

## Le tissu sanguin

### I. Introduction

#### 1. Définition

Le sang est un «tissu mésenchymateux (= tissu conjonctif) spécialisé». Il est contenu dans les vaisseaux sanguins et son volume est de 5L.

Le sang comprend le **plasma** (55%) et les **éléments figurés** (45%).

Le plasma est constitué de protéines (albumine, globulines), d'enzymes, de lipides, de glucides, d'ions et de sels minéraux, de vitamines, de gaz dissous et d'eau.

Les éléments figurés du sang regroupent 4 types de cellules :

- Les **globules rouges** (ou hématies)
- Les **globules blancs** (ou leucocytes)
- Les **plaquettes** (ou thrombocytes)
- Les **réticulocytes**

Remarque : le sang est différent de la lymphe qui est contenue dans les vaisseaux lymphatiques.

#### 2. Origine et devenir des cellules sanguines

Toutes les cellules sanguines sont issues de la **moelle hématopoïétique**, elles sont issues de cellules souches multipotentes.

Les cellules sanguines rejoignent ensuite le compartiment sanguin.

Certaines d'entre elles gagnent différents organes où elles exercent leurs différentes fonctions :

→ Les lymphocytes T immatures gagnent le thymus pour leur maturation, ils rejoindront ensuite les organes lymphoïdes secondaires (rate, ganglions) pour y exercer leurs fonctions ; les lymphocytes B gagnent directement les organes lymphoïdes secondaires (cf paragraphe sur les lymphocytes). On retrouve également des lymphocytes au niveau des tissus conjonctifs

→ Les granulocytes et les monocytes sont retrouvés au niveau des tissus conjonctifs.

Remarque :

La présence en dehors du compartiment sanguin d'hématies (hémorragies, purpura) ou de granulocytes (infection bactérienne ou parasitaire) est PATHOLOGIQUE.

Un infiltrat minime à modéré de cellules mononuclées (lymphocytes ± macrophages issus des monocytes et plasmocytes issus des lymphocytes B) est banal dans les muqueuses.

#### 3. Méthodes d'études

On réalise une prise de sang sur un anti-coagulant (EDTA en général).

On effectue une NFS (= Numération Formule Sanguine) sur un automate en routine qui permet d'obtenir :

- la numération des cellules /mm<sup>3</sup> ou /L
- la formule = % relatif et valeur absolue des différents globules blancs

On effectue une coloration au bleu de Crésyl permettant l'étude spécifique des réticulocytes et un frottis coloré au MGG (*MAY GRÜNEWALD GIEMSA*) qui permet de visualiser l'aspect des cellules sanguines (autres que les réticulocytes) sur une lame au microscope optique.

On peut également faire l'étude des sous-populations lymphocytaires T grâce à la cytométrie de flux (indiquée notamment chez les patients VIH+).

**Remarques** : Sans anti-coagulant, la coagulation du sang dans le tube est irréversible. On observe alors le sérum (contenant les mêmes éléments que plasma hormis la fibrine et les facteurs de coagulation) que surnage le caillot où sont emprisonnés les éléments figurés du sang. En routine seule la NFS est réalisée ; l'étude des réticulocytes, le frottis au MGG et l'étude des sous-populations lymphocytaires doivent être précisés sur l'ordonnance pour être réalisés.

### NFS normale

#### Hématies :

$$\text{♂} = 5 \pm 0,7 \cdot 10^9/\text{mL}$$

$$\text{♀} = 4,5 \pm 0,7 \cdot 10^9/\text{mL}$$

#### Hémoglobine (Hb) :

$$\text{♂} = 13-17 \text{ g/dL}$$

$$\text{♀} = 12-16 \text{ g/dL}$$

#### Hématocrite (Ht):

$$\text{♂} = 45 \pm 5 \%$$

$$\text{♀} = 40 \pm 5 \%$$

L'hématocrite est définie comme étant le volume occupé par les érythrocytes c'est-à-dire le volume globulaire, exprimé par rapport au volume sanguin total.

Volume globulaire moyen (VGM) = Hématocrite / Nombre de globules rouges :

$$85 \text{ à } 95 \mu\text{m}^3$$

#### Leucocytes :

$$4-10 \cdot 10^3/\text{mL}$$

#### Plaquettes :

$$150-450 \cdot 10^3/\text{mL}$$

#### Réticulocytes :

$$< 1\% \text{ des hématies}$$

#### Granulocytes :

- *neutrophiles* :  $2-6 \cdot 10^3/\text{mL}$

- *éosinophiles*:  $0,05-0,25 \cdot 10^3/\text{mL}$

- *basophiles*:  $0-0,2 \cdot 10^3/\text{mL}$

#### Lymphocytes:

$$1-4 \cdot 10^3/\text{mL}$$

- CD3-CD4:  $0,5-1,5 \cdot 10^3/\text{mL}$

- CD3-CD8:  $0,15-1 \cdot 10^3/\text{mL}$

- CD4-CD8:  $1-4/\text{mL}$

#### Monocytes:

$$0,08-0,8 \cdot 10^3/\text{mL}$$

**Remarque** : la NFS est à connaître sur le bout des doigts, apprenez bien les valeurs données par la prof car elles peuvent varier d'un bouquin à l'autre...

Il est également important de savoir passer d'une unité à l'autre !

$$\text{Ex : } 4-10 \text{ G/L} = 4-10 \cdot 10^6/\text{L} = 4-10 \cdot 10^3/\text{mL}$$

## NFS pathologique (à titre indicatif, n'est pas exigible pour le concours P1)

### Hémoglobine

Augmentée = **polyglobulie**

- primitive (maladie de Vaquez)
- secondaire (EPO)

Diminuée = **anémie**

*VGM* → normal = anémie normocytaire

→ diminué = anémie microcytaire (carence en fer)

→ augmenté = anémie macrocytaire (carence en vitamine B12)

*Réticulocytes*

→ normaux ou bas = anémie arégénératives (origine centrale)

→ augmentés = anémie régénérative (origine périphérique : saignement aigu, hémolyse)

### Leucocytes

Augmentés = **hyperleucocytose**

→ augmentation des granulocytes :

- neutrophiles = hyperleucocytose à neutrophiles (polynucléose)
- éosinophiles = hyperéosinophilie

→ augmentation des lymphocytes = hyperlymphocytose

→ augmentation des monocytes = monocytose

Diminués = **leucopénie**

→ diminution des granulocytes neutrophiles = neutropénie

→ diminution des lymphocytes = lymphopénie

### Plaquettes

Augmentées = thrombocytose

Diminuées = thrombopénie

### Frottis

#### ► Globules rouges

- en rouleau (inflammation)
- anomalies de taille (macrocytose ± hypochromie ; microcytose)
- anomalies de forme (hématies falciformes dans la drépanocytose, schizocytes chez les patients porteurs de valve cardiaque...)

#### ► Globules blancs

- présence anormale de formes jeunes (blastes) normalement présents uniquement dans la moelle, dans des infections sévères, leucémies aiguës...

#### ► Plaquettes

- agrégats → fausse thrombopénie

**Remarque** : cette partie pourra être intéressante à relire avant les cours d'hématologie du second semestre de P2 ☺

## II. Globules rouges et réticulocytes

### 1. Introduction

- Les globules rouges sont également appelés **érythrocytes** ou **hématies**.
- Ils ont pour origine la **moelle hématopoïétique**. Ils dérivent d'une cellule souche multipotente qui donne une cellule souche myéloïde (CFU-GEMM) puis la lignée érythroblastique en présence d'érythropoïétine (EPO).
- Les réticulocytes sont les formes jeunes des globules rouges.
- Durée de vie = 120 jours.
- Leur destruction physiologique a lieu dans la moelle hématopoïétique, la rate et le foie.
- L'extravasation des globules rouges hors du compartiment vasculaire est pathologique.

**Remarque** : 2 millions de globules rouges/seconde arrivent dans le sang. Le même nombre est détruit par les cellules de Küpffer (macrophages du foie) et les macrophages de la rate et de la moelle hématopoïétique.

### 2. Propriétés et fonctions

Les globules rouges sont :

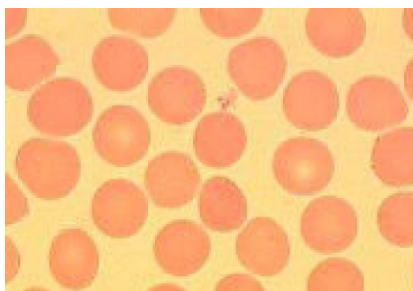
- naturellement **rouges** à cause de l'hémoglobine qu'ils contiennent et donnent ainsi au sang sa couleur
- **déformables** permettant la circulation des globules rouges même dans les capillaires de petit calibre (< à celui d'un globule rouge)

Leur fonction est de transporter les gaz dans le compartiment sanguin entre les alvéoles pulmonaires et les organes.

L'hémoglobine transportant l'O<sub>2</sub> est appelée **oxyhémoglobine**.

L'hémoglobine transportant le CO<sub>2</sub> est appelée **carbaminohémoglobine**.

### 3. Microscopie optique



Les GR sont des cellules **anuclées** (sans noyau).

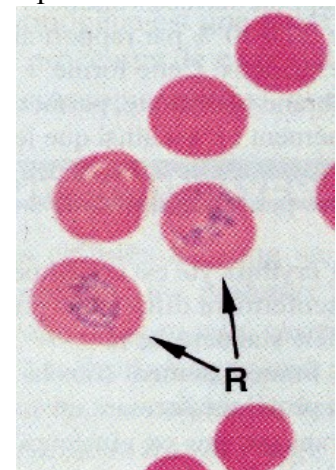
Sur une coloration au MGG, ils apparaissent rose-orangé, on dit que ce sont des cellules **acidophiles**.

Cette coloration est plus intense en périphérie.

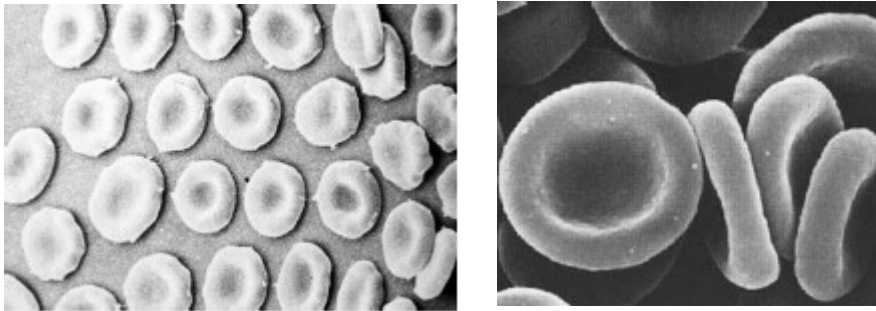
Les réticulocytes ne sont pas visibles au MGG.

Il faut donc les visualiser avec une coloration spéciale : le bleu de Crésyl.

On observe des débris nucléaires.



#### 4. Microscopie électronique à balayage

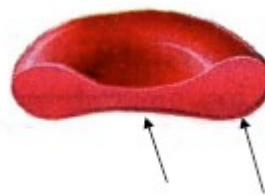


Les globules rouges apparaissent sous la forme d'un disque biconcave. C'est cette forme particulière qui explique que la coloration en périphérie soit plus intense que la coloration centrale (épaisseur plus importante en périphérie).

Dimensions:

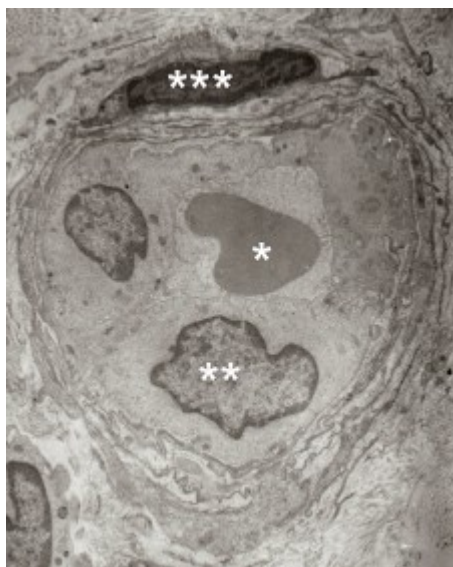


diamètre = 7,5  $\mu\text{m}$



épaisseur : de 0,8 à 2,6  $\mu\text{m}$

#### 5. Microscopie électronique standard



Les globules rouges sont des «cellules mortes» c'est-à-dire qu'elles ne contiennent pas de noyau et aucun organite cytoplasmique.

Les réticulocytes sont des globules rouges jeunes (24h). Ils possèdent quelques ribosomes et mitochondries, ainsi que des débris nucléaires.

*légende:*

- \* GR déformé dans un capillaires
- \*\* cellules endothéliales bordant la lumière d'un capillaire
- \*\*\* péricyte

#### 6. Histologie moléculaire

##### a) L'hémoglobine :

**Le cytoplasme des globules rouges contient les hémoglobines responsables de leur fonction de transport de l'O<sub>2</sub> et du CO<sub>2</sub>.**

Chez l'adulte on trouve l'HbA1 et l'HbA2.

Il existe également une hémoglobine fœtale notée HbF.

L'hémoglobine représente 1/3 de la masse du globule rouge.

L'hémoglobine se compose de :

- **l'hème** = protoporphyrine naturellement rouge qui confère sa couleur au GR + un atome de fer ferreux  $Fe^{2+}$  qui fixe la molécule d' $O_2$  et rend la coloration de Perls positive.
- La **globine** : chez l'adulte elle est constituée de 4 chaînes polypeptidiques  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  ou  $\epsilon$ , identiques 2 à 2 ; elle permet la fixation de 25% du  $CO_2$ .

Le GR contient également d'autres constituants comme  $H_2O$ , ions ( $K^+$ ), glucose, enzymes (méthémoglobine réductases), etc...

1 molécule d'hémoglobine = 4 molécules d'hème + 4 chaînes de globine

1 molécule d'hème = 1 molécule de protoporphyrine IX contenant 4 noyaux pyrrol + 1 atome de fer ferreux  $Fe^{2+}$  capable de fixer une molécule d' $O_2$

→ une molécule d'hémoglobine fixe donc 4 molécules d' $O_2$  !!!!!

On distingue différents types d'hémoglobines en fonction de leurs différentes chaînes:

Chez l'adulte

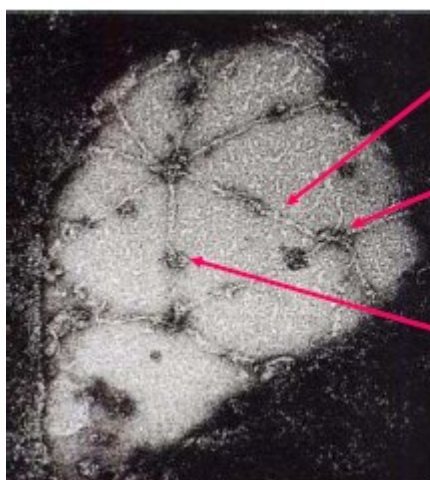
- HbA1 (97%) = chaînes  $2\alpha + 2\beta$
- HbA2 (2 à 3%) = chaînes  $2\alpha + 2\delta$
- HbF (<1%) = chaînes  $2\alpha + 2\gamma$

Attention à ne pas confondre :

- **oxyhémoglobine** = Hb +  $O_2$
- **carbaminohémoglobine** = Hb +  $CO_2$
- **méthémoglobinémie** = Hb oxydée (normale < 1% Hb totale) contenant un atome de fer ferrique  $Fe^{3+}$
- **carboxyhémoglobine** = Hb + CO (toujours pathologique : intoxication tabagique, fumée d'incendie).

### b): le cytosquelette

**Le maintien de la forme des GR et leur déformabilité sont assurés par le cytosquelette sous-membranaire de spectrine et d'actine amarré à la membrane par 2 protéines de liaison : l'ankyrine et la protéine de bande 4.1.**

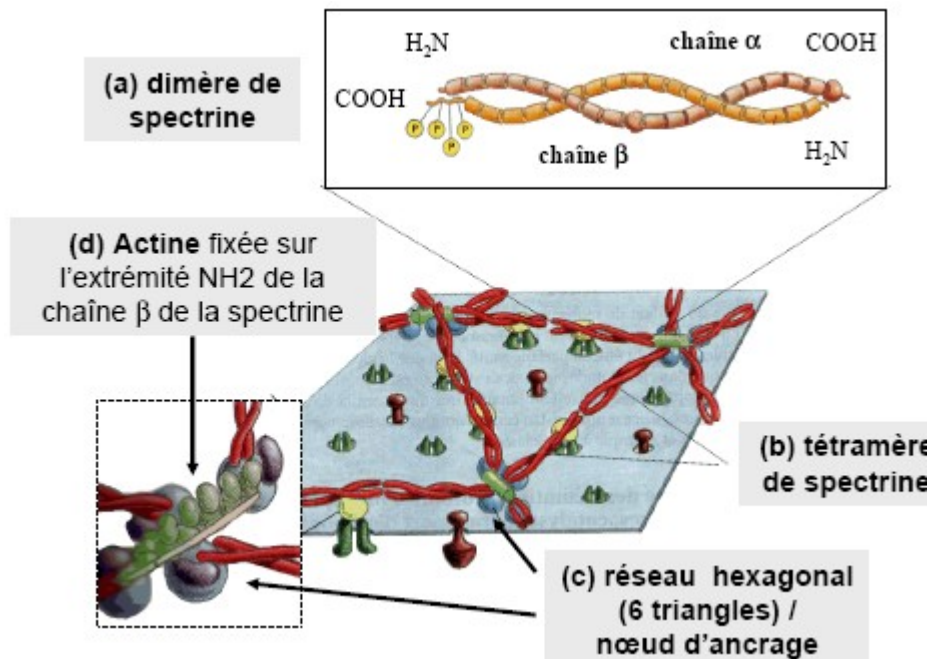


tétramère de spectrine

nœud d'ancrage,  
contenant 1 courte  
molécule d'actine et la  
protéine de la bande 4.1

ankyrine

ME à transmission sur fantômes  
de membrane de GR

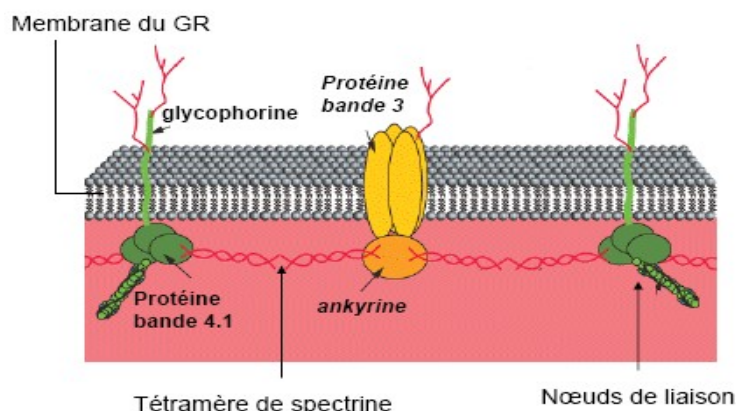


Le cytosquelette de l'érythrocyte se présente sous la forme d'un **réseau** dessinant une sorte de grillage qui se moule sur la face cytosolique de la membrane plasmique. Ce réseau est formé de molécules de **spectrine** et d'**actine**.

La spectrine est constituée de 2 chaînes polypeptidiques  $\alpha$  et  $\beta$  qui s'enroulent l'une autour de l'autre pour former un dimère. Ces dimères s'associent pour former des **tétramères**, formes physiologiques de la spectrine in vivo. Les dimères et les tétramères de spectrine possèdent un haut degré de flexibilité.

Le cytosquelette s'amarre solidement à la membrane plasmique par l'intermédiaire de l'**actine** et de l'**ankyrine**.

L'actine se présente sous la forme de très courts filaments réalisant une double chaîne hélicoïdale. L'actine se fixe d'une part sur les chaînes  $\beta$  de la spectrine via son extrémité NH<sub>2</sub> et d'autre part sur une protéine intra-membranaire du feuillet interne de la membrane plasmique appelée la **protéine bande 4.1**.



L'ankyrine se fixe d'une part sur les chaînes  $\beta$  de la spectrine et d'autre part sur le segment interne d'une protéine intrinsèque de la membrane plasmique : la **protéine bande 3**.

La protéine bande 3, outre son rôle dans la fixation du réseau de spectrine est une protéine échangeuse d'anions Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

La membrane plasmique comporte un deuxième type de protéine intrinsèque : les **glycophorines**. Leur segment externe comporte des récepteurs vis à vis des antigènes des groupes sanguins. On distingue les glycophorines A, B et C.

**Remarque** : les dessins sont très utiles pour mémoriser le contenu de ce paragraphe. N'hésitez pas à les refaire au brouillon !

**c): groupe sanguin ABO** (non exigible au concours P1)

Groupes	O	A	B	AB
Ag portés par les GR	aucun	A	B	AB
Agglutinines «naturelles»	Anti-A Anti-B	anti-B	anti-A	aucune
	Donneur universel			Receveur universel

Dans ce système existe 4 groupes sanguins respectivement A, B, AB et O.

La distinction entre les groupes est fondée sur la présence ou l'absence à la surface des érythrocytes d'antigènes A et B appelés aussi agglutinogènes.

On distingue ainsi le groupe A dont les érythrocytes portent l'antigène A, le groupe B dont les érythrocytes portent l'antigène B, le groupe AB dont les érythrocytes portent les antigènes A et B et le groupe O dont les érythrocytes ne portent aucun antigène.

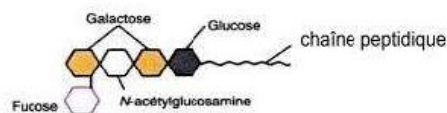
Le sérum d'un individu d'un groupe déterminé comporte des anticorps appelés agglutinines qui ne sont jamais dirigées contre leurs propres antigènes.

Ainsi le sérum d'un individu du groupe A comporte l'agglutinine anti-B, le sérum d'un individu du groupe B comporte l'agglutinine anti-A, le sérum d'un individu du groupe O comporte les agglutinines anti-A et anti-B et le sérum d'un individu AB ne comporte aucune agglutinine.

Les transfusions sanguines, pour être efficaces, doivent se faire strictement iso-groupes

sérum anti-B	sérum anti-A	sérum anti-AB	hématies de groupe	
			A	 Agglutination des GR
			O	
			B	 Absence d'agglutination des GR
			AB	

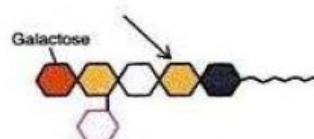
**Remarque** : petite pub pour le don du sang, même en P1 vous pouvez prendre 1h pour aller donner votre sang, rappelez vous que ça peut sauver des vies ^^



Antigène O



Antigène A



Antigène B

**d): groupe sanguin Rhésus** (non exigible au concours P1)

Des lapins sont immunisés avec les érythrocytes d'un singe : le macacus Rhésus.

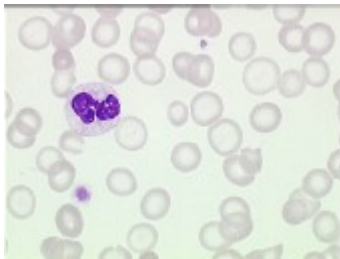
Le sérum de ces lapins contient des anticorps anti-érythrocytes de macaque.

Ce sérum est capable d'agglutiner les érythrocytes de 85% des humains qui sont dits Rhésus positifs (Rh+) c'est-à-dire possédant l'antigène rhésus.

Les 15% restant, où le phénomène d'agglutination ne se produit pas, sont dit Rhésus négatifs (Rh-).

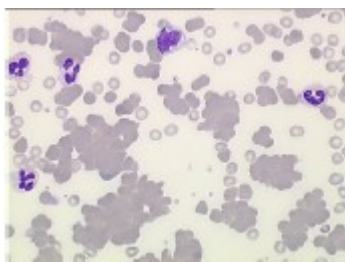
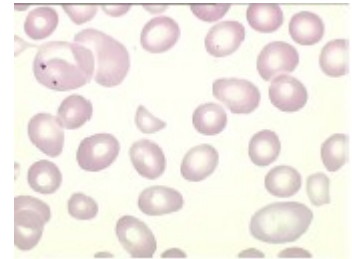
Ce système intervient dans les incompatibilités Rhésus foeto-maternelles où une femme Rh- porte un enfant Rh+ ; à la première grossesse, il ne se passe rien, mais lors de la deuxième grossesse le nourrisson présente un ictère hémolytique ; il s'agit en fait d'une réaction de rejet.

**7. Pathologie** (non exigible au concours P1)



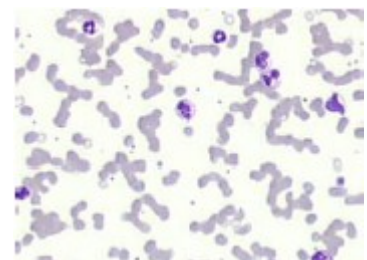
← Diminution de la coloration = anémie hypochrome (carence en fer, défaut de synthèse de l'hème)

Augmentation de la taille = anémie macrocytaire (carence en vitamine B12 ou en folates) →

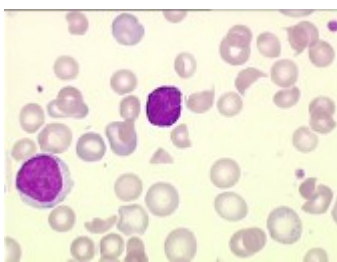


← Hématies agglutinées (agglutinines froides)

Hématies en rouleaux (syndrome inflammatoire, myélome) →



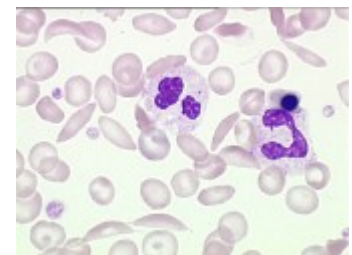
**Anémies hémolytiques**



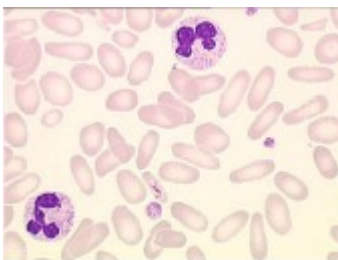
Schizocytes (hémolyse sur obstacle mécanique : valves cardiaques)

←

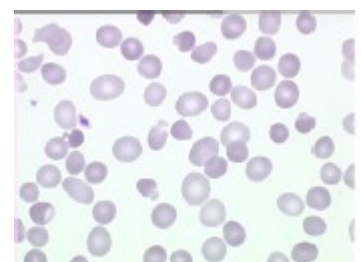
Hématies falciformes (drépanocytose = mutation sur la chaîne  $\beta$  de la globine) →



← Elliptocytose (mutation le plus souvent sur un gène de la spectrine)



Sphérocytose (mutation sur le gène de l'ankyrine ou de la protéine bande 3) →



**Remarque** : les caractéristiques des pathologies ne sont pas à savoir. Cependant il a été précisé en cours qu'il pouvait y avoir des questions sur les molécules impliquées dans les processus pathologiques (ex savoir que l'ankyrine peut être anormale)

### III. Les globules blancs

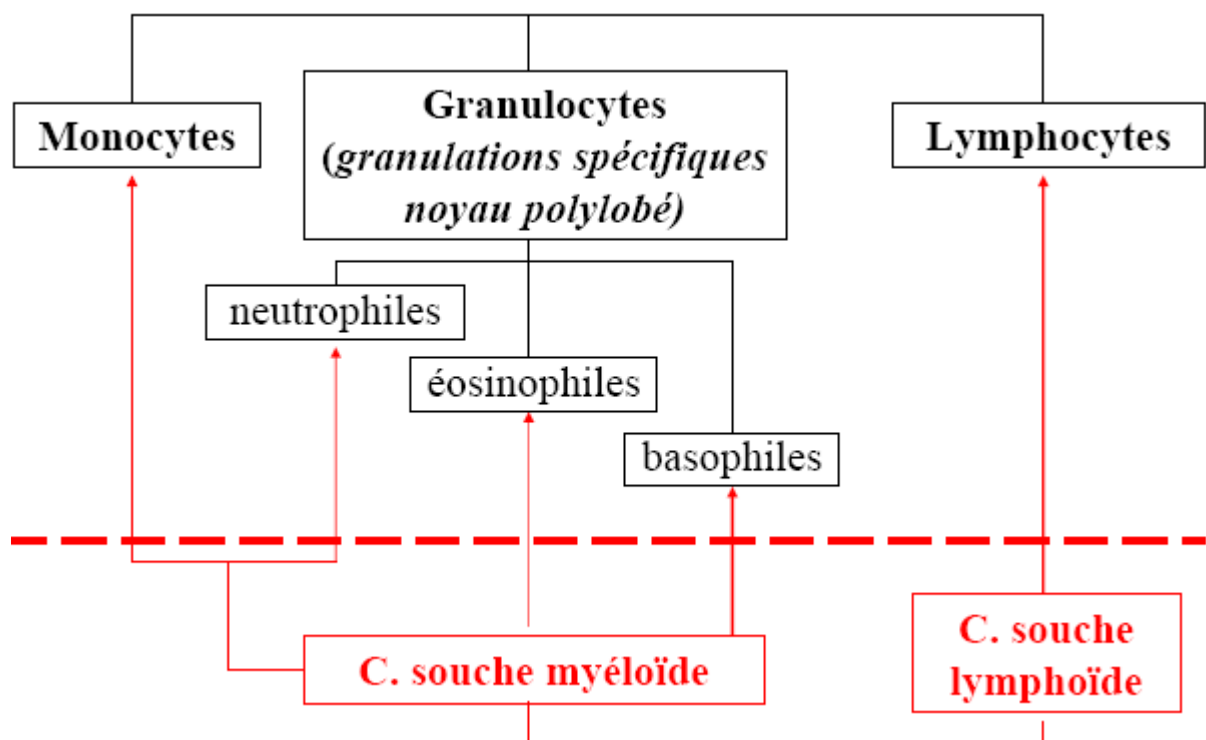
#### 1. Introduction

Les globules blancs sont aussi appelés **leucocytes**.

Ils comprennent les **leucocytes granuleux** (appelés également granulocytes ou polynucléaires) et les **leucocytes hyalins**.

Les leucocytes hyalins sont divisés en 2 groupes : les **lymphocytes** (B, T et cellules NK) et les **monocytes**.

- Toutes ces cellules ont pour origine la **moelle hématopoïétique**. Les leucocytes sont issus d'une cellule souche multipotente qui donne naissance à une cellule souche lymphoïde (CFU-L) pour tous les lymphocytes et une cellule souche myéloïde (CFU-GEMM) pour tous les granulocytes et les monocytes (NB: c'est la même cellule souche que pour les GR et les plaquettes).
- Tous les globules blancs expriment le CD 45 (= antigène leucocytaire commun).



#### 2. Fonctions

Ils participent aux réactions immunitaires innées et acquises des phénomènes inflammatoires que l'organisme a normalement développé pour se défendre contre les agents pathogènes (bactéries, virus, parasites...).

On distingue 2 types d'immunité :

► **Immunité innée** : réactions indépendantes des antigènes, elle est immédiate (quelques minutes). Elle est identique à chaque contact avec l'agent pathogène.

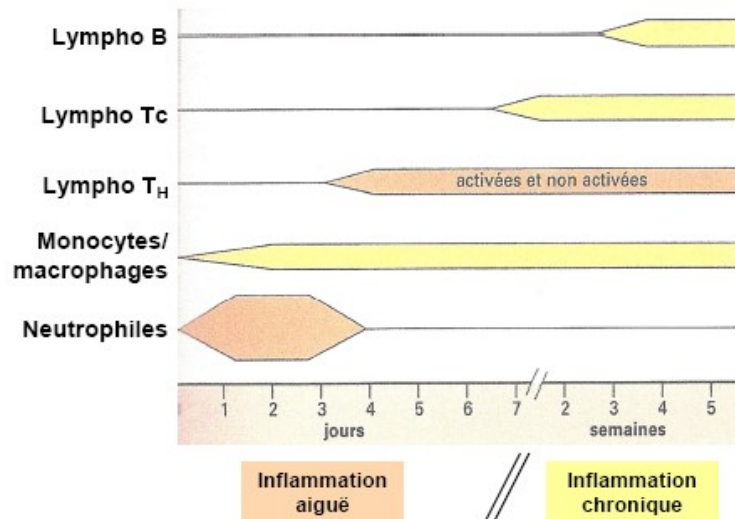
► **Immunité acquise ou adaptative** : réactions spécifiques d'un antigène, retardées lors du premier contact antigénique, plus rapides et efficaces lors des contacts ultérieurs (mémoire immunologique → lymphocytes mémoires).

Les leucocytes interviennent dans les réactions immunes pathologiques :

- **réactions d'hypersensibilité** = réactions excessives de l'organisme, vis à vis d'un antigène exogène inoffensif
- **réactions auto-immunes** = réactions anormales de l'organisme, vis à vis d'un antigène du soi (auto-Ag)

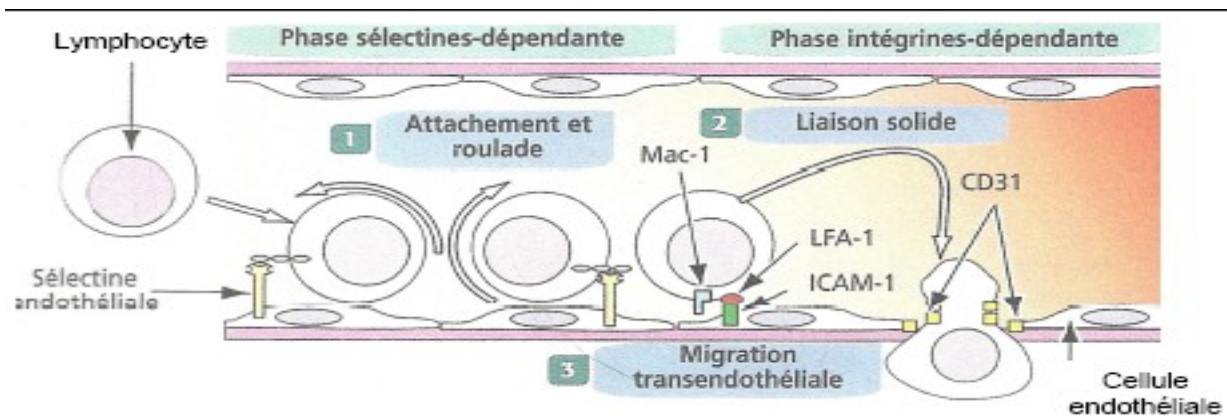
Ils sont recrutés, par vagues successives, grâce à différentes molécules d'adhérence et des chimiokines.

Les neutrophiles sont les cellules qui sont recrutées le plus rapidement (après quelques minutes) et restent quelques jours au niveau du foyer inflammatoire (disparition rapide). Les cellules mononucléées (macrophages et monocytes) sont recrutées rapidement et persistent. Les lymphocytes sont recrutés plus tardivement.



Les leucocytes **quittent le compartiment sanguin** en suivant toujours un processus en 3 étapes :

- 1- **attachement et roulade** sur les cellules endothéliales bordant les capillaires par l'intermédiaire de **liaisons faibles** sous la dépendance des **sélectines**
- 2- **liaisons fortes** entre les **intégrines** portées par les globules blancs et les molécules d'adhérence (**famille CAM**) exprimées par les cellules endothéliales
- 3 – **diapédèse** proprement dite, entre 2 cellules de l'endothélium (sans destruction des cellules)



**Remarque** : il faut retenir que pour l'étape 2, le leucocyte exprime l'**intégrine LFA-1** qui reconnaît une molécule d'adhérence (**ICAM-1**) exprimée par les cellules endothéliales permettant une liaison forte et donc l'immobilisation du leucocyte avant sa **migration transendothéliale**.

### 3. Les granulocytes

Les granulocytes comprennent les neutrophiles, les éosinophiles et les basophiles. Ces cellules ont des propriétés tinctoriales différentes.

**Remarque** : le terme «polynucléaires» pour désigner les granulocytes est un terme impropre car ces cellules possèdent un noyau unique mais polylobé.

### a): Caractéristiques communes

#### *Noyau*

- polylobé : les lobes sont reliés entre eux par de fins ponts de chromatine
- la chromatine des lobes est dense, bien colorée au MGG

*Cytoplasme* : présence de granulations de 2 types

- **granulations primaires** : non spécifiques retrouvées dans les 3 types de granulocytes, riches en hydrolases et en peroxydases ; elles diminuent au fur et à mesure de la maturation des cellules
- **granulations secondaires** : spécifiques, ayant des propriétés tinctoriales différentes dans les différents types de granulocytes

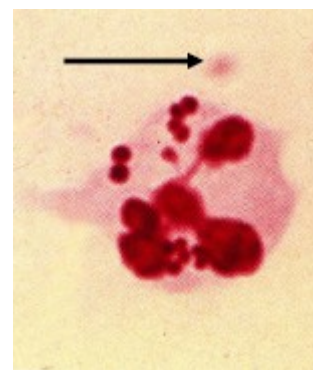
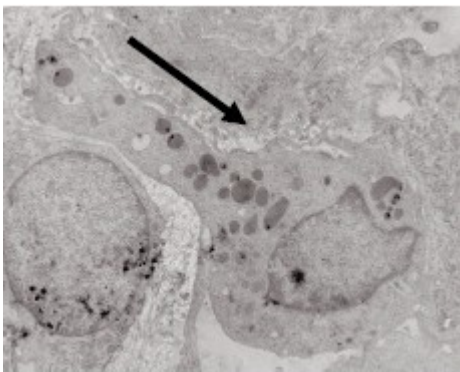
### b): Fonctions

La fonction principale des granulocytes est la défense de l'organisme contre les agents pathogènes :

- bactéries mais aussi de nombreux virus pour les **neutrophiles**
- vers parasites (helminthes) pour les **éosinophiles**
- parasites pour les **basophiles**

Cette défense s'organise via des mécanismes de l'immunité innée pour les neutrophiles et les éosinophiles : la **phagocytose** et la **dégranulation** ; via des **anticorps de classe IgE** (réactions de l'immunité adaptative) pour les basophiles.

Après leur margination et diapédèse, les neutrophiles ou les éosinophiles vont se déplacer jusqu'au foyer infectieux par des mouvements amoïdes.



Au niveau du foyer infectieux, ils vont exercer leur fonction :

- en **phagocytant** l'agent pathogène (opsonisé ou non) et en le détruisant dans les phagolysosomes
- et/ou en **dégranulant** : les substances libérées détruisant l'agent pathogène en dehors de la cellule ou amplifiant la réaction inflammatoire

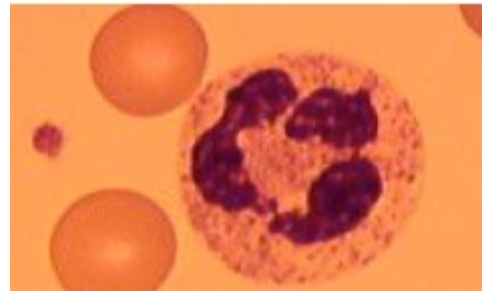
### c): les granulocytes neutrophiles

Ils sont également appelés polynucléaires neutrophiles (PNN).

- **origine** : la **moelle hématopoïétique**. Ils dérivent d'une cellule souche multipotente puis d'un progéniteur primitif de toutes les cellules myéloïdes CFU-GEMM puis un progéniteur déterminé commun des lignées granulo-monocytaires **CFU-GM** en **présence d'IL-4** puis **CFU-G** en présence de **GM-CSF** et de **G-CSF**.  
90% des neutrophiles sont en réserve dans la moelle hématopoïétique
- **sang** : 10% de tous les neutrophiles sont dans la circulation sanguine, leur **demi-vie** est de 6 à 8 heures
- **tissus normaux chez le sujet sain** : quelques neutrophiles vivent 1 à 3 jours et sont éliminés à travers la paroi du tractus digestif
- **foyers infectieux** : ce sont les premières cellules mobilisées, elles participent au phénomène d'**inflammation aiguë** puis finalement meurent en formant le **pus (pyocytes)**.

### α): Microscopie optique

- **taille** : 12 à 14 µm
- **noyau polylobé** : 2 à 5 lobes à hétérochromatine dense, le nombre de lobes augmente avec le vieillissement de la cellule, avec parfois le corpuscule de Barr (qui correspond à la chromatine sexuelle X) chez la femme
- **cytoplasme éosinophile** avec **granulations azurophiles** (pourpres, non spécifiques, MPO+) et **neutrophiles** (**spécifiques**) qui sont à la limite de la visibilité



### β): Microscopie électronique

On observe :

- **granulations primaires** non spécifiques (= lysosomes), 0,5 µm de diamètre, denses aux électrons, myéloperoxydases (MPO) +++
- **granulations secondaires** spécifiques, allongées en haltère, 0,2 à 0,8 µm de diamètre, ou arrondies, MPO -
- **granulations tertiaires** dites à gélatinases

### γ): Histologie moléculaire

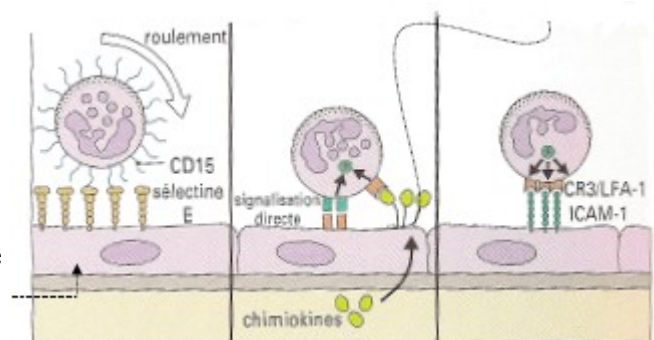
*Les molécules impliquées dans la margination :*

1- Activation des cellules endothéliales par des cytokines (TNFα et IL1) libérées par les macrophages. Cette activation entraîne l'expression de la **sélectine E** par les cellules endothéliales.

2.- Adhérence et roulement = interaction entre **sélectine E** et **CD15**

3 – Activation des neutrophiles après fixation de la chimiokine CXCL8 (ou **IL8**) sur ses récepteurs CXCR1 et CXCR2

4 – Adhérence = interaction entre l'**intégrine LFA-1** exprimée par les neutrophiles et **ICAM-1** exprimée par les cellules endothéliales sous l'effet des cytokines inflammatoires

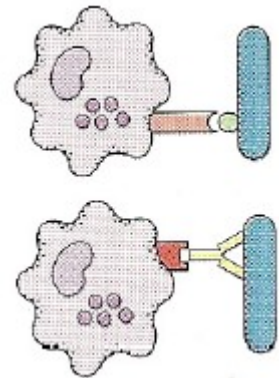


**Remarque** : les molécules à retenir sont en gras !!!!!

## Les molécules de la phagocytose

Les récepteurs aux opsonines (molécules qui recouvrent l'antigène facilitant la phagocytose des pathogènes):

- Récepteurs **CR1, CR3 et CR4** reconnaissant respectivement les fractions du complément C3b, C3bi et C4b fixés sur les bactéries
- Récepteurs au fragment Fc des IgG de faible affinité (**Fcγ-RIII = CD16b**) reconnaissant les **IgG** fixées sur les bactéries



NB: le système du complément est un ensemble de protéines contenues dans le sérum qui participent à l'élimination des agents pathogènes.

Les récepteurs TLR (Toll-like receptor) aux PAMP (molécules exprimées spécifiquement par les agents pathogènes):

- Récepteur **TLR4 au LPS** (lipopolysaccharide) caractéristique des bactéries à GRAM - → permet une **reconnaissance directe** de la bactérie (pas d'opsonisation nécessaire) ex du choc septique qui entraîne une mise en jeu rapide des neutrophiles.

## Les molécules contenues dans les granulations

Granulations primaires (= lysosomes)	Granulations secondaires (spécifiques)
<b>Hydrolases acides</b>	<b>Phosphatase alcaline (pas de MPO)</b>
<b>Myéloperoxydase (MPO)</b>	<b>Lactoferrine</b>
<b>Lysosyme</b>	<b>Lysosyme</b>
<b>Défensines α</b>	Protéine liant la vitamine B12
Séprocidines	Collagénase
La protéine BPI	Elastase
	Protéases

Les granulations primaires fusionnent avec les phagosomes pour former les phagolysosomes dans lesquels les agents pathogènes ingérés sont détruits par les molécules microbicides.

La fixation des complexes immuns sur les récepteurs Fcγ des neutrophiles entraîne la libération extra-cellulaire des granulations secondaires et des substances toxiques qu'elles contiennent.

Les collagénase, élastase et protéases permettent la destruction de la MEC et ainsi la formation d'une cavité favorisant l'abcédation.

## Autres molécules

D'autres molécules que la chimiokine IL8 exercent une activité chimiotactique sur les neutrophiles (et les macrophages) par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques : le **C5a** et la **leucotriène LTB4**. Les neutrophiles se déplacent contre le gradient de molécules chimiotactiques. Ce déplacement fait intervenir des molécules d'**actine** et de **myosine**.

Les neutrophiles **n'expriment pas les molécules spécifiques du CMH de classe II**, ce ne sont pas des cellules présentatrices d'antigène aux lymphocytes T<sub>H</sub>.

**Remarque** : les molécules en gras sont à retenir pour le concours !!!!

### δ): Pathologie (non exigible au concours P1)

En cas d'infections bactériennes, l'organisme répond à une **hyperleucocytose sanguine à neutrophiles (polynucléose)**.

Au contraire, les patients présentant une **neutropénie** (d'origine médicamenteuse par exemple) ont un risque majeur de développer une infection sévère.

Les anomalies d'origine génétique portant sur les molécules normalement présentes dans les grains de sécrétion (**déficit en MPO** par exemple) aboutissent aussi à des infections plus ou moins sévères à répétition.

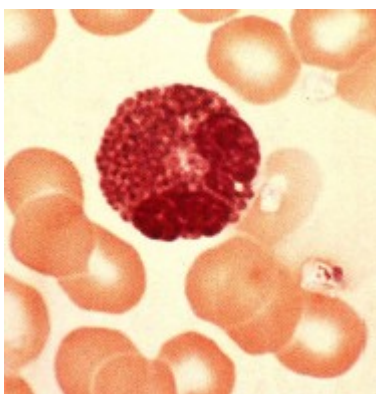
La présence d'une hyperleucocytose sanguine à neutrophiles associée au passage dans le sang de formes plus jeunes, normalement présentes uniquement dans la moelle hématopoïétique, est caractéristique d'une **leucémie** : **LAM** (leucémie aiguë myéloïde) s'il s'agit uniquement de cellules très immatures ; **LMC** (leucémie myéloïde chronique) si toutes les cellules de la lignée myéloïde sont présentes.

### d): Les granulocytes éosinophiles

Ils sont également appelés les polynucléaires éosinophiles (PNE).

- **origine** : **moelle hématopoïétique** ; ils dérivent d'une cellule souche multipotente puis d'un progéniteur primitif de toutes les cellules myéloïdes CFU-GEMM, puis **CFU-Eo en présence d'IL5**.
- **Sang** : demi-vie de 4 à 5 heures
- **Tissus** (peau, poumon, tractus digestif) : 100 fois + d'éosinophiles que dans le sang, ils y vivent 8 à 10 jours
- **Fonction** :
  - ▶ phagocytose moindre que les neutrophiles
  - ▶ destruction des organismes trop volumineux pour être phagocytés (helminthes)
  - ▶ résistance aux tumeurs
- Participent en synergie avec d'autres cellules aux **réactions d'hypersensibilité retardée**

### α): Microscopie optique



- taille : 10 à 14  $\mu\text{m}$
- noyau bilobé
- grosses granulations rose orangées **réfringentes**
- granulations **azurophiles**

### β): Microscopie électronique

On distingue :

- les **grosses granulations** (0,5 à 1,5  $\mu\text{m}$  de diamètre) **spécifiques** contenant une substance cristalloïde (**internum**) entourée d'une matrice (**externum**)
- les **petites granulations** (0,1 à 0,3  $\mu\text{m}$  de diamètre)

## γ): Histologie moléculaire

### Molécules de membrane

- **FcγRII et FcεRII** : récepteurs aux fragments Fc des IgG et des IgE
- **CCR3** : récepteur de la chimiokine CCL11 (éotaxine) [comme les lymphocytes Th2 et les basophiles]

### Molécules des grosses granulations spécifiques

- *Cristal* contenant la protéine **MBP** qui est une toxine puissante contre les vers parasites, elle induit la libération d'histamine par les basophiles et les mastocytes, active les neutrophiles et les plaquettes.
- *Matrice* contenant la **peroxydase éosinophile** (≠ MPO), la protéine **ECP** et la neurotoxine **EDN** ; ces molécules sont également des toxines puissantes contre les vers parasites.

Remarque : les molécules en gras sont à retenir pour le concours !!!!

## ε): Pathologie

### Les principales causes d'éosinophilie

- **Parasitoses à vers**

En France : ascaris, oxyures, douve, taenia

En zone endémique : ankylostome, filaire, trichine, bilharziose

- **Affections allergiques**

Asthme, eczéma, allergies médicamenteuses

- **Autres**

Pemphigoïde bulleuse, péartérite noueuse

Hémopathies malignes, lymphomes cutanés

## e): Les granulocytes basophiles

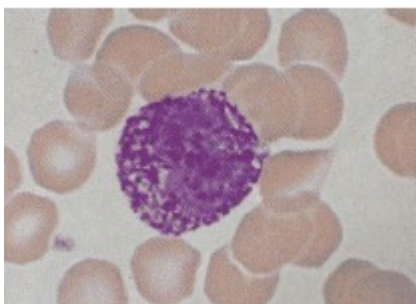
Ils sont également appelés polynucléaires basophiles.

- origine : **moelle hématopoïétique** ; ils dérivent d'une cellule souche multipotente puis d'un progéniteur primitif de toutes les cellules myéloïdes CGU-GEMM, puis **CFU-B** en présence d'**IL4**.

**Les granulocytes basophiles ne sont pas les précurseurs des mastocytes tissulaires !!!!**

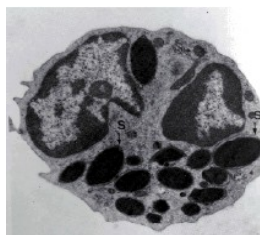
- **sang** : durée de vie de 3 à 4 jours
- **tissus** : absents des tissus normaux, recrutés dans certaines manifestations allergiques
- **fonctions** : défense de l'organisme contre certains parasites, manifestations allergiques via leurs récepteurs aux IgE de haute affinité et leur contenu en histamine

## α): Microscopie optique



- taille : 10 à 14 μm
- noyau peu segmenté, tri ou quadrifolié
- grosses granulations violettes (métachromatiques) masquant le noyau

## β): Microscopie électronique



- grosses granulations, 0,2 à 1  $\mu\text{m}$  de diamètre, denses aux électrons, sans cristal

## γ): Histologie moléculaire

### Molécules de membrane

- **récepteur aux chimiokines CCR3** qui est recruté par la chimiokine CCL11 (éotaxine) en même temps que les éosinophiles et les lymphocytes
- **récepteur de haute affinité pour le fragment Fc des IgE : Fc $\epsilon$ RI**

### Molécules des granulations

- histamine +++
- héparine

## TABLEAU RECAPITULATIF DES GRANULOCYTES

	Neutrophiles	Éosinophiles	Basophiles
<b>Origine</b>	CFU-GM puis CFU-G en présence de GM-CSF et G-CSF	CFU-Eo en présence d'IL5	CFU-B en présence d'IL4
<b>Taille</b>	12 à 14 $\mu\text{m}$	10 à 14 $\mu\text{m}$	10 à 14 $\mu\text{m}$
<b>Segmentation du noyau</b>	3 à 5 lobes	2 lobes	2 à 3 lobes
<b>Granulations cytoplasmiques spécifiques</b>	Petites Bleu clair Allongées en ME	Grosses Roses Cristal en ME	Grosses Violettes en métachromasie Pas de cristal
<b>Granulations cytoplasmiques non spécifiques</b>	Azurophiles en MO Lysosomes en ME		

**Remarque** : Ce tableau récapitulatif est non exhaustif mais c'est une bonne synthèse, il est à connaître sur les bouts des ongles.

## 4. Les monocytes

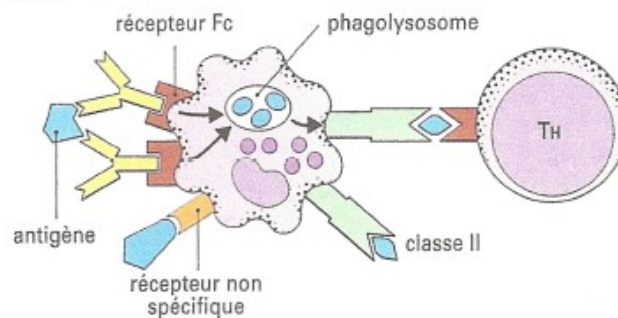
### a): Introduction

- **origine** : moelle hématopoïétique ; ils dérivent d'une cellule souche multipotente, puis d'un précurseur commun avec les granulocytes neutrophiles CFU-GM, puis CFU-M en présence de GM-CSF et M-CSF
- **durée de vie** : environ 24h dans le sang
- passent dans les tissus pour devenir des **macrophages** et des cellules dendritiques présentatrices d'antigène

MACROPHAGES	CELLULES DENDRITIQUES (CPA)
Macrophages du tissu conjonctif	Cellules de Langerhans
Macrophages alvéolaires	Cellules dendritiques du derme
Microglie	Cellules dendritiques des muqueuses
Cellules de Küpffer	Cellules interdigitées des organes lymphoïdes
Ostéoclastes	

### b): Fonctions

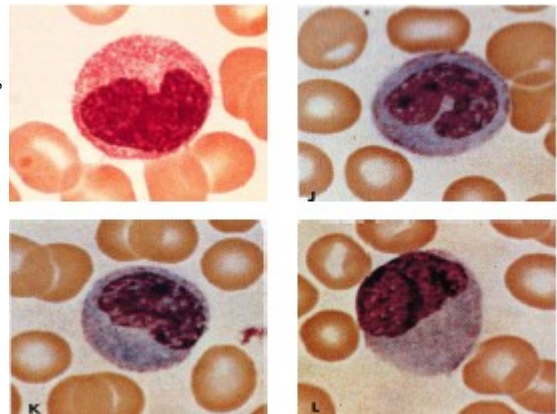
- **Phagocytose** des bactéries, corps étrangers, cellules vieillissantes, débris, etc... Elle s'effectue soit après une opsonisation par des opsonines (IgG, C3, CRP) ou par reconnaissance directe de la substance à ingérer.



- **Présentation des antigènes aux lymphocytes T<sub>H</sub> en présence des molécules de classe II du CMH +++**

### c): Microscopie optique

- taille : 15 à 20 µm
- noyau central, ± encoché (réniforme, en fer à cheval, en W ou en E), à chromatine fine dite «peignée»
- faible rapport nucléo-cytoplasmique
- granulations azurophiles, MPO +
- aspect du cytoplasme en «ciel d'orange» (légèrement basophile)

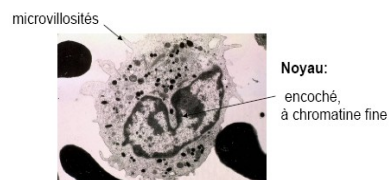


### d): Microscopie électronique

La **membrane plasmique** comporte des microvillosités.

Le **noyau** est encoché à chromatine fine.

Le **cytoplasme** comporte des organites bien développés dans l'encoche du noyau et des granulations denses aux électrons, MPO + (lysosomes) qui correspondent aux granulations azurophiles en MO.



## e): Histologie moléculaire

### Molécules de membrane

- CD 33 et CD 13 sont spécifiques de la lignée myélomonocytaire
- molécules d'adhérence : **intégrines LFA-1 (chaîne  $\alpha$  = CD 11a)** et Mac-1 (chaîne  $\alpha$  = CD 11b)
- **récepteurs aux opsonines : récepteurs aux fragments du C3, aux IgG (Fc $\gamma$ -RI, Fc $\gamma$ -RII), IgA et IgE (Fc $\alpha$ -R, Fc $\epsilon$ -RII)**
- **récepteurs Toll et récepteurs éboueurs**, récepteurs au mannose
- **CD 14**, récepteur protéique aux lipopolysaccharides bactériens ( $\neq$  récepteur Toll) spécifique des monocytes
- **molécules du CMH de classe II +++**

### Molécules des grains

- **lysosyme +++**  $\rightarrow$  lyse des parois bactériennes
- **myéloperoxydase** (identique à celle des neutrophiles)
- forte activité estérasique (hydrolyse des liaisons ester +++)

## 5. Les lymphocytes

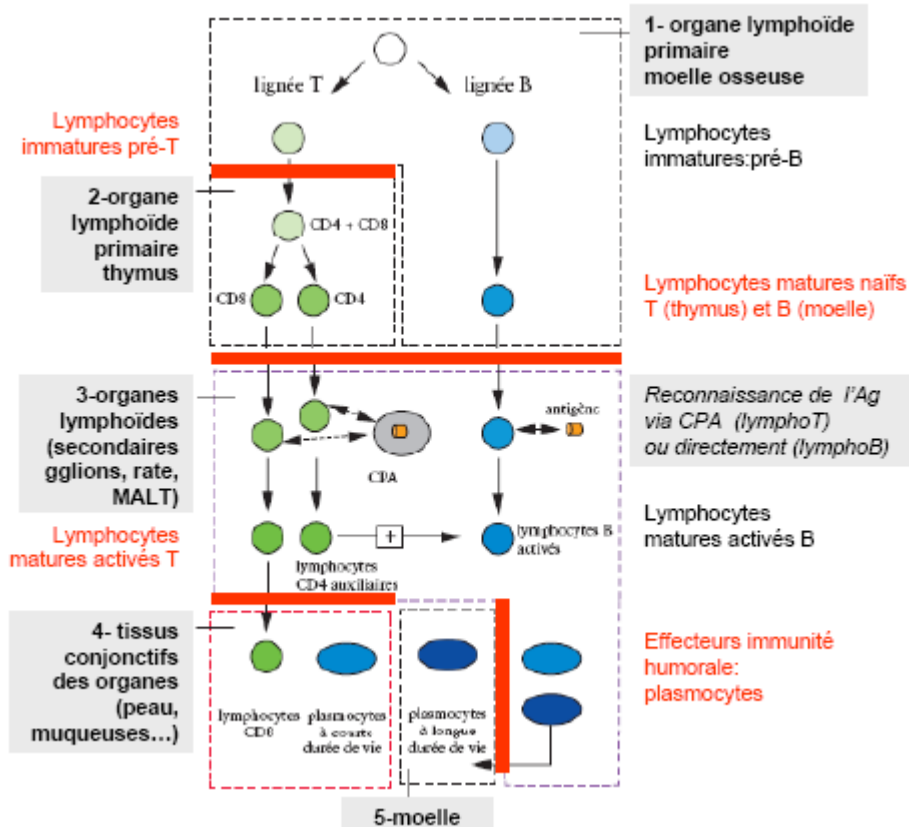
### a): Introduction

Ils sont impliqués dans **l'immunité dite acquise ou adaptative** et présentent toujours à leur surface un **récepteur aux antigènes**.

On distingue **2 grandes sous-populations de lymphocytes : les lymphocytes B et les lymphocytes T** ; ils sont indistinguables en histologie ou cytologie standard.

- **origine : les organes lymphoïdes primaires**  
*moelle hématopoïétique* : ils sont issus d'un précurseur différent de toutes les autres cellules sanguines (CFU-L) à l'origine de la production des **lymphocytes B matures naïfs** et des **lymphocytes pré-T**  
*thymus* : production des **lymphocytes T matures naïfs**
- **activation par l'antigène et fonctions dans les organes lymphoïdes secondaires** (ganglions lymphatiques, rate, MALT = tissu lymphoïde associé aux muqueuses) et les **tissus conjonctifs**
- **durée de vie variable** : quelques jours à plusieurs années (lymphocytes mémoires)

## b): Circulation des lymphocytes



Les **lymphocytes naïfs** quittent le compartiment vasculaire au niveau des **veinules à endothélium élevé** (thymus et organes lymphoïdes secondaires) auquel ils s'attachent grâce à la **sélectine L** qu'ils expriment.

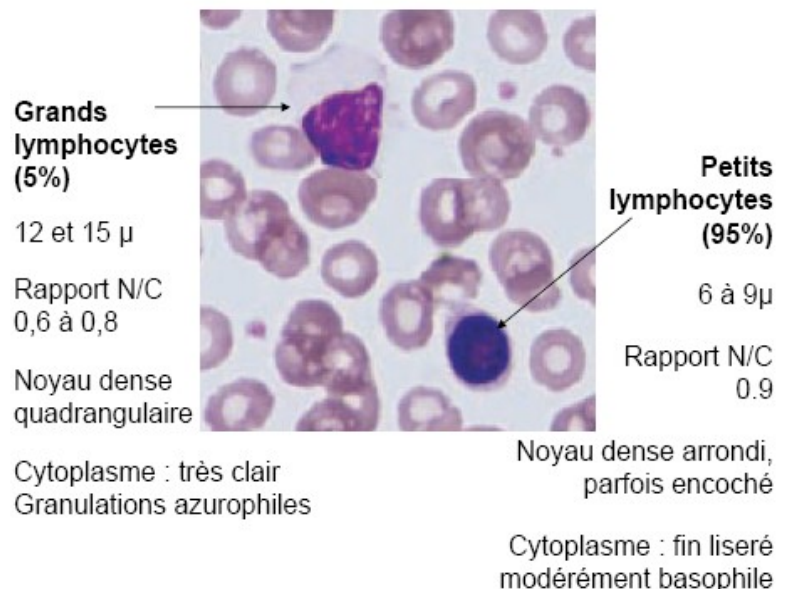
Les **lymphocytes activés** quittent le compartiment vasculaire au niveau de **n'importe quel endothélium**, après activation de celui-ci par un processus inflammatoire (expression de la **sélectine E** par l'endothélium).

La **fixation forte des lymphocytes** fait appel à un **couple intégrine/molécule CAM** différent suivant les organes, exemples :

- dans l'intestin : intégrine  $\alpha 4 \beta 7$  des lymphocytes avec MadCAM-1 sur les cellules endothéliales
- dans les poumons et la peau : les cellules endothéliales expriment VCAM-1

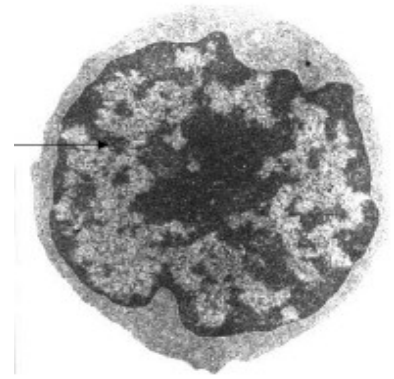
## c): Microscopie optique

On réalise un frottis sanguin au MGG.



### d): Microscopie électronique

- rapport nucléo-cytoplasmique élevé
- noyau parfois encoché, à chromatine dense, absence de nucléole
- cytoplasme contenant des lysosomes qui correspondent aux granulations azurophiles dans les grands lymphocytes



### e): Cytométrie de flux

#### SOUS-POPULATIONS LYMPHOCYTAIRES

Lymphocytes	B	T <sub>H</sub>	T <sub>C</sub>	NK
CD 45	+	+	+	+
CD 3	-	+	+	-
CD 4	-	+	-	-
CD 8	-	-	+	-
CD 19	+	-	-	-
CD 20	+	-	-	-
CD 16	-	-	-	+
CD 56	-	-	-	+
% nL dans le sang	8 à 12	37 à 53	19 à 34	5 à 15

Remarque : ce tableau est à connaître par cœur !!!!

### f): Les lymphocytes B (CD 19+, CD 20+) = cellules de l'immunité humorale

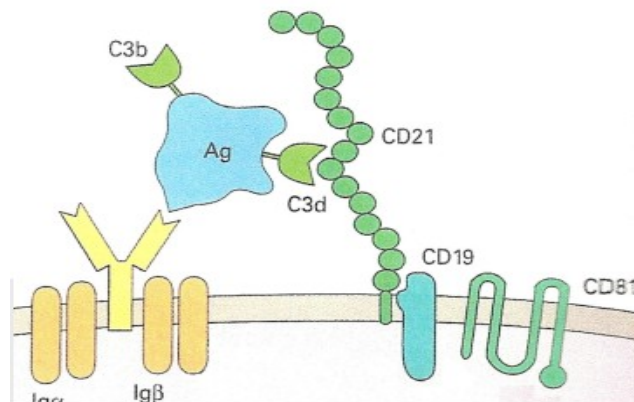
#### α): Reconnaissance directe de l'antigène par le BCR et son co-récepteur

Les lymphocytes B possèdent à leur surface un récepteur à l'antigène appelé **BCR**.

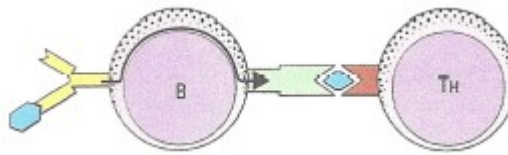
Le BCR se compose d'un **anticorps (AC)** qui correspond à une **Ig membranaire hypervariable** ; IgM + IgD (pour 90% des lymphocytes B sanguins) et IgA ou IgG ou IgE (pour 10% des lymphocytes B sanguins) et d'un **hétérodimère CD 79 invariant** composé de 2 sous-unités Iga (CD 79a) et Igβ (CD 79b).

**BCR = AC (= Ig membranaire hypervariable) + CD79 invariant**

Le BCR est accompagné d'un co-récepteur : CD 21 (CR2) + CD 19 + CD 81



**β): Présentation de l'antigène aux lymphocytes T<sub>H2</sub> par une molécule du CMH de classe II**



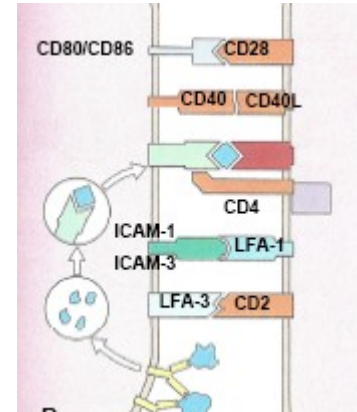
Les lymphocytes B peuvent activer les lymphocytes T. Ce processus nécessite un contact étroit entre les 2 cellules, qui fait intervenir différentes molécules d'adhérence et de co-stimulation au niveau de la membrane des deux protagonistes.

Au niveau du lymphocyte B :

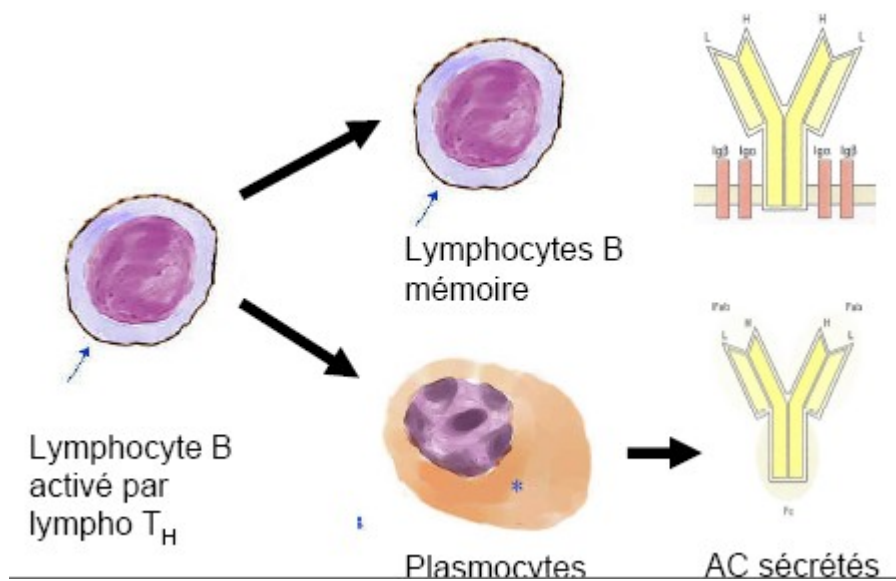
- CD 80 / CD 86
- CD 40
- ICAM1-ICAM3
- LFA3

Au niveau du lymphocyte T :

- CD 28
- CD 40L
- LFA-1
- CD 2



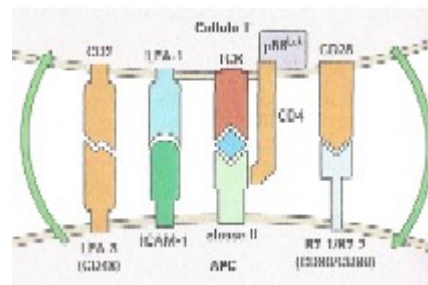
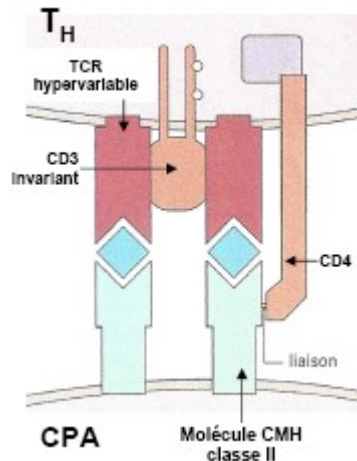
**γ): Différenciation en lymphocytes B mémoire et plasmocytes sécrétant des AC (Ig)**



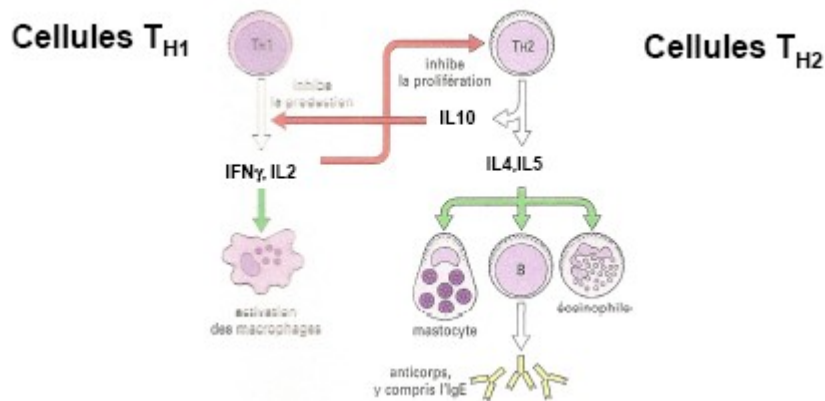
**g): Les lymphocytes T helpers (CD 3+, CD 4+) = cellules de l'immunité cellulaire**

**α): Reconnaissance de l'antigène présenté par une molécule du CMH de classe II par le TCR et son co-récepteur CD 4**

Les lymphocytes T possèdent également un récepteur à l'antigène à la surface de leur membrane mais qui est différent de celui des lymphocytes B : il ne s'agit pas d'une Ig membranaire. Le **TCR** est constitué d'une **partie hypervariable** qui reconnaît le peptide antigénique présenté par une molécule du CMH de classe II et une **partie invariante (CD 3)** qui transmet le signal. L'activation du lymphocyte se fait en présence de **molécules de co-stimulation (CD 28)** et **d'adhérence (CD 2 et LFA-1)**.



**β):** Suivant le micro-environnement, différenciation en 2 sous-populations TH distinctes par le profil des cytokines sécrétées



Les lymphocytes  $T_{H1}$  interviennent dans la défense contre les agents pathogènes intra-cellulaires. Les lymphocytes  $T_{H2}$  interviennent dans la stimulation des lymphocytes B pour la production d'AC dans les réactions d'hypersensibilité (allergie).

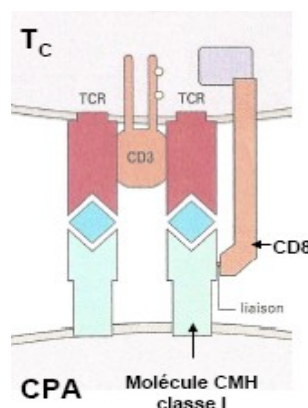
**h):** Les lymphocytes T cytotoxiques (CD 3+, CD 8+) = cellules de l'immunité cellulaire

**α):** Reconnaissance de l'antigène présenté par une molécule du CMH de classe I par le TCR et son co-récepteur CD8

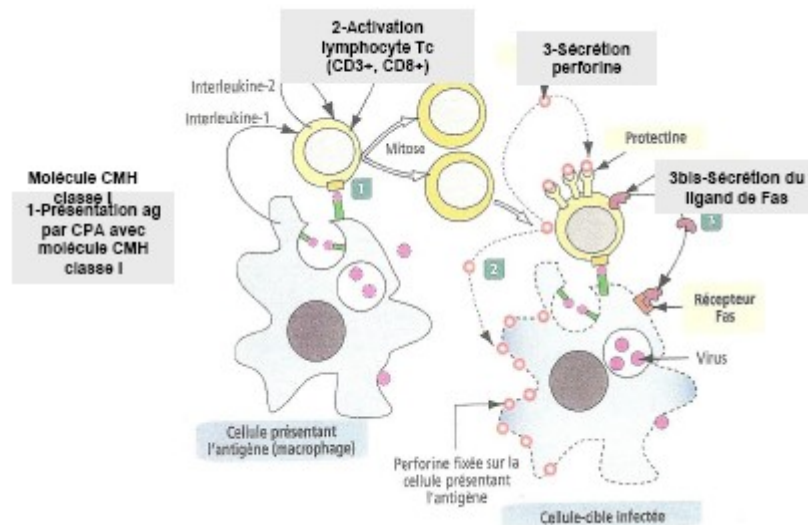
Le TCR est semblable à celui des lymphocytes  $T_H$ .

Le co-récepteur est différent.

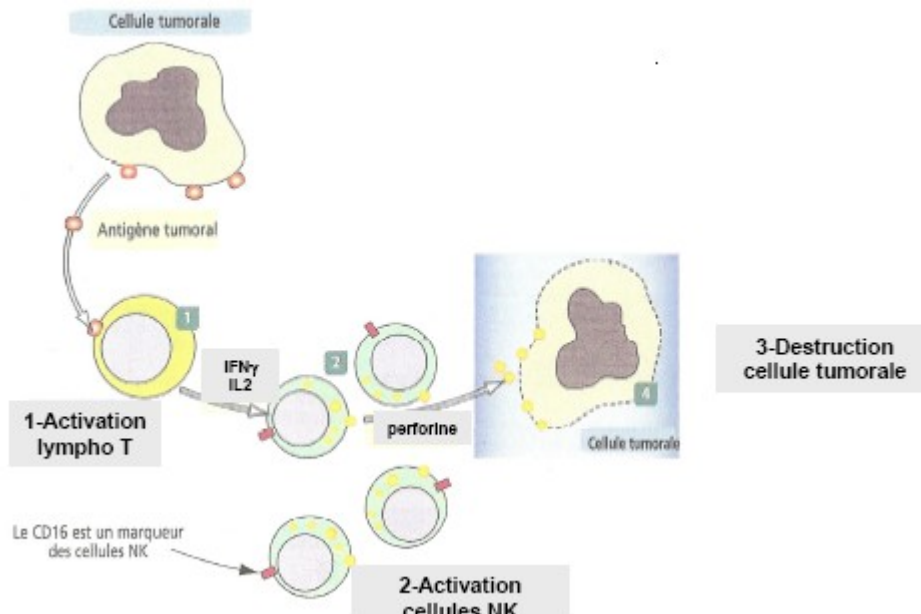
Le peptide antigénique est dans ce cas présenté par une molécule du CMH de classe I.



**β): Cytotoxicité = destruction de la CPA infectée par libération de perforine et/ou du ligand de Fas**



**γ): Les cellules NK (natural killer) : CD 16+, CD 56+, BCR -, TCR -, CD 3-, CD 4-, CD 8-**



Les cellules NK sont des cellules apparentées au lymphocytes T<sub>C</sub>. Elles ont l'aspect de grands lymphocytes granuleux et sont «naturellement» cytotoxiques notamment contre les cellules tumorales par l'intermédiaire des perforines.

Cependant, **elles ne sont pas activées directement par l'antigène (contrairement aux lymphocytes T<sub>C</sub>) mais par l'IFN $\gamma$  et l'IL2, cytokines produites par les lymphocytes T.**

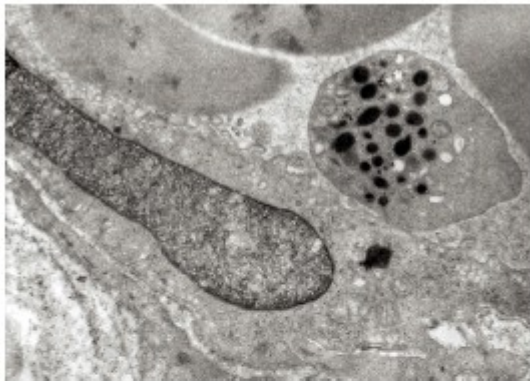
#### **IV. Les plaquettes**

Elles sont également appelées thrombocytes.

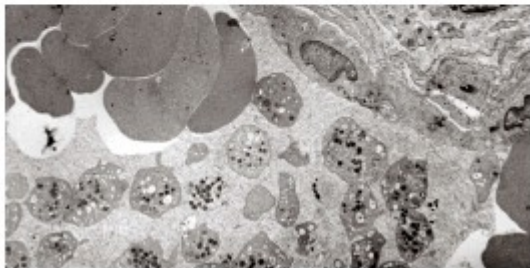
##### **1. Origine et fonctions**

- **origine : moelle hématopoïétique** ; elles dérivent d'une cellule souche pluripotente qui donne une cellule souche myéloïde CFU-GEMM puis la lignée mégacaryocytaire (CFU-MEG) puis les mégacaryocytes en présence de thrombopoïétine ; ensuite le cytoplasme des mégacaryocyte se fragmente pour donner les plaquettes

- **durée de vie** : 8 à 12 jours
- **fonctions** : les plaquettes patrouillent à la recherche de lésions endothéliales et en cas de lésion elles entraînent la formation du thrombus blanc (1er stade de la coagulation sanguine) et la rétraction du caillot (fin du processus de coagulation).



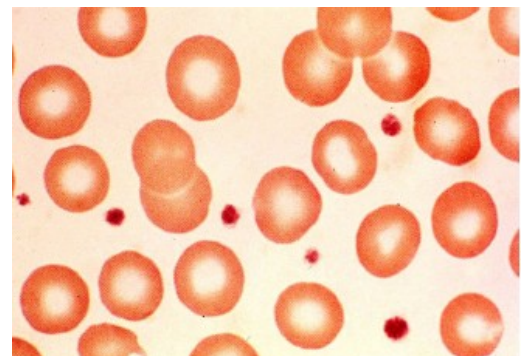
*Adhésion plaquettaire*



*Agrégation plaquettaire*

## 2. Microscopie optique

- taille : 2 à 4  $\mu\text{m}$
- absence de noyau
- cytoplasme constitué par le **hyalomère** périphérique qui est transparent et hyalin et par le **granulomère** ou chromomère central, coloré et azurophile



## 3. Microscopie électronique

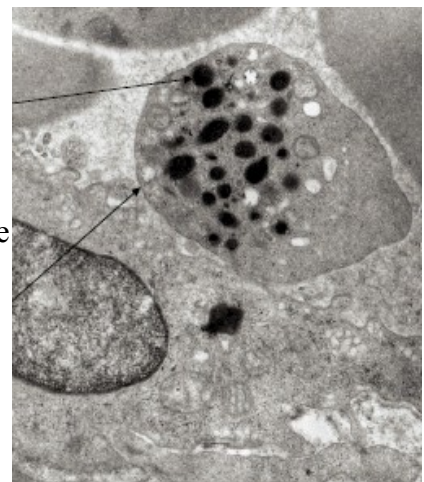
### Granulomère

Il contient 4 types de granulations :

- granules denses
- granules  $\alpha$  clairs
- lysosomes
- peroxyosomes

### Hyalomère

Il comporte un système de canalicules qui sont ouverts à la surface de la membrane plaquettaire et en relation avec le système tubulaire dense du REL ainsi qu'un cytosquelette formant un anneau de 10 à 15 microtubules.



## 4. Histologie moléculaire

### Les molécules de membrane

- sélectine P qui permet l'adhérence des plaquettes à l'endothélium
- récepteur au fragment Fc des IgG (Fcγ-RII = CD 32)
- récepteur de Gp1b qui permet la liaison avec le facteur de Von Willebrandt
- molécules du CMH de classe I
- récepteurs aux facteurs de la coagulation (facteur VIII)
- complexe GpIIb-IIIa (CD 41) responsable de la liaison au fibrinogène, à la fibronectine et à la vitronectine (MEC)

### Les molécules du cytosquelette

- microtubules en cercle
- réseau actine / spectrine-like / ankyrine sous-membranaire
- réseau actine / filamine cytosolique

### Les molécules des granulations

- granules denses contenant de l'ADP, de la sérotonine et du calcium
- granules α contenant de la fibronectine, le facteur de Von Willebrandt, la thrombospondine, le PDGF, la protéine neutralisant l'héparine, etc...
- lysosomes contenant des endoglucosidases, des enzymes scindant l'héparine, etc...

## 5. Pathologie (non exigible au concours P1)

### Thrombopénies → syndrome hémorragique

- centrales = insuffisance de production médullaire, associée à une atteinte des autres lignées
- périphériques, très fréquentes : allergie médicamenteuse, maladie auto-immune, hypersplénisme, consommation excessive (CIVD = coagulation intra-vasculaire disséminée), purpura thrombopénique idiopathiques, etc...

### Thrombocytoses → risque de thromboses

- primitives dans le cadre d'un syndrome myéloprolifératif
- secondaires (splénectomie, cancer profond, etc...)

**Remarque** : ce cours est très long et introduit beaucoup de notions nouvelles notamment en immunologie. Je vous recommande de le travailler au fur et à mesure et d'y revenir très souvent car il contient de nombreux détails qui sont parfois vite oubliés.

Dans tous les cas, bonne chance ^^

*Ce cours ainsi que l'intégralité des documents indispensables à la P1 sont disponibles gratuitement à l'adresse suivante : <http://coursplbichat-lariboisiere.weebly.com>*