



Institut Supérieur de Technologie Médicale

Un cadre, une opportunité pour la formation des jeunes

EXPOSÉ D'HÉMATOLOGIE

THEME:

MONOCYTOPOIESE

Sous la tutelle de Dr. MANGA SIPEWA

MARIE JULIE

PLAN

I. INTRODUCTION

II. DEFINITION

III. ETUDE STATISTIQUE : Différenciation de la lignée et aspect morphologique

1. Siege

2. Mécanisme de la monopoïèse

a. Différenciation

b. Maturation

c. Multiplication

IV. ETUDE DYNAMIQUE : Cinétique

1. Compartiment des cellules souches

2. Compartiment sanguin

3. Compartiment de différenciation

V. REGULATION DE LA MONOPOIESE

4. Rôle des facteur de croissance

5. Rôle des cytokines

VI. FONCTION DES SOUS TYPES DE MONOCYTE ET MACROPHAGE

6. Fonction monocyte

7. Fonction macrophages

VII. METHODES D'ETUDE

VIII. CONCLUSION

- ❖ **La formation des monocytes ou monopoïèse est un processus complexe qui aboutit à la formation d'un nombre indéterminés de monocytes mais qui représente un taux normal dans le sang se situant entre 200 et 600 unités / mm cube.**
- ❖ **Monocyte**
- ✓ **Type de GB ou leucocyte**
- ✓ **Représente 2 à 10% des GB circulant dans le sang**
- ✓ **Durée de vie dans le sang: 24h**
- ✓ **Passent ensuite dans les tissus**
- ✓ **Se différencie en macrophages : principales cellules phagocytaire du système immunitaire**
- ❖ **Elle a pour finalité d'assurer le maintien d'un stock de macrophage et de cellule dendritique constant.**
- ❖ **Elle est finement régulée.**

II. DEFINITION

- ❖ **La monocytopenie** est un processus hématopoïétique qui alimente la périphérie en monocyte, puis en macrophage et en cellule dendritique dérivées de monocyte.
- ❖ Typiquement les monocytes circulent dans le sang pendant très peu de temps avant de subir l'apoptose . Cependant, des signaux de stimulation peuvent déclencher la survie des monocytes en inhibant la voie apoptique, et ainsi contribuer au maintien de la réponses inflammatoire.
- ❖ **La cellule souche hématopoïétique** se différencie en cellule souche myéloïde , correspondant au progéniteur commun **CFU-GEMM** sous l'influence de divers cytokines(**CSF ;GM-CSF;IL-3**).Ultérieurement, la stimulation par l'**IL3** et le **GM-CSF(Granulocyte Monocyte CSF)** oriente la différenciation du progéniteur myéloïde commun en progéniteur granulo-monocytaire **CFU-GM**. L'action du **G-CSF** et du **M-CSF** oriente la différenciation en progéniteur **CFU-M**, puis en précurseur monocytaire.

- **Le monoblaste** se différencie alors en **promonocyte** puis en **monocyte** dans la MO et passe dans le sang sous forme de **monocyte**, ou il survie pendant **8 à 72 heures**. La durée de différenciation des **CFU-GM** en monocyte sanguins est d'environ **8-7 jrs**.
- **Dans les tissus périphérique**, les **monocytes** peuvent se différencier en fonction de l'environnement, en **macrophages** dans la rate et les cavités pleural péritonéales ou péricardique, en **macrophages alvéolaire** dans les poumons, en **histiocytes** dans les tissus conjonctifs, en **ostéoclastes** dans le tissu osseux, en **microgliocytes** dans les tissus nerveux, ou en **cellules de kupffer** dans le foie.
- **Ces cellules peuvent alors survivre plusieurs mois.**

III. ETUDE STATISTIQUE: Différenciation de la lignée et aspect morphologique

1. Siege

- ❖ La **monopoièse** est localisée dans la MO ou ses précurseur sont présent a différent stade de maturation . Ces différent stade représente la lignée monocyttaire. Comme vue précédemment , la première cellule reconnaissable est le **monoblaste** issu de la **CFU-M** (CS détermine vers la lignée monocyttaire = précurseur spécifique).

2. Mécanisme de la monopoièse

a) Différenciation

- ❖ C'est le phénomène par lequel des cellules souches d'aspect semblable acquièrent des propriétés différentes désormais irréversibles.

CSP

CFU-GEMM

CFU-GM (bipotente)

CFU-M

- ❖ Différenciation du progéniteur vers le monoblaste, premier cellule reconnaissable au microscope.

b. Maturation

- ❖ Difficile a identifier et rare sur une moelle normal

Monoblaste

Promonocyte

Monocyte (sang)

Macrophage (tissus)

c. Multiplication

- ❖ Une cellule souche déterminée se clive pour donner deux cellules filles = c'est le phénomène d'amplification.
- ❖ La lignée monocyttaire subit 2 mitoses (du monoblaste au promonocyte et du promonocyte au monocyte)

i. **Progéniteur des monocytes**

- Les lignées de granulocytes et de monocytes se développent à partir d'une cellule progénitrice sous le nom d'unités formatrices de colonies-granulocytes-monocytes (CFU-GM). Cette dernière se différencie en progéniteur de monocyte CFU-M. Après prolifération, les promonoblastes se transforment en monoblaste.

ii. Monoblaste

- Les monoblastes et les promonocyte sont les précurseurs monocytaires morphologiquement reconnaissables dans la MO. Ces cellules sont présentes en très faible concentration dans la MO normale et ne se trouvent en abondance que dans les processus leucémiques impliquant le néoplasme myéloprolifératif.
- Le monoblaste de la moelle osseuse ne peut être distingué morphologiquement du myéloblaste par microscopie optique, à moins que la prolifération de la série monocytaires ne soit marquée, comme c'est le cas dans la leucémie monocytaires. Par conséquent, l'immunophénotypage et les colorations cytochimiques sont fréquemment utilisés pour différencier les myéloblastes et les monoblastes dans les cas suspects de leucémie.

✓ Morphologie du monoblaste

- Taille: jusqu'à 10µm
- Noyau: présente une indentation ainsi qu'un grand nucléole.
- Cytoplasme: contient peu d'organites, principalement des polysomes et quelques granules denses aux électrons(azurophiles et lysosomes)

iii. Promonocyte

- Le promonocyte est une forme intermédiaire entre le monoblaste et le monocyte .Il est le premier stade à développer des caractéristique morphologiques qui lui permettent d' être clairement différencier comme un précurseur de monocyte en microscopie optique.
- Le nombre relatif de promonocyte dans le myélogramme est en moyenne de 2,9%, ce qui correspond à un pool de promocyte médullaire d'environ 600×10^6 cellules par kilogramme de poids corporel. Les promocyte sont classés en 4 groupes sur la base de la morphologie du noyau.

✓ Morphologies des promonocyte

- **Taille:** 15 à 20 μ m, plus large que les myoblasts.
- **Noyau:** rond, délicatement convolutés, plie ou rainurés, avec une chromatine finement dispersée, un petit nucléole indistinct ou absent
- **Cytoplasme:** basophile finement granules, contient l'hydrolase acide, l'arylsulfatase, l'estérase non spécifique et la peroxydase.

iv. Monocytes

- Les monocytes sont les plus gros globule, composant 2-10% des leucocytes circulant comme dit précédemment
- Ils font partie du « système phagocytaire mononucléaire » (SPM), qu'ils partagent avec les macrophages et les cellules dendritique conventionnelles.
- La différenciation se produit rapidement, avec un temps de maturation morphologique marquée par une lobulation progressives du noyau.

✓ Morphologie des monocytes

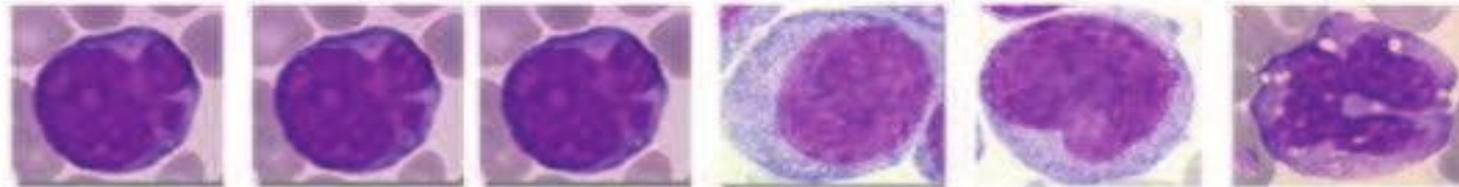
- Taille: 12-22 μ m
- Noyau à un seul lobe, gros meuble , polymorphe, sous la forme d'un fer à cheval, de haricots, d'un trèfle, parfois sous la forme d'un papillon au ailes déployées.
- Cytoplasme: gris ciel d'orage », contient de fine granules azurophiles peu denses et des vacuoles. Il contient à la fois des granules primaire(positifs à la peroxydase) et des granules secondaires(peroxydase négatifs)

- La cytochimie au microscope électronique révèle la présence de deux types de granules dans les monocytes. Un type contient de la peroxydase, de la phosphatase acide et de l'arylsulfatase, ce qui suggère que ces granules sont similaires aux lysosomes (granules azurophiles primaires) des neutrophiles. On sait moins de choses sur le contenu de l'autre type de granules, à l'exception qu'ils ne contiennent pas de phosphatase alcaline et sont donc dissemblables des granules spécifiques des neutrophiles.
- Ce qui distingue les monocytes des autres membres du SPM (Système phagocytaire mononucléé) c'est qu'ils sont mobilisés rapidement et en grand nombre dans les tissus enflammés. Ils sont très plastiques, hétérogènes et modifient leur phénotype fonctionnel en réponse à une stimulation environnementale, ils expriment ainsi divers récepteurs, qui surveillent et détectent ces changements.

- Les monocytes et les macrophages possèdent de nombreux récepteurs et antigènes de surface, y compris les antigènes des leucocytes humains de classe I (HLA-A, B, C) et de classe II (HLA-DR, DP, DQ).
- La glycoprotéine CD4 est non seulement présente sur les cellules T-helper, mais aussi sur les monocytes et les macrophages, étant donné que la molécule CD4 agit comme un récepteur du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1), ce virus infecte les monocytes et les macrophages ainsi que les cellules T auxiliaires.
- Ils expriment également des antigènes CD11 (CD11a, b, c), des marqueurs qui définissent les glycoprotéines d'adhésion de surface. Les antigènes CD14, CD64 et CD68 sont également présents sur les monocytes et les macrophages.
- Ces molécules de surface sont souvent utilisées pour identifier la lignée des cellules mononucléaires dans les hémopathies malignes.

Moelle et sang (durée = 5 jours)

Tissu



CFU-GEMM

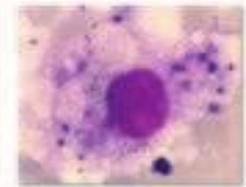
CFU-GM

CFU-M

monoblaste

promonocyte

monocyte



Histiocyte-macrophage

SCF
EPO
IL-3

GM-CSF
IL-3

M-CSF IL-3

Moelle osseuse

Cellule souche

Monoblaste

Premonocyte

Sang

Monocyte

Tissus

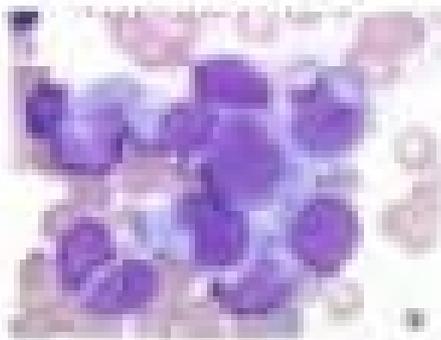
Macrophage

2 jours

2-3 jours

4.d. MONOCYTOPOÏÈSE

Monoblaste



- Cellules de taille élevée;
- Chromatine fine;
- Noyau arrondi ou ovalaire avec souvent un seul nucléole;
- Cytoplasme basophile souvent dépourvu de granulations.

Promonocyte



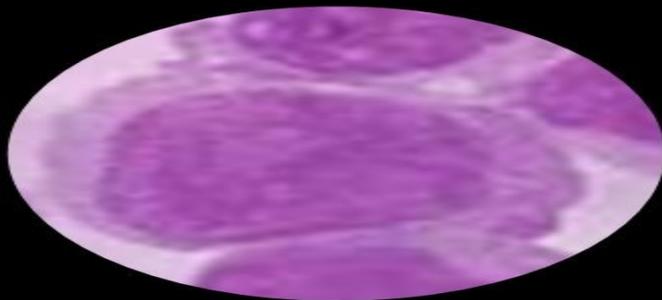
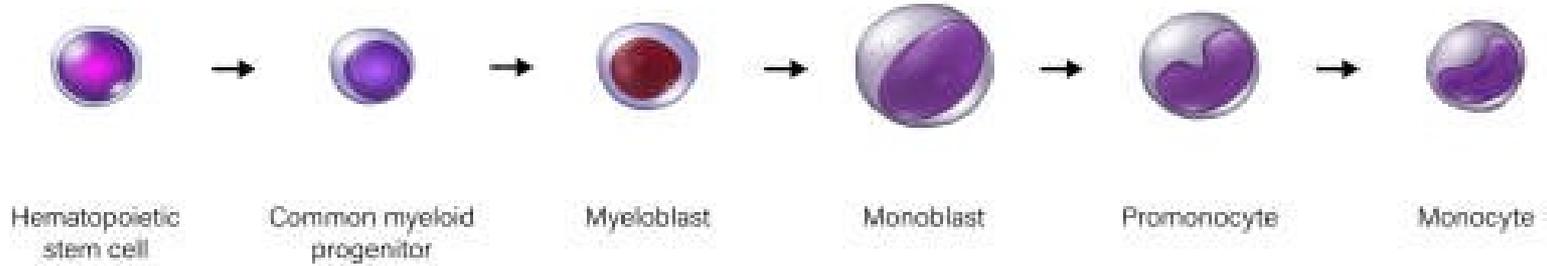
- Noyau de contour irrégulier, replié sur lui-même;
- Cytoplasme plus ou moins grisé: début de différenciation;
- Granulations en quantité variable;
- La membrane externe parfois émet des pseudopodes.

Monocyte

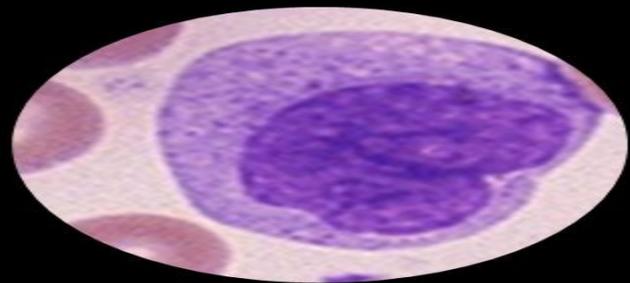


- Cellule de grande taille;
- Cellule mononucléée à noyau irrégulier ou réniforme;
- Cytoplasme gris-bleu, semé de fines granulations à peine visibles.

Monocytopoiesis



monoblaste



monocyte

- (A) Les promonocyte sont rares dans MO et sont plus observés pendant la récupération ou pendant la régénération médullaire après une chimiothérapie, ou lors d'une hémopathie ou une autre agression.
- (B) Les monocytes observés dans le sang.
- (C) Le macrophage est observé dans les échantillons de liquides organiques tels que le liquide péritonéal ou le liquide céphalorachidien et ressemble au monocyte sanguin.
- (D) Les histiocytes sont visibles sur des coupes de tissus. L'histiocyte est coloré par le CD68 et provient d'un ganglion lymphatique. Il représente probablement une cellule dendritique dans un centre germinal.
- (E) Les monocytes de la MO sont facilement dénombrés à l'aide d'une cytochimique réaction à l'estérase non spécifique (ENS) telle que l'alpha-naphtyl acétate estérase, qui donne une coloration orange/brune.

IV. ETUDE DYNAMIQUE: cinétique

- Les 3 compartiments de l'évolution des monocytes:

1. **Compartiment des cellules souches :pool médullaire**

- ❑ Les monocytes proviennent de la moelle osseuse à partir de Cs pluripotente; leur cellule précurseur directe est le promonocyte qui dérive du monoblaste.
- ❑ Une fois les monocytes formés par division des promonocyte, ils ne restent que très peu de temps(moins d'un jour) dans le compartiment de la moelle osseuse.
- L'amplification comprend 2 mitoses et dure environ 48h. Le passage dans le sang se fait par diapédèse. Les monocytes n'ont pas de compartiment de réserve médullaire. Le plus grand réservoir de cellules matures est la rate.

2. Compartiment ou pool sanguin

- Lorsque les monocyte entre dans la circulation, ils sont divisée en un pool circulant et un pool marginal, chacun comprenant environ 50% des monocytes présent dans les vaisseaux sanguins.
- Le transit est bref et dure environ 2jrs.les monocytes restent relativement longtemps dans la circulation, la demie vie étant de 17h(souris) à 71h(Homme)
- La plus grande réserve de monocyte se trouve dans la rate.
- Ensuite, ils quittent ce compartiment au hasard par un processus de diapédèse et migrent vers les tissus et les cavités corporelles ou il se différencient en macrophages.

3. Compartiment de différenciation: pool tissulaire

- Dans les tissus, les monocytes se transforment en macrophage, cellule très performante dont la survie est de plus de 2mois(voire des années)

V. Regulation de la monocytopenèse

1. Rôle des facteurs de croissance.

- Certains facteurs de croissance de monocytes sont communs à d'autres lignées myéloïdes (GM-CSF, IL-3), tandis que le M-CSF en est spécifique.
- Le facteur de stimulation des colonies de macrophages (M-CSF) agit comme un régulateur primaire de la génération de monocytes, de macrophages et de DC, à partir de leurs progéniteur hématopoïétiques. Les sources de M-CSF comprennent les cellules stromales, les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses. L'effet du M-CSF est médié par un récepteur tyrosine kinase de haute affinité ; CD115 (M-CSFR), qui est indispensable à la monocytopenèse.

- De même, le facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages (**GM-CSF**) est également impliqué dans le développement de DC dérivées de monocytes (**moDCs: Génération of monocyte derived Dendritic Cell**) à partir de monocytes et de macrophages.
- Les principales sources de **GM-CSF** sont les **cellules T** et les **cellules épithéliales**. Le **GM-CSF** agit par l'intermédiaire du **GM-CSFR(GM-CSF Receptor)**.
- Le facteur des cellules souches (**SCF**), un facteur de croissance hématopoïétique précoce, favorise la production globale de monocytes et de cellules dendritiques.
- Le **c-kit (CD117)** est le récepteur du facteur des cellules souches et est exprimé par les **progéniteur multipotents** à prédominance lymphoïde et d'autres progéniteur de monocytes.

2. Rôle des cytokines.

- Une série de cytokines sont impliquées dans la régulation de la monocytopenèse.
- ✓ L'interféron γ (IFN- γ), une cytokine pro-inflammatoire sécrétée par les cellules T et les cellules NK, joue un rôle important dans le développement des monocytes. L'IFN- γ induit la monocytopenèse par l'induction de facteurs de transcription comme IRF8 et PU dans les cellules progénitrices myéloïdes.
- ✓ L'interleukine-3 (IL-3), un facteur de stimulation des colonies hématopoïétiques libéré principalement par les cellules T, est impliqué dans la prolifération et la différenciation des cellules progénitrices myéloïdes. L'IL-3 stimule la production de macrophages, de granulocytes et de DCs à partir des précurseurs. L'IL-3R de haute affinité et le GM-CSFR partagent une sous-unité β commune. L'association IL-3-GM-CSF a un effet synergique sur la prolifération et la différenciation des macrophages.

- - L'interleukine-34 (IL-34), deuxième ligand du M-CSFR, est apparue comme un régulateur de la différenciation et de la prolifération des monocytes/macrophages.
- - L'interleukine-4 (IL-4) joue un rôle essentiel dans la différenciation des DC. L'IL4, en combinaison avec le GM-CSF humain et murin, induit la différenciation des monocytes en DC par l'activation du facteur de transcription STAT 6. L'IL-4 favorise également la différenciation des macrophages « alternativement activés » (M2) par l'activation de STAT6 dans les conditions de la réponse immunitaire Th2. Une autre cytokine Th2, l'IL-13, stimule également la différenciation des DC à partir de monocytes en présence de GM-CSF.
- - L'interleukine 6 (IL-6), une cytokine produite au site de l'inflammation, induirait la différenciation et la prolifération des DC à partir de monocytes en présence de GM-CSF. L'IL-6 régule la prolifération et la différenciation des HSPC (Cellules Souches et Progénitrices Hématopoïétique) et joue un rôle central dans le contrôle de l'immunité et de l'inflammation.
- - Le récepteur activateur du ligand du NFkB (RANKL), un membre de la superfamille du ligand du TNF, joue un rôle clé dans la formation des ostéoclastes pendant la différenciation des monocytes. Les NFkB sont associées aux facteurs anti-apoptotique.

VI. FONCTION DES SOUS TYPES DE MONOCYTES ET MACROPHAGES

1. Fonction monocyte

- ❖ Les monocytes participent au système de défense contre les germes et les parasites par leur fonction d'épuration des débris organique ou inorganique des tissus. Ils interviennent dans la réaction immunologique par leur rôle dans le traitement de l'antigènes.
- Il existe trois principaux sous-ensembles de monocytes reconnus, les monocytes classiques (~87 %), les monocytes intermédiaires (~4 %) et les monocytes non classiques (~9 %), qui sont caractérisés par leur niveau d'expression du cluster de différenciation CD14 (récepteur des lipopolysaccharides), et du CD16 (récepteur Fc des anticorps et marqueur des granulocytes, des lymphocytes NK et des monocytes).

a)

Monocytes classiques

- Les monocytes classiques CD14⁺ CD16[—] représentent une population cellulaire transitoire avec un potentiel de différenciation diversifié. Ils se caractérisent par l'expression de récepteur de chimiokines CCR2 et un faible niveau de CX3CR1.
- Contrairement aux monocytes non classiques, les monocytes classiques sont dotés d'un programme d'expression génétique qui leur permet de migrer dans des tissus dans des conditions homéostatiques.
- Une fois que les monocytes classiques sont libérés à partir de la MO, ils restent dans la circulation pendant environ un jour, avant de circuler pour repeupler une proportion de macrophages résidant dans les tissus de l'intestin, du derme, de l'estomac, le cœur, le pancréas, les poumons et les testicules, soit de se transformer en monocytes non classiques.

b. Monocytes non classiques

- Les monocytes non classiques CD14^{low}CD16⁺⁺ ont une durée de vie plus longue d'environ 2 jours chez la souris et de 7 jours chez l'homme qui peut être étendue à 2 semaines, ce qui dépend probablement de la disponibilité du CSF1 ; un facteur critique qui contrôle la maintenance des monocytes/macrophages.
- Ils ont une plus forte expression du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II, et de TNF après stimulation des TLR (Toll-like receptor).

c. Monocytes intermédiaires

- Les monocytes CD14⁺CD16⁺ interviennent à la fois dans la phagocytose et dans l'inflammation. Ils sont liés à la réponse immunitaire innée et adaptative.



Synthèse

- Les monocytes classiques CD14⁺⁺CD16⁻ quittent la MO d'une manière dépendante du récepteur CC-chémokine 2 (CCR2). À l'état stable, les MC peuvent se différencier en MI, puis en MNC .
- Les MC classiques ont une capacité antimicrobienne élevée en raison de leur puissante capacité de phagocytose en adhérant à l'immunoglobuline G (IgG) et aux micro-organismes recouverts de compléments (ex : C3b), et sécrètent des ERO (espèces réactives de l'oxygène) et de l'IL-10 sous l'effet du LPS (lipopolysaccharide).
- Les MI et MNC sécrètent des cytokines inflammatoires, le TNF α et l'IL-10, lors d'une stimulation inflammatoire.
- Pendant l'inflammation, les MO et MI sont attachés et envahissent les tissus par l'interaction de la paire complémentaire CCR2/CCL2(MCP1) ou CCR5/CCL5(RANTES) d'une manière dépendante de VLA1/VCAM1.
- Les monocytes mûrissent ensuite en macrophages dans les tissus et présentent l'auto-antigène via le CMH-I/II au TCR, ce qui entraîne l'activation des cellules T
- Les MNC patrouillent la paroi des vaisseaux et les envahissent par l'interaction de la paire complémentaire de CX3CR1/CCL3 via LAF/ICAM1 de manière dépendante.

2. Fonction des macrophages

- ❖ Phagocytose
- ❖ Présentation d'antigène permettant l'activation immunitaire
- ❖ Sécrétion des cytokines
- ❖ Spécialisation des macrophages
 - ✓ Os: ostéoclaste
 - ✓ SNC: microgliocytes
 - ✓ TC: histiocyte
 - ✓ Poumons: MC alvéolaire
 - ✓ Reins: mésengliales
 - ✓ Foie: cellule de kupffer
 - ✓ Péritoine: MC péritonéaux
 - ✓ Placentaire: cellule de Hofbauer
- **NB:** selon leur localisation tissulaire, une ou plusieurs des fonctions du macrophage peuvent être modifiés. Cette modification est assurée les cytokines des tissus ou elles sont localisées.
 - Le nom des macrophages tissulaire change pour des raisons historique et scientifique.

VII.METHODE D'ETUDE

- ❖ NFS (formule leucocytaire)
- ❖ Microscopie électronique (cytochimie et coloration cytochimique) permet l'étude des composants des différents stades de maturation des précurseurs et des types de granulation des monocytes.
- ❖ L'immunophénotypage permet la différenciation des monoblastes et des myéloblastes dans le cas suspecté de leucémie
- ❖ Biopsie de la MO

VIII.CONCLUSION

- ❖ La monopoïèse est située dans la MO.
- ❖ Les monoblastes sont issus des progéniteurs CFU-M et CFU-GM.
- ❖ La monopoïèse dure 3-4jrs .
- ❖ Les monocytes ne sont que des cellules en transit dans le sang.