

Chap. 2: L'HEMATOPOIESE



Durée de vie des cellules du sang



Érythrocytes

120 jours



Leucocytes

2 à 10 jours



Thrombocytes

10 jours



Nécessité de les remplacer !

Définition

L'hématopoïèse est l'ensemble des phénomènes qui concourent à la fabrication et au remplacement continu et régulé des cellules sanguines

Production



200. 10^9 par jour

Hématies
(soit 2 millions par sec)



50-100. 10^9 par jour

Leucocytes



100. 10^9 par jour

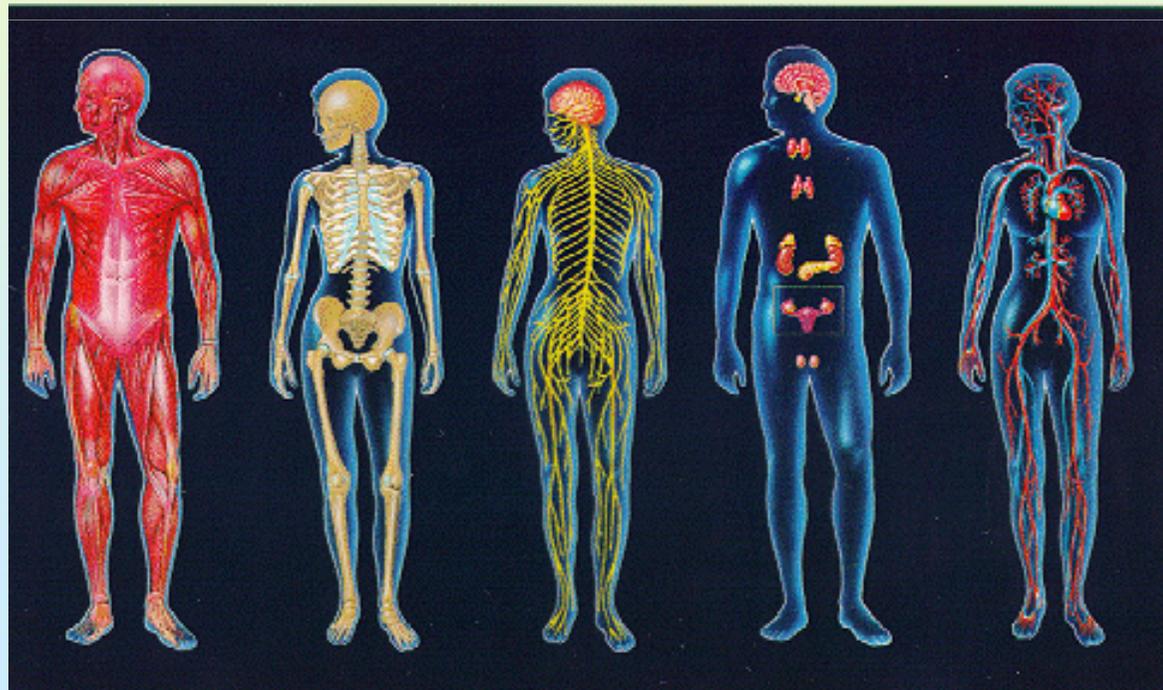
Plaquettes



28 g de sang nouveau par jour



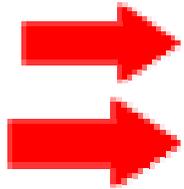
OU SONT FABRIQUEES LES CELLULES DU SANG ?



1

Irradiation
Dose létale

MISE EN EVIDENCE DES CELLULES SOUCHES HEMATOPOIETIQUES



Mort



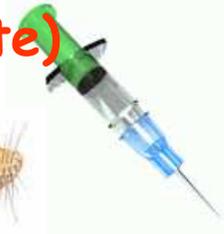
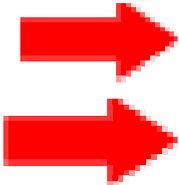
Destruction du tissu
hématopoïétique

2

Irradiation
Dose létale

Injection de
moelle osseuse
(homozygote)

Reconstitution de toutes
les lignées de cellules
hématopoïétiques



Expérience de Till et Mc Culloch (1961)

Rappelons que la rate est un organe hématopoïétique chez la souris adulte et non chez l'homme.

L'irradiation entraîne une destruction de l'ensemble des cellules hématopoïétiques et lymphocytaires et une hypotrophie de la rate des souris.

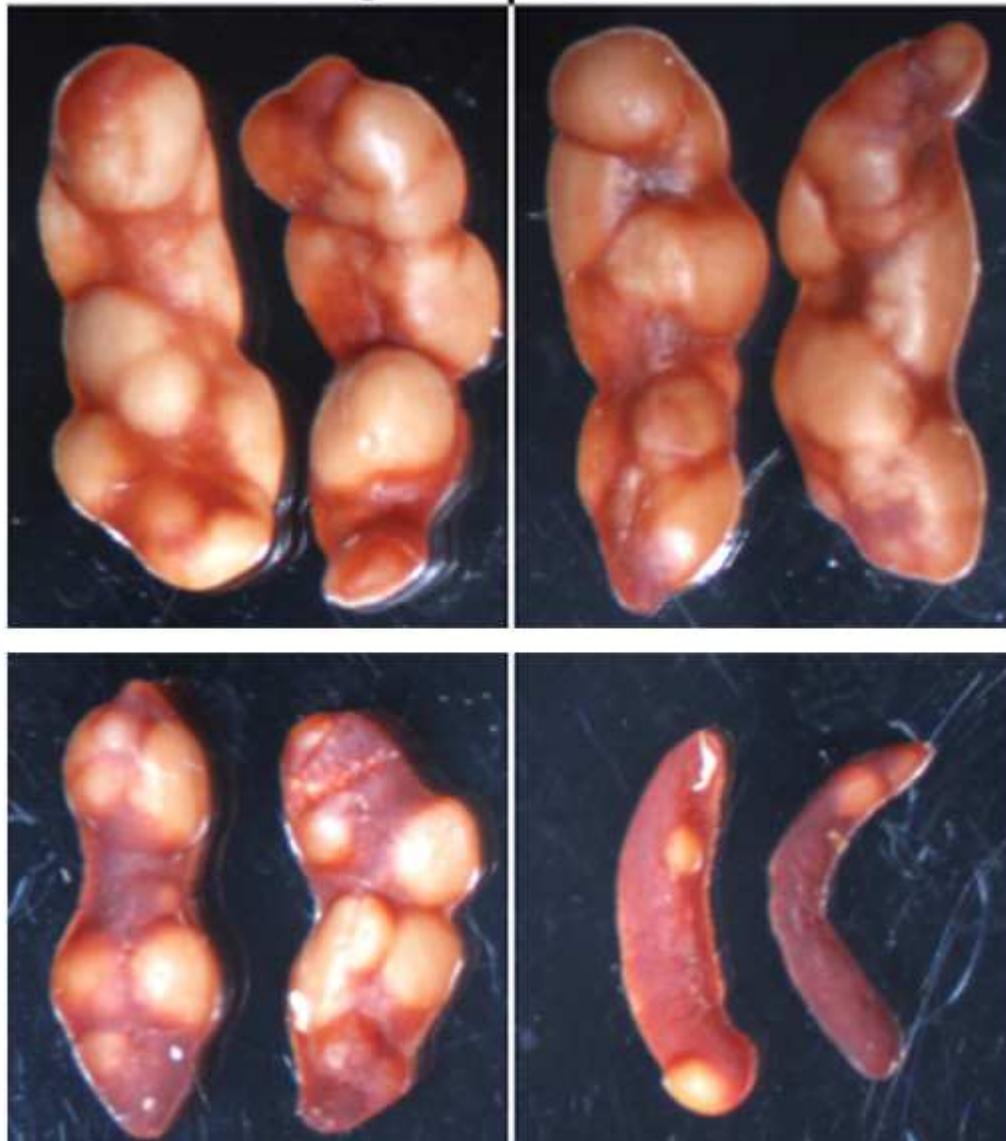
Mais 10 jours après l'injection la rate de la souris est remplie d'amas cellulaires macroscopiques (= colonies).

Une colonie observée correspondant aux cellules filles d'une seule cellule et même souche injectée.

On les appelle

CFU-S (Colony Forming Unit-Spleen)





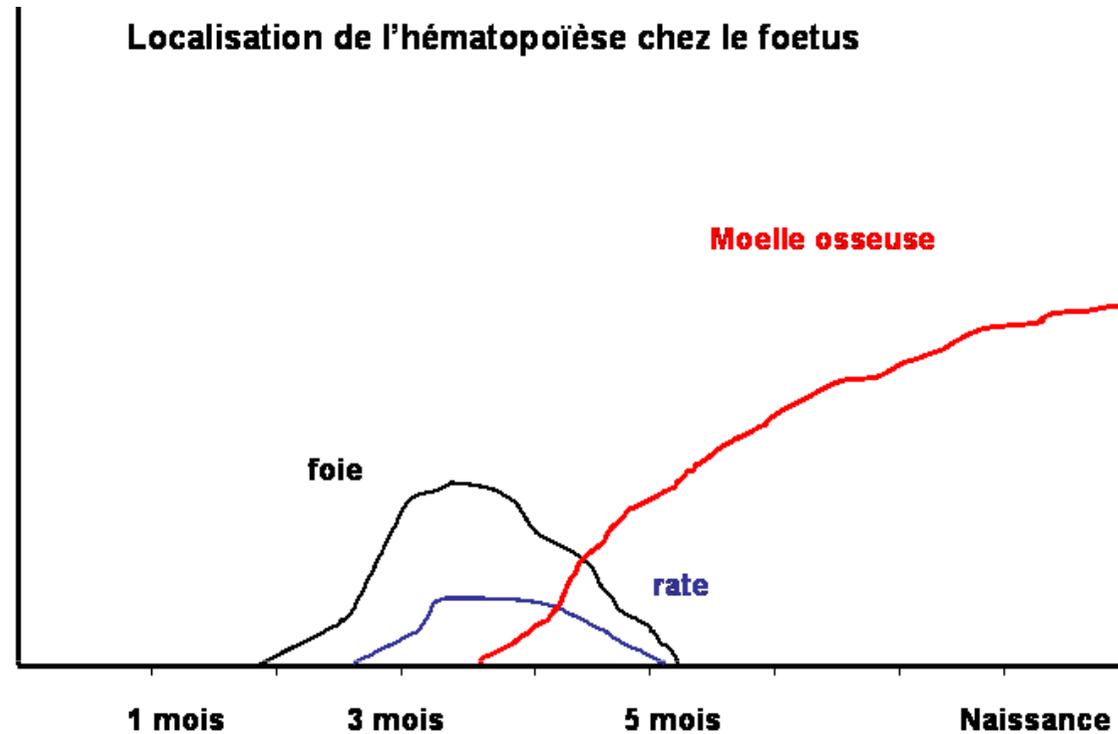
<http://www.pnas.org>

LOCALISATION DE L'HEMATOPOIESE



<http://www.umcutrecht.nl/subsite/cmci-utrecht/Research-Programs/Hemato-oncology-Program.htm>

Vie Intra Utérine



<http://med2.univ-angers.fr>

Entre 2^{ème} et 4^{ème} mois :

les cellules hématopoïétiques primitives formées migrent dans le foie foetal, puis dans la rate

Vers 4^{ème} mois :

la moelle osseuse est colonisée, et sera le site exclusif de l'hématopoïèse à la naissance et pour toute la vie

Après la Naissance

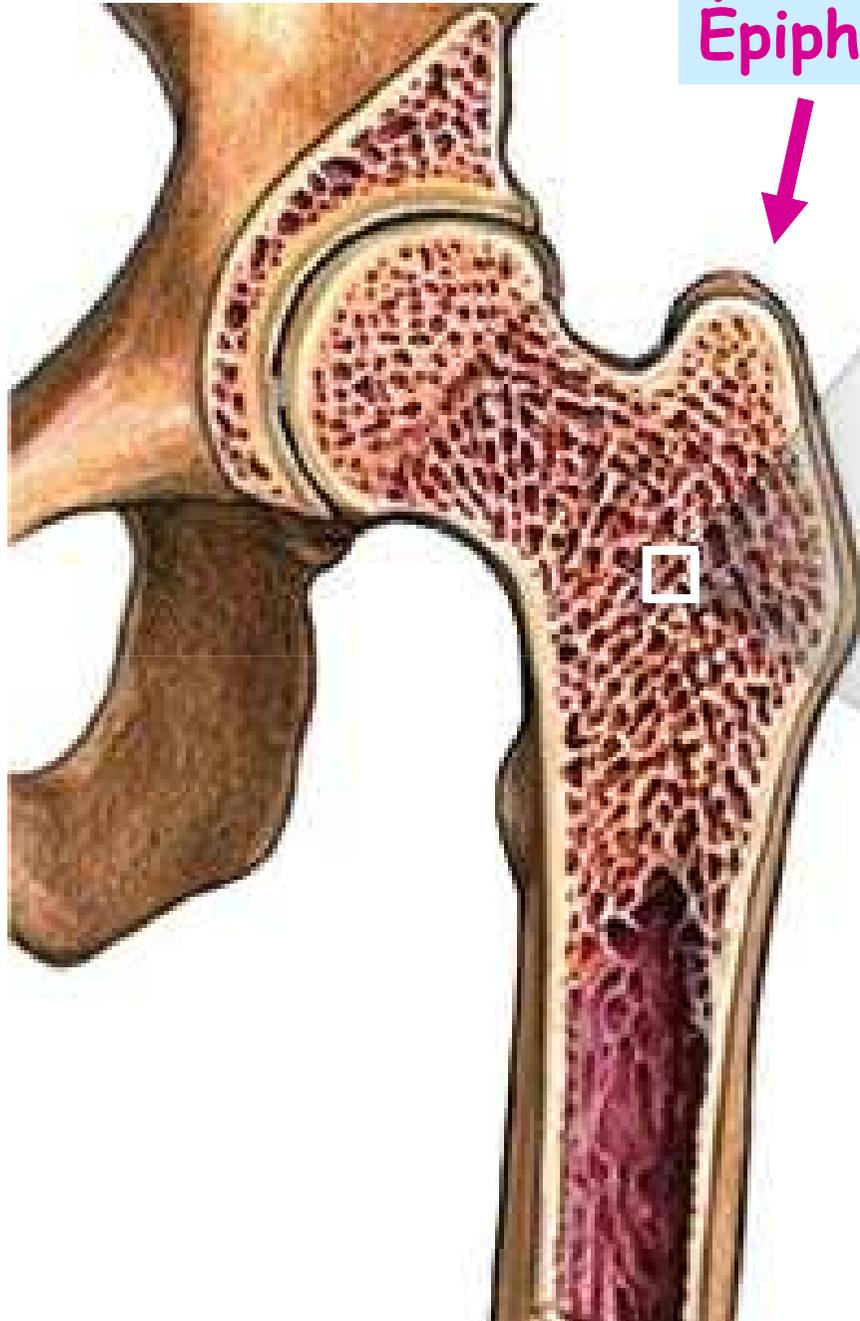
Exclusivement **Moelle osseuse**



Remarques :

Tissu hématopoïétique = tissu **embryonnaire** toute la vie

Épiphyse d'un os long



Os spongieux



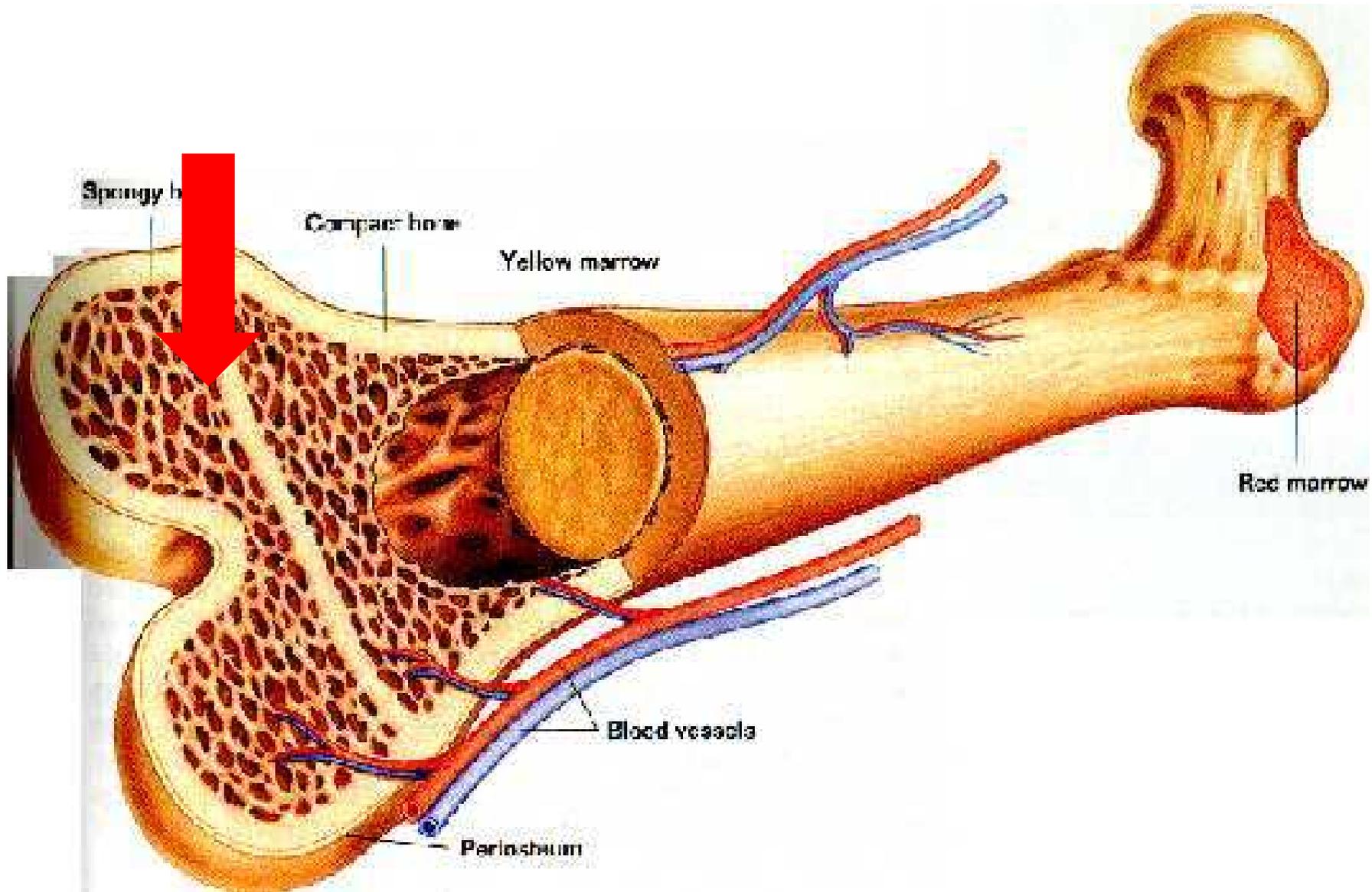
Moelle Osseuse

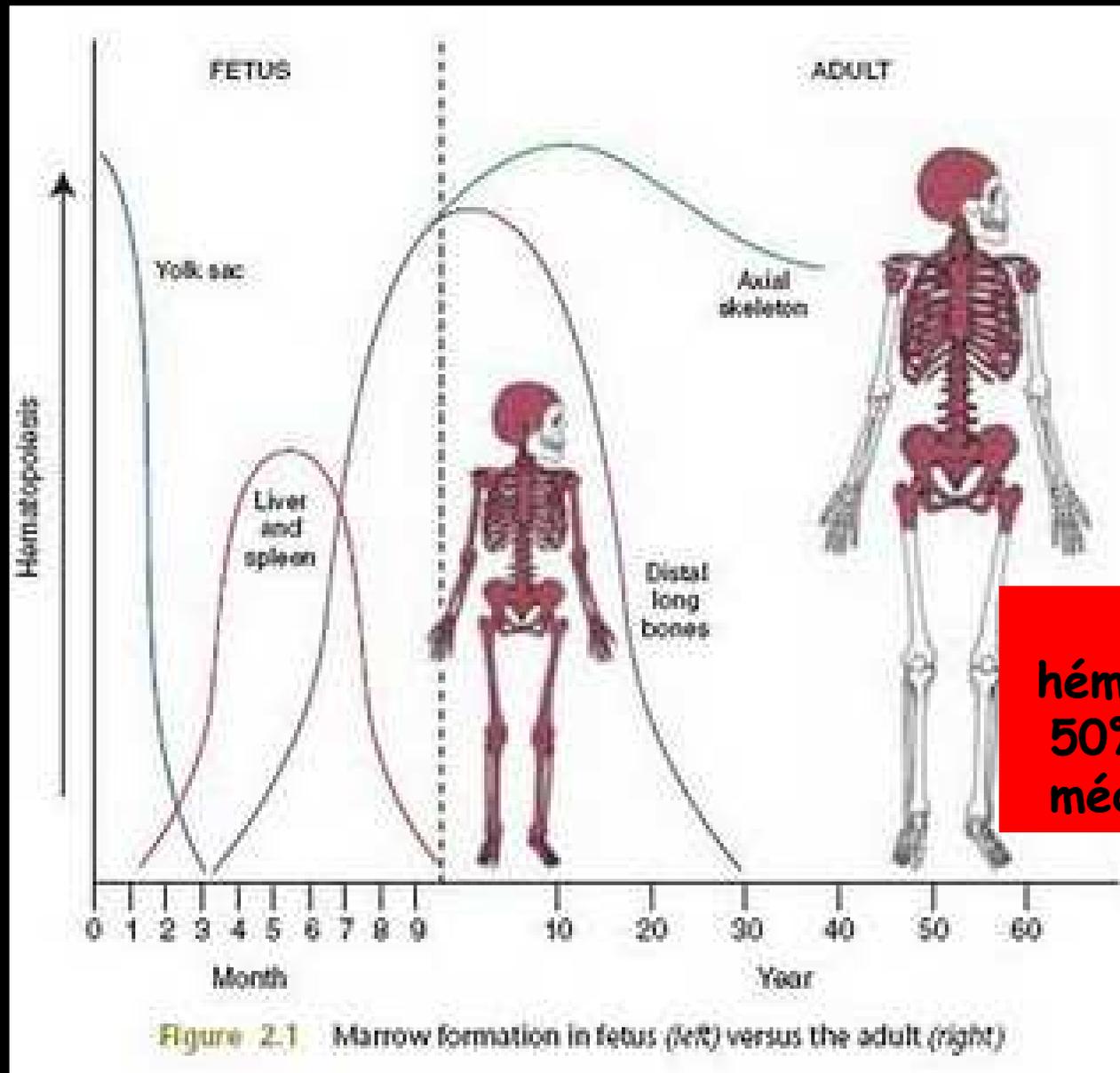


Rouge (hématopoïèse)
Jaune (adipocytes)



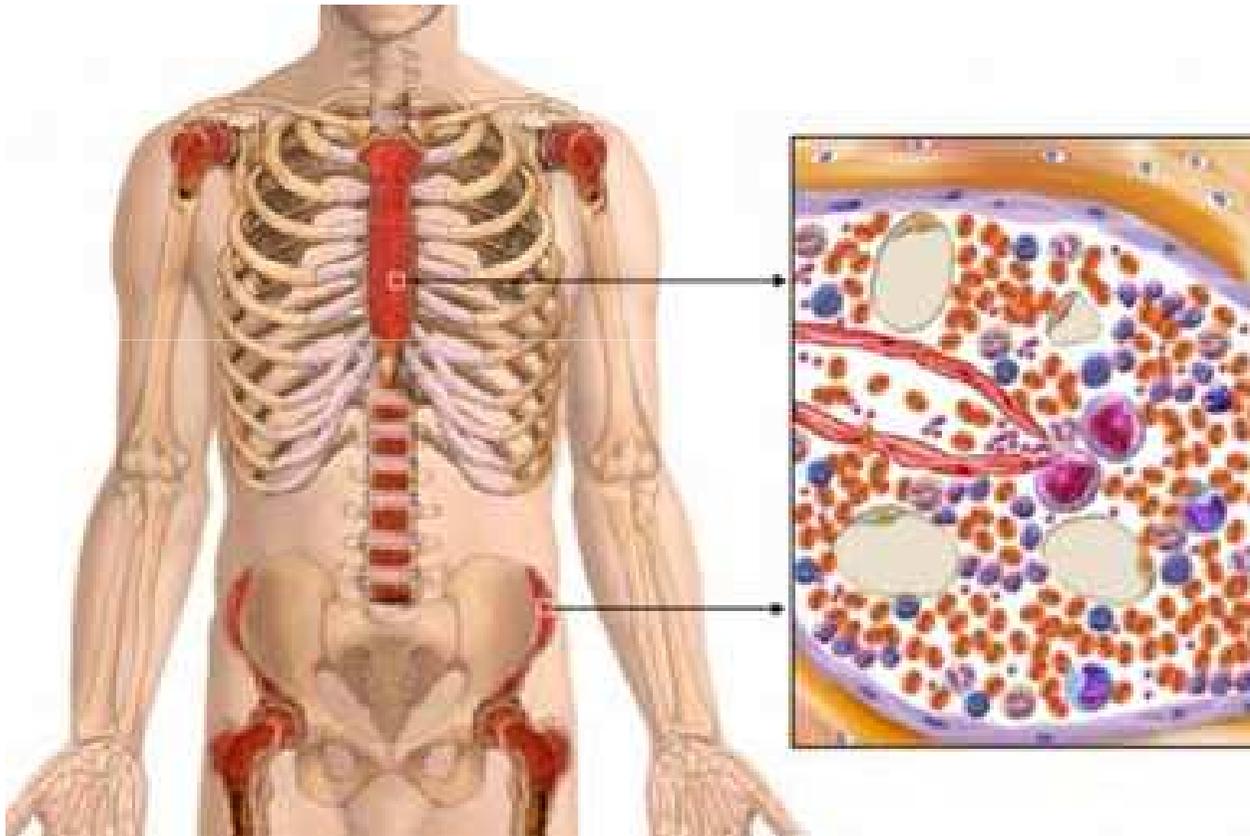
Section d'une tête fémorale montrant la moelle rouge et la moelle jaune





**Moelle
hématopoïétique :
50% du volume
médullaire total**

Localisation de la moelle osseuse hématopoïétique chez l'adulte



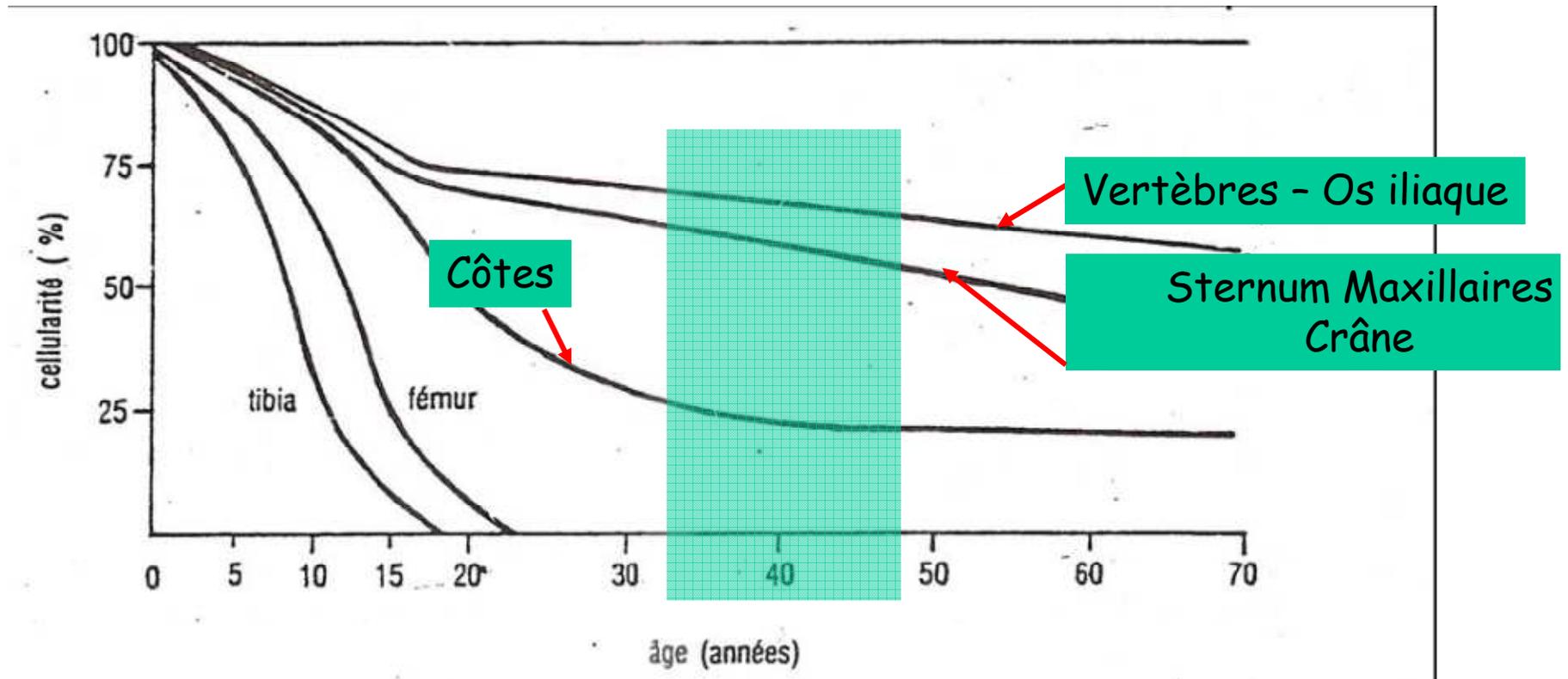
4 à 6 % du poids
corporel

(1.5 litres)

Nombreux territoires
osseux



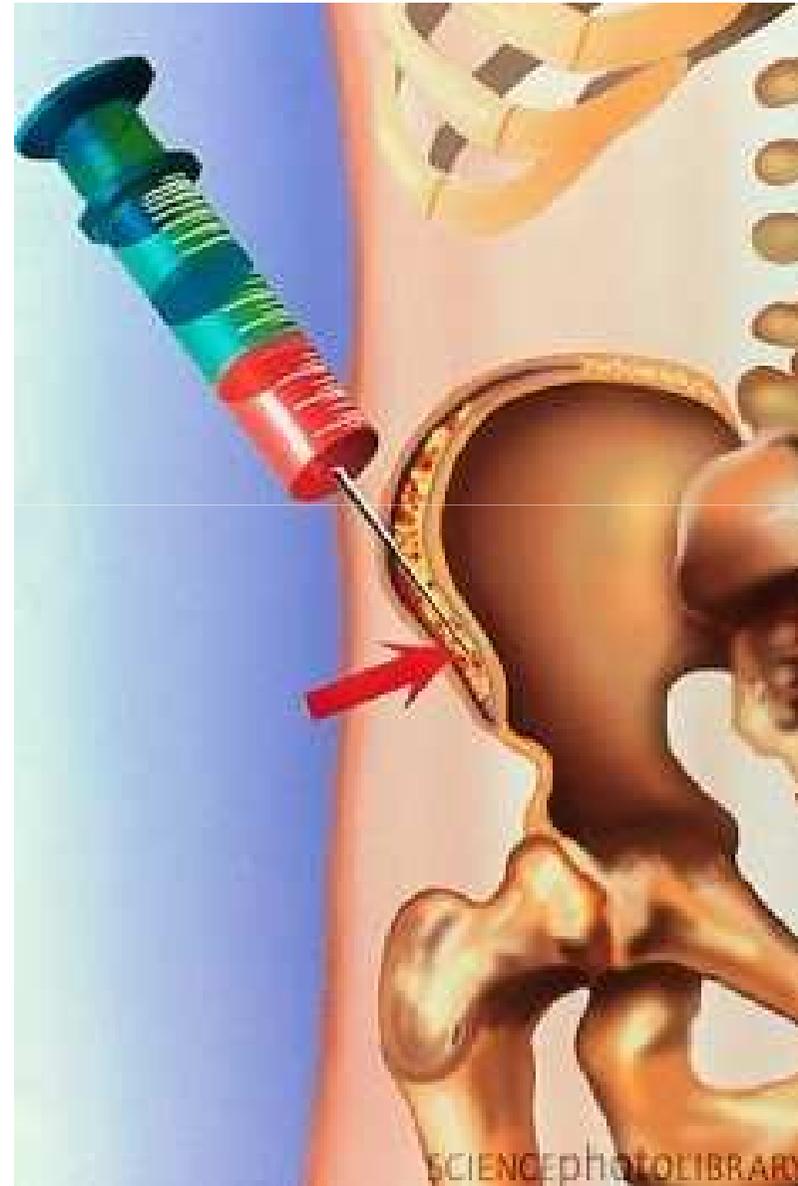
Sternum
Base du crâne
Os iliaque
Vertèbres
Épiphyses des os longs
Maxillaires



Activité des tissus hématopoïétiques en fonction de l'âge

L'hématopoïèse au niveau des os long régresse avec l'âge

Exploration de la Moelle Osseuse





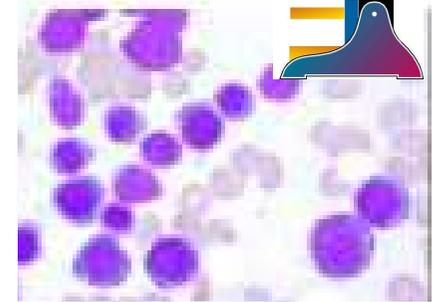
Trocarts



Ponction de la moelle osseuse



Réalisation des **Frottis médullaires**



Observation au Microscope
(coloration au MGG)

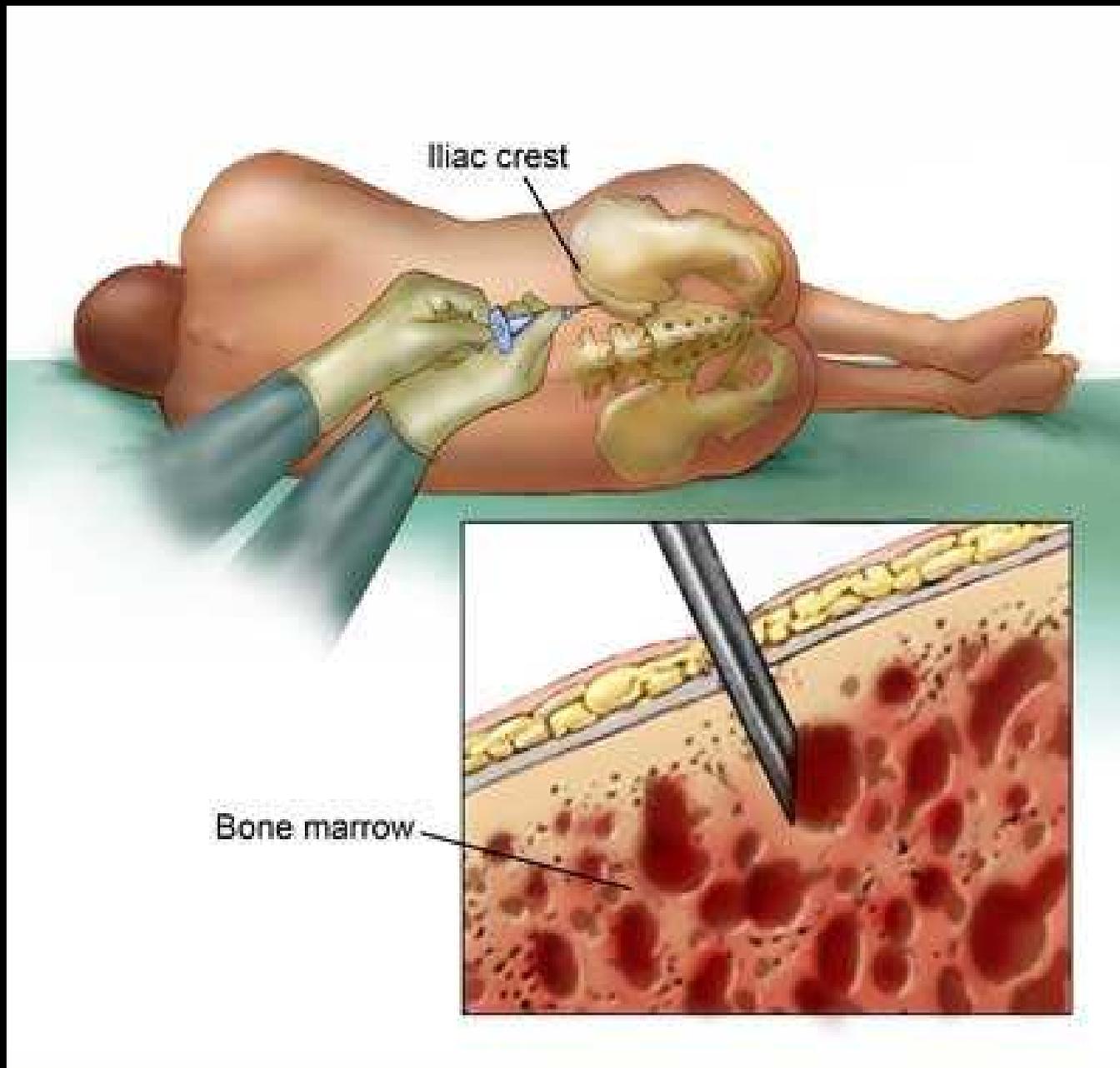


Le myélogramme **est un frottis** effectué à partir cellules prélevées dans la moelle osseuse (étude cytologique)

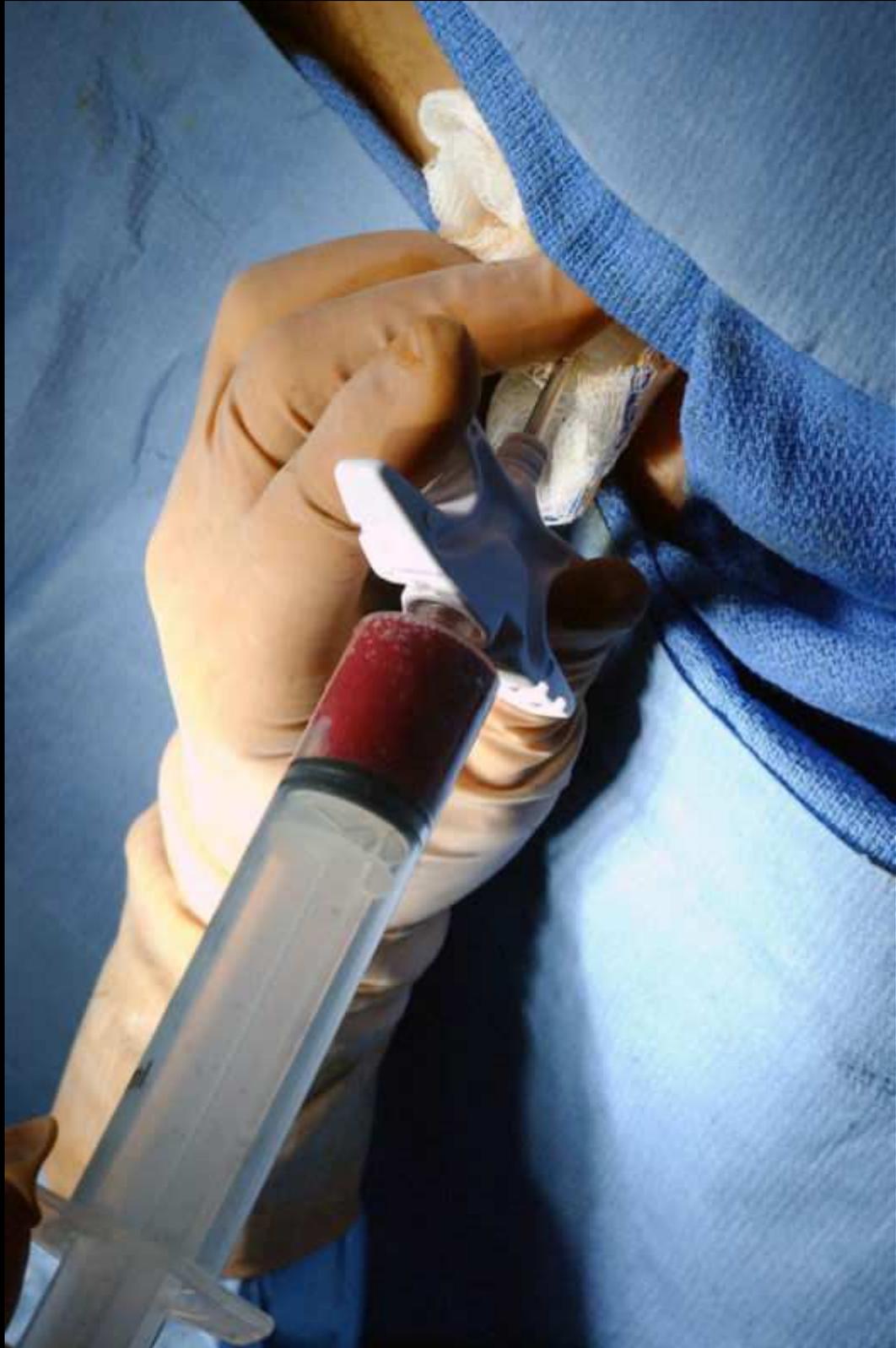
Il permet d'analyser au microscope la morphologie et l'équilibre des différentes cellules de la moelle

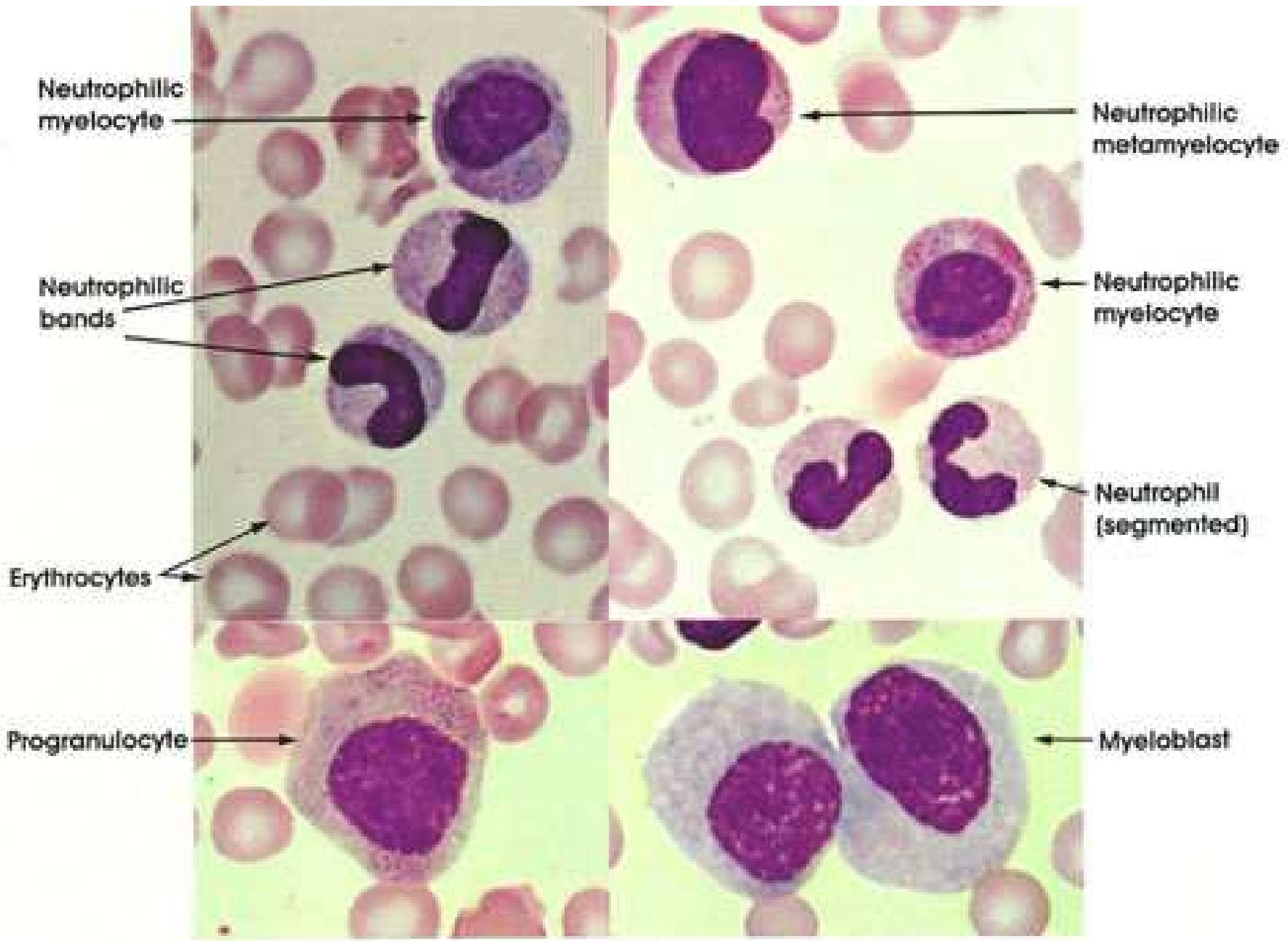


Appréciation **quantitative** et **qualitative** des précurseurs des différentes lignées de cellules sanguines



<http://healthpictures.in/bone-marrow-disease/>





10 μ m

Le myélogramme permet :

- d'apprécier la richesse d'ensemble du prélèvement
(Un prélèvement pauvre peut traduire une aplasie médullaire)
- de dénombrer les mégacaryocytes sur l'ensemble du frottis
- de déceler d'éventuels placards de cellules cancéreuses métastatiques

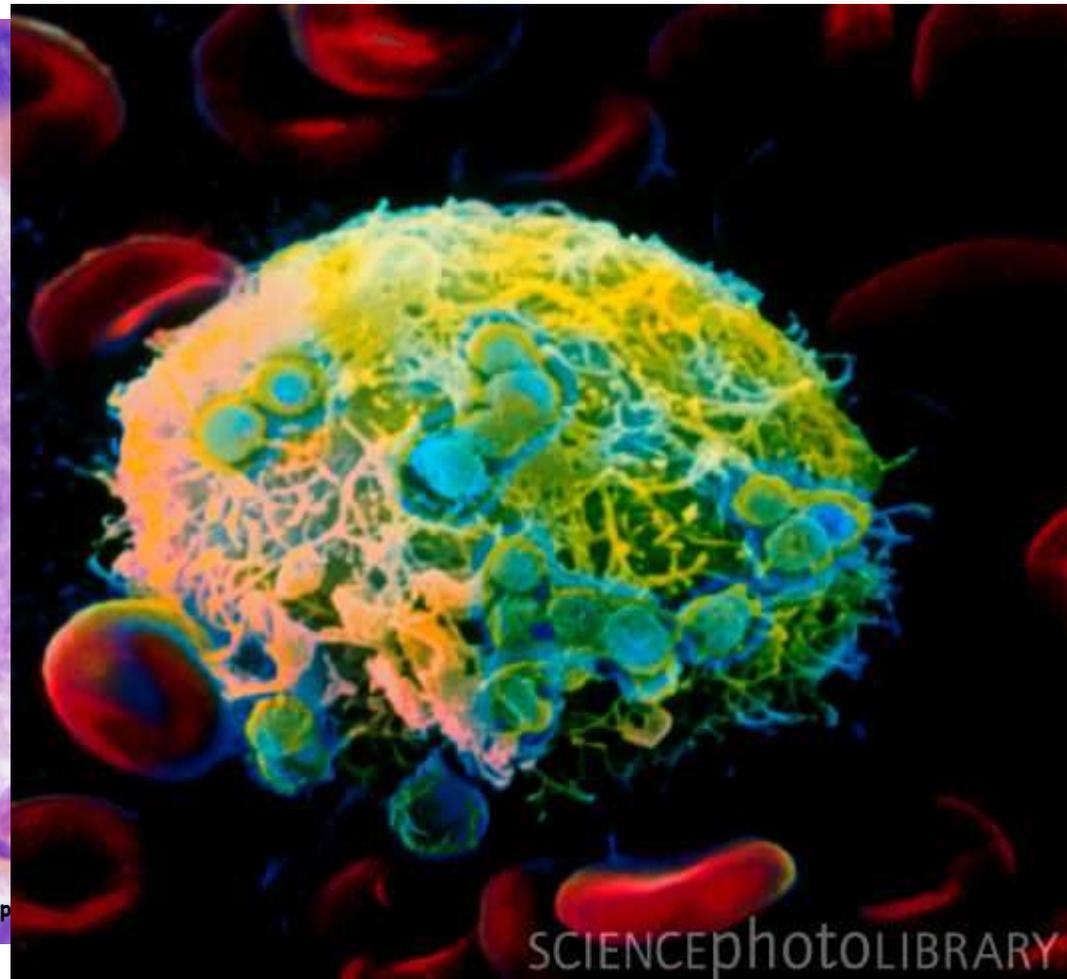
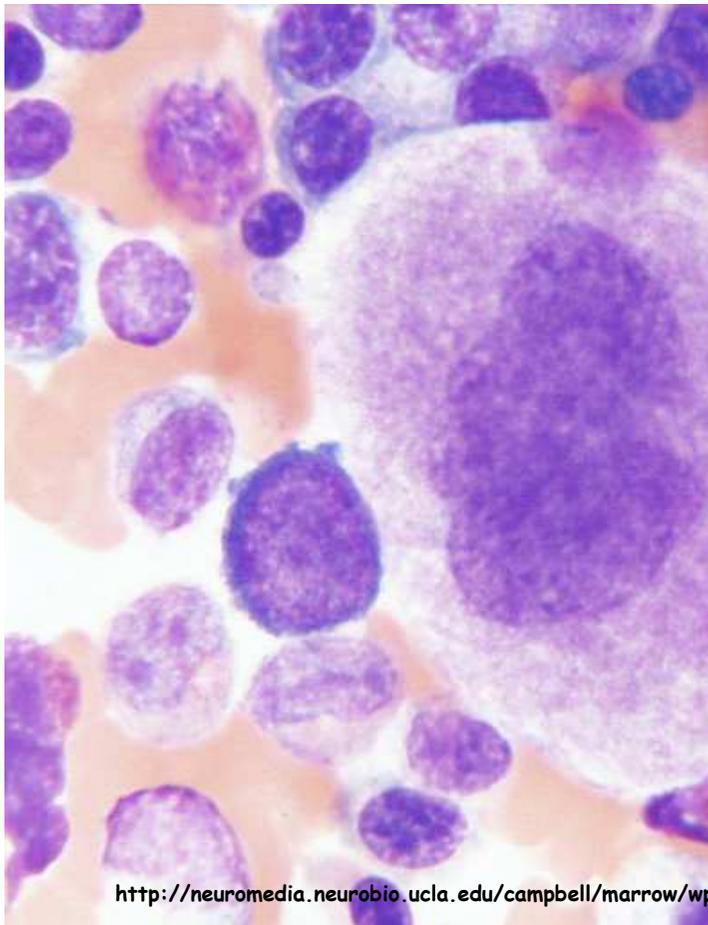
-de dénombrer les différentes populations cellulaires

Expression quantitative de la cellularité, appréciée à l'objectif à immersion :

- classe 0 : **moelle désertique**, présence inconstante de cellules
- classe 1: **moelle pauvre**, présence de 1 à 15 cellules par champ
- classe 2: **moelle hypoplasique**, 16 à 30 cellules par champ
- classe 3: **moelle normale** de 31 à 60 cellules par champ
- classe 4: **moelle hyperplasique**, plus de 60 cellules par champ

Répartition des cellules des différentes lignées cellulaires sur un myélogramme

Une formule est réalisée sur tous les éléments nucléés autres que les mégacaryocytes (précurseurs plaquettes)



Cellules souches 0.5 à 1%

Cellules granuleuses 60%

Cellules érythroïdes 25%

Cellules mégacaryocytaires 0.5 %

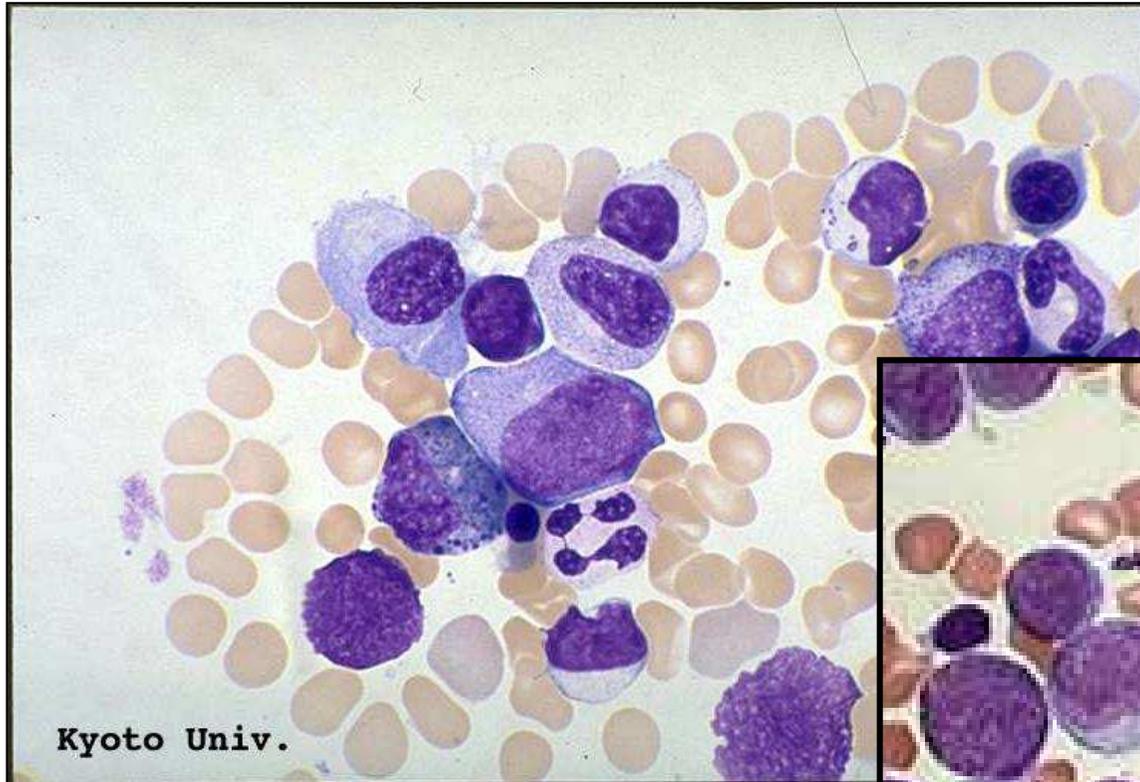
Précurseurs monocytes <10 %*

Précurseurs Lymphocytes 10%

Plasmocytes 3%

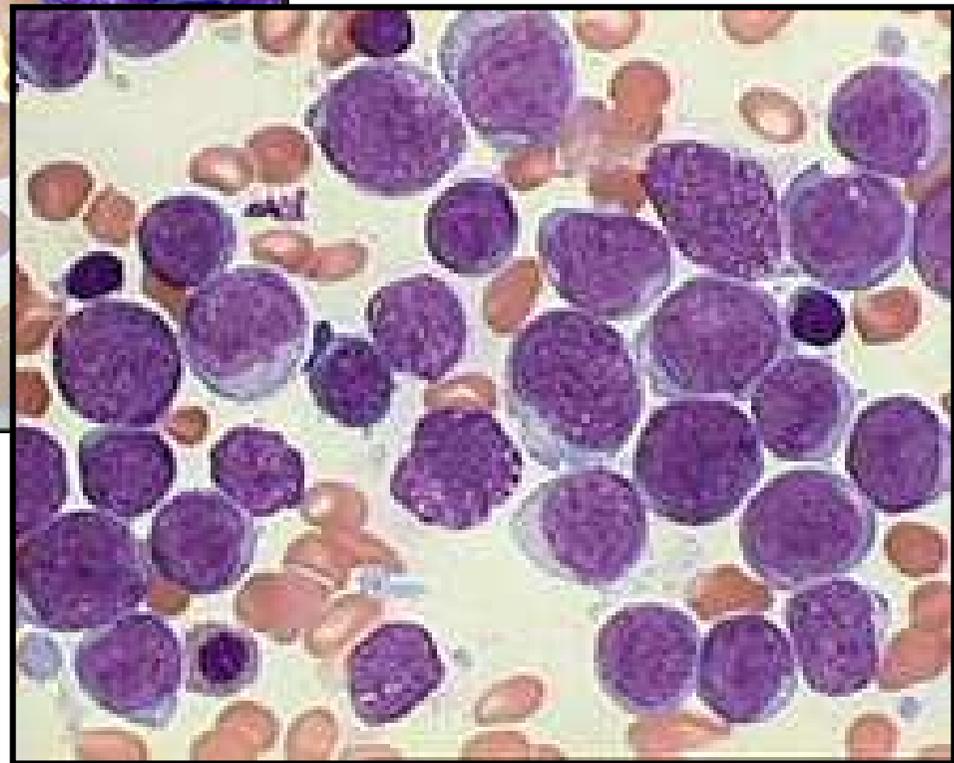


Aucun rapport avec
chiffres du sang !!



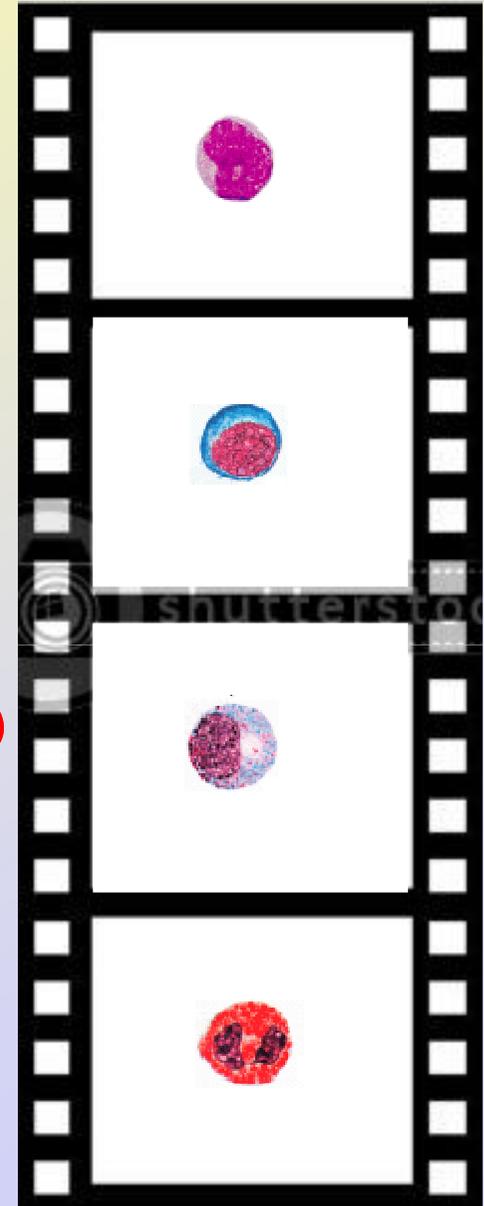
Kyoto Univ.

Myélogramme normal



**Prolifération de lymphoblastes
dans une leucémie lymphoblastique**

Comment se
déroule
l'Hématopoïèse ?



Leucocytes

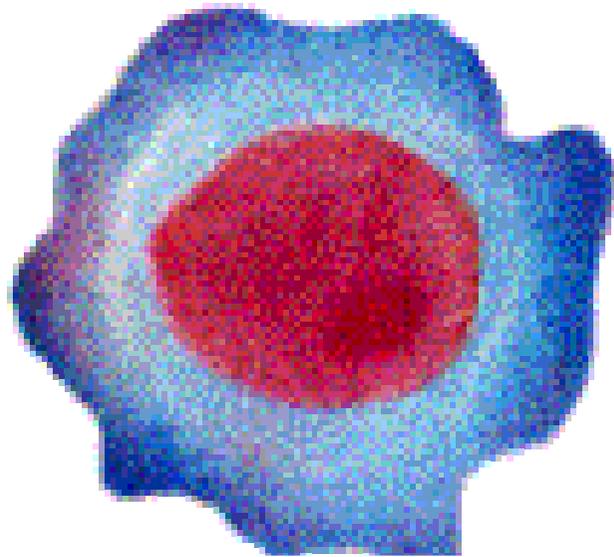
Érythrocytes

Plaquettes

Moelle osseuse



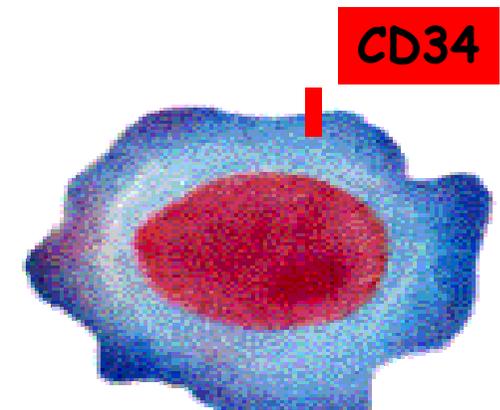
Les Cellules Souches Hématopoïétiques



Description

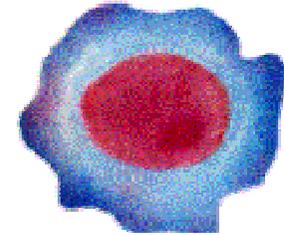
- Localisées dans la moelle osseuse (+/- sang)
- Appelées **CFU-S** (*Colony Forming Units-Spleen*) ou **HSC** ou **CSH** (*Hematopoietic Stem Cells*)
- Peu nombreuses : 0,5 % des cellules médullaires
- Non identifiables morphologiquement (forme de petits lymphocytes)
- Expriment le marqueur de surface **CD34**
- Conservent leurs propriétés après congélation à -196°

Remarque : seules 10% en cours de division dans des conditions physiologiques normales



Propriétés des cellules souches hématopoïétiques

Totipotence

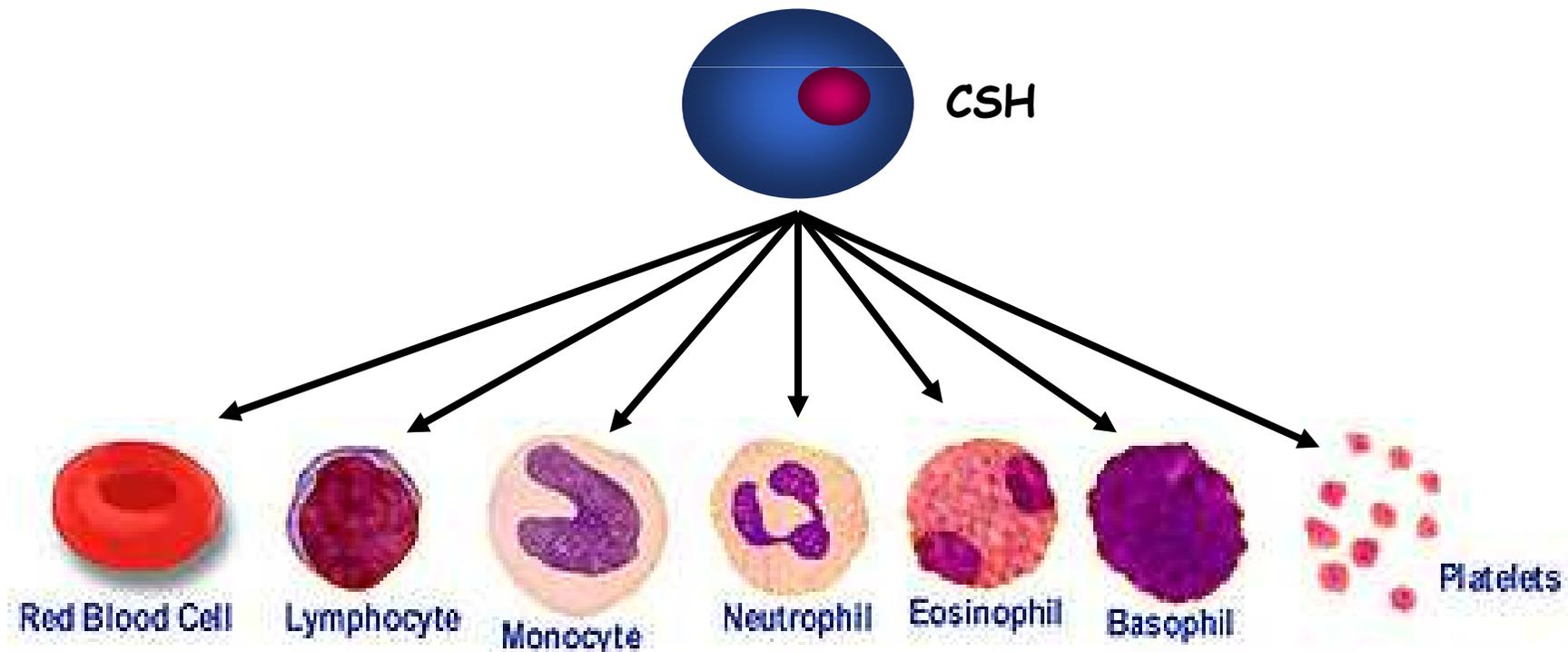


Auto renouvellement

Différenciation

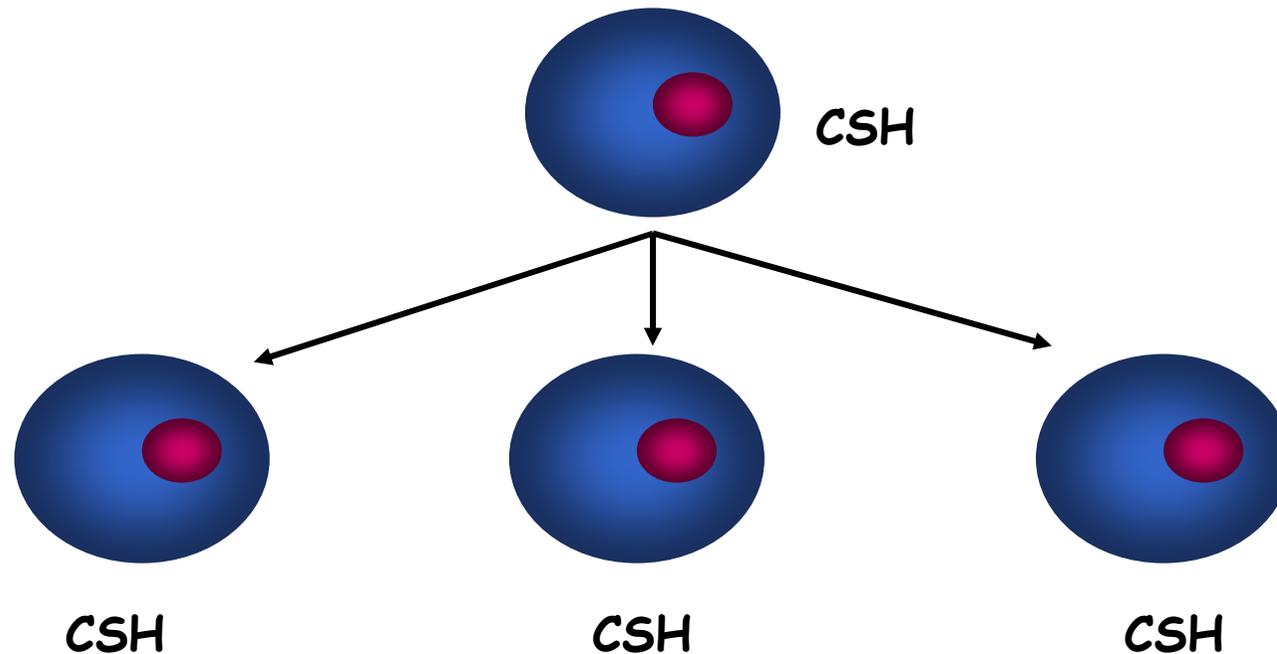
1) Totipotence

Une CSH est capable de donner, après différenciation, naissance à n'importe quelle cellule du sang:

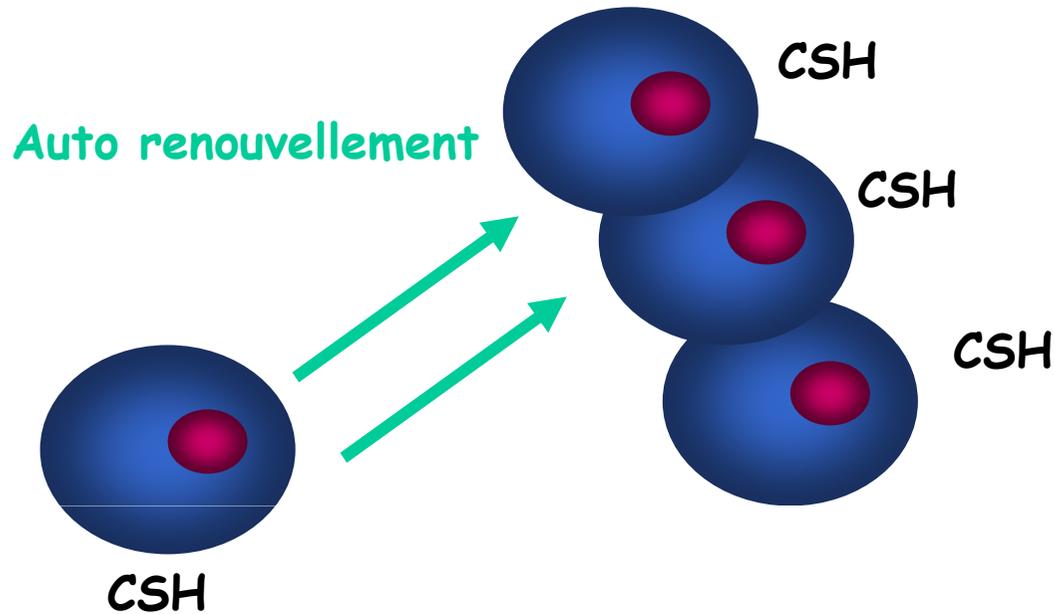


2) Auto renouvellement

Reproduction **à l'identique** des CSH pour maintenir un stock permanent de CSH dans la moelle



3) Différenciation



Irréversible

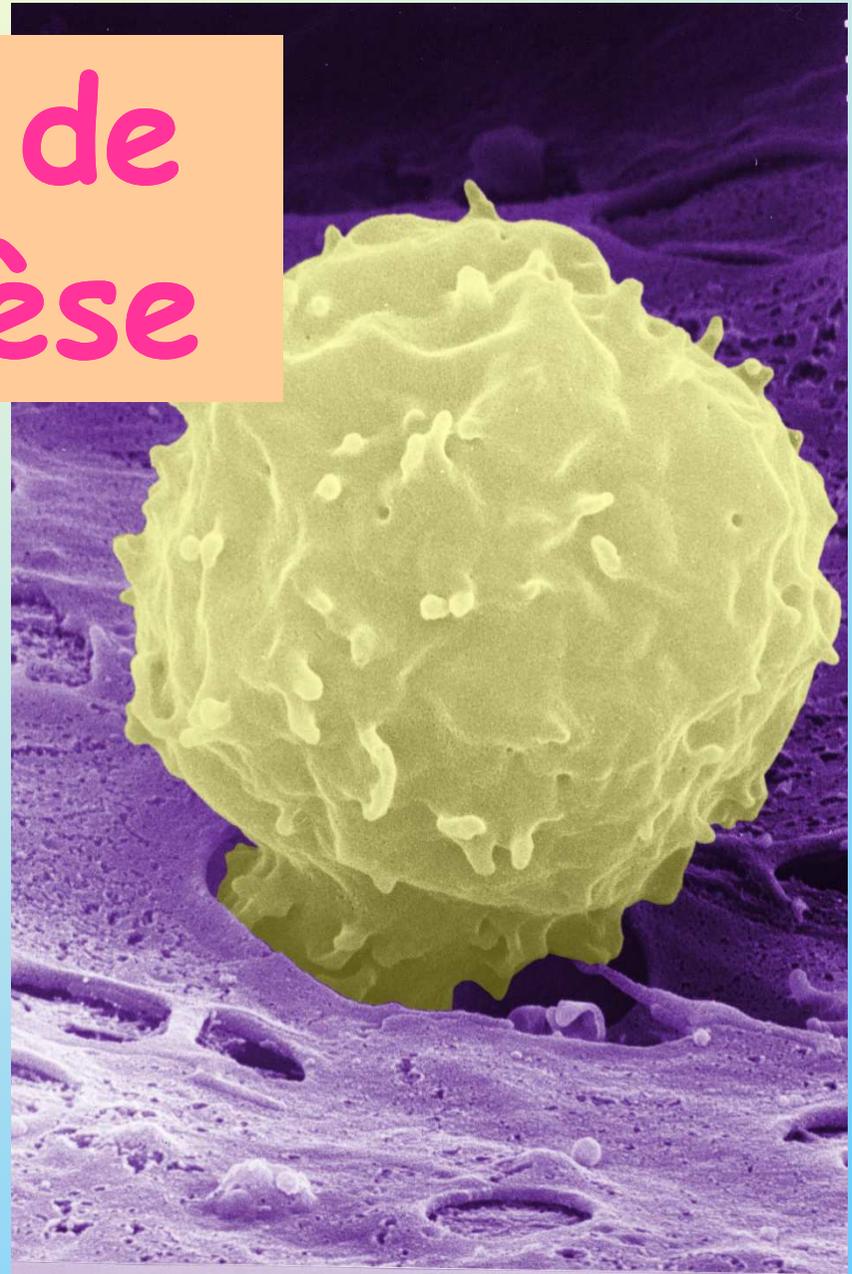
Perte de la totipotence

Différ

En réponse à un signal, une cellule souche peut commencer à se différencier de façon irréversible et s'engager ainsi dans une lignée cellulaire donnée

s

Les Étapes de l'Hématopoïèse



Deux lignées principales de cellules sanguines

Lignée **lymphoïde** : à l'origine des

Lymphocytes B

Lymphocytes T



Lymphocyte

Lignée **myéloïde** : à l'origine des

Érythrocytes

Granulocytes

Monocytes

Mégacaryocytes (Plaquettes)



Red Blood Cell



Monocyte



Neutrophil



Eosinophil



Basophil



Platelets

Hématopoïèse

```
graph TD; A[Hématopoïèse] --> B[Lymphopoïèse]; A --> C[Myélopoïèse]; B --> D[Lymphocytes]; C --> E[Érythropoïèse]; C --> F[Granulopoïèse]; C --> G[Monocytopoïèse]; C --> H[Thrombopoïèse]; E --> I[Érythrocytes]; F --> J[Granulocytes N, E, B]; G --> K[Monocytes]; H --> L[Thrombocytes];
```

Lymphopoïèse

→ Lymphocytes

Myélopoïèse

Érythropoïèse → Érythrocytes

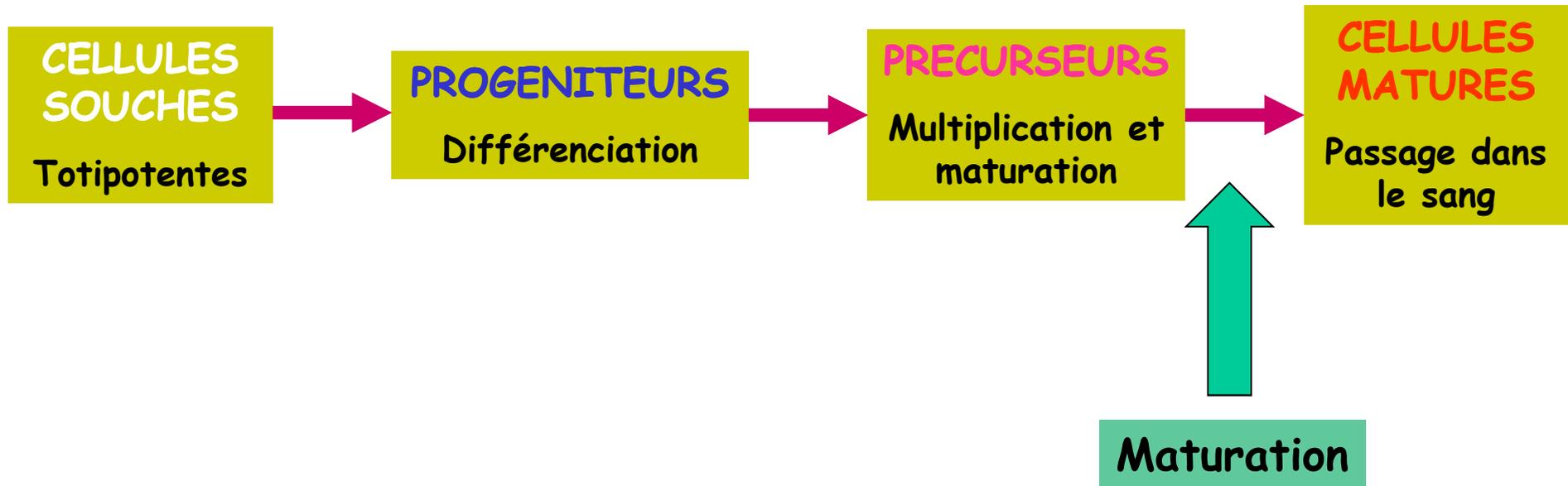
Granulopoïèse → Granulocytes N, E, B

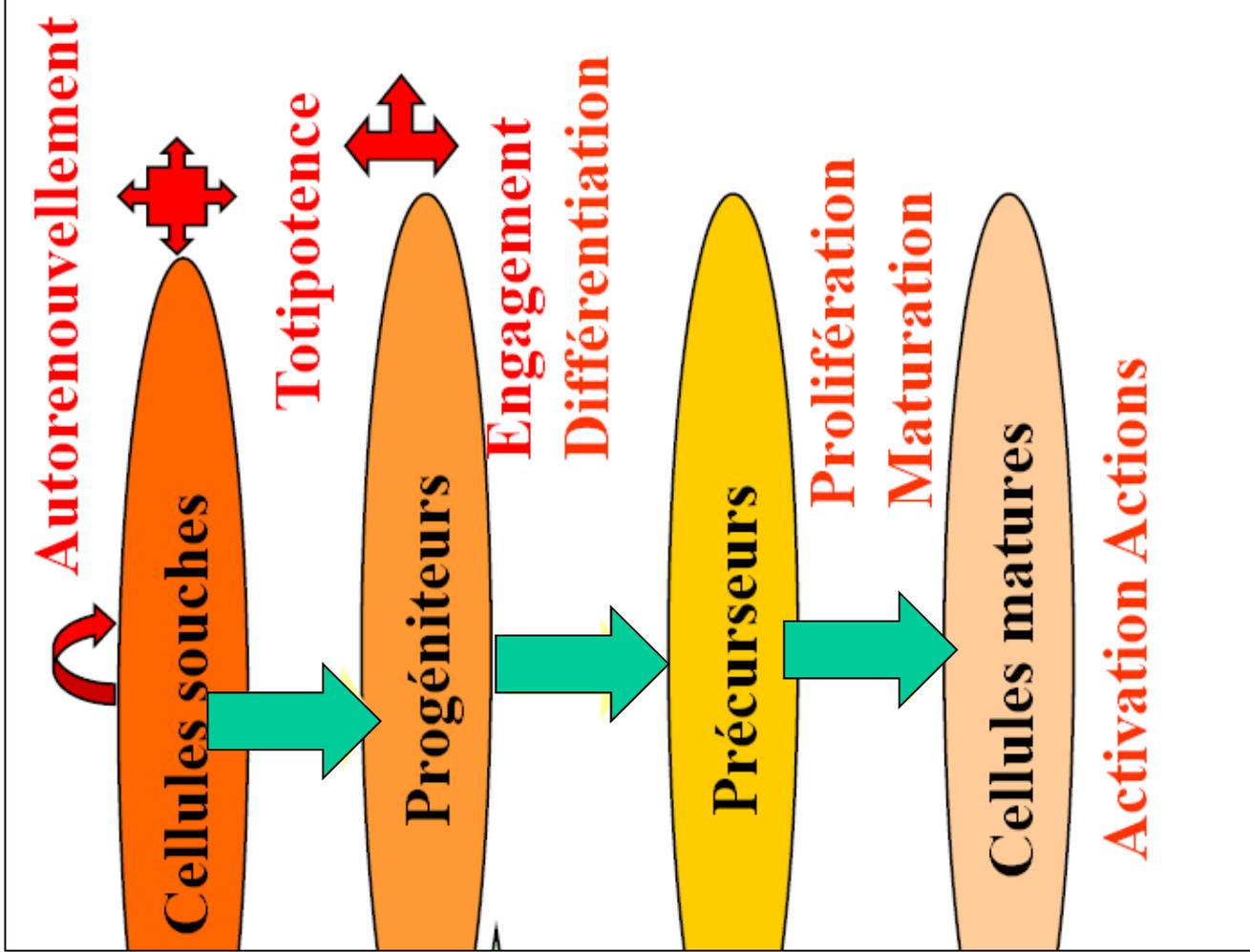
Monocytopoïèse → Monocytes

Thrombopoïèse → Thrombocytes

Les compartiments de l'hématopoïèse

4

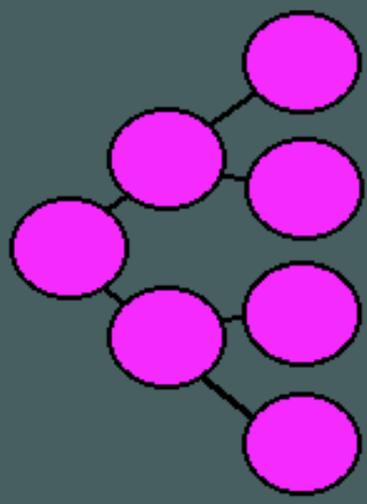




pas de reconnaissance morphologique

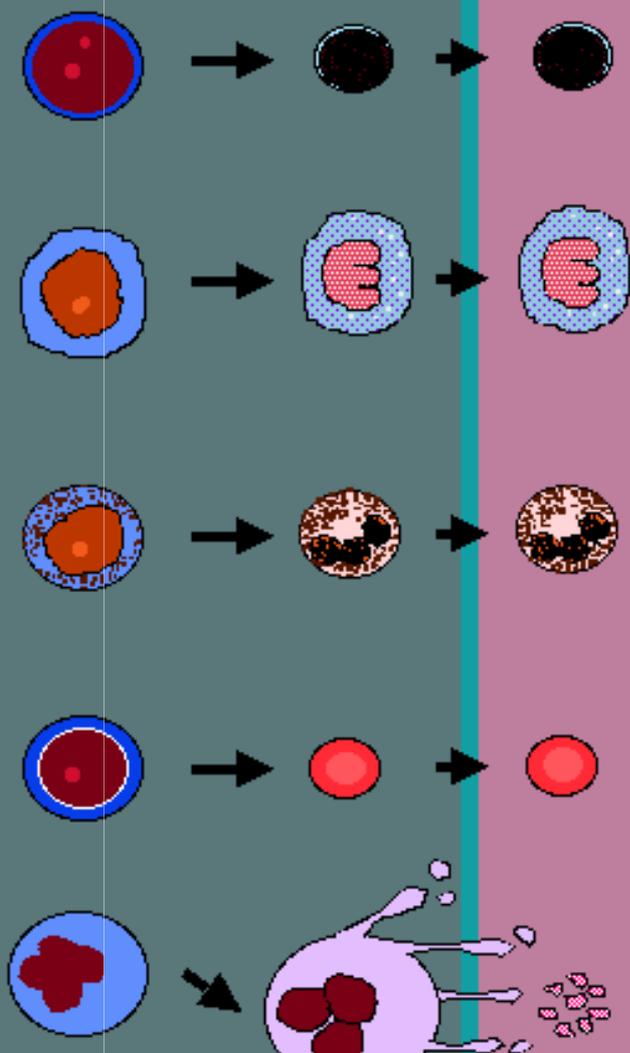
reconnaissance morphologique

sang



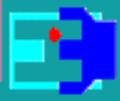
cellules souches
CD34+CD38-

progéniteurs
CD34+CD38+

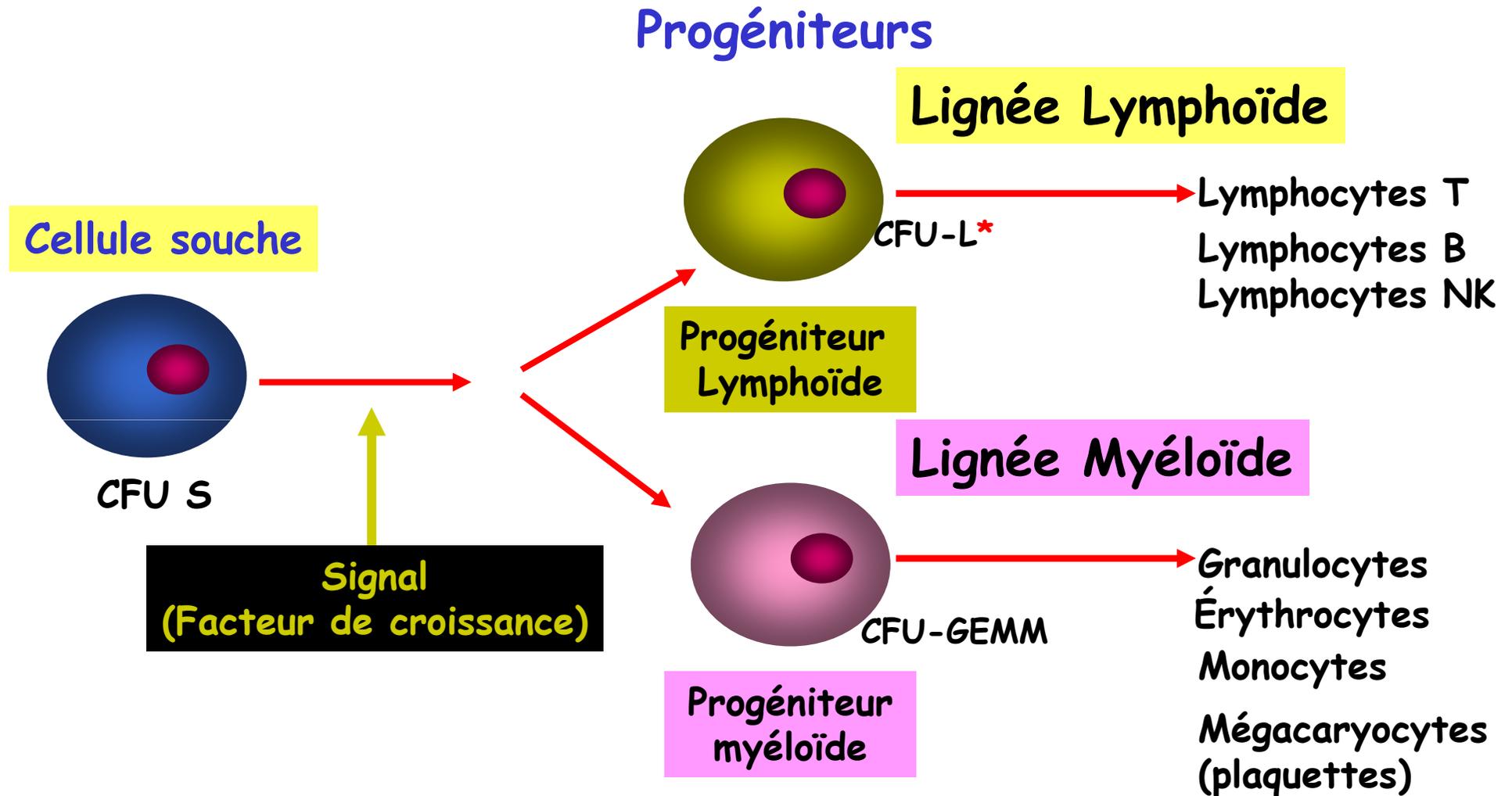


précurseurs

cellules matures



Première différenciation d'une cellule souche totipotente



* Colony Forming Unit

Progéniteurs



0.5 à 1% des cellules médullaires

- Premier stade du processus de **différenciation** des cellules souches
- Morphologiquement **identiques aux cellules souches**
(non identifiables morphologiquement)
- Perdent leur totipotence et deviennent **pluripotents (multipotents)**
- Capacité de **renouvellement** mais plus faible que pour les CSH
- Acquisition de nouveaux marqueurs (CD33, HLA-DR...)

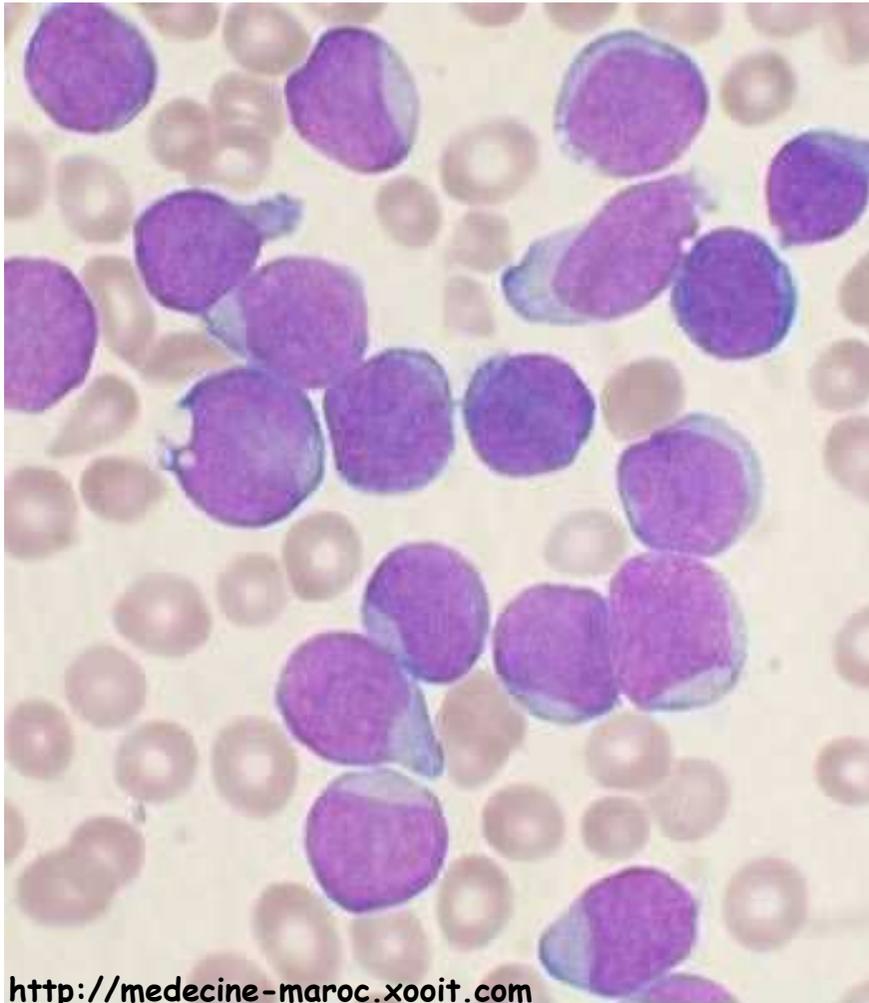
Les Précurseurs

Lymphoblastes, Érythroblastes,
Monoblastes, Myéloblastes,
Mégacaryoblastes



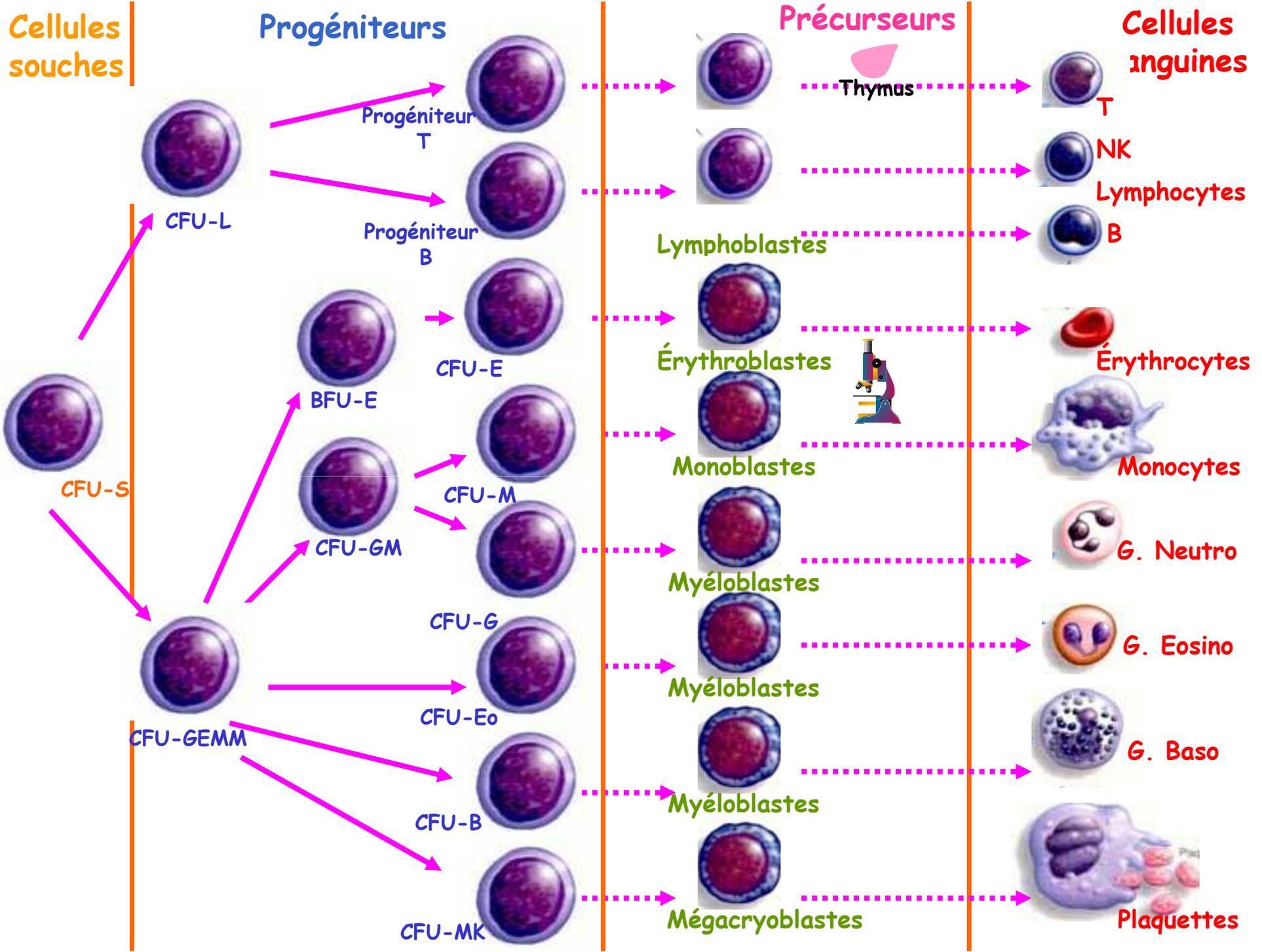
- Cellules polymorphes : donc premières cellules de l'hématopoïèse **identifiables morphologiquement**
- Maturation + Multiplication
- Perte de la capacité d' autorenouvellement

Normalement les blastes sont présents dans la moelle osseuse
seulement et pas dans le sang...

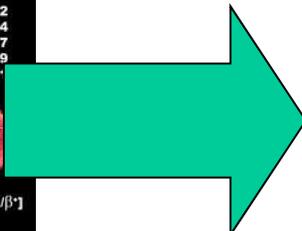
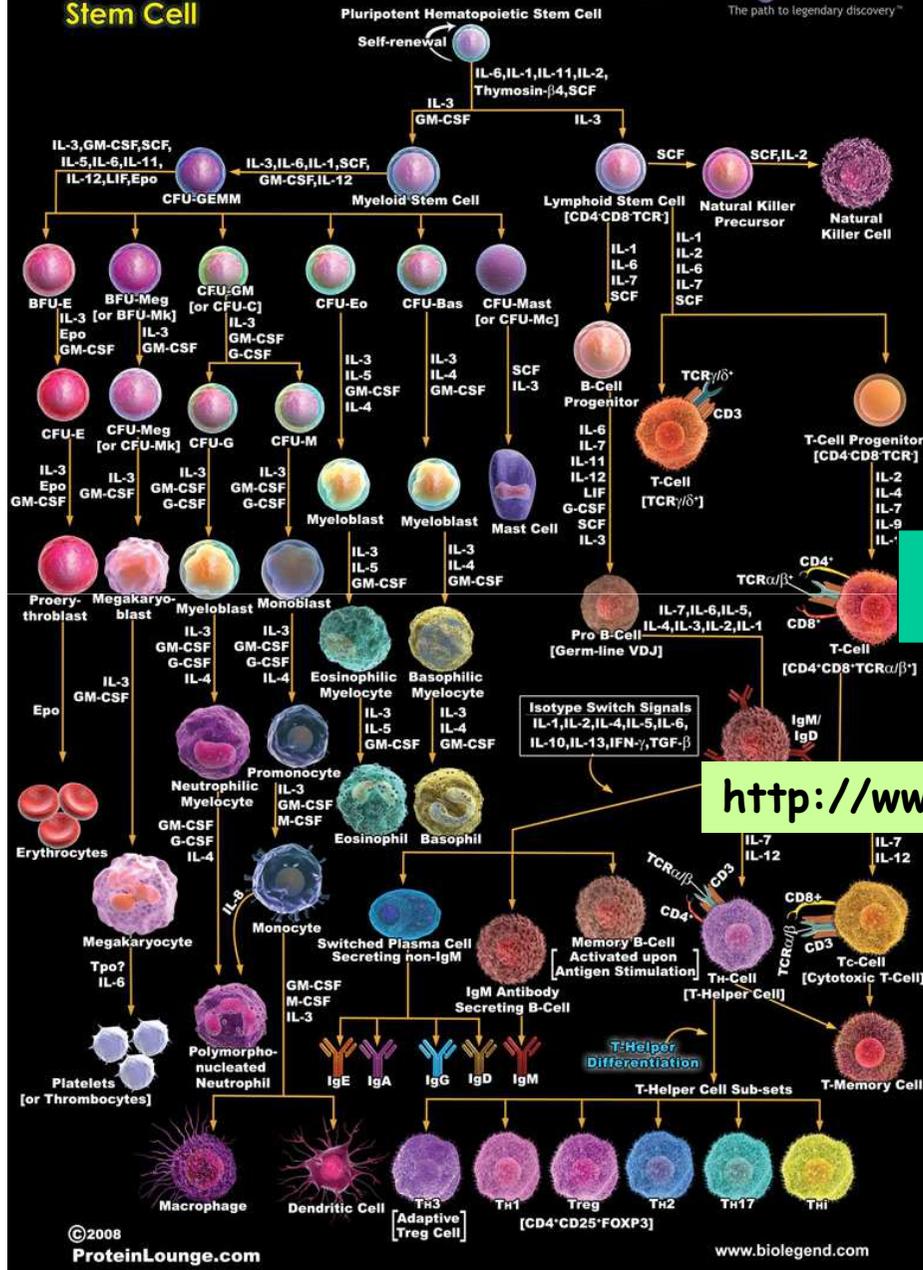


<http://medecine-maroc.xooit.com>

*leucémie
lymphoblastique
aiguë*



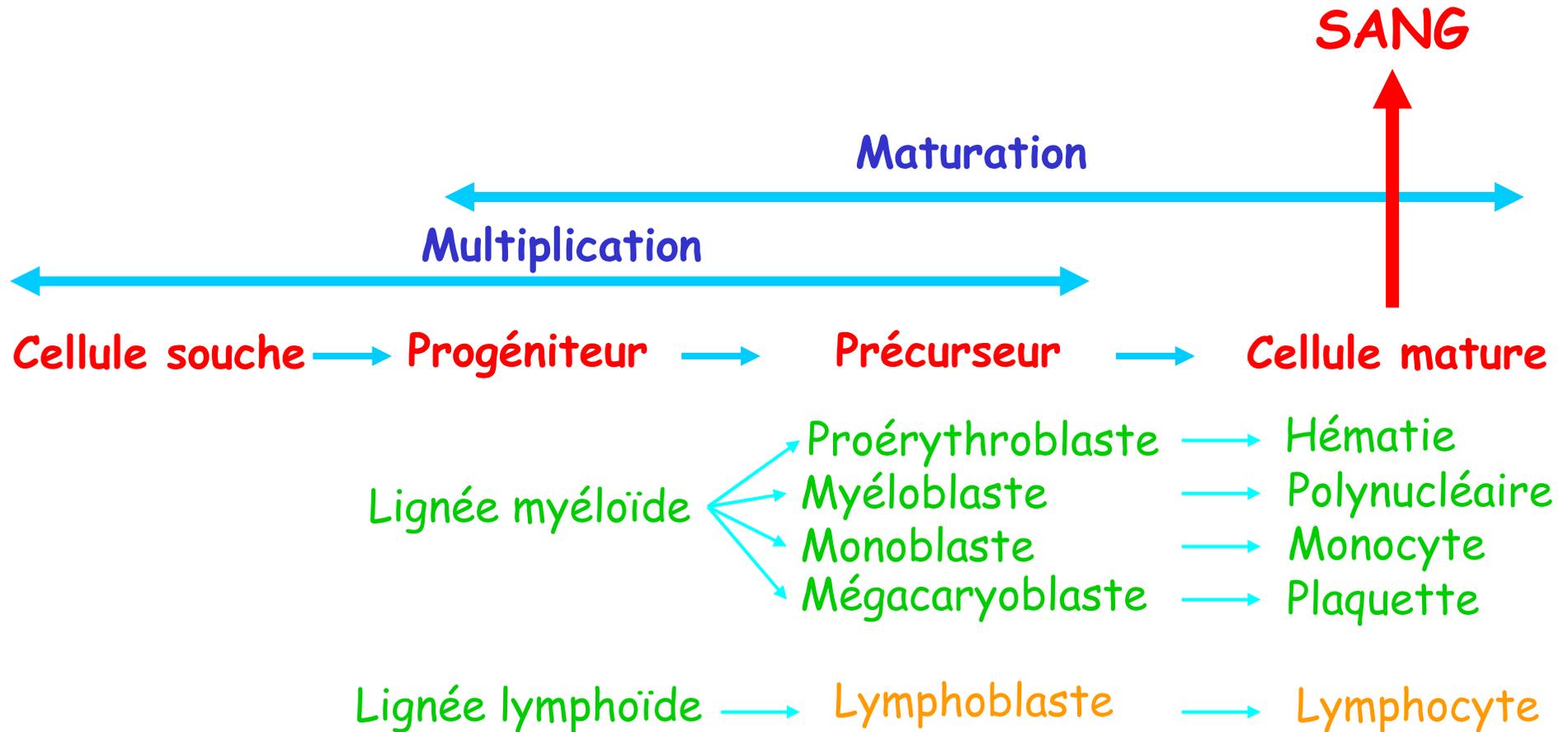
Hematopoiesis from Pluripotent Stem Cell



Voir détails sur :

http://www.biolegend.com/pop_pathway.php?id=6

Schéma général de l'hématopoïèse



Maturation

Modifications morphologiques
(passage par plusieurs stades cytologiques successifs)

Communes

- ↓ Taille cellulaire
- ↓ Rapport nucléoplasmique
- Condensation chromatine
- Disparition des nucléoles

Spécifiques

- Polylobulation du noyau
- Apparition granulations cyt
(lignée granulocytaire)
- Perte du Noyau
- Synthèse d'HG
(lignée érythrocytaire)
- Apparition de marqueurs
membranaires spécifiques

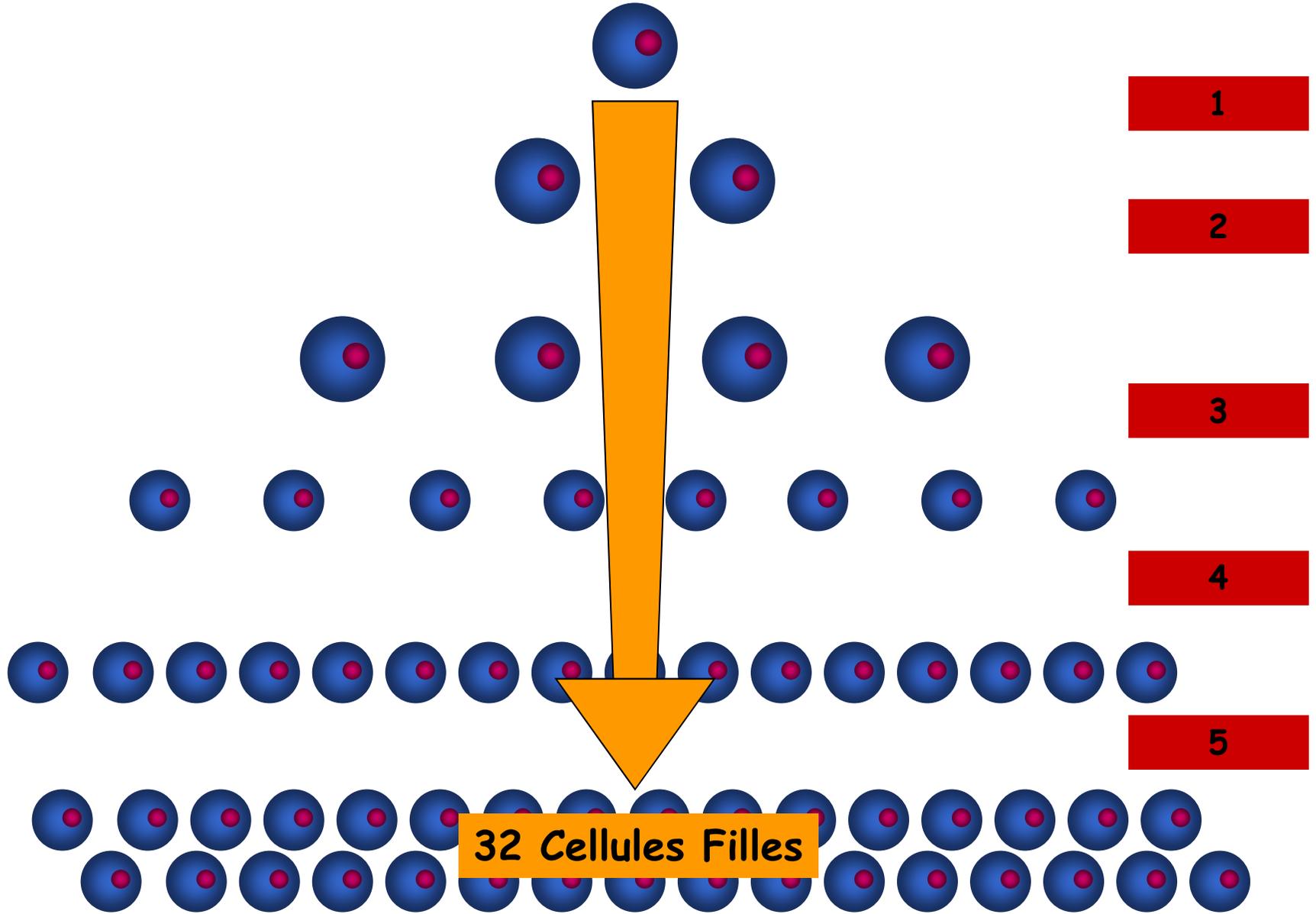
Multiplication

Selon la lignée, **1** précurseur subit
3 à 5 mitoses successives
et peut donc donner jusqu'à
32 cellules filles*...

*sauf cas particulier des mégacaryocytes à l'origine des
plaquettes : endomitoses

1 Précurseur

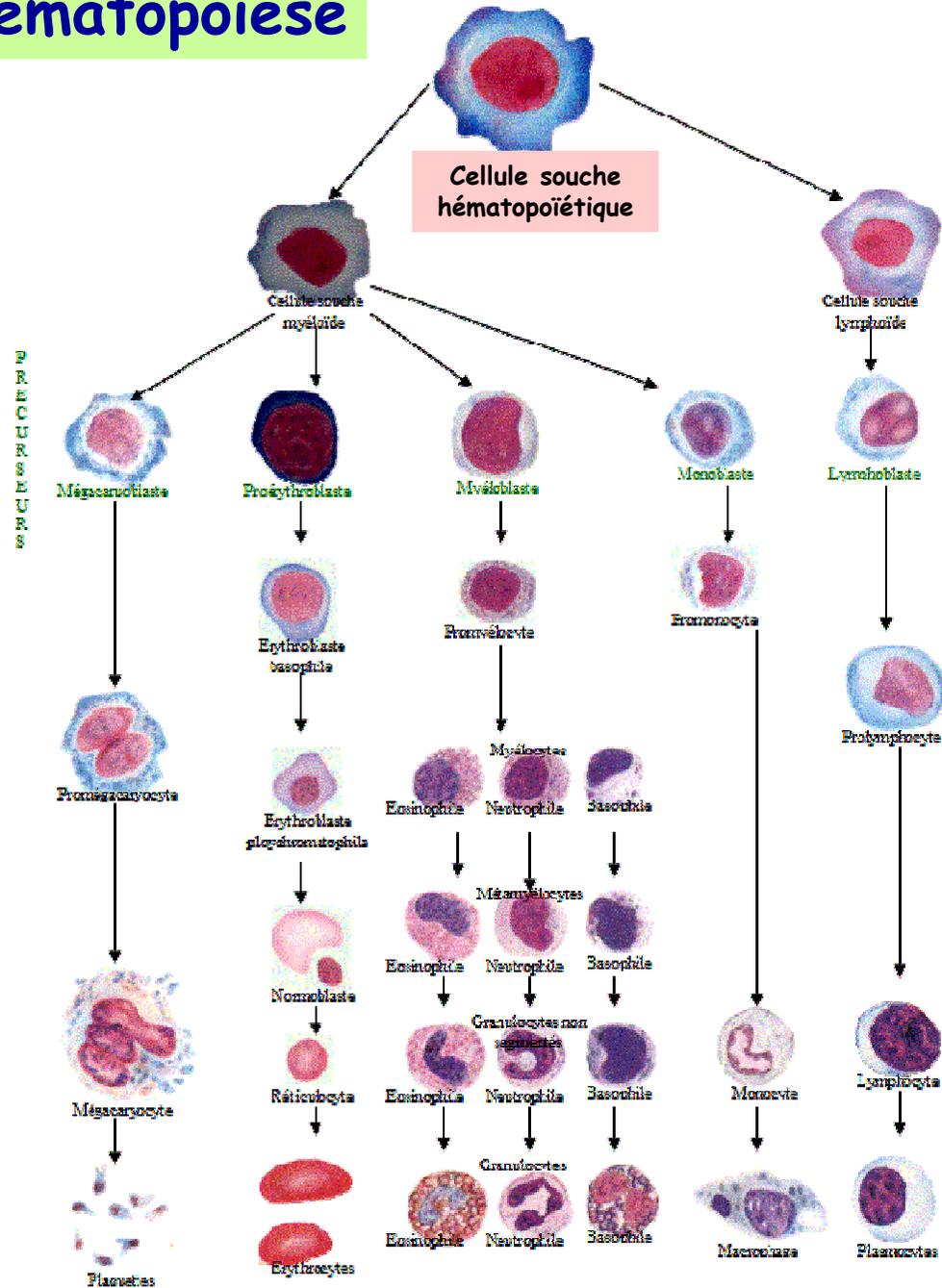
Mitoses



32 Cellules Filles

Étapes de l'hématopoïèse

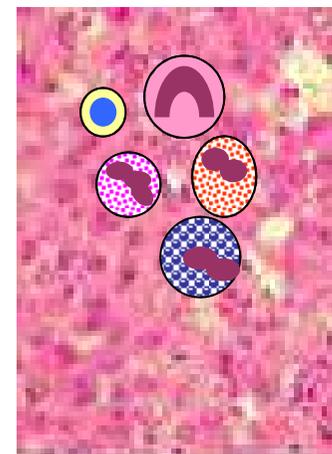
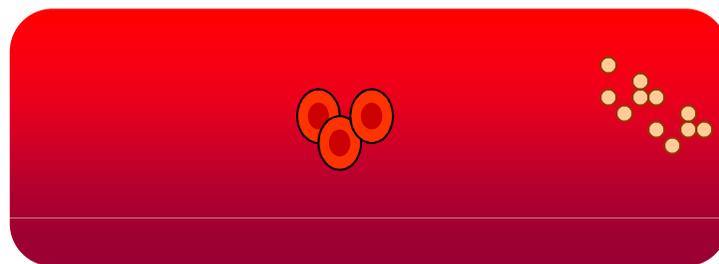
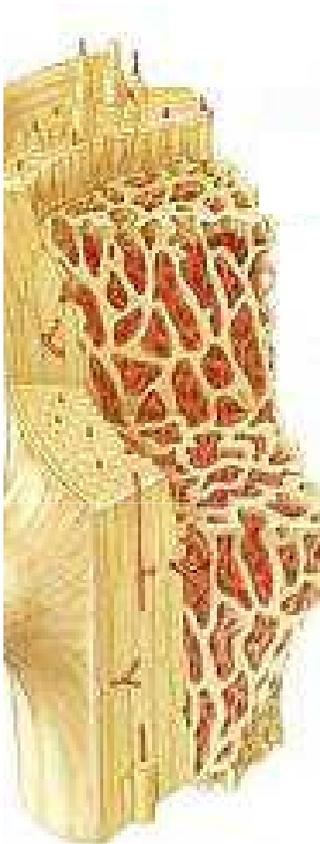
Hématopoïèse



Production

**Transport
+Fonction**

Fonction



Moelle osseuse

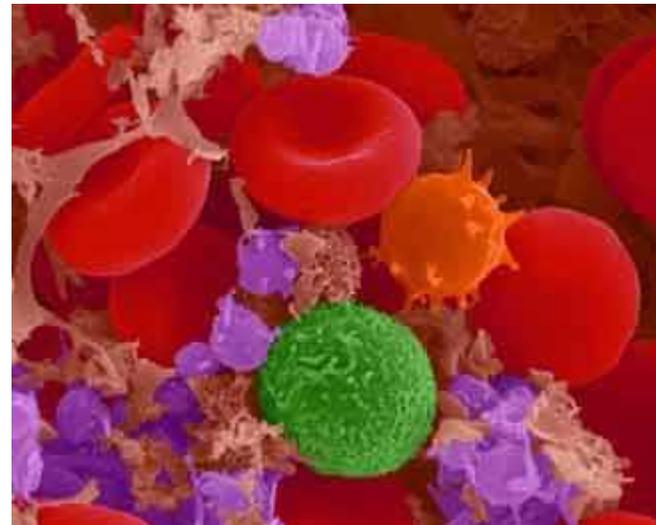
Sang

Tissus

Selon le type de cellule sanguine considéré, l'hématopoïèse peut présenter quelques particularités au cours de son déroulement.

3 cas particuliers de l'hématopoïèse :

- l'érythropoïèse
- la thrombopoïèse
- la lymphopoïèse

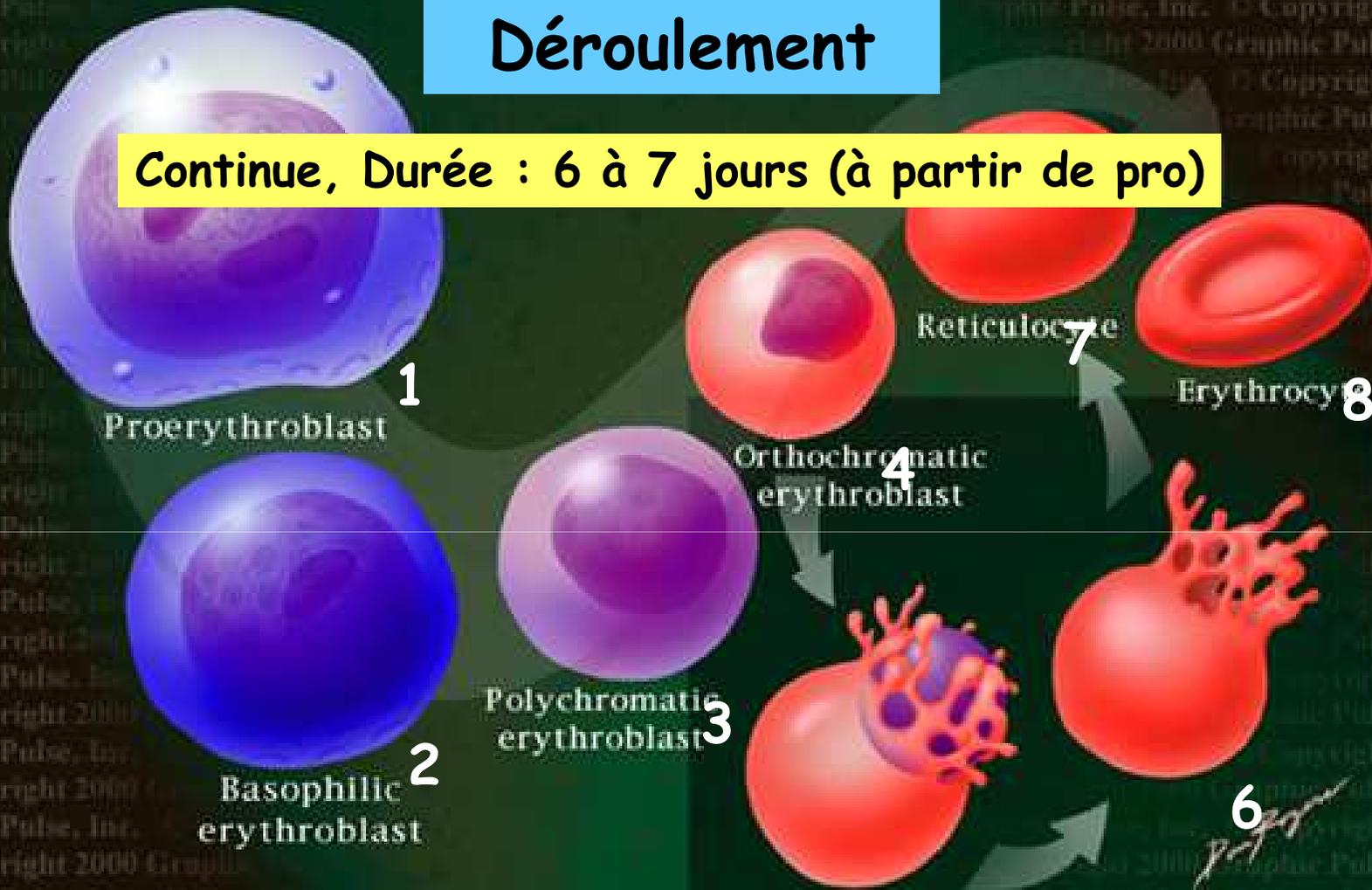


L'Érythropoïèse



Déroulement

Continue, Durée : 6 à 7 jours (à partir de pro)



Caractérisée par :

Perte du noyau
Synthèse d'hémoglobine

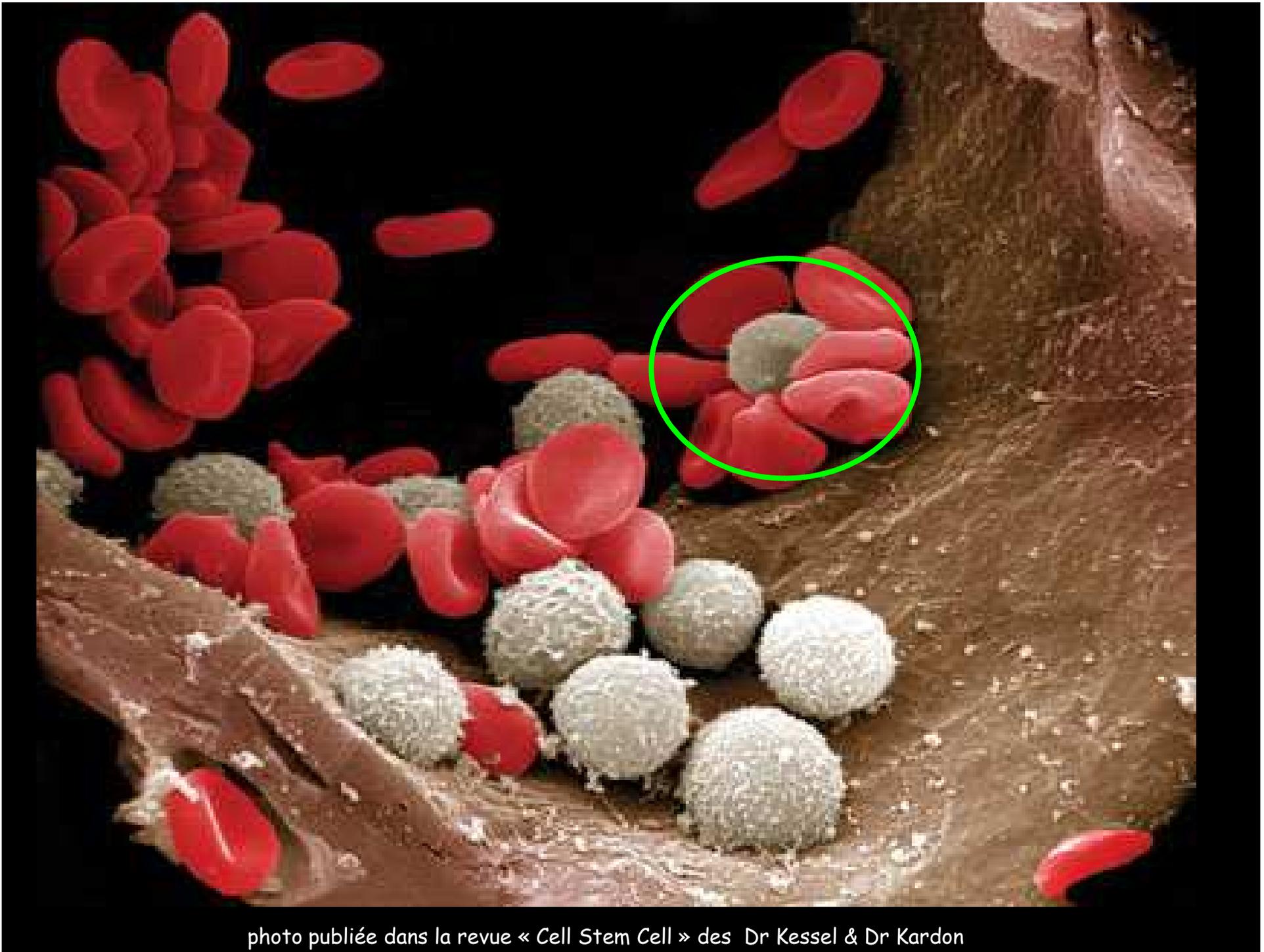
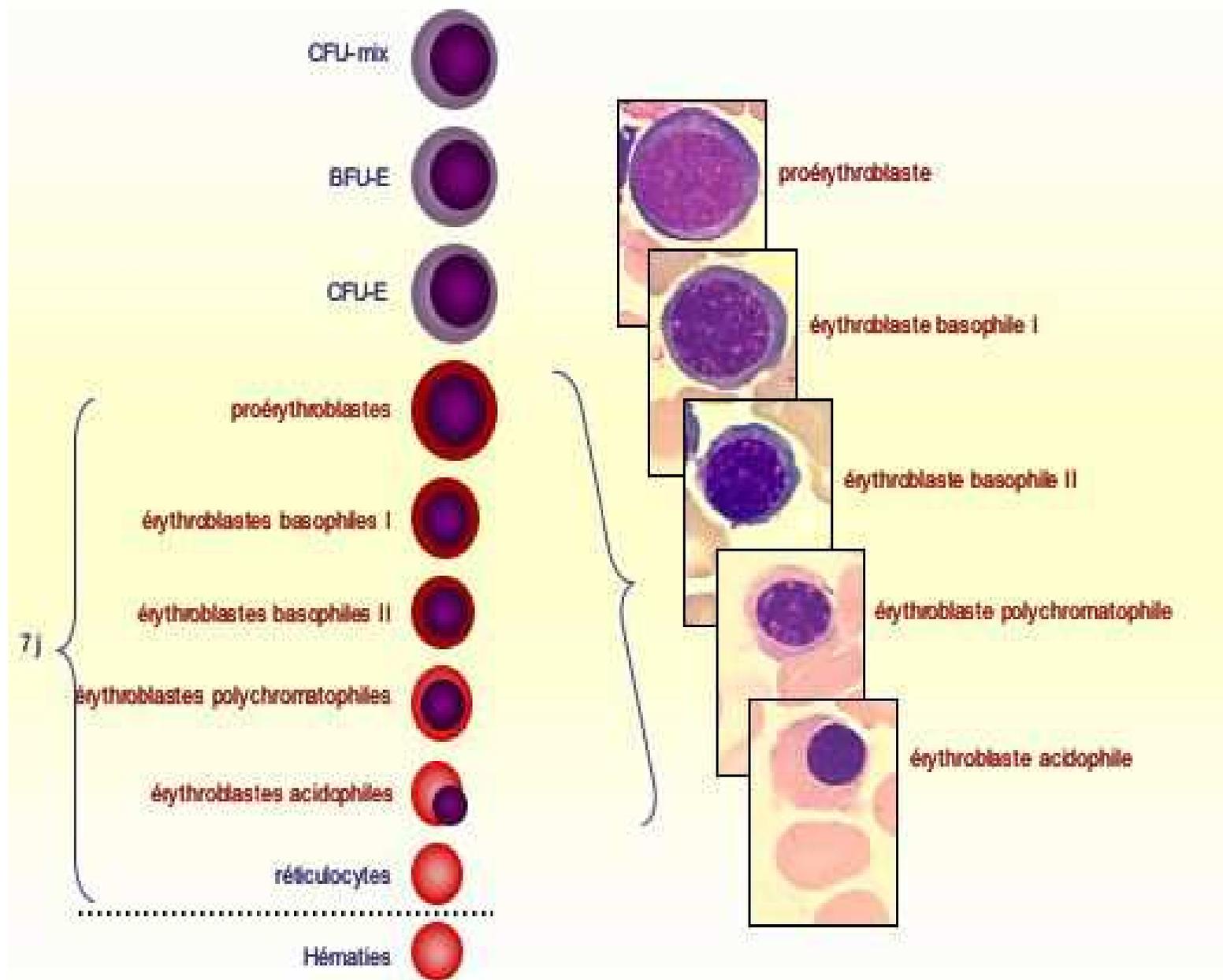
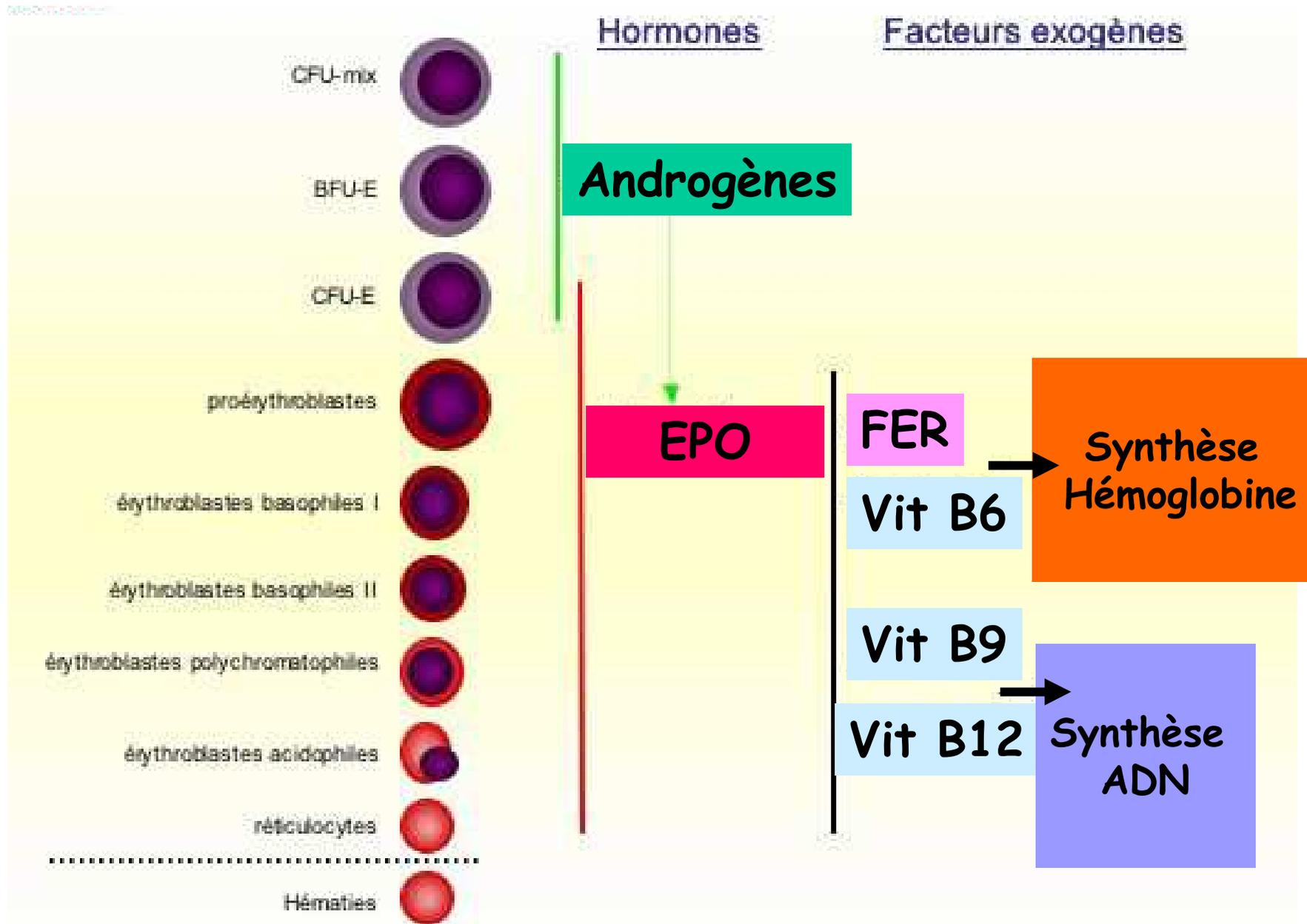


photo publiée dans la revue « Cell Stem Cell » des Dr Kessel & Dr Kardon



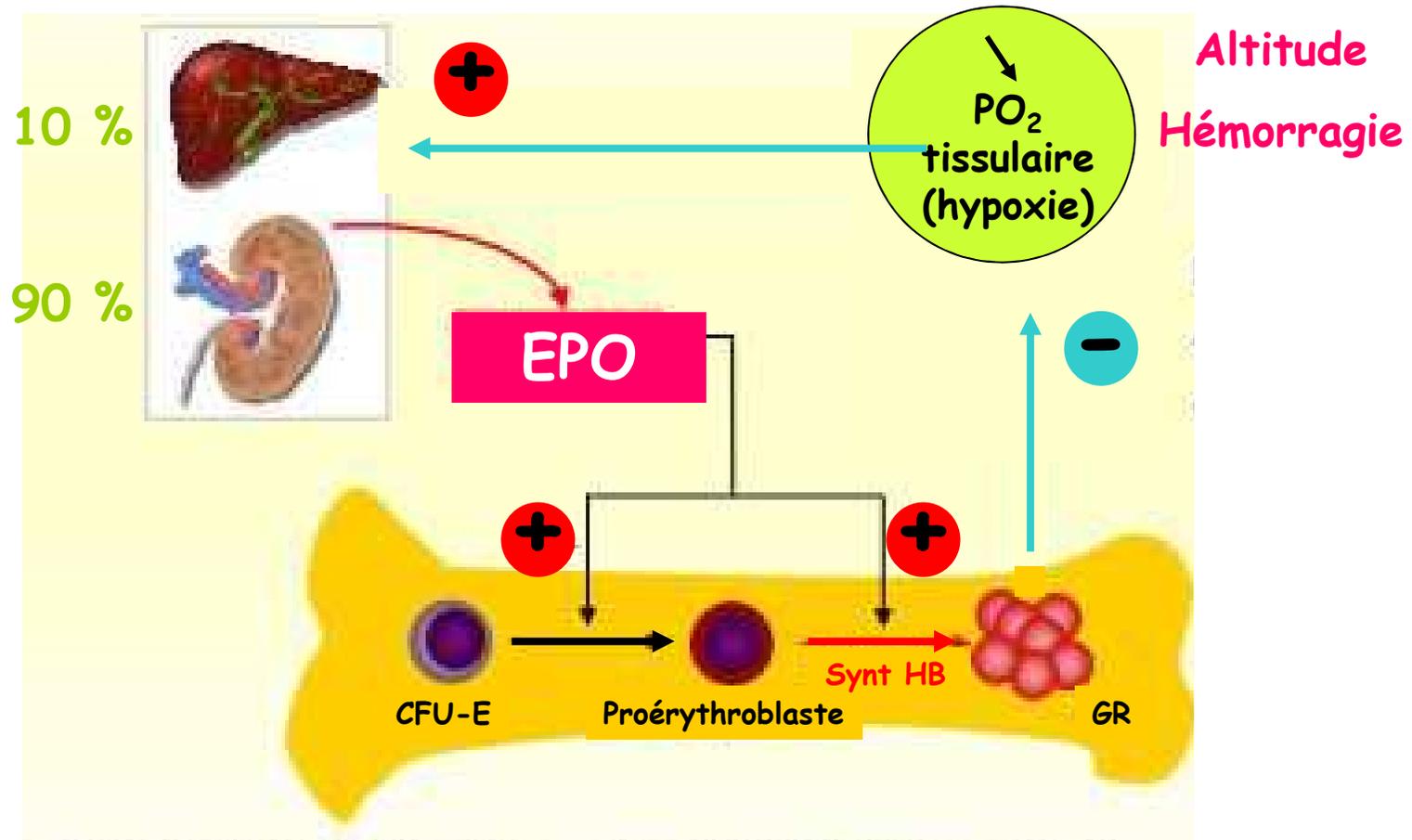
Les Étapes de l'Erythropoiese



Régulation de l'érythropoïèse

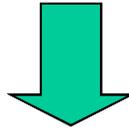
Régulation de l'érythropoïèse par L'EPO

Hormone glycoprotéique



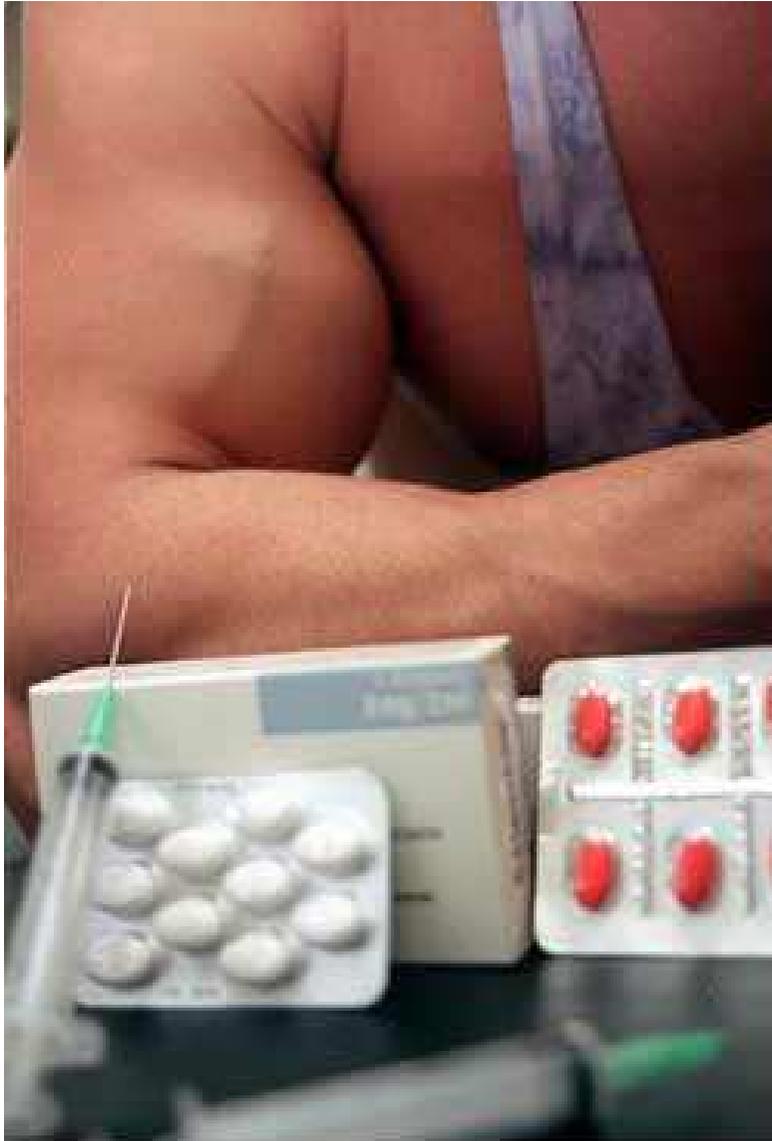
Le taux circulant normal est de 10 à 20 mU/ml de sérum, et peut augmenter de plus de 30 fois en cas d'anémie

EPO



Augmente le nombre de globules rouges dans le sang et donc l'hématocrite en

- stimulant la prolifération des progéniteurs CFU-E
- stimulant la synthèse d'hémoglobine



DOPAGE

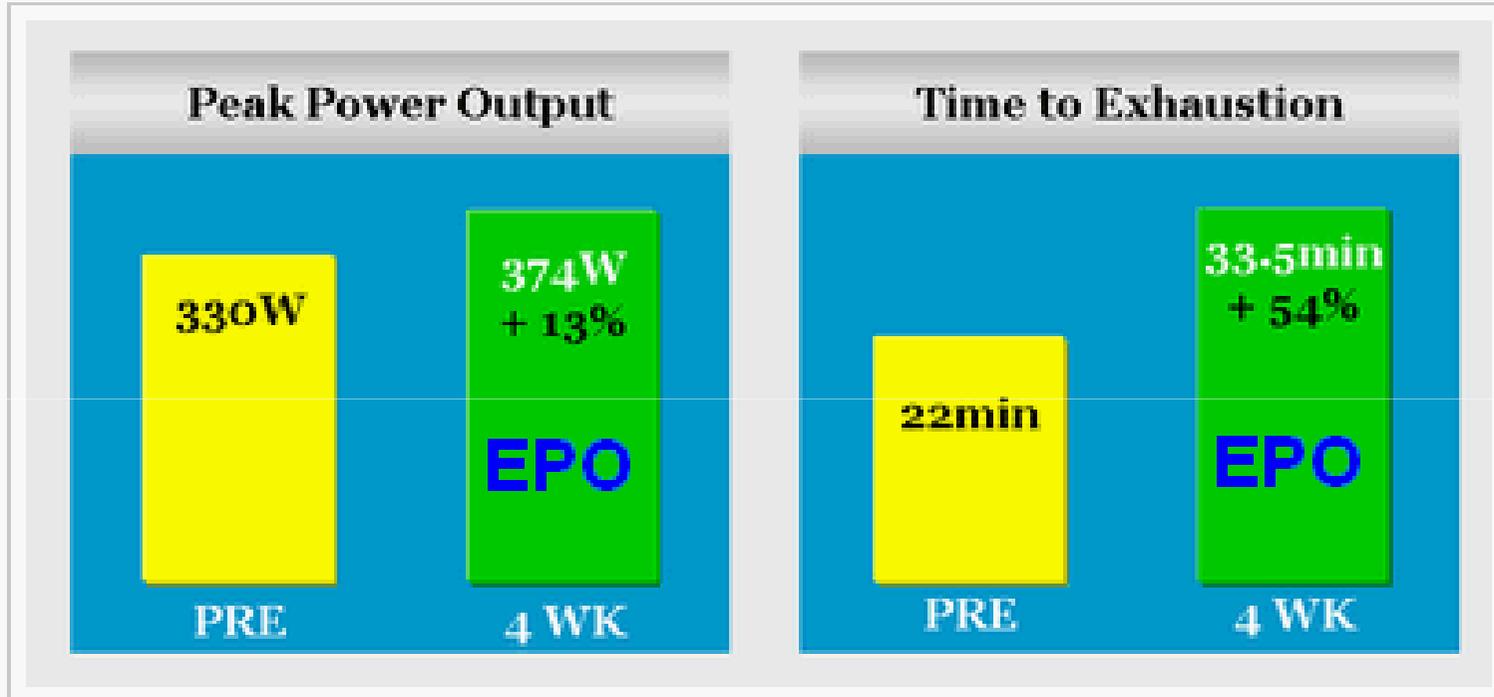
EPO



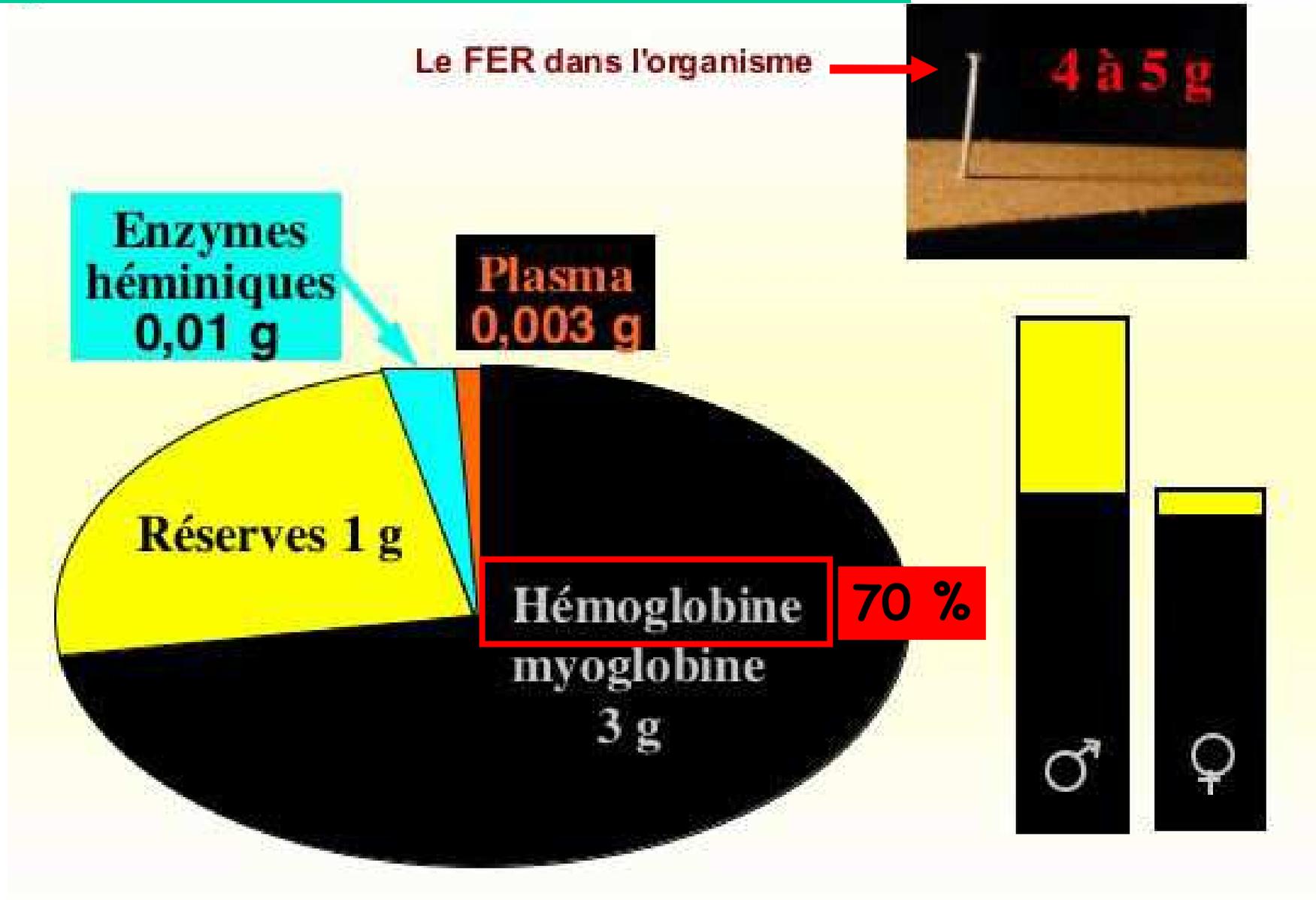
45% → 65%
de
Globules rouges
(hématocrite)

Risques de
thromboses !!!

Résultats après 4 semaines de traitement :
Puissance et durée de la performance max



Régulation de l'érythropoïèse par le Fer



Régulation de l'érythropoïèse par les Vit B9 et B12

Vitamine B9
(Acide Folique)

Vitamine B12
(Cobalamine)

Rôle

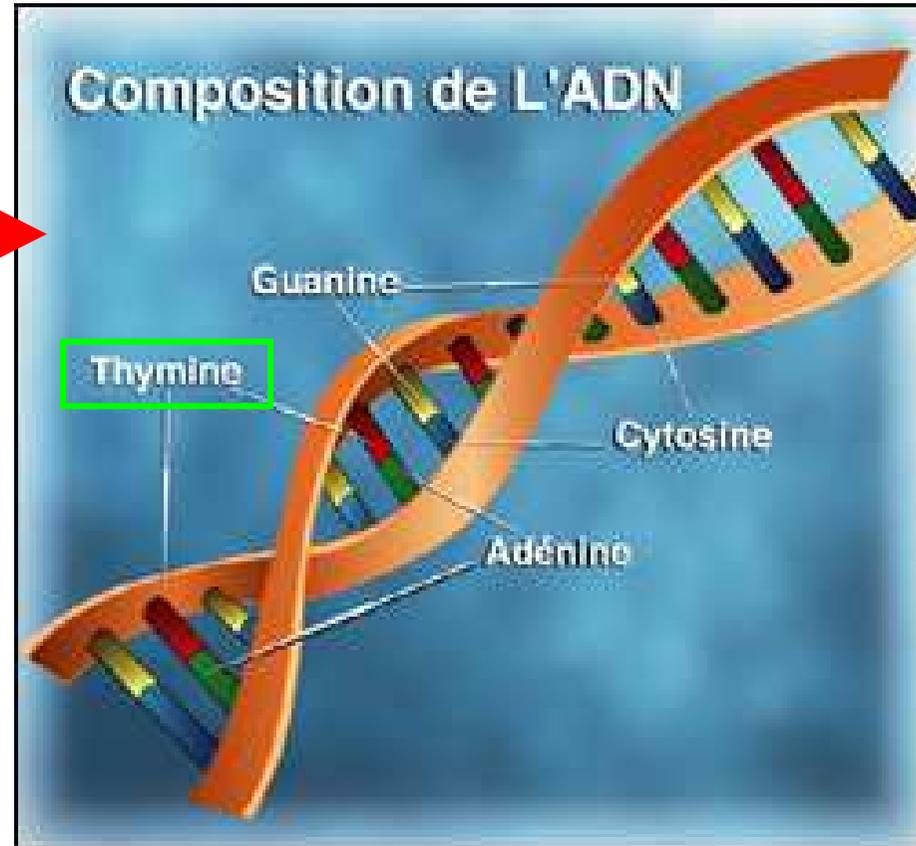


Synthèse des acides nucléiques

Carence

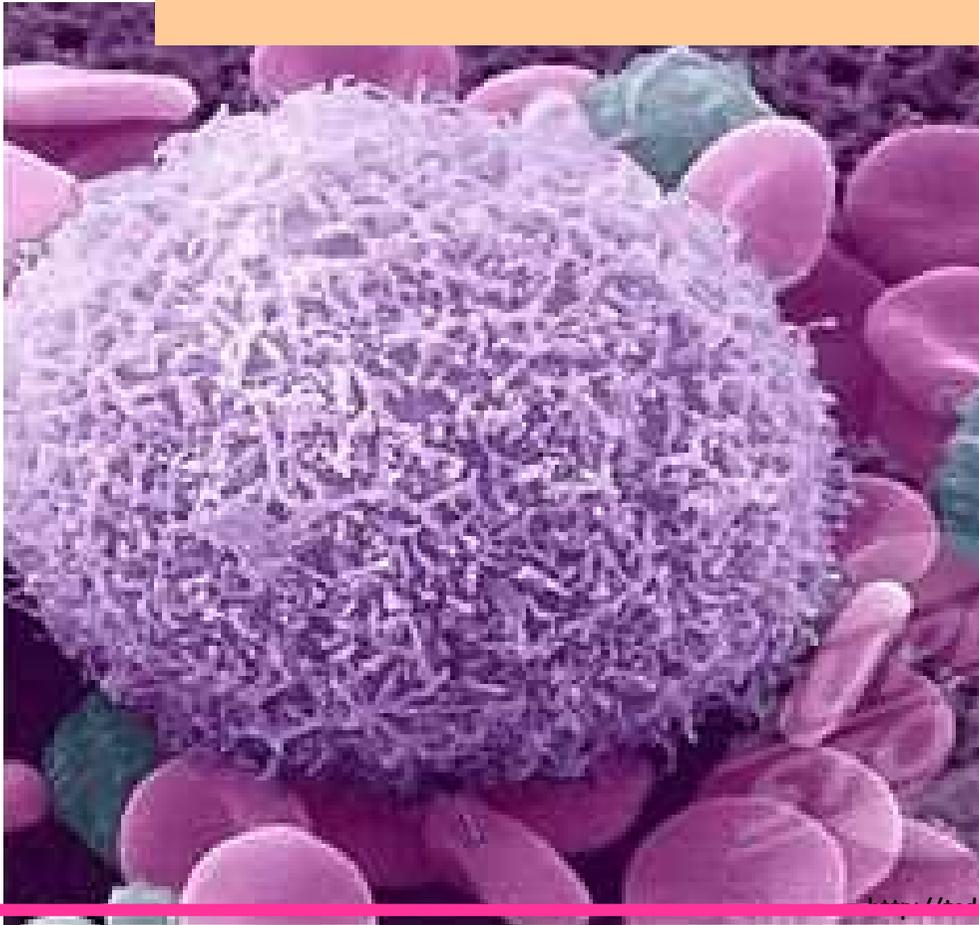
Hématopoïèse inefficace

Effets plus marqués sur
érythropoïèse : **anémie
mégaloblastique**

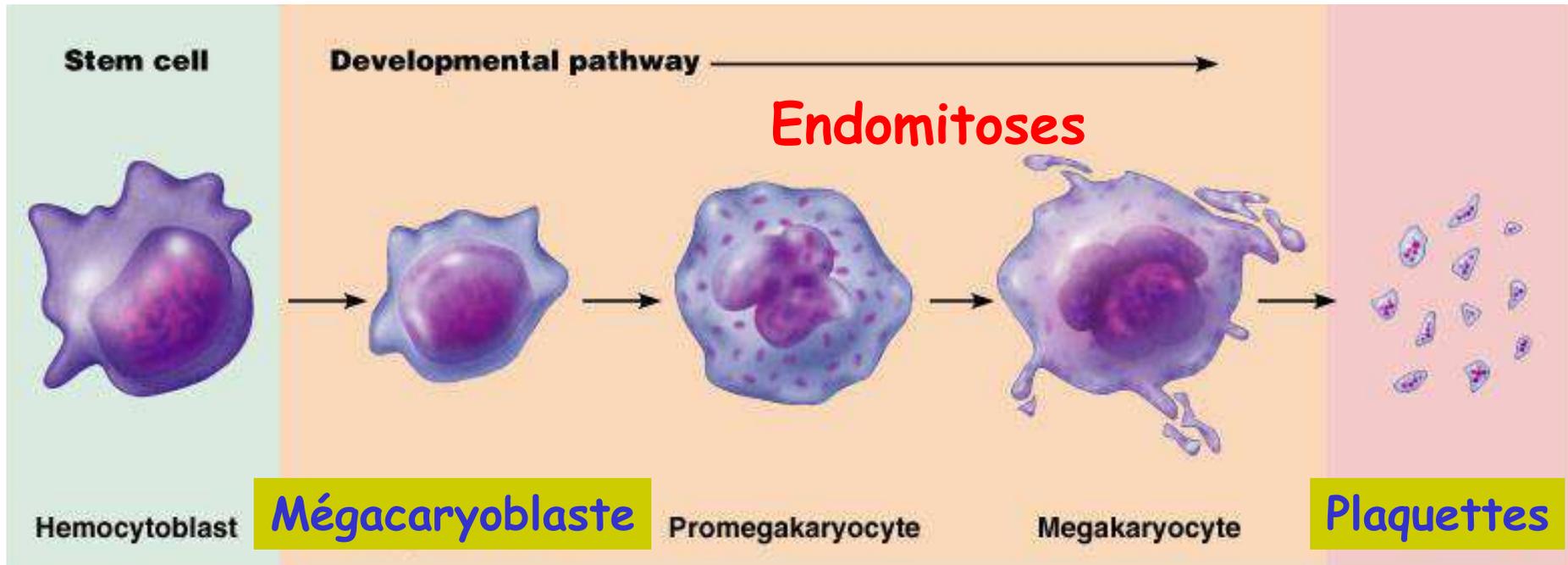


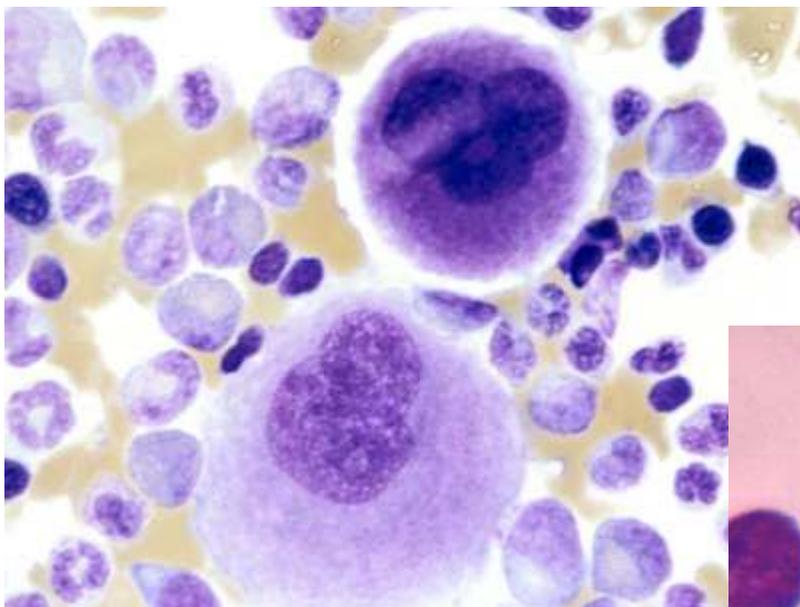
→ Vitamines « anti-mégaloblastiques »

La thrombopoïèse



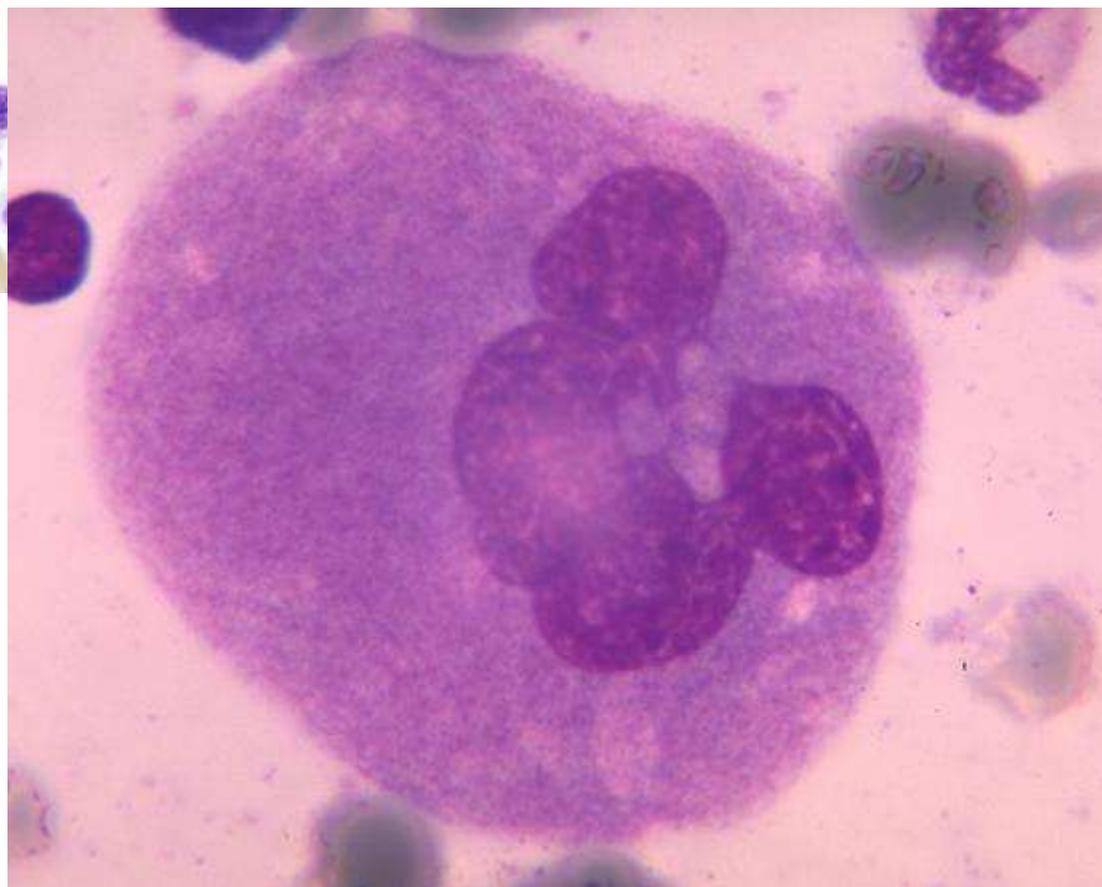
Cas particulier de la Thrombopoïèse





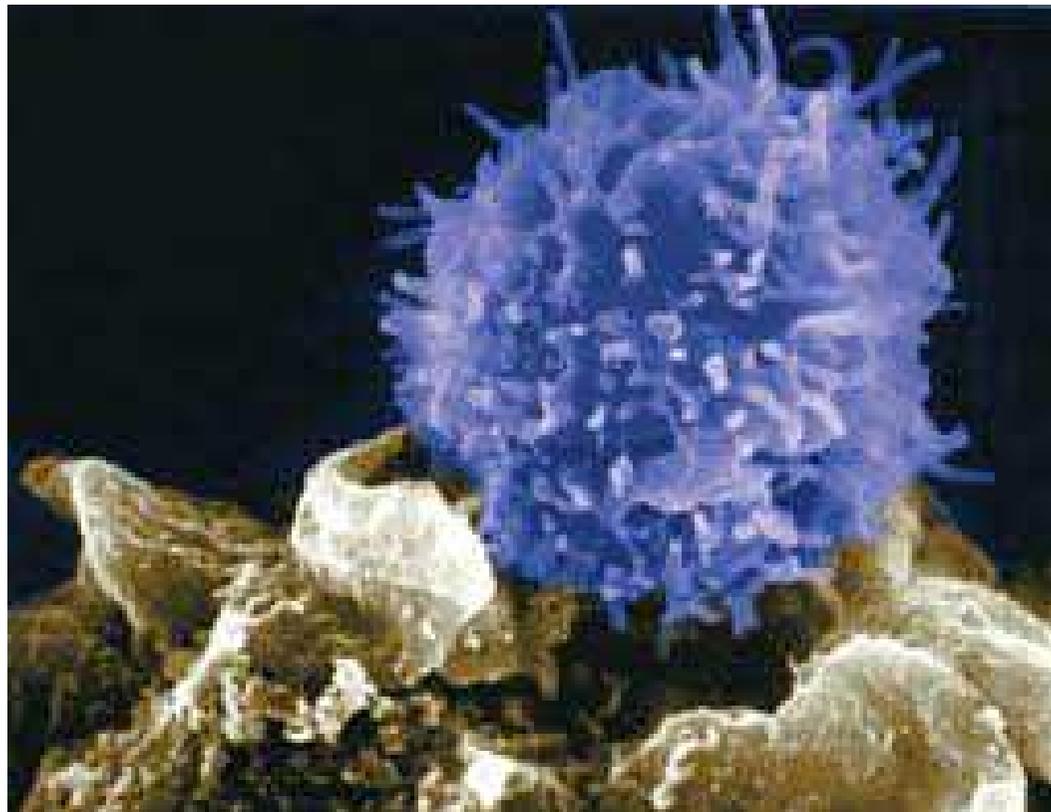
<http://www.lookfordiagnosis.com>

**Mégacaryocytes
observés sur...?**



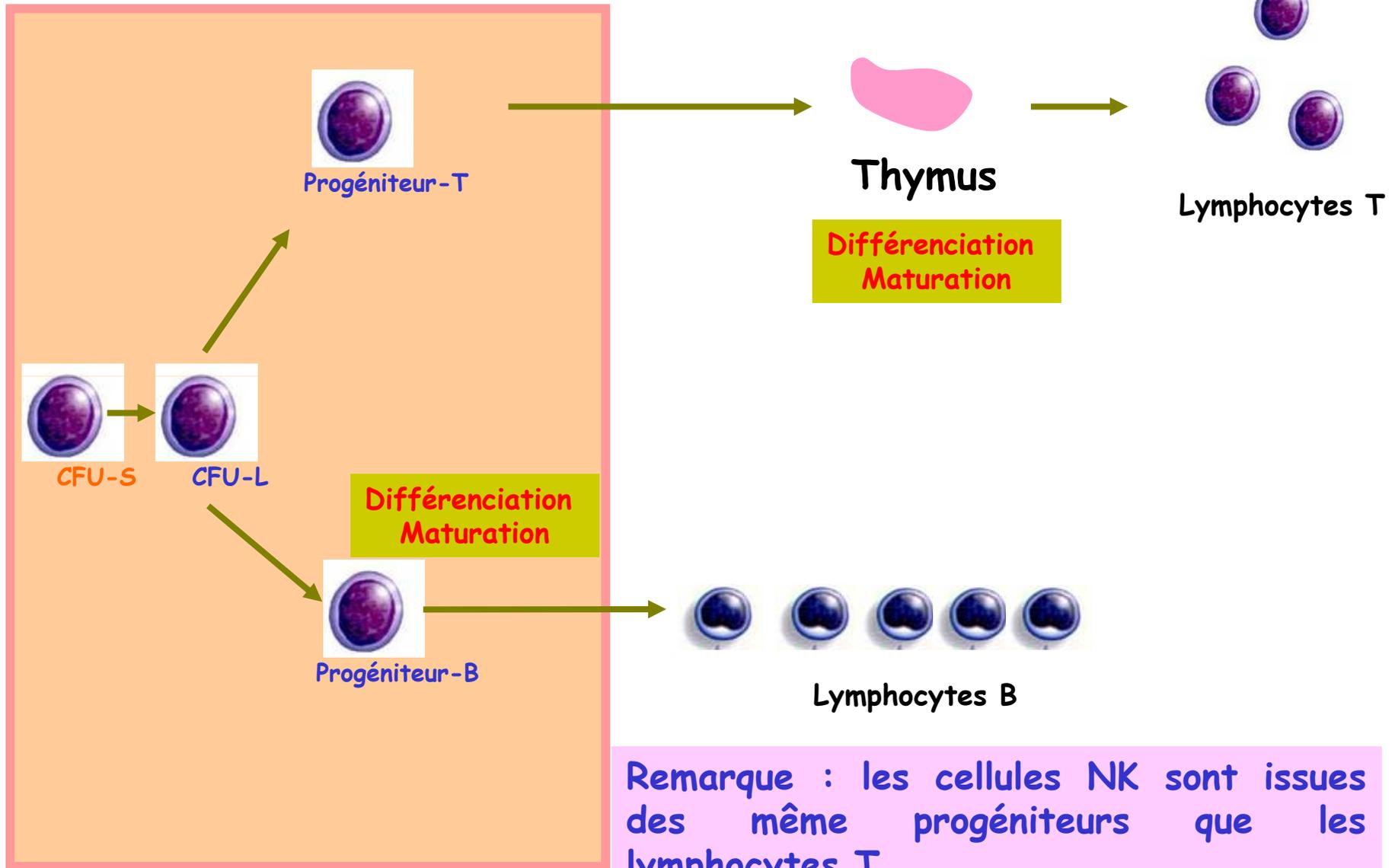
<http://xenia.sote.hu/kortan/hematology/e/morphology/per-bm/>

La Lymphopoïèse



La Lymphopoïèse

Moelle Osseuse



Lymphopoïèse primitive

Production des cellules lymphoïdes nécessaires aux besoins de l'organisme

Moelle osseuse pour lymphocytes B

Moelle osseuse + Thymus pour lymphocytes T

Lymphopoïèse secondaire

Multiplications des cellules matures soumises à l'activation du contact antigénique

→ Adaptation de la réponse immunitaire

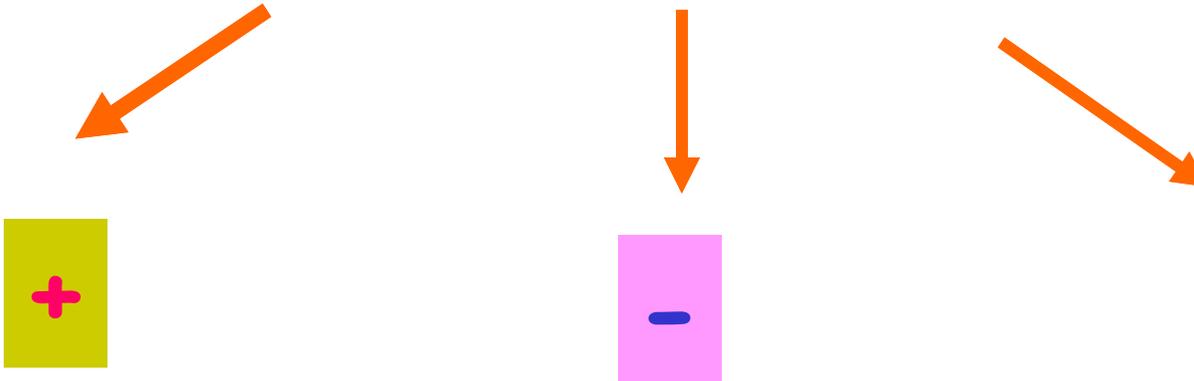
Organes lymphoïdes périphériques (ganglions, rate, amygdales...)

Régulation de l'hématopoïèse



Régulation de l'hématopoïèse

Multifactorielle



+

Facteurs
de
croissance

-

Facteurs de
régulation
négative

Stroma
médullaire

Facteurs de croissance hématopoïétiques

- Glycoprotéines de la famille des cytokines* capables de **stimuler l'hématopoïèse** et synthétisées par divers types de cellules : Sanguines, endothéliales, fibroblastes...
- Rôle : régulation de la **croissance** et des **fonctions** des cellules sanguines
- Fixation sur **récepteurs membranaires** de grande affinité
- Mode d'action : principalement **paracrine** ou **autocrine** (très faibles doses) → Différence avec hormones (endocrine)

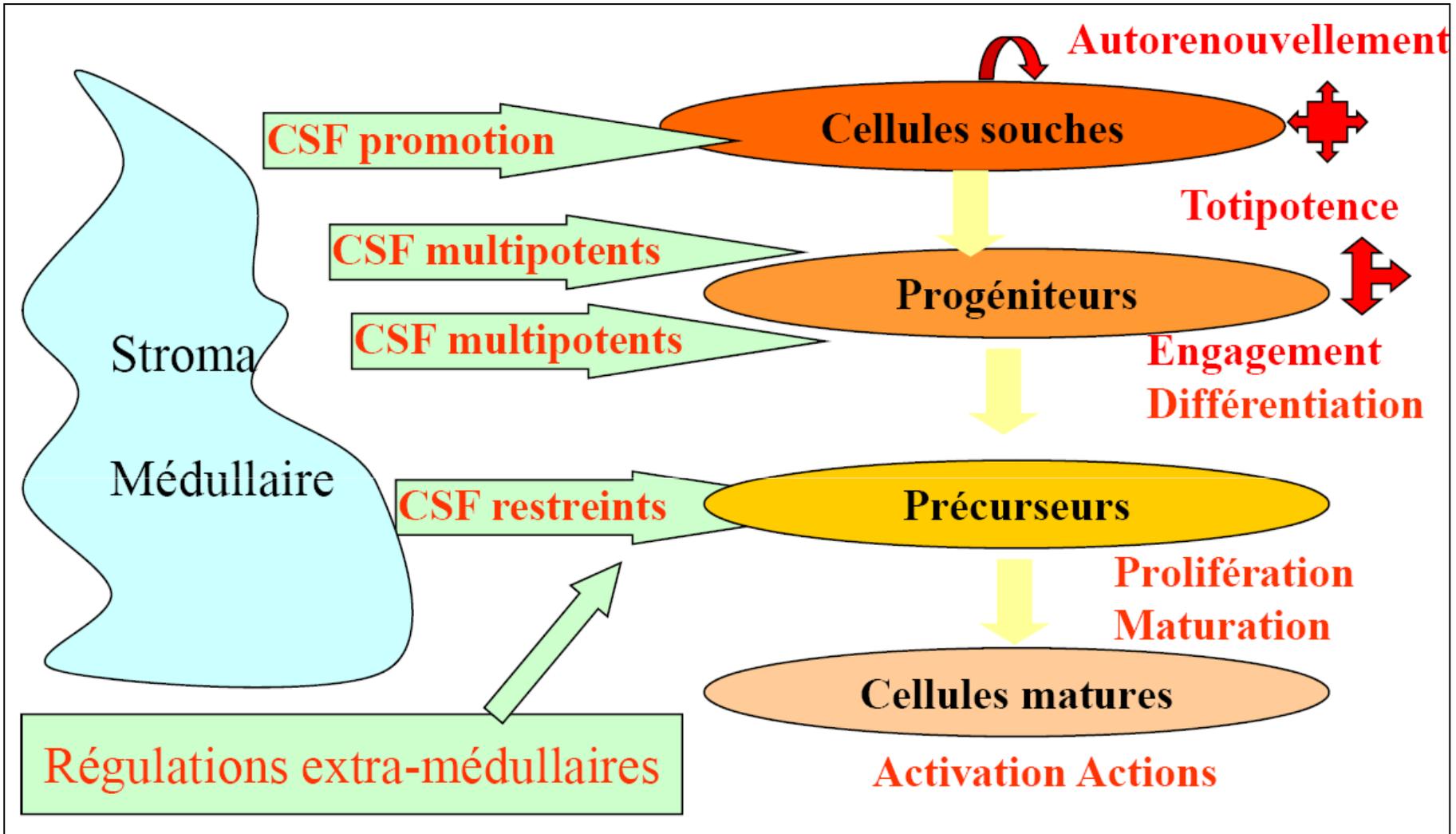
**Les cytokines : substances solubles de communication synthétisées par des cellules et/ou tissus, agissant à distance sur d'autres cellules pour en réguler l'activité et la fonction.*

FACTEURS DE CROISSANCE

1) Facteurs de promotion

2) Facteurs multipotents

3) Facteurs restreints



CSF colony stimulating factors

1) Facteurs de promotion

 augmentent le nombre de cellules souches en cycle cellulaire

 sensibilisent les cellules souches totipotentes à l'action des autres facteurs de croissance

 Stade précoce de l'hématopoïèse (cellules souches)

IL1 (Interleukine1)

IL4 (Interleukine4)

IL6 (Interleukine6),

SCF (Stem Cell Factor)

2) Facteurs multipotents

permettent la survie et la différenciation des cellules souches les plus immatures lorsque celles-ci ont **déjà été sensibilisées** par les facteurs de promotion

→ Stade précoce de l'hématopoïèse (cellules souches et jeunes progéniteurs)

GM-CSF

(Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor)

IL3

(Interleukine3)

3) Facteurs restreints

Agissent sur les cellules souches déjà engagées (précurseurs) en favorisant leur multiplication et leur maturation
Effet limité à 1 lignée cellulaire

→ Stade final de l'hématopoïèse (précurseurs)

EPO (Erythropoïétine)	→	lignée érythrocytaire
IL5 (Interleukine)	→	lignée granuleuse éosinophile
G-CSF (Granulocyte-Colony stimulating Factor)	→	lignée granuleuse neutrophile
IL4 (Interleukine4)	→	lignée granuleuse basophile
M-CSF (Macrophage Colony stimulating Factor)	→	lignée monocytaire
IL6 (Interleukine6)	┌ └→	lignée mégacaryocytaire
TPO (Thrombopoïétine)		
IL7 (Interleukine7)	→	lignée lymphocytaire

Utilisation des facteurs de croissance hématopoïétiques en clinique humaine

Facteur	Origine	Cible et effets	Utilisation thérapeutique
Stem cell factor		CSH	Mobilisation de CSH Insuffisances médullaires
Erythropoïétine	Rein, foie	Erythropoïèse	Anémie de insuffisance rénale Programme d'autotransfusion Syndromes myélodysplasiques
G-CSF		Granulopoïèse	Neutropénies Mobilisation de CSH
GM-CSF		Granulopoïèse Monocytopoïèse	Neutropénies

FACTEURS DE REGULATION NEGATIVE

Inhibent l'hématopoïèse de façon générale ou spécifique

(surtout prolifération des CSH et des progéniteurs)

TGF β (Transforming growth Factor β)

Inhibe croissance Progéniteurs précoces *in vitro*

TNF α (Tumor necrosis Factor α)

Produit par monocytes et lymphocytes T

Interféron (IFN)

Protéine produite par de nombreuses cellules (dont lymphocytes) notamment lorsqu'elles sont attaquées par un virus

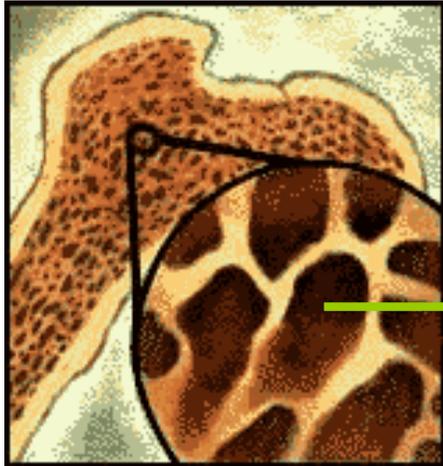
antimitotique (antivirale)

active macrophages et phagocytose

LE STROMA MEDULLAIRE

Tissu de **soutient** et de **nutrition** de toutes les cellules hématopoiétiques : constitué de différents types de **cellules** baignant dans une **matrice extracellulaire**

Composition du stroma cellulaire



Toutes ces cellules sont capables de sécréter les facteurs de croissance

MATRICE EXTRACELLULAIRE

Sécrétée par les cellules du stroma, c'est un réservoir de facteurs de régulation de l'hématopoïèse

CELLULES

Cellules de la matrice cellulaire osseuse

Cellules endothéliales (capillaires)

Fibroblastes (matrice et protéines)

Adipocytes

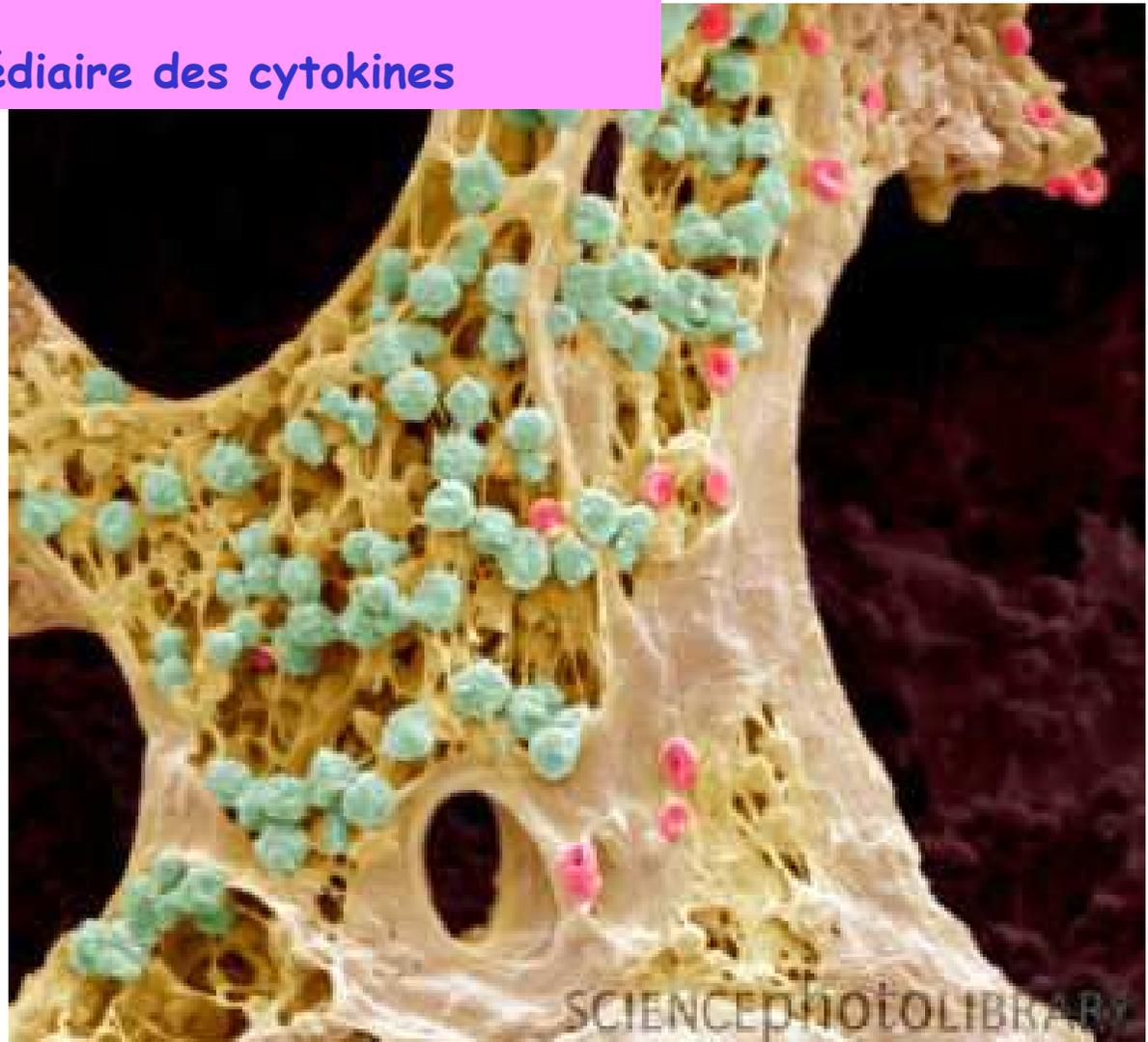
Lymphocytes T

Monocytes-macrophages
(indispensables surtout erythro)

Cellules musculaires lisses

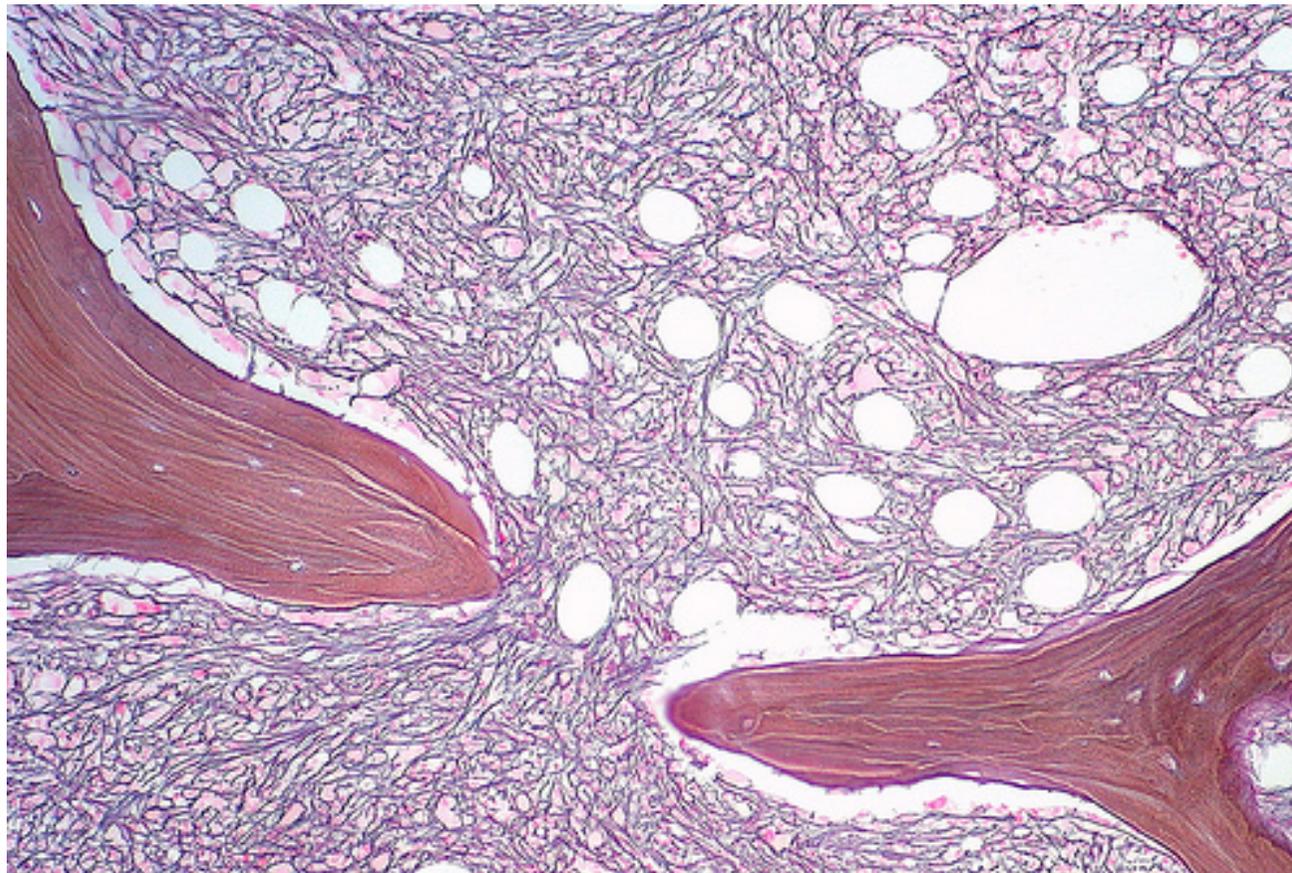
Les communications intercellulaires entre les cellules hématopoïétiques et les cellules stromales se font :

- soit par contact cellulaire direct
- soit par l'intermédiaire des cytokines



Le stroma médullaire contient un réseau de fibres de **réticuline**
et de **collagène**

En pathologie, ce réseau de fibres peut se modifier et générer un
phénomène de densification du réseau appelé **myélofibrose**



Résumé-Conclusion

La majorité des cellules sanguines matures sont destinées à **vivre** seulement de **quelques heures (PN)** à **quelques semaines (GR)** avant d'être détruites.

Afin de compenser cette destruction rapide, le système hématopoïétique doit **produire environ 10^{13} cellules par jour**

Cette intense production journalière a lieu normalement dans la **moelle osseuse** chez l'homme et est régulée par un système complexe de **facteurs de croissance et d'inhibiteurs**, le tout dans un écosystème très adapté: le micro-environnement ou **stroma** médullaire.

ACTUALITE



Le sang artificiel

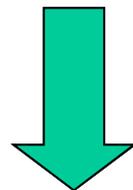
Un patient doit être transfusé dès lors qu'il perd **plus de 40%** de son sang (ce qui représente 2 litres environ)

Ses organes vitaux ne sont alors plus approvisionnés en oxygène, et on doit lui injecter un concentré de globules rouges.

L'intérêt de ces derniers est qu'ils contiennent l'hémoglobine qui transporte l'oxygène.



Il existe aujourd'hui trois pistes pour fabriquer de l'hémoglobine



les biotechnologies
les substituts chimiques
les cellules souches humaines

1) les biotechnologies

L'idée première est de "faire produire" l'hémoglobine par des organismes génétiquement modifiés (OGM).

On pense aux bactéries, bien sûr, mais pas seulement...

L'hémoglobine végétale fait un tabac

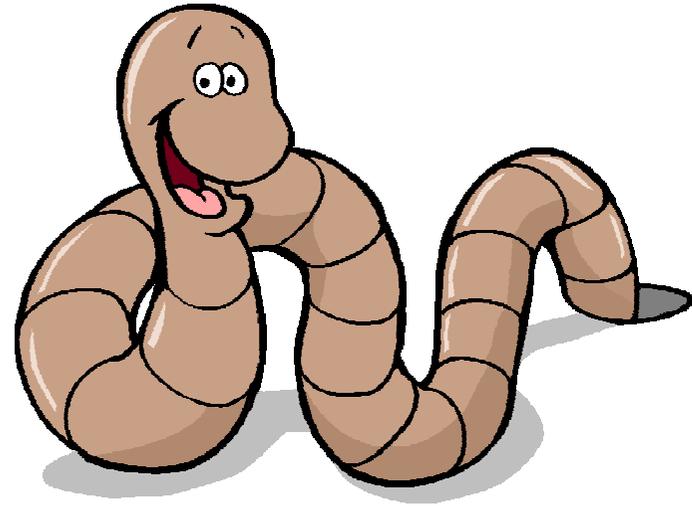
Des transfusions sanguines grâce à du tabac transgénique? Ce sera peut-être un jour possible, grâce au travail réalisé par Michael Marden et Claude Poyart, des chercheurs de l'Inserm (Kremlin-Bicêtre) dont les recherches ont été financées par Limagrain (une entreprise de l'industrie céréalière).



Les chercheurs ont introduit les deux gènes qui commandent la fabrication de l'hémoglobine humaine dans les cellules de tabac, puis cultivé en serre quelques dizaines de ces plants transgéniques. Bonne surprise au moment de la récolte. Non seulement la concentration en hémoglobine est particulièrement élevée dans les graines, mais cette hémoglobine est «fonctionnelle»: elle fait son travail d'hémoglobine et fixe bien l'oxygène. La suite de la recherche se fera sans doute sans le tabac. Comme l'explique Bernard Mérot (Limagrain), «nous allons maintenant tester des plantes comme le maïs, le colza ou le blé, qui ont un meilleur rendement». Certes, l'hémoglobine «végétale» ne pourra arriver sur le marché avant dix ans. Mais ses inventeurs (qui ont déposé un brevet) l'assurent: elle sera sans doute très sûre et très bon marché.

Par LEVISALLES Natalie, Libération 11 Mars 1997

Une autre idée consiste à exploiter les invertébrés...



Dans le cadre du programme de recherche Euro Blood Substitutes, une équipe s'intéresse à deux **vers marins**, dont la molécule d'hémoglobine est **50 fois plus grosse** que celle humaine et, à la différence des vertébrés, n'est pas enfermée dans les hématies.

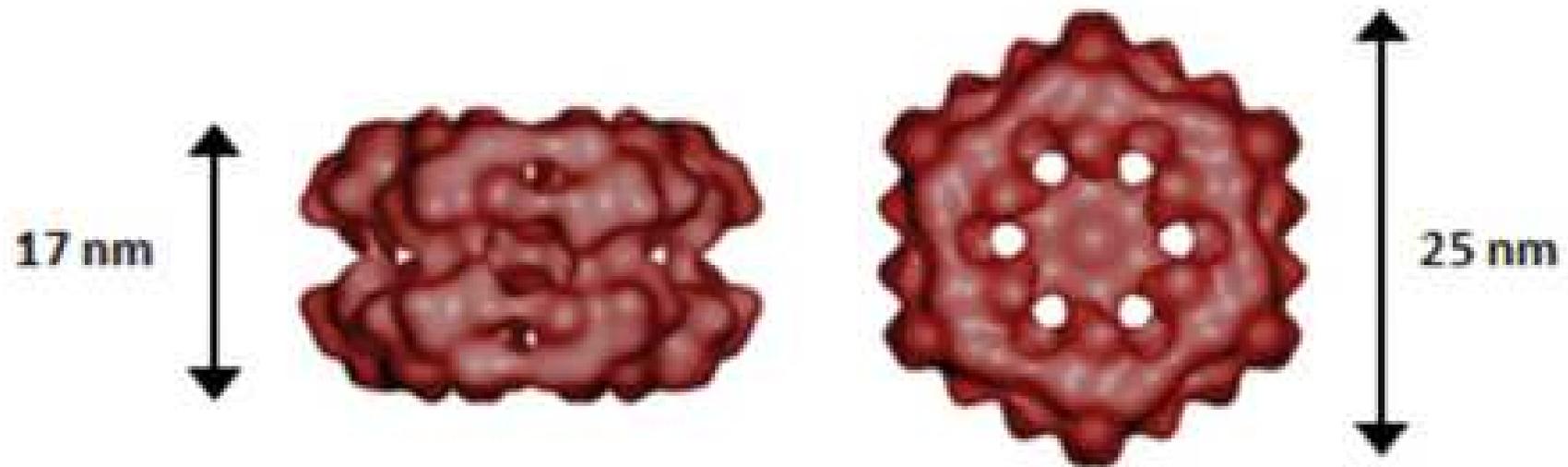
Elle serait donc particulièrement stable, compatible avec tous les groupes sanguins et plus efficace dans le transport d'oxygène

Les premiers essais sont prometteurs : le transport d'oxygène est assuré normalement et l'hémoglobine ainsi obtenue ne provoque pas d'allergie. Reste à savoir si on pourra fabriquer assez de sang par cette voie.



L' *Arenicola marina* : ce ver marin est désormais réputé pour ses propriétés sanguines. Coloré en rouge par son hémoglobine dissoute dans le « plasma ».

En quelque sorte, il s'agit d'un *donneur universel*, résume Franck Zal, responsable de l'équipe Ecophysiologie, adaptation et évolution moléculaire, à la station biologique de Roscoff dans le Finistère.



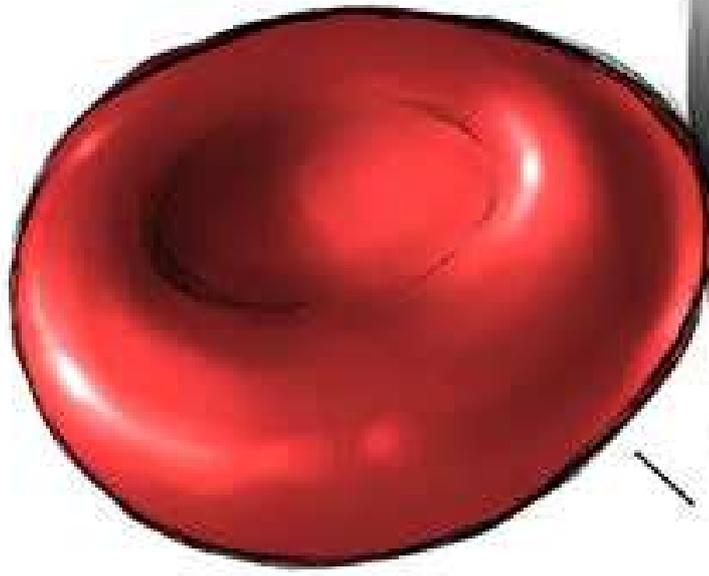
Reconstruction tridimensionnelle de Hemarina M101.
Macromolécule de 3,6MDa capable de fixer 156
molécules d'O₂ en même temps.

2) les substituts chimiques

Du sang chimique

La voie 100% artificielle fait appel aux **perfluorocarbures** (PFC). Ces molécules contenant des atomes de carbone, d'oxygène et de fluor sont capables de dissoudre de grandes quantités d'oxygène. Le groupe pharmaceutique Alliance a mis au point Oxygent, un substitut actuellement testé sur 1500 personnes. Comme les PFC ne sont pas solubles dans le sang, ils se présentent sous forme d'émulsion dans de l'eau salée. Du coup, ils sont rapidement éliminés par l'organisme et ne peuvent donc être utilisés que sous forme transitoire (lors des opérations par exemple).





Red Blood Cells (RBCs)
(7 microns)

Hemoglobin-Based
Oxygen Carriers (HBOCs)
(0.08 - 0.1 microns)



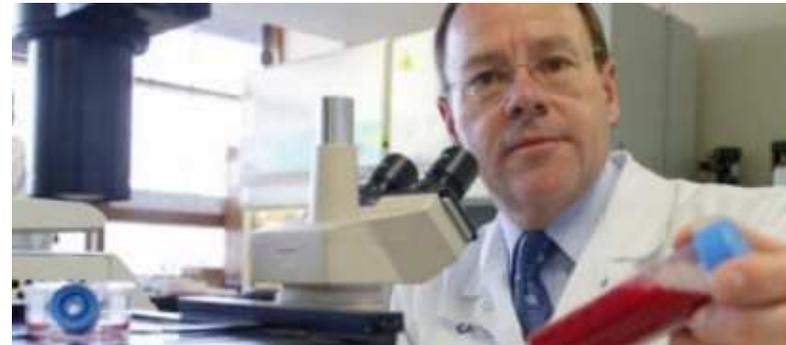
Perfluorocarbons (PFCs)
(0.2 microns)

3) les cellules souches humaines

Du sang artificiel transfusé pour la première fois chez l'homme !

Septembre 2011

Le Pr Luc Douay et son équipe (hôpital Saint Antoine, université Pierre et Marie Curie, Paris) ont obtenu, à partir de cellules souches hématopoïétiques des globules rouges qui ont pu être transfusés chez l'homme



200 000 globules rouges à partir d'une seule cellule souche. "D'ici quelques années, on pourra produire du sang universel, que chacun tolérera quel que soit son groupe sanguin" se réjouit Luc Douay.

Disposant des mêmes durée de vie et taux de survie que des globules rouges "classiques", ces globules rouges *artificiels* pourraient servir à la création de banques de sang destiné aux transfusions.

Cette technique de production de globules rouges serait mise en place de façon privilégiée pour les poly immunisés, c'est-à-dire pour des patients ayant reçu tellement de transfusions qu'ils ont développé de nombreux anticorps entraînant un rejet des globules transfusés. En attendant, les dons de sang sont toujours nécessaires, soulignent les médecins.