

LES LEUCOCYTES

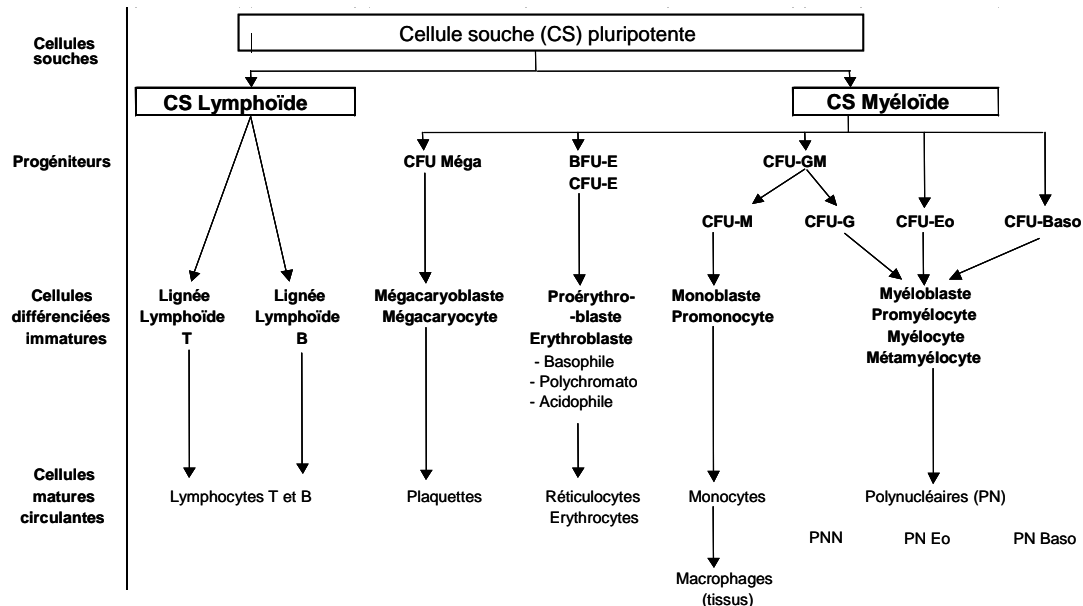


Figure 1- Différentes étapes de l'hématopoïèse
 PNN: polynucléaires neutrophiles, Eo: éosinophile, Baso: basophile).

1. Introduction : les différentes classes de leucocytes

Les leucocytes sont issus d'une cellule souche pluripotente médullaire qui donnera naissance aux différentes lignées (Fig 1).

L'étude du frottis sanguin après coloration a permis, en première approche de reconnaître deux grands types de leucocytes :

- les "*polynucléaires*", qui paraissent avoir plusieurs noyaux. Il s'agit en fait de noyaux multilobés mais le terme de polynucléaire est resté.
- les "*mononucléaires*" qui comprennent deux types de cellules totalement différentes :
- les "monocytes", cellules macrophagiques circulantes
- les "lymphocytes", support de l'immunité et la mémoire immunitaire

Dans quelques cas circulent dans le sang des cellules dérivées des lymphocytes : les plasmocytes.

2. Les polynucléaires

Les polynucléaires, caractérisés par un noyau multilobé, comportent dans leur cytoplasme des granulations qui ont des affinités tinctoriales différentes lorsque le frottis est coloré au May Grünwald

Giemsa (MGG). On peut ainsi classer les polynucléaires en trois catégories :

- *polynucléaires neutrophiles* (granulocytes neutrophiles) dont les granulations, fines prennent des colorants neutres
- *polynucléaires éosinophiles* qui comportent de grosses granulations réfringentes de couleur orange
- *polynucléaires basophiles*, peu abondants, qui contiennent de grosses granulations rouge violacé appelées métachromatiques.

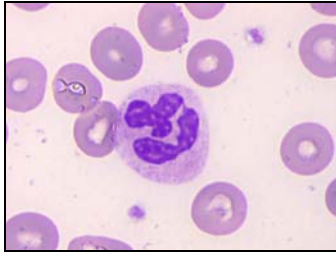
Les polynucléaires sanguins naissent dans la moelle osseuse. Jusqu'au stade de promyélocyte, les cellules ne possèdent pas de granulations spécifiques et on ne peut pas distinguer morphologiquement les lignées granuleuses (myéloblastes et promyélocytes éosinophiles et basophiles). Les temps de maturation sont variables: 14 jours les polynucléaires neutrophiles, 3 jours pour les polynucléaires éosinophiles par exemple.

2.1. Les polynucléaires neutrophiles (P.N.)

2.1.1. Morphologie :

Les polynucléaires neutrophiles sont de taille moyenne (10 à 14 μ). Leur noyau a de 2 à 5 lobes, la chromatine est dense. Le cytoplasme est abondant et contient de fines granulations secondaires spécifiques neutrophiles, beige à la coloration MGG.





2.1.2. Nombre et répartition :

Les polynucléaires neutrophiles sont les leucocytes sanguins les plus nombreux : ils représentent 50 à 75% des leucocytes sanguins, soit pour 4000 à 10000 leucocytes/mm³ (4 à 10 x 10⁹/l), un taux moyen chez l'adulte de 2000 à 7500 polynucléaires neutrophiles par mm³ de sang (2 à 7,5 x 10⁹/l).

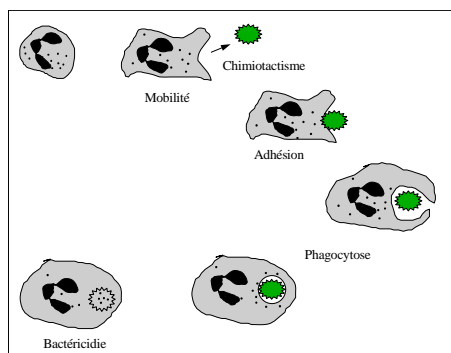
Les polynucléaires neutrophiles sont répartis en deux secteurs :

- le secteur *circulant*, le seul mesuré directement lors de la prise de sang pour numération sanguine.
- le secteur *marginal* : les polynucléaires sont plaqués contre les parois des vaisseaux surtout dans la rate, le foie et les poumons. Ce secteur n'est pas mesuré alors qu'il représente une quantité égale au secteur circulant. Ces polynucléaires marginés sont fonctionnels et immédiatement disponibles. On connaît en pathologie des exemples d'excès de margination des polynucléaires neutrophiles donnant des neutropénies. A l'inverse, la mobilisation de ces polynucléaires marginés augmente la leucocytose sanguine.

Les polynucléaires ont un temps de transit dans le sang assez court (demi-vie : environ 20 heures). Après leur sortie des vaisseaux sanguins dans les tissus, ils ne recirculent plus.

2.1.3. Fonctions principales des polynucléaires neutrophiles :

la *mobilité* : Les polynucléaires se déplacent le long des cellules endothéliales auxquelles ils sont accolés en émettant des pseudopodes. Ils peuvent sortir des vaisseaux : *diapédèse*.



Fonctions des polynucléaires

La *phagocytose* : Une fois dans les tissus, les polynucléaires sont "attirés" par certains fragments bactériens ou des éléments du complément : *chimiotactisme*. Ils pourront ensuite ingérer les particules de plus ou

moins grande taille : *phagocytose* (se référer au chapitre I3: réponse immunitaire innée)

2.1.5. Méthodes d'étude

Pour explorer les polynucléaires, on dispose de la *numération* dans le sang, de l'étude de la *morphologie* sur le frottis sanguin et de *réactions cytochimiques* : réaction des phosphatases alcalines leucocytaires (PAL), réaction des myéloperoxydases. Ces deux activités enzymatiques ne sont pas spécifiques des polynucléaires neutrophiles.

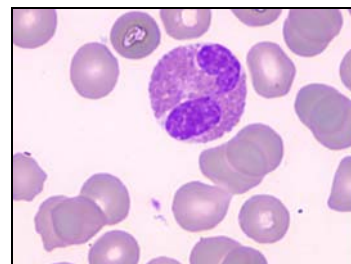
Certains *tests fonctionnels* peuvent être faits :

- étude du chimiotactisme in vitro (chambre de Boyden),
- étude de la phagocytose in vitro de germes de levures ou de particules de latex. Cette technique peut maintenant être abordée par la cytométrie en flux,
- étude du pouvoir bactéricide : formation de radicaux oxygénés, réalisable aussi par cytométrie en flux.

2.2. Les polynucléaires éosinophiles (P.E.)

2.2.1. Morphologie

Le polynucléaire éosinophile est aisément reconnaissable sur frottis sanguin : cellule de taille moyenne (10 à 15µ), comportant un noyau à 2 lobes réunis par un pont chromatinien incurvé. La chromatine est dense, il n'y a pas de nucléole. Le cytoplasme est incolore, abondant mais mal visible en raison de la présence des granulations secondaires spécifiques. Celles-ci sont volumineuses (0,5 à 1,5µ), rondes ou ovales, assez régulièrement réparties, de teinte orangée à la coloration MGG.. Les granulations mûres sont responsables de la formation, dans les tissus à haute concentration d'éosinophiles, des cristaux de Charcot-Leyden.



2.2.2. Numération et répartition

Les polynucléaires éosinophiles représentent 1 à 5% des leucocytes sanguins soit, en valeur absolue de 40 à 400 par mm³ (0.04 à 0.4 x 10⁹/l). Leur temps de transit dans le sang est mal connu. Il serait de 6 à 8 heures. Au total, la durée de vie moyenne de polynucléaires éosinophiles est de 3 à 8 jours.

2.2.3. Fonctions

Les polynucléaires éosinophiles sont des cellules essentiellement tissulaires : ils naissent dans la moelle osseuse, transitent brièvement dans le sang avant de passer par diapédèse dans les tissus où ils exercent leurs fonctions. Ils ont des fonctions proches du polynucléaire : ils sont doués de *chimiotactisme*, d'une



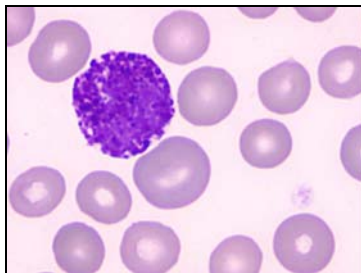
faible capacité de *phagocytose*. Cependant, l'absence de lysozyme les prive de pouvoir bactéricide efficace. Ils *synthétisent* un certain nombre de cytokines : IL-1, IL-3, IL-5, GM-CSF. Une hyperéosinophilie sanguine et tissulaire accompagne de nombreuses maladies allergiques ou parasitaires. Dans certains cas, l'accumulation importante d'éosinophiles pourrait être responsable de lésions tissulaires, dues aux substances présentes dans les granulations.

2.3. Les polynucléaires basophiles

2.3.1. Morphologie

Les polynucléaires basophiles ont un noyau assez volumineux, souvent incisé. Le cytoplasme et le noyau sont recouverts de grosses granulations prenant les colorants basiques d'où le nom de polynucléaires basophiles. Ce terme de *basophilie* ne doit pas être confondu avec la basophilie cytoplasmique, rencontrée dans les cellules riches en ARN comme les lymphocytes.

Les granulations des basophiles sont dites *métachromatiques* car elles ont la propriété de se colorer en rouge violet lorsqu'elles sont au contact de colorant bleu comme le bleu de toluidine. Cette propriété est due à la présence de mucopolysaccharide acide.



2.3.2. Nombre et répartition

Les polynucléaires basophiles sont les moins nombreux. Ils représentent *moins de 1 %* des leucocytes sanguins. Il y a donc moins de 100 polynucléaires basophiles par mm^3 de sang ($<0,1 \times 10^9/\text{l}$). Leur répartition et leur cinétique sont mal connues. Ils ont un équivalent dans les tissus : les mastocytes.

2.3.3. Fonction

Les polynucléaires basophiles sont doués de chimiotactisme. Ils n'ont pratiquement pas de capacité de phagocytose et ne sont pas bactéricides. Ils interviennent dans les phénomènes d'*hypersensibilité immédiate* grâce à *récepteur de surface pour les IgE*.

Les interactions des IgE membranaires avec l'antigène correspondant entraînent une dégranulation des basophiles. La dégranulation libère des produits très actifs :

- * l'*histamine* qui est une amine vaso-active entraînant la contraction des fibres musculaires lisses et une augmentation de perméabilité capillaire responsable d'œdème
- * l'*héparine* qui est un mucopolysaccharide acide. Le rôle de l'héparine des polynucléaires basophiles est

peu connu. C'est elle qui est responsable de la métachromasie.

* le *PAF*, ou platelet activating factor, qui intervient probablement dans les phénomènes de chocs mais aussi dans certains cas d'asthmes.

* divers autres constituants: la sérotonine et la bradykinine.

3. Les mononucléaires

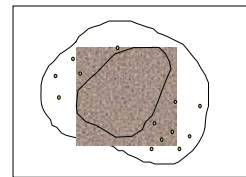
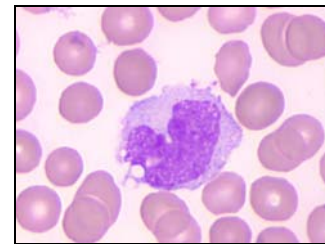
3.1. Les monocytes - macrophages

Les monocytes appartiennent au *système des phagocytes mononucléés* qui comprend :

- les monocytes sanguins
- des cellules tissulaires : cellules de Langerhans de l'épiderme et du tissu conjonctif sous-cutané, cellules de Kupffer dans le foie, macrophages alvéolaires du poumon, macrophages pleuraux et péritonéaux des séreuses, cellules microgliales du système nerveux, histiocytes spléniques, ostéoclastes.

3.1.1. Morphologie

Les monocytes sont de grandes cellules de 15 à 20 μ de diamètre. Le noyau est irrégulier, réniforme parfois lobé mais non segmenté. Le cytoplasme est de forme très irrégulière et contient de nombreuses et fines granulations, il peut être vacuolisé.



3.1.2. Nombre et répartition

Les monocytes représentent 2 à 10 % des leucocytes sanguins soit 100 à 1000 monocytes par mm^3 ($0,1$ à $1 \times 10^9/\text{l}$).

Après un transit sanguin de 20 à 40 heures, les monocytes passent dans les tissus et se transforment en macrophages, grande cellule à cytoplasme abondant et mal limité qui peut contenir des particules phagocytées. Elles peuvent prendre un aspect caractéristique dans certains tissus, cités ci-dessus.

3.1.3. Fonctions

Les fonctions des monocytes sont très nombreuses. On en distingue deux principales :

- *La phagocytose*, identique à celle des PNN. A la différence du polynucléaire neutrophile, le monocyte ne meurt pas après la phagocytose.
 - dans certains cas, il détruit les particules de la cellule ingérée grâce à ses enzymes mais il garde la capacité de présenter l'antigène correspondant aux cellules immunitaires.



- dans d'autres cas, l'agent causal persiste ou se multiplie. Ceci peut aboutir à la formation de cellules géantes par fusion de plusieurs macrophages ou de cellules épithélioïdes, participant au granulome inflammatoire.

La phagocytose peut toucher :

- soit des **substances endogènes**
 - *globules rouges* : l'hémolyse physiologique a lieu dans les histiocytes macrophages qui récupèrent le fer et dégradent l'hémoglobine. Cette hémolyse peut être exagérée lorsque les globules rouges sont recouverts d'anticorps (anémie hémolytique auto-immune)
 - *plaquettes* : de la même façon, des plaquettes recouvertes d'anticorps peuvent être détruites par les macrophages : thrombopénie immunologique
 - *lipides* : les monocytes macrophages sont parmi les premières cellules concernées dans le processus de l'athérome.
- soit des **substances exogènes**
 - la phagocytose des bactéries, des virus, des parasites et des champignons est un phénomène essentiel dans les défenses de l'organisme (rôle de présentation de l'antigène).
 - les monocytes macrophages ingèrent aussi des particules inertes : charbon, goudron, silice...

➤ *Activités de synthèse et sécrétion*

Les activités de synthèse et de sécrétion des monocytes macrophages sont très importantes. Les principaux produits sont les suivants :

- cytokines et facteurs de croissance hématopoïétiques
- facteur tissulaire de la coagulation
- enzyme : lysozyme, hydrolases, protéases
- protéine transporteuse : transferrine, ferritine, transcobalamine
- inhibiteur d'enzyme
- facteur du complément
- prostaglandine

3.1.4. Méthodes d'étude

En dehors de la numération des monocytes sanguins et de leur étude morphologique, on dispose de quelques tests fonctionnels:

- étude du métabolisme oxydatif
- étude de la phagocytose
- étude de migration
- étude du contenu enzymatique

En microscopie optique les éléments de la lignée monocyttaire peuvent être caractérisés par une réaction cytochimique : la *réaction des estérases*. Les estérases spécifiques sont inhibées par le fluorure de sodium.

3.2. Les lymphocytes

3.2.1. Morphologie

Les lymphocytes ont une taille variable. On distingue parfois les petits lymphocytes qui ont le diamètre d'un globule rouge (6 à 8 μ) et les grands lymphocytes, de 10 à 15 μ de diamètre.

Ce sont des cellules à noyau arrondi ou ovoïde. La chromatine est dense, sans nucléole. Le cytoplasme est souvent assez basophile (coloration bleue). Il est peu abondant dans les petits lymphocytes, et un peu plus abondant dans les grands lymphocytes mais le rapport nucléo-cytoplasmique est rarement inférieur à 75%. On peut trouver quelques granulations azurophiles dans le cytoplasme.

L'étude morphologique des lymphocytes est en fait très décevante, elle ne donne aucune idée de leur fonction ni de leur classification en B ou T.



3.2.2. Numération et répartition

Les lymphocytes représentent 25 à 40 % des leucocytes sanguins chez l'adulte. Il y a donc 1000 à 4000 lymphocytes par mm^3 (1 à 4 $10^9/l$) chez l'adulte. Chez l'enfant les lymphocytes sont plus nombreux, ils représentent souvent 60 % des leucocytes sanguins : lymphocytose physiologique de l'enfant.

Les lymphocytes sanguins représentent en fait une très faible partie du pool lymphocytaire de l'organisme. Après leur maturation dans la moelle osseuse ou le thymus, les lymphocytes migrent dans les *organes lymphoïdes secondaires ou périphériques* qui contiennent des *lymphocytes B et T* : les organes lymphoïdes secondaires sont la rate, les ganglions et le tissu lymphoïde non encapsulé, distribué dans les muqueuses digestives (plaque de Peyer) et dans les muqueuses respiratoires.

La moelle osseuse est à la fois un organe lymphoïde primaire et secondaire.

Dans le sang la majorité des lymphocytes sont des lymphocytes de type T qui font un circuit entre les voies lymphatiques, les veinules post-capillaires, les régions paracorticales des ganglions lymphatiques, le canal thoracique et la circulation sanguine.

3.2.4. Fonction : les sous-populations lymphocytaires

Bien qu'ils soient de morphologie identique, les lymphocytes appartiennent à deux sous-populations très différentes :

- les *lymphocytes B* qui portent des immunoglobulines de surface. Les lymphocytes B dérivent de cellules pré-B caractérisées par la présence de chaînes lourdes μ intra-cytoplasmiques qui précèdent l'apparition des Ig de surface.

- les *lymphocytes T* qui acquièrent leur spécificité dans le thymus. Dans le sang circulant, la majorité des lymphocytes sont de type T (70 à 80 %), les lymphocytes T4 représentant 60 à 80 % de lymphocytes T.



-les *cellules NK*: qui n'appartiennent ni à la sous-population B ni à la sous-population T.

Les fonctions et phénotypes de toutes ces cellules ne seront pas détaillés ici, reportez-vous au chapitre I2 phénotype des cellules du système immunitaire.

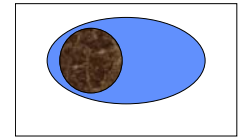
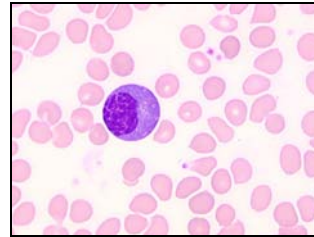
3.3. Les plasmocytes

Les plasmocytes ne sont habituellement pas retrouvés dans le sang : il s'agit de cellule tissulaire ou ganglionnaire. Dans certaines circonstances pathologiques, on trouve des plasmocytes circulants. Les plasmocytes dérivent des lymphocytes B. La durée de vie des plasmocytes serait brève : 4 à 6 jours. Le plasmocyte mûr est une cellule qui ne se divise plus.

3.3.1. Morphologie

La morphologie du plasmocyte est très caractéristique, il s'agit d'une cellule ovale à noyau excentré, la chromatine est souvent condensée en motte ou en rayon de roue. Le cytoplasme est bleu (basophilie intense) avec à proximité du noyau une zone plus claire, l'archoplasme.

Parfois le plasmocyte contient des inclusions : cellules de Mott.



3.3.2. Fonctions

Le plasmocyte est responsable de la *synthèse des anticorps*. Les plasmocytes ne portent pas d'immunoglobulines de surface : les Ig sont intracytoplasmiques. Ils ne portent pas non plus les antigènes de différenciation des lymphocytes B : DR, CD19, CD20, CD21, CD22. Par contre, ils portent le CD 38. Un clone plasmocytaire ne peut sécréter qu'un seul type d'immunoglobuline. Ces immunoglobulines peuvent être mises en évidence par immunofluorescence. Dans certains cas, un clone plasmocytaire prolifère, ce qui entraîne dans le sang une gammapathie monoclonale.

