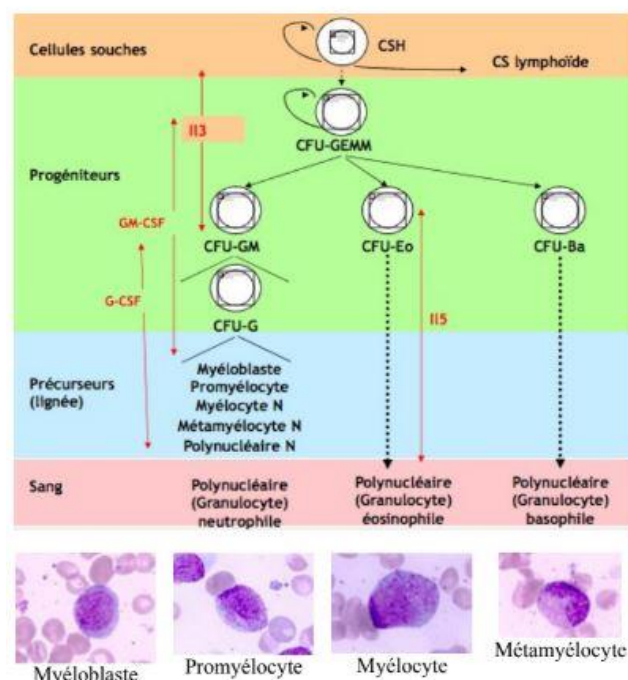
- Myélocyte : ressemble de plus en plus au neutrophile, au fur et à mesure prise de forme du noyau en U, chromatine condensée, cytoplasme clair, granulations qui ressemblent aux granulations finales



Métamyélocyte (20%)



PNN (20%)



LES PNN

Régulation lignée PNN

- **Facteurs de croissance stimulants** (IL-3, GM-CSF... IL-5 pour PNE)
- **Facteurs inhibiteurs** (surtout d'origine leucocytaire) → rôle important dans l'immunité et dans la défense contre les microorganismes.

Facteur inhibiteurs	Origine	Action
Lactoferrine	PNN	Inhibe production de GM-CSF par monocytes
Prostaglandine E	Macrophages	Inhibe prolifération des CFU-GM
Interféron γ	LT stimulés	
Isoferritines acides	Monocytes/Macrophages	

- **Vitamine A et ses dérivés** (rétinoïdes) → Nécessaires au déroulement de la maturation granuleuse

Une anomalie moléculaire du rc de l'acide rétinoïque (PML-RAR α) = blocage de la voie de l'acide rétinoïque

• **L'acide tout-trans-rétinoïque** (ATRA, tretinoïne) **permet le déblocage de la** maturation de la lignée granuleuse
Exemple= leucémie aigue myéloïde à promyélocytes (LAM3) = accumulation de promyélocytes dans la moelle, qui ne réussiront pas à se différencier en neutrophiles. L'administration d'ATRA permet le déblocage de la maturation de la lignée granuleuse

- **Mécanismes d'activation des oncogènes : ex PML-RAR α et LAM-3**

PML-RAR α inhibent la différenciation de promyélocyte en myélocyte → prolifération de promyélocytes

LAM3 : impliquée dans la leucémie aigue myéloïde : blocage au stade promyélocyte

- développement rapide (1 mois), mais bon pronostic si traitée à temps (traitement ciblé et efficace par l'ATRA)
- association constante avec une anomalie chromosomique : la translocation (15;17) ou une variante

ONCOGENESE : DE LEUR DECOUVERTE A UNE CIBLE THERAPEUTIQUE

- La mutation JAK-2 (mutation de transduction) : rc constamment activé même sans présence d'EPO → prolifération augmentée
- La translocation (15;17) : inhibe la différenciation des cellules (par inhibition de la transcription par compaction de la chromatine) et entraîne leur accumulation dans la MO

REPARTITION DANS L'ORGANISME

- Dans le secteur marginé, il y a une réserve de polynucléaires dans la paroi des vaisseaux, prête à être stimulée en cas de besoin, qui passe dans la circulation ou tissu en cas d'inflammation

GRANULATIONS DES PNN

- Permettent d'identifier toutes les cellules de la lignée myéloïde → elles sont toutes très très riches en myéloperoxydase
- Les granulations pourront être secrétées lorsque les PNN sont recrutés sur un site d'infection

- **Primaires :**

Myéloperoxydase (MPO⁺)

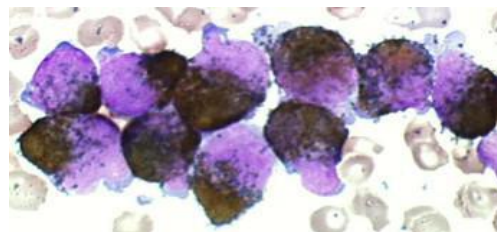
Estérase, Elastase

Lysozyme et phosphatase acide

- **Secondaires :**

Lysozyme et phosphatase alcaline (PAL)

Activateurs de compléments, et du plasminogène.



Molécules de surface :

- CD45 (c'est un marqueur panleucocytaire)
- CD33 (signe précoce de l'engagement myéloïde)
- CD13 et CD15 (marqueur de maturité granuleuse qui persiste)

FONCTIONS ANTIBACTERIENNES DES PNN

MIGRATION	Mobilité spontanée (déformabilité spontanée et formation de pseudopodes) et ils sont attirés par des facteurs chimiotactiques (COMPLEMENT, bactéries ...). • A l'état normal les PNN n'adhèrent pas aux cellules endothéliales. Dès que les c. endothéliales sont activées, elles expriment des molécules (sélectines, chimiokines ...) qui permettent aux PNN d'adhérer aux vaisseaux et la migration Transendothéliale (ICAM, VCAM): ex de la E-sélectine
PHAGOCYTOSE	Les PNN ont un rôle important de phagocytose → fixer la bactérie, la garder dans des vésicules pour les digérer. Ces bactéries vont se fixer grâce, la plupart du temps, à des opsonines : • qui sont des C3b • ou des anticorps ++ : qui vont fixer la bactérie par un côté, et par l'autre côté (frag Fc) vont se fixer à la surface des cellules pour être phagocytées. -Les PNN ont donc un rc pour le fragment Fc des Ig et pour le complément
BACTERICIDIE	= tuer les cellules bactériennes (plusieurs types : O₂ indépendant et dépendant) - O₂ indépendant : grâce à des protéases (enzymes) - O₂ dépendant : dans le phagosome, formation de myéloperoxydase et de HClO +++

LES PNE

Granulations énormes orangées dans le cytoplasme	• En particulier de MBP (qui leur donne leur couleur) : - puissante toxicité vis à vis des parasites et de certaines bactéries (Escherichia Coli, Staphylococcus Aureus...) ; - cytotoxicité surtout vis à vis des cellules épithéliales trachéales, intestinales et épidermiques - provoque une histamino-libération par les mastocytes et les basophiles, calcium dépendante → réactions allergiques - active les plaquettes et les PNN. • ECP ou protéine cationique : toxicité antiparasitaire 10 fois plus puissante que la MBP - cytotoxicité vis à vis des cellules épithéliales bronchiques ; - son analyse est évaluée dans le cadre du suivi de l'asthme ; - action histamino-libératrice sur les mastocytes et les basophiles. • EDN ou Neurotoxine : activité neurotoxique puissante, mais faible toxicité antiparasitaire (Inhibe la prolifération lymphocytaire) • Peroxydase : - Actions : bactéricide, antiparasitaire, anti-tumorale, histamino - libératrice et d'inactivation de la production des leucotriènes en association avec l'H₂O₂ et un halogène - cytotoxicité à l'encontre des cellules épithéliales bronchiques.
REGULATION	Par IL3, GM-CSF et IL5
MOLECULES DE SURFACE	Qui vont être capable de reconnaître des molécules de l'immunité, récepteurs pour : • Complément (C3b, C3d, C4) • Le fragment Fc des Ig = expression de récepteurs de Fc des IgE • Histamine, plasminogène • Interleukines et facteurs de croissance
REPARTITION	→ Faible pourcentage dans la MO, et passage dans le sang bref → Les PNE passent vite dans les tissus (en particulier dans ceux en contact avec l'environnement : respiratoire, digestif, cutané)
FONCTIONS	Migration identique aux PNN • par les facteurs chimiotactiques très variés • mais ++ Histamine (impliquée dans l'hypersensibilité immédiate) Phagocytose et bactéricidie (+ faible que pour les PNN) Hypersensibilité = réponse inappropriée de l'immunité adaptative face à un Ag du soi ou du non soi qui se manifeste par des effets néfastes pour l'hôte. Le PNE va être capable : • de migrer vers les déchets des PNB (qui font une dégranulation suite à la captation des IgE) • et bloquer la dégranulation des basophiles → limite d'hypersensibilité immédiate déclenchée par la dégranulation - histaminase et prostaglandines du PNE détruisent l'histamine pour limiter l'inflammation - libère plasminogène : cicatrisation d'un site inflammatoire -> Lors de phénomènes allergiques chroniques : cristallisation de certains constituants des PNE = cristaux de Charcot-Leyden : sont le signe d'une stimulation éosinophile importante (ils sont formés par fusion de MBP et de protéines cationiques) Activité antiparasitaire : très importante , augmentation du taux de PNE suivi d'une libération de ++ MBP qui vont fusionner avec les protéines cationiques (cristaux de charcot Leyden /selles+poumons)

LES PNB

Granulations : grosses et violettes ,masquent le noyau, contenu= **Héparine, histamine, bradykinine, kallicréine, PAF** (molécules importantes dans les réactions allergiques)

Répartition dans l'organisme

- Les PNB sont à destination tissulaire : Myocarde, synoviale, peau, poumon, tube digestif...
- Circulent dans la lymphe contrairement aux PNN → possibilité de re-circulation des tissus vers le sang
- Synthétisées dans la moelle et passent dans le secteur vasculaire

Molécules de surface, récepteur pour :

- Complément et fragment Fc des Ig (Fcε ,Fcγ)
- **IgE+++** (permet la fixation d'allergènes et entraîne la dégranulation des PNB)
- Interleukines et facteurs de croissance, molécules d'activation

Fonctions :

Activité sécrétoire

→ très importante de par le contenu de leurs granules

→ rôle dans l'hypersensibilité immédiate (2eme contact avec l'Ag), mode de réponse inapproprié de l'immunité adaptative face à un AG du soi ou d non soi qui se traduit par des effets néfastes pour l'hôte

- Sécrétion des granules et en particulier de l'histamine

La dégranulation provoque → Attraction des PNE et PNN

Vasodilatation	Contraction des muscles lisses	Activation plaquettaire	Bronchoconstriction : asthme allergique
----------------	--------------------------------	-------------------------	---

Hypersensibilité retardée : par recrutement les lymphocytes

Cellules apparentées : Mastocytes

Les Mastocytes sont situés seulement dans les tissus ont des propriétés communes avec le PNB, mais des marqueurs un peu différents

Responsables :

- De l'**hypersensibilité immédiate** (ce sont des CPA et impliquées dans la **défense anti-infectieuse**) donc de l'allergie
- Et de **pathologies tumorales rares** → mastocytoses systémiques
 - Prolifération anormale de mastocyte en particulier dans la moelle
 - Et impliquant le stem cell factor (SCF) et son récepteur membranaire le c-kit

Propriétés communes avec les PNB genre dégranulation immunologique sous la dépendance des IgE
Dégranulation non immunologique (froid, trauma, médicaments...)

Classification de Gell et Coombs :

- >Hypersensibilité de **type I ou immédiate** : médiée par les **anticorps IgE**
- >Hypersensibilité de type II : médiée par les anticorps IgG
- >Hypersensibilité de type III : médiée par les complexes immuns à IgG
- >Hypersensibilité de type IV ou retardée : médiation cellulaire

L'hypersensibilité de Type I ou immédiate est médiée par les IgE :

les cellules effectrices sont les basophiles et mastocytes, et les médiateurs sont surtout l'histamine

Les IgE → responsables des phénomènes d'hypersensibilité immédiate (allergie).

- Taux sérique très faible.
- Défense contre les parasites (helminthes).
- N'activent pas le complément, ne traversent pas le placenta

HYPERSENSIBILITE DE TYPE I OU IMMEDIATE

1- Phase silencieuse ou de stabilisation

- Immunisation
- Synthèse des IgE et sensibilisation des PNB et mastocytes

2- Phase symptomatique immédiate après au moins un second contact avec l'Ag

- Activation des PNB et mastocytes
- Synthèse de médiateurs chimiotactiques et pro-inflammatoires

3- Phase symptomatique semi-retardée

- Recrutement de cellules inflammatoires (éosinophiles, lymphocytes)

Les médiateurs chimiques :

1. Les médiateurs préformés : médiateurs de l'inflammation : histamines

2. Les médiateurs néoformés → suite à la fixation des IgE sur les mastocytes et PNB va entraîner la production de ces médiateurs qui vont être libérés :

- COX (cyclooxygénase)
- PAF (platelet activating factor)
- leucotriènes
- Prostaglandines

Les PAF, prostaglandines et autres médiateurs ont tous comme impact des symptômes comme la bronchoconstriction, vasodilatation, inflammation...

3. Cytokines

Fonction des polynucléaires

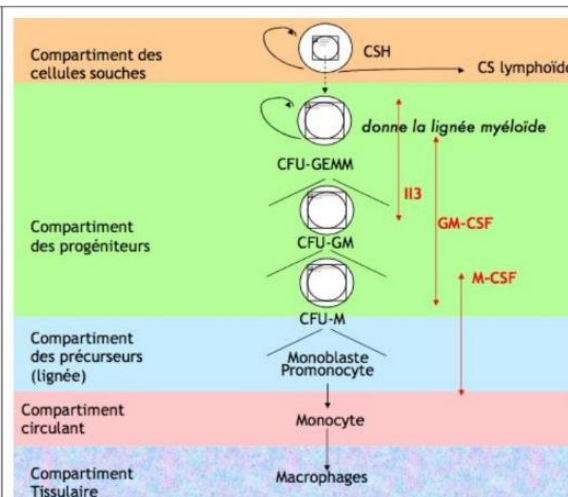
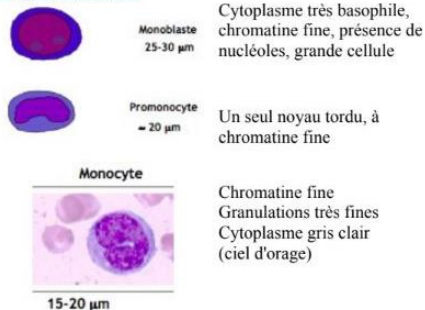
	PNN	PNE	PNB
MIGRATION	+	+	+
PHAGOCYTOSE	+	+	+/-
BACTERICIDIE	+	+/-	-

COURS 6 | LA LIGNEE MONOCYTAIRE

I-Origine des monocytes/macrophages

CFU- GM : progéniteur commun à lignée granuleuse et monocyttaire
Les monocytes vont pouvoir migrer dans un tissu, où ils se transforment en macrophages

II- Lignée médullaire



Principales caractéristiques

Répartition dans l'organisme	- Les macrophages sont fixés à la MEC (via les fibres de collagène) - Secteur circulant : 2 à 10 % des leucocytes (0,1-1 giga/L) - Secteur marginé périvasculaire faible - Compartiment tissulaire → macrophages - Foie : <i>cellules de Küpffer</i> - Épiderme : <i>cellules de Langherans</i> - Os : <i>ostéoclaste</i> - Cerveau : <i>microglie</i> - Ganglions/rate : <i>cellules dendritiques</i>
Molécules de surface	- CD14 (caractérise le monocyte dans le sang circulant) et CD 68 (CD68 = LE marqueur pour reconnaître les macrophages), le CD14 est sur la partie monocyte et dès qu'il se différencie il acquiert le CD68 - CMHI et CMHII Les monocytes peuvent être marqués par MPO (mais moins important que pour les PNN), attention macrophages : MPO négatif
Macrophages dans organes hématopoïétiques → macrophages sont capables de phagocyter des micro-org et des organismes pathogènes, selon où ils vont être, les macrophages auront des fonctions différentes → mais fonction commune : phagocytose	
Moelle osseuse : prolongements traversant les cellules endothéliales et pénètrent dans les sinus → phagocytent les cellules sénescents Rate : dans pulpe rouge (cordon billrott) Ganglions lymphatiques - Sinus et cordons lymphatiques : macrophages sans particularités - Para cortex ganglionnaire (Zone T)= cellules dendritiques interdigitées - Dans follicules (zone B) = macrophages sans particularités + cellules dendritiques dans centre germinatif et manteau Thymus : macrophages sans particularités + cellules dendritiques interdigitées	Macrophages et inflammation → différents macrophages vont avoir un rôle dans l'inflammation Cellules épithélioïdes : cytoplasme abondant, sécrétion d'enzymes+cytokines, pas de phagocytose → Inflammation subaiguë et chronique Cellules de langhans : macrophage géant à plusieurs noyaux → Infection chronique Cellules de Muller : macrophage géant à plusieurs noyaux, pas de cytoplasme → seulement débris de phagocytose

FONCTIONS DES MACROPHAGES

PHAGOCYTOSE

Vont capter des microorganismes, bactéries, antigènes, ou cellules apoptotiques pour ensuite les détruire

1. Épuration : capter des produits endogènes (cellules altérées, comme GR) ou exogènes (polluants, poussières, Ag divers), épurer les tissus

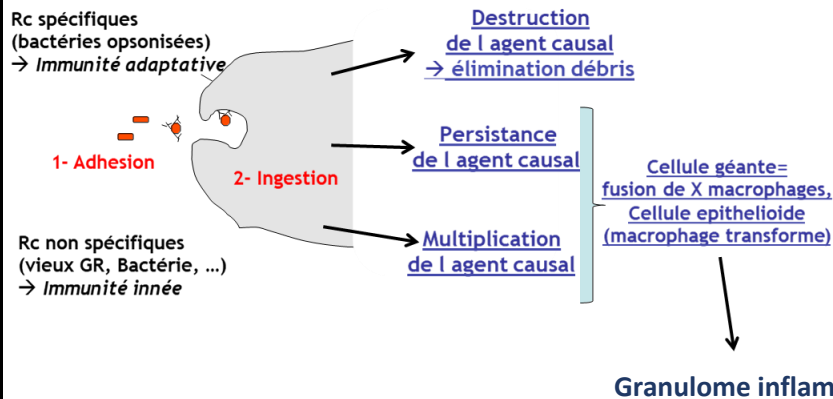
2. Bactéricidie : activité antibactérienne (à spectre plus large que les PNN), tuer les bactéries

- les PNN sont présents vite sur le lieu de l'infection et ne vivent que quelques jours

- alors que les macrophages vivent de plusieurs mois à plusieurs années.

→ Phagocytose plus importante et moins spécifique que les PNN

→ **Les macrophages ne se divisent pas**



Explication du schéma :

- Les macrophages vont être capables de capter des bactéries recouvertes d'AC, ces AC ont 1 partie variable et une partie fixe .
- La partie variable va se fixer sur la bactérie, la partie qui restera libre est le fragment Fc
- Cette partie libre Fc de l'AC va être reconnue à la surface des cellules phagocytaires et va adhérer à ces récepteurs au fragment Fc afin d'être ingérée.
- Ingestion des bactéries via un AC , l'opsonine peut intervenir en tant que facilitateur de phagocytose
- Existence de rc non spécifiques sur les macrophages : rc de l'immunité innée (reconnaissance de vieux GR, de certaines bactéries...) -> donc on aura une phagocytose sans opsonisation
- Dès qu'une bactérie entre dans l'organisme, le but est de l'éliminer , dans certains macrophages l'agent causal persiste (cas d'une bactéricidie moindre) , sinon l'agent causal peut se multiplier .
- Les cellules géantes obtenues continuent de grossir pour former des granulomes inflammatoires (macrophages géants au niveau tissulaire)

Phagocytose sans opsonisation : réponse innée

- Les différents microorganismes vont être phagocytés /ingérés dans les phagolysosomes sans récepteurs ni intermédiaires, la cellule les capte directement
- Phagocytose directe via différents sous récepteurs :
 - Les **PAMPS** (Pathogen Associated Molecular Patterns) présents sur certains micro-organismes
 - Les **DAMPS** (Damage Associated Molecular Patterns) sur cellules en apoptose
 - Ces 2 molécules vont être reconnues par le macrophage afin d'être directement captées, puis elles vont aller reconnaître le récepteur de type PRR (Pattern Recognition Receptors)
 - Ces PRR= molécules du soi, récepteurs de différentes origines . Ces récepteurs reconnaissent des motifs moléculaires associés aux pathogènes et des motifs moléculaires associés aux cellules apoptotiques .
- Tous ces PAMPS vont aller fixer des récepteurs comme Toll Like Receptor **TLR**
- Activation des TLR par les PAMPs induit l'expression de nombreux gènes de la réponse immunitaire

Phagocytose avec opsonisation

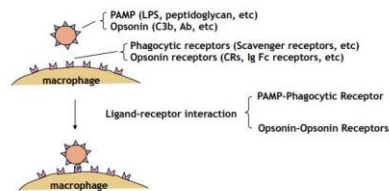
Récepteurs des opsonines

1. Complement receptors (CRs)
Opsonin: C3b or its cleavage products (iC3b)
Complement receptor (CR: CR1, CR3, CR4)
Macrophage
2. Immunoglobulin Fc receptors
Opsonin: antibody
Immunoglobulin Fc receptor
Macrophage
3. Collectin receptors
Opsonin: collectins (oligomeric C-type lectins) binds to bacterial carbohydrates.
Mannose binding lectin (MBL) binds to mannose containing carbohydrate.
4. Pentraxin receptors
Opsonin: C-reactive proteins (CRP) binds to phosphocholine in LPS.

- **Opsonine** = toute substance qui se lie à des antigènes et induit leur phagocytose par des macrophages ou des PNN, molécule qui facilite la phagocytose, c'est une molécule intermédiaire,
- Désignent donc les Ac et certains fragments du complément qui se lient aux AG de surface d'une bactérie pendant l'activation du complément
 - Et favorisent la liaison des récepteurs des macrophages à la surface cellulaire (ex : C3, C5, fraction Fc des Ig)
 - Vont aller lier un récepteur à la surface, récepteur Fc (si AC) ou tous les récepteurs au complément (CRs) et ainsi induire la phagocytose

Phagocytose (1)

Phagocytose est induite par Rc phagocytaire et Rc aux opsonines



La phagocytose est induite par les Rc phagocytaires et aux opsonines (1)

Récepteurs phagocytaires :

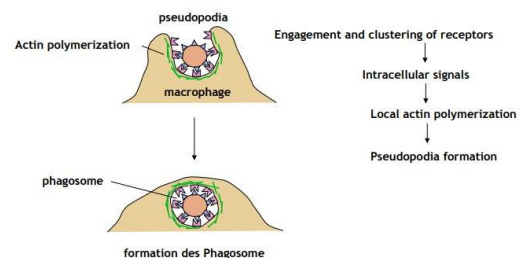
- scavenger receptors (SRs) = récepteurs sur plaques d'athérosclérose
- macrophages mannose receptor (MR)

Récepteurs des opsonines :

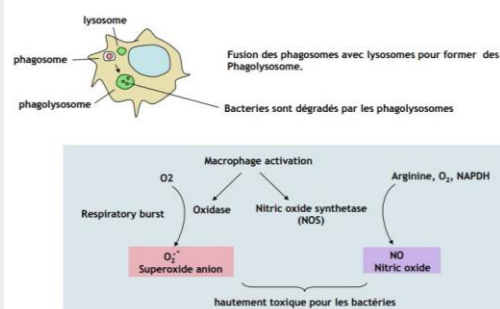
1. Complément receptors (CRs)
2. Immunoglobulin Fc receptors
3. Collectin receptors
4. Pentraxin receptors

- Invagination grâce au cytosquelette qui va recouvrir le microorganisme et former une vésicule qui est un phagosome
- Phagosome : vésicule intracellulaire qui entoure la cellule et qui va permettre la destruction de celle-ci,

Phagocytose (2)



Phagocytose (3)



→ Le phagosome fusionne avec des vésicules lysosomales remplies d'enzymes qui vont dégrader le microorganisme = phagolysosomes.

→ Puis il y a des réactions d'oxydation qui dégradent le Microorganisme, production de superoxyde O_2^- , ou NO

→ Ces 2 voies ont une action antibactérienne

→ Après avoir dégradé le microorganisme, présentation de l'Ag par le macrophage : immunisation

Activité Sécrétrice	- Les macrophages ont une activité de sécrétion importante : → enzymes : lysozyme, hydrolases, protéases (qui vont dégrader le tissu environnant et certains Ag) → de complément → de facteurs chimiotactiques des PNN → d'interferons ACTIVITE PHAGOCYTAIRE+ SECRETRICE <pre> graph TD A[ACTIVITE PHAGOCYTAIRE+ SECRETRICE] --> B[Réaction inflammatoire /hémostase] A --> C[Fonctions métaboliques] A --> D[Immunité spécifique humorale et cellulaire] </pre>
----------------------------	--

ROLE DANS LA REACTION INFLAMMATOIRE	Lorsqu'il y a une inflammation, l'endothélium s'active → sécrétion de molécules qui vont permettre l'adhésion des leucocytes → d'abord le PNN, puis le monocyte (qui va se différencier en macrophage dans le tissu) vont sécréter des facteurs de croissance, qui participent à la réaction inflammatoire, amplifier la réaction et augmenter le recrutement de cellules leucocytaires → accumulation de cellules dans le tissu Lorsque les macrophages sont activés, ils sécrètent : IL8 : permet de faire perdurer la réaction inflammatoire en recrutant des PNN TGF beta et PGDF : entraînent un recrutement et une prolifération des fibroblastes (responsables de la cicatrisation) → Quand les macrophages s'installent dans les tissus ils vont aussi s'occuper de la réparation tissulaire de la réaction inflammatoire. IL-1, IL-6, TNF- α = effets systémiques : Phase aigüe de l'inflammation : sécrétion des cytokines par l'inflammation qui vont dans la circulation sanguine, notamment au niveau hépatique = inflammation systémique (fièvre généralisée par ex) Fièvre : elle va diminuer la réaction et la réplication bactérienne → effet positif sur l'infection <u>Cytokines</u> : amplifient la réaction immunitaire, recrutent d'autres cellules afin de contrôler la réaction immunitaire TNF-α (tumor necrosis factor-1, une importante cytokine) → Entraîne une augmentation du flux sanguin, de la perméabilité sanguine, et une extravasation des GB → Formation d'un œdème qui est caractéristique d'une inflammation (ex : rougeur sur peau) IL-1, IL-6, TNF- α = induisent des effets systémiques : 1/Phase aigüe de l'inflammation : sécrétion des cytokines par l'inflammation qui vont dans la circulation sanguine, notamment au niveau hépatique = inflammation systémique (fièvre généralisée par ex), ce sont des molécules pyrogènes car elles vont aller activer au niveau hépatique des protéines de la phase aiguë de la réaction inflammatoire qui sert de complément d'activation, facilitant la phagocytose et qu'on va doser pour savoir s'il y a inflammation ou non, 2/Fièvre : active aussi au niveau de l'hypothalamus et de la graisse et des muscles, augmentation de la température corporelle, elle va diminuer la réaction et la réplication bactérienne → effet positif sur l'infection
--	---

	Fonctions métaboliques des macrophages : -Remodelage de la membrane phospholipidique et la voie de l'acide arachidonique (permet la synthèse de prostaglandines et leucotriène via les voies de la cyclooxygénase / lipooxygénase) -Prostaglandines et leucotriène : participent à la vasodilatation, augmentation de la perméabilité mm et au recrutement des PNN = induction de la réaction inflammatoire. -Le macrophage produit des médiateurs lipidiques de l'inflammation
ROLE DANS L'HEMOSTASE (= FORMATION D'UN CAILLOT SUITE À UNE BRÈCHE VASCULAIRE)	• Les monocytes à l'état physiologique n'expriment pas de facteurs tissulaires (molécules qui permettent l'activation de la coagulation des facteur plasmatiques). Après inflammation : • Expression de facteurs tissulaires à la surface du macrophage => petits thrombus dans la circulation • Le macrophage produit des médiateurs lipidiques de l'inflammation = fonctions « métaboliques » : → synthèse de prostaglandines et leucotriène qui participent à l'inflammation :* → en activant une vasodilatation → en augmentant le recrutement les PNN
ROLE DANS L'IMMUNITE ADAPTATIVE	L'objectif c'est de présenter les Ag aux LT (grâce à des molécules du CMH) → va organiser une immunisation contre cet Ag -Présentation de l'antigène par le macrophage (c'est une CPA) : <u>Trois catégories de CPA :</u> • Cellules dendritiques interdigitées présentes dans les zones T (macrophages spécialisés dans certains tissus) -cellules Langerhans de la peau -cellules des ganglions lymphatiques (zone T) • Cellules dendritiques folliculaires dans les zones B • Macrophages : après avoir digéré un pathogène, un macrophage peut se comporter en CPA présenter un antigène en association avec les molécules du CMH de manière à stimuler un LT spécifique → immunité cellulaire -Cytotoxicité → destruction des cellules infectées et tumorales en les ingérant -Modulation de l'inflammation se fait par la sécrétion de : IFN gamma qui active les macrophages cytotoxiques et augmente l'expression de CMH-II , et TNF alpha qui augmente la cytotoxicité antitumorale
ROLE DANS L'HEMATOPOÏÈSE	• Régulation de l'hématopoïèse par synthèse et excrétion des régulateurs de l'hématopoïèse(cytokines) d'IL3, GM-CSF, G-CSF, M-CSF (en particulier les facteurs de différenciation de la lignée granuleuse) → Quand il y a accumulation de macrophages : -<i>Synthèse de cellules immunitaires</i> -<i>Augmentation des PN neutrophiles et de monocytes dans le sang en réponse à une infection</i> • Rôle dans le métabolisme du Fer (récupération du fer et stockage pour réutilisation) • Hémolyse normale dans la MO (îlots érythroblastiques), et hémolyse pathologique dans foie et rate (anémie hémolytique auto immune) <u>Les macrophages sont au centre de toute la réponse inflammatoire immunitaire</u>

CELLULES DENDRITIQUES	
Rôle des cellules dendritiques	
→ Ont des prolongements cytoplasmiques (ex : cellules de Langerhans pour gérer la RI au niveau de la peau) → Transmission des informations antigéniques de la périphérie vers les organes lymphoïdes (à la suite de la présentation des Ag) → Initiation de la réponse adaptative (cellulaire et humorale) → sont la seule CPA capable de déclencher une réponse immunitaire primaire → Protection des organes lymphoïdes de l'invasion par des pathogènes	
2 types qui ont des fonctions différentes :	
• Immatures : dans les tissus (CMHII intracellulaire,) et avec pour rôle de beaucoup phagocyter les Ag → phagocytose • Matures : dans les zones T des organismes lymphoïdes, le CMHII est membranaire (phagocytose diminuée) → Présentent l'Ag	
<pre> graph LR Monocytes -- "GM-CSF + IL-4" --> CD_Immature["CD immature J4- J5"] CD_Immature -- "GM-CSF + IL-4 + signal de maturation" --> CD_Mature["CD mature J7"] </pre>	

Type	Morphologie	Diamètre µm	Cibles	Durée de vie
Monocyte		14-17	• Monocytes migrent depuis le sang vers les tissus et se différencient en macrophages et CD	Qq heures à qq jours
Macrophage		21	-Phagocytose des débris cellulaires et pathogènes, et stimulation des lymphocytes et autres cellules immunes qui luttent contre les infections → permettent à une réaction inflammatoire de persister dans les tissus	Qq mois à qq années
Cellule dendritique			CPA activent les LT	Qq mois à qq années

COURS 7 | LA LIGNEE LYMPHOCYTAIRE ET ORGANES LYMPHOÏDES

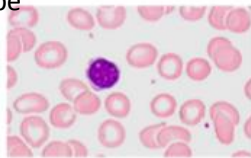
MORPHOLOGIE et REPARTITION des LYMPHOCYTES

Morphologie des lymphocytes

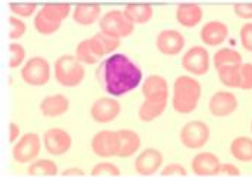
-Dans le sang

Il existe une hétérogénéité au niveau des lymphocytes B et T. Lors d'un examen, il est impossible de différencier les sous-types de lymphocytes.

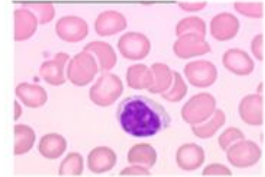
- Néanmoins, les lymphocytes à grains (appelés **Natural Killer-NK**) sont les seules cellules du sang dont on peut reconnaître leur sous type



Petit lymphocyte
7 à 8 µm



Grand lymphocyte
10 à 15 µm

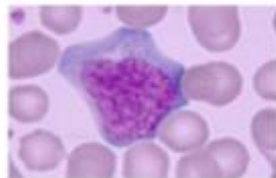


Lymphocyte à grains
(cellule NK) 10 à 15 µm

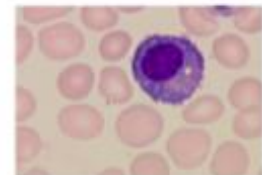
-Dans les organes lymphoïdes et la moelle

- Il existe des lymphocytes activés (ou immunoblastes) .
- Ces lymphocytes ont une chromatine fine et un cytoplasme basophile (c'est souvent un des pièges dans les frottis sanguins car on peut les confondre avec un blaste) et il est possible de les retrouver dans le sang dans le cas d'infections virales.
- Le plasmocyte (noyau très rond excentré) produit quant à lui les anticorps et peut être représentatif de la présence d'un myélome multiple.

Ly activé
(immunoblaste)



Plasmocyte



A noter que lors d'un examen, si les lymphocytes sont tous identiques, cela reflétera la présence d'une pathologie (existence d'une lymphocytose ou d'une lymphopénie).

- Lymphocytes circulants : 1 à 4 G/L

Lymphocytes impliqués dans la réponse immunitaire :

- >Lymphocytes T permet l'**immunité cellulaire adaptative** (entre 70% et 80% dans le sang)
- >Lymphocytes B permet l'**immunité humorale adaptative** (entre 5% et 12% dans le sang)
- >Cellule NK permet une **immunité cellulaire non spécifique** (entre 5% et 15% dans le sang)

Répartition dans l'organisme :

- chez l'embryon : sac vitellin → foie → moelle
- chez l'adulte : organes lymphoïdes primaires (MO et thymus) et organes lymphoïdes secondaires (gg, rate, foie, malt)

MOELLE OSSEUSE

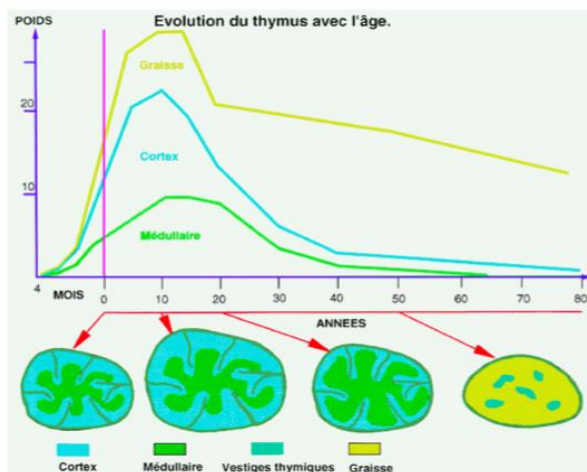
→ Organe myéloïde, contenant un tissu lymphoïde diffus, non folliculaire, ayant des interactions étroites, avec le tissu de soutien, en particulier les cellules stromales. Elle produit les lymphocytes

Fonctions :

- Maintien d'un contingent de cellules souches lymphoïdes
- Maturation et différenciation des LB La maturation et différenciation des pro-lymphocytes B en lymphocytes B matures qui seront ensuite capables de coloniser les organes lymphoïdes secondaires.
- Hébergement des LB activés par l'antigène et qui se transforment en plasmocytes
→ myélome multiple : prolifération maligne monoclonale de plasmocytes dans la MO

THYMUS

- Organe lymphoïde bilobé, non folliculaire, à la base du cou involuant après la puberté
- Apparu dès la 6e semaine chez l'embryon, atteint une taille maximale à 10 ans, et involue après la puberté, tout en persistant plus ou moins jusqu'à 60 ans environ (reste =graisse)
- Par conséquent cet organe deviendra de moins en moins fonctionnel avec les années.



Plusieurs types cellulaires sont présents :

- **Les cellules dendritiques** : elles ont d'abord un rôle de CPA donc de sélection négative des lymphocytes T (rôle essentiel dans la tolérance du soi).
- **Les thymocytes** : ce sont des cellules lymphoïdes immatures provenant de la moelle et qui prennent cette appellation dans le thymus jusqu'à ce qu'elles en sortent (où elles reprendront ensuite leur appellation d'origine c'est-à-dire « lymphocyte »)
- **Les cellules épithéliales** : forment la trame du thymus et sécrètent des facteurs nécessaires à la différenciation des thymocytes.
- **Les cellules macrophagiques** : détruisent les cellules rentrant en apoptose

Ces cellules vont ensuite migrer vers le sang puis vers les organes lymphoïdes périphériques.

Différentes zones dans le thymus:

- **Le cortex**: zone la plus externe qui permet la sélection positive des thymocytes.
- **La jonction cortico-médullaire**: c'est le lieu d'entrée des progéniteurs de la moelle (cellules lymphoïdes immatures) et de sortie des cellules matures.
- **La médulla**: la zone interne où s'accumulent les cellules matures/en cours de maturation et où se fait la sélection négative.

Rôles :

- **La multiplication intense:** cellules doubles négatives qui n'expriment pas encore les antigènes spécifiques des lymphocytes (les précurseurs entrent dans le thymus entrent par voie sanguine et se multiplient au niveau du cortex superficiel
- **La maturation et la différenciation** pour ensuite progressivement acquérir le récepteur TCR et des marqueurs de différenciation. (par réarrangement des gènes) et le CD3, CD4, CD8
- **La sélection des lymphocytes :** elle peut être soit positive soit négative.
 - Sélection positive: survie des thymocytes qui reconnaissent le CMH
 - Sélection négative: destruction des thymocytes qui reconnaissent trop fortement le soi

Cette double sélection permet d'éliminer environ 98% de thymocytes par apoptose.

⇒ Sièges des réponses des lymphocytes aux antigènes :

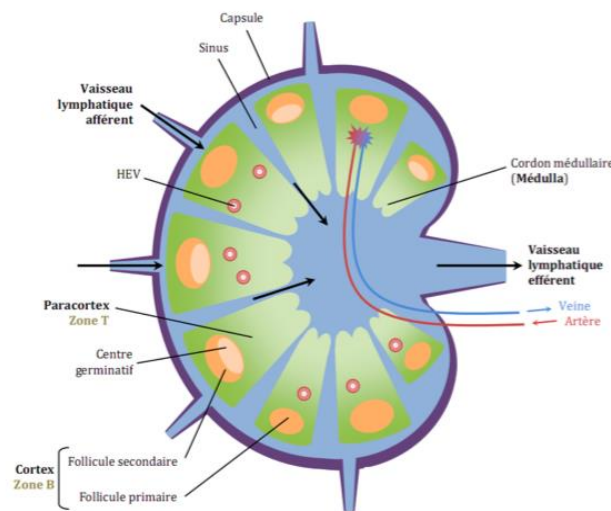
- Des lymphocytes sont présents, de façon diffuse dans presque tous les organes et tissus, à l'exception du SNC.
- Lors d'un examen clinique, une palpation des ganglions est effectuée car ces derniers sont le reflet des réactions immunitaires (un gonflement des ganglions montre une infection, pathologie dans de rares cas).

GANGLION LYMPHATIQUE

→ Environ **1000** dans l'organisme, petit organe réniforme, **de 1 à 15 mm de diamètre**

→ La circulation lymphatique s'effectue dans un seul sens : **tissus ⇒ ganglions ⇒ sang**

- Les ganglions sont entourés d'une capsule fibreuse conjonctive qui comprend 3 parties (cortex, para cortex et médulla)
- afin d'assurer son rôle de filtration de la circulation lymphatique
- ainsi qu'une prolifération/différenciation des cellules immunitaires.
- La capsule est percée de vaisseaux lymphatiques efférents qui déversent la lymphe au niveau des sinus.
- Cette dernière va ensuite traverser tout le ganglion pour ressortir au niveau des vaisseaux afférents



→ C'est une structure encapsulée contenant des lymphocytes siégeant sur le trajet des voies lymphatiques

Le ganglion est composé de :

- **une zone corticale(cortex) externe** : siège des follicules lymphoïdes (lymphocytes B),
- **follicule primaire** : LB au repos + cellules dendritiques en l'absence de stimulation , il ne possède pas de centre germinatif car il n'a pas encore « vu » d'antigène.
- **follicule secondaire** : lorsqu'on a une stimulation antigénique : manteau (périphérique et reste de follicules primaires+ **centre germinatif**)

Zone sombre : -**Une zone sombre** faite de **centroblastes** (grande cellules, noyau non clivé): siège de la prolifération lymphocytaire dès que l'antigène a rencontré le LB mature naïf.

À noter que les LB n'ayant pas rencontrés d'antigènes sont repoussés dans la zone du manteau.

- **Une zone claire** faite de **centrocytes** (petites cellules) et de cellules dendritiques : siège de la sélection des LB ayant une meilleure affinité avec l'antigène. C'est aussi une zone avec beaucoup d'interactions entre LB, LT et cellules folliculaires dendritiques.

- **une zone para corticale(para cortex)**, où se trouvent des lymphocytes T et des cellules dendritiques et des veinules . Il y a dans cette zone des **interactions** (+++) entre lymphocytes T/B puis lymphocytes T/cellules dendritiques.
- **une zone médullaire centrale (médulla)** : c'est la partie la plus interne du ganglion qui correspond à des cordons médullaires et contenant des macrophages, des plasmocytes et des lymphocytes B mémoires. Permet la sortie des cellules par la lymphe ainsi que par les vaisseaux efférents

IL EST IMPORTANT DE BIEN CONNAITRE CHAQUE PARTIE DU FOLLICULE SECONDAIRE

RATE

Dans l'hypochondre gauche, forme ovale, volumineux, pas palpable à l'état normal

- Elle a une fonction hématopoïétique jusqu'au dernier mois de la vie fœtale
- La rate n'est pas branchée sur la circulation lymphatique (à l'inverse des ganglions lymphatiques) MAIS est branchée sur la circulation sanguine.
- Rôle très important d'épuration du sang : capture des Ag infectés dans la circulation sanguine
 - organe PHAGOCYTAIRE principal : activité macrophage très importante → cellules vieillissantes détruites (ex GR), et séquestration de cellules
 - pas de drainage par une circulation lymphatique

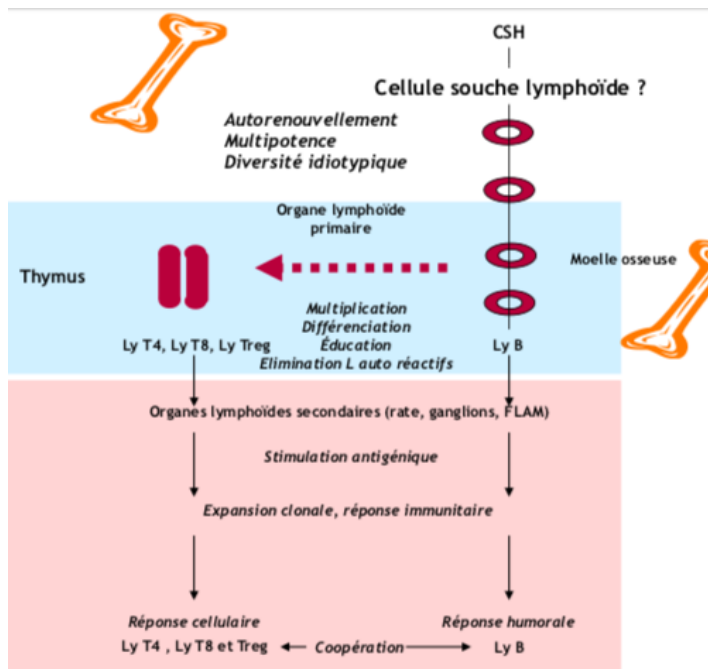
2 types de tissus différents :

- **La pulpe rouge** : quantitativement la plus importante (va être le filtre à Ag)
 - Localisée sous la capsule (paroi de la rate).
 - Permet la destruction des GB via les **cordons de Billroth** (filtre à antigènes) ainsi que via les capillaires sinusoides.
 - Filtre à antigènes ainsi qu'un destructeur à hématies.
 - Zone d'épuration vasculaire où les vaisseaux sanguins sont recouverts à leur périphérie de macrophages, qui vont capter les cellules sénescents ou vieillissantes
- **La pulpe blanche**: manchons lymphoïdes péri-artériolaires faits principalement de LT
 - permet la rencontre antigène-lymphocytes et est centrée sur les artéioles.
 - On a une **gaine lymphoïde péri artérielle** riche en LT ainsi que des **corpuscules de Malpighi** qui sont des amas de LB (principalement).
 - C'est le lieu de la réponse immunitaire.

→ Les manchons péri-artériolaires et les follicules sont entourés d'un anneau de lymphocytes et de macrophages constituant la zone marginale

PRODUCTION ET MATURATION DES LYMPHOCYTES :

- La CSH produit une CS lymphoïde dans la moelle osseuse.
- Le lymphocyte peut choisir d'aller dans le thymus.
- Dans ce cas, il se transformera en lymphocyte T et pourra donc acquérir des antigènes spécifiques.
- Par conséquent, il sort du thymus des LT et de la moelle osseuse des LB.
- Ils vont ensuite tous aller vers les organes lymphoïdes secondaires où on aura une stimulation antigénique, une éducation ainsi qu'une prolifération des lymphocytes et une organisation de la réponse cellulaire et humorale



LYMPHOCYTES B ET T

- Ces deux types de lymphocytes possèdent chacun un récepteur spécifique à l'antigène (BCR -LB- et TCR -LT-).
- Ces récepteurs contiennent des régions constantes ou variables permettant la reconnaissance et l'interaction avec l'antigène.
- Ils reconnaissent l'antigène de la façon suivante:
- LB: il possède des **immunoglobulines à sa surface** ce qui lui confère la capacité de **reconnaître directement l'antigène**.
- LT: c'est l'inverse des LB car le LT ne possède pas d'immunoglobulines donc ne reconnaît pas directement l'antigène. **Le TCR a donc besoin d'une cellule présentatrice de l'antigène.**

LYMPHOCYTES T

MOLECULES DE SURFACE

- Le LT possède des récepteurs qui seront capable de reconnaître des épitopes présentées par le CMH. Ce TCR va alors reconnaître les antigènes qui auront été pris en charge par un macrophage ou une cellule dendritique.
 - Le récepteur a besoin d'être associé à d'autres molécules notamment le **CD3** qui va être le corécepteur du TCR. Le CD3 permet la transduction du TCR.
 - Il est composé de 3 dimères qui ne vont pas directement intervenir dans la reconnaissance du peptide mais qui participeront à la transduction du signal. Le TCR marche donc en binôme avec le CD3 (**! CD3 différent de CDR3 !**)
 - Le LT possède aussi des **corécepteurs (CD4 et CD8)** car l'affinité CMH/peptides est relativement faible. Ces corécepteurs vont participer à l'activation cellulaire soit en augmentant l'avidité globale de l'interaction du TCR pour le complexe CMH-peptide et/ou en envoyant des signaux vers l'intérieur de la cellule.
 - CD4: monomère, permet l'interaction avec le CMH II, 2/3 de LT CD4
 - CD8: homo/hétéro-dimère, permet l'interaction avec le CMH I, 1/3 de LT CD8
- Ces deux corécepteurs vont constituer un pool de LT circulants.
- Il y a une acquisition progressive, au niveau de la maturation des LT, de certains récepteurs.*

FONCTIONS

- Ils permettent la reconnaissance de l'antigène et la régulation de la réponse immune.
- Les lymphocytes CD8 (T8) ont une fonction effectrice car ce sont des cellules qui ont soit une fonction cytologique directe soit une fonction suppressive pour réguler négativement la réponse immune.

LYMPHOCYTES B

- Production de lymphocytes B à partir d'une cellule souche hématopoïétique au niveau de la moelle osseuse ($\approx 10^6$ /j chez l'homme).
- LB possède à sa surface une immunoglobuline (Ig) qui lui permet de reconnaître directement l'antigène.
- Or, il existe un nombre infini d'antigènes et donc, pour reconnaître ces différents types d'antigènes, il va falloir être capable de créer des Ig avec des régions variables.
- Il va donc y avoir un processus de **réarrangement génétique** qui permettra d'avoir un répertoire d'Ig à la surface des LB pour pouvoir répondre à toutes les stimulations antigéniques.

- Grace à la lymphopoïèse, chaque LB exprime environ **50 000 copies** de BCR qui sont toutes identiques (chacune étant spécifique de chaque BCR).
- Cela permet donc la reconnaissance d'un maximum d'antigènes étrangers

Lymphopoïèse B: Production de lymphocytes B ayant un répertoire très divers grâce au phénomène de recombinaison V-D-J.

La lymphopoïèse s'effectue en 2 étapes :

1. Antigène-indépendante : elle se fait au niveau de la moelle osseuse de manière continue. On aura au cours de cette étape un réarrangement aléatoire des gènes codants pour les Ig ainsi qu'une production d'un lymphocyte B immature capable de reconnaître un antigène.

2. Antigène-dépendante: elle se fait au niveau des organes lymphoïdes secondaires et achève la maturation du LB. Elle conduira soit à la production de LB mémoires soit à la production de plasmocytes capables de sécréter des anticorps

PLASMOCYTES
→ Ils ne sont normalement pas retrouvés dans le sang: il s'agit de cellules tissulaires ou ganglionnaires. → Si on retrouve trop de plasmocytes dans la moelle osseuse cela est synonyme de myélome multiple
MORPHOLOGIE
- Il possède une morphologie assez caractéristique due à la présence d'un noyau excentré et d'une chromatine souvent condensée. - C'est une cellule ovale.
ORIGINE
- La durée de vie d'un plasmocyte est de 4 à 6j. - Il ne se divise plus: c'est une cellule terminale qui produit des anticorps. - Contrairement aux LB, les plasmocytes ne contiennent plus d'Ig de surface (Ig intracytoplasmiques chez les plasmocytes).
FONCTION
- Le plasmocyte sécrète des anticorps et un clone de plasmocytes ne sécrète qu'un seul type d'Ig. - À noter que la prolifération d'un clone de plasmocytes dans la moelle osseuse entraîne dans le sang une gammapathie monoclonale (pic d'Ig dans le sang).
Exemple, pathologie touchant les plasmocytes → Myélome - Prolifération maligne des plasmocytes dans la MO (maladie à évolution lente), et diagnostiquée après 50 ou 60 ans. - A l'origine de cette prolifération : stimulation antigénique d'un précurseur B qui aboutit à l'émergence d'un clone malin. Quand prolifération → augmentation de cytokines (++ IL6) Diagnostic : ->Augmentation du nombre de plasmocytes (de 10%) ->Morphologie des plasmocytes (plasmocytes dystrophiques) : anomalies cytoplasmiques (inclusions qui seront des accumulations d'Ig particulières. (→ cytoplasme 'ballonné'), et des anomalies nucléaires (c.multinuclées) → Regroupement d'ilots de plasmocytes à un même endroit L'exemple type de gammapathie monoclonale est le myélome multiple (maladie de Kahler). Il s'agit d'une prolifération maligne plasmocytaire. Étant donné que les plasmocytes ont un potentiel de prolifération très faible, la maladie est d'évolution lente. Les plasmocytes monoclonaux vont alors être responsables de la sécrétion d'une immunoglobuline monoclonale. → La prolifération plasmocytaire est due à une stimulation antagonique chronique d'un précurseur du LB qui va engendrer la création d'un clone malin qui va proliférer et qui donnera plus tard naissance au myélome multiple. → Dans le myélome, il y a un micro-environnement médullaire particulier avec un fort taux d'interleukine 6 (IL-6) qui va entraîner une croissance des plasmocytes et une résorption osseuse importante. → Le diagnostic du myélome se fait en comptant les plasmocytes dans la moelle osseuse. Ce taux est de 10% (ou plus). <i>Donc si on a plus de 10% de plasmocytes totaux dans la moelle osseuse on fait un diagnostic de myélome.</i> Il existe 2 types d'anomalie de plasmocytes : - <u>Anomalies cytoplasmiques</u> : anomalies de libération des Ig, cytoplasme avec inclusions. - <u>Anomalies nucléaires</u>: plasmocytes bi/tri-nucléés, cellules avec un haut potentiel de prolifération

LYMPHOCYTES NK
DEFINITION
→ Libèrent des granulations cytotoxiques qui vont permettre d'aller tuer certaines c. lors de la réaction immunitaire → Cytotoxicité sans immunisation préalable et production de certaines cytokines. → La différenciation des cellules NK n'est pas connue. Néanmoins, elles contiennent des granulations cytotoxiques qui auront un rôle dans la cytotoxicité directe
PATHOLOGIES
2 grand types : → Pathologie infectieuse transitoire (cause n°1) en particulier chez l'enfant → Hyperlymphocytose chronique : • Hémopathies malignes -rare chez l'enfant : présente surtout chez le sujet adulte • Augmentation du chiffre de lymphocytes. • Une des anomalies les plus fréquentes au niveau des GB et est souvent bénigne. • Chez l'adulte, elle est caractérisée par un taux supérieur à 4G/L. • Reflet d'une pathologie infectieuse notamment chez l'enfant où toutes les infections virales entraînent une hyperlymphocytose: elles sont donc transitoire. • Elle devient problématique lorsqu'elle devient chronique (elle n'existe quasiment pas chez l'enfant et très rare avant 30 ans). • L'hyperlymphocytose la plus fréquente chez l'adulte est la leucémie lymphoïde chronique LLC-B (>50 ans et pic à 65 ans). • Elle est due à la prolifération de LB et le diagnostic se fait par phénotypage. Ce phénotypage des LB se fait avec un score appelé score de MATUTES qui est la quantification de différents marqueurs B