Physiologie des lignées hématopoïétiques

Licence Sciences Pour la Santé
UE Physiologie et Pathologie des grandes fonctions : Le système sanguin

Septembre 2024

Sarah Huet MCU-PH

Service d'hématologie biologique Centre de Biologie Sud, Hospices Civils de Lyon



Département des Sciences Biomédicales A

Hématologie et Cytologie

Faculté de Pharmacie, UCBL



Qu'est-ce que l'hématologie?

Hématologie cellulaire :

➤ Etude de la physiologie des cellules du sang (fonctions, production...)

> Hémostase :

Ensemble des phénomènes observés après une lésion vasculaire pour arrêter le saignement.

Immuno-hématologie :

Etude des propriétés antigéniques du sang et des réactions immunologiques correspondantes

Plan des cours d'hématologie

- Semestre 3 :
 - Cours 1 : Hématologie cellulaire (physiologie)
 Physiologie des cellules sanguines & interprétation des examens biologiques
 - Cours 2 : Hémostase (physiologie)
- Semestre 4 :
 - Pathologies de l'hémostase
 - Pathologies en hématologie cellulaire
 - Physiologie, principes de transfusion sanguine et pathologie en immunohématologie
- Semestre 5 (L3) : Onco-hématologie



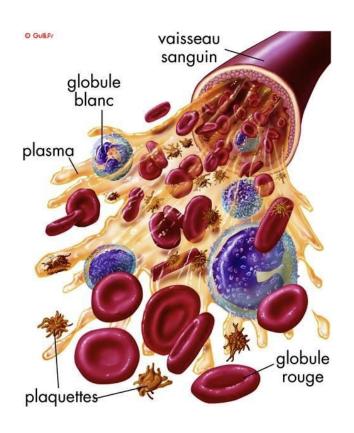
Hématologie cellulaire

→ sarah.huet@univ-lyon1.fr

I. Les cellules sanguines

Qu'est-ce que le sang?

= Des cellules + du plasma



- → Electrolytes
- → Glucose
- → Graisses
- → Hormones
- → Vitamines
- → Protéines
- → Métabolites

. . .

Les cellules sanguines

- Globules rouges → Transport des gaz
- Plaquettes → Hémostase primaire
- Globules blancs → Défenses immunitaires

Exemple d'hémogramme



LABORATOIRE de BIOLOGIE MEDICALE MULTI SITES du CHU de LYON

3, Quai des Célestins 69002 LYON

NOM Prénom

DDN: 09/16/1991 N° venue: 6954206504 SEXE: Masculin

DEMANDE N° 0191259990

Prélevé le : 16/07/2019 08:40 Reçu le : 16/07/2019 08:57

Compte Rendu Ecran

36313 AU SAU URGENCES

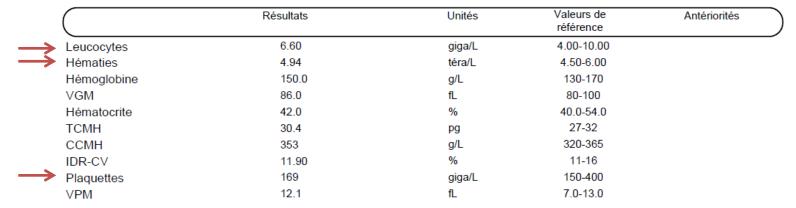
GROUPEMENT HOP SUD

Chemin du Grand-Revoyet 69495 PIERRE BENITE CEDEX

FRANCE

CYTOLOGIE

Numération



I - Les globules rouges

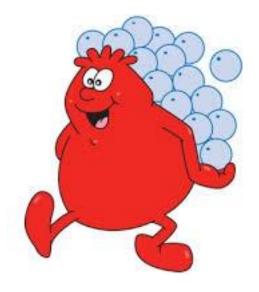
Globule rouge (GR) = Hématie = Erythrocyte

Rôle = transport des gaz (O_2, CO_2) grâce à l'hémoglobine

Cellules anucléées, biconcaves, déformables

Taille $\simeq 2x7\mu m$



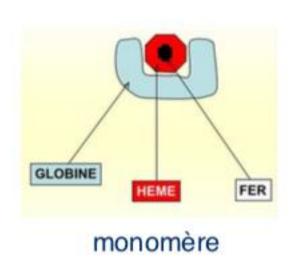


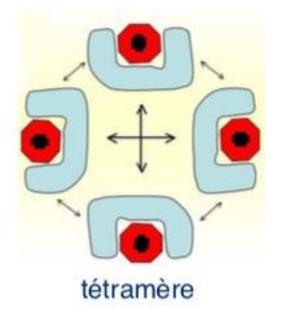
S. Huet - 2024

L'hémoglobine

Pigment coloré, constituant principal du GR = chromoprotéine

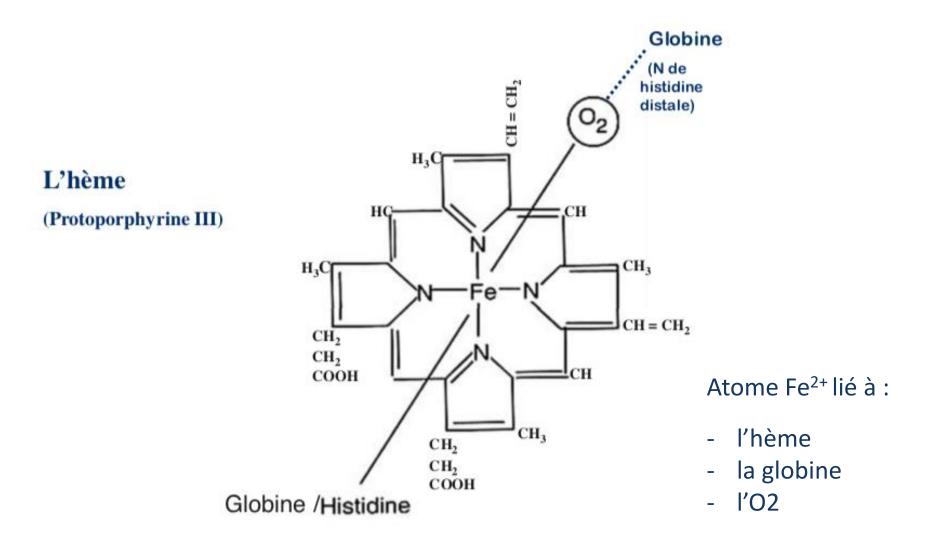
- Tétramère (4 sous-unités)
- > Chaque sous-unité (ou monomère) comporte :
 - 1 groupement prosthétique : l'hème + fer
 - 1 partie protéique = la globine





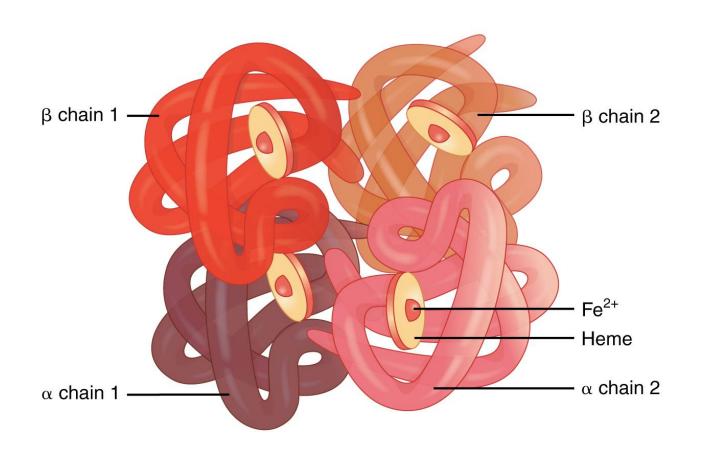
S. Huet -2024

Structure de l'hème



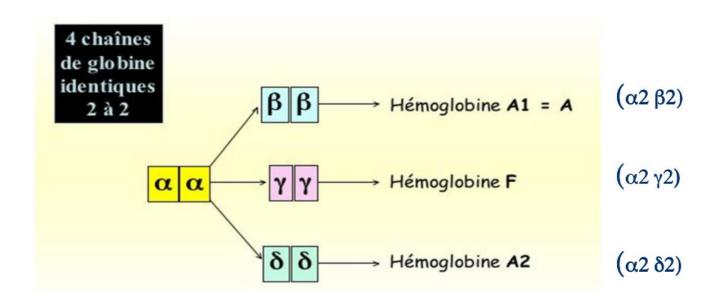
S. Huet - 2024

Structure de l'hémoglobine



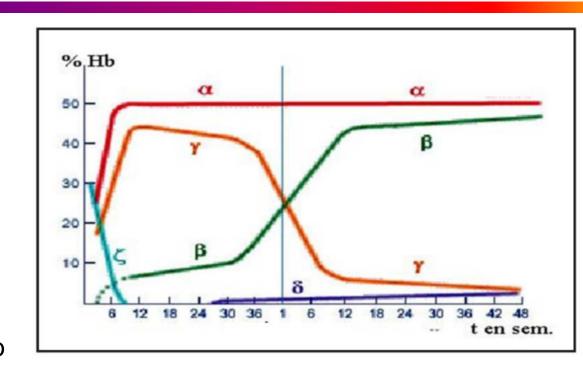
Les chaines de globine

- 1 molécule d'Hb contient 4 chaines polypeptidiques identiques 2 à 2
- Chez l'homme : α, β, γ, δ, (ε, ξ)
- L'assemblage des chaines détermine le type d'Hb



Les chaines de globine

Le type d'Hb varie avec l'âge :



Chez l'adulte : 3 types d'Hb

♦ Hb A1 : ≈ 97%

❖ HbA2: <3%</p>

❖ Hb F : < 1% (Hb fœtale)</p>

En Pathologie : Anémies par anomalie de structure ou de synthèse des chaines de globine

S. Huet -2024

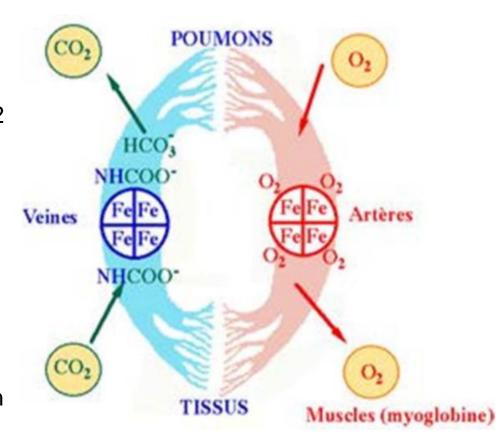
Transport des gaz

O2 : poumons \rightarrow tissus

CO2 : tissus → alvéoles pulmonaires

- 1 mol. d'hémoglobine fixe 4 mol. d'O2 sur le fer = oxyhémoglobine
- Fixation et libération de l'O₂
 dépendent de l'affinité de l'Hb pour
 l'O₂, qui est elle-même fonction de la
 pression partielle en O₂ (PaO₂) du
 milieu
- Si PaO₂ varie → saturation de l'Hb en O₂ varie

Poumons : PaO₂ ↑
= libération du CO2 et prise en charge de l'O2



Tissus : $PaO_2 \downarrow$

= libération de l'O2 et prise en charge du CO2

S. Huet -2024

Métabolisme érythrocytaire

Le transport de l'O2 n'est possible que si GR intact

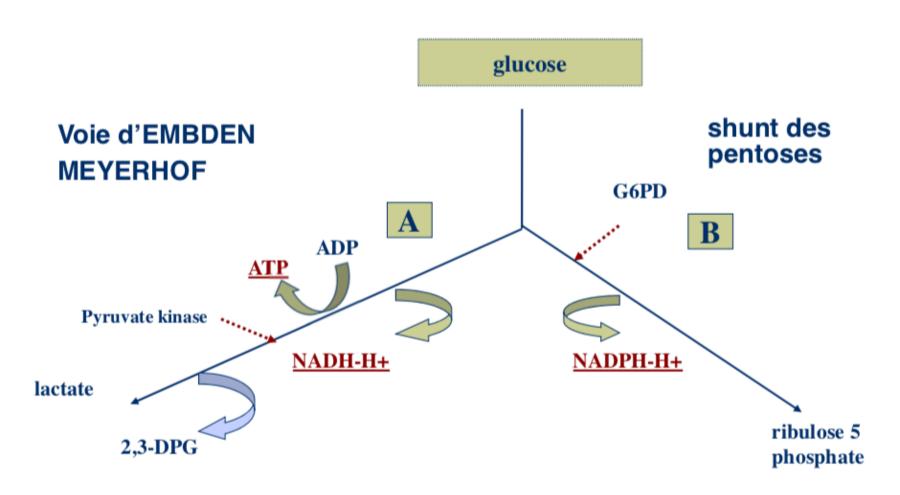
- ⇒ lutte permanente contre risque d'oxydation et d'hyper-hydratation
- ⇒ Nécessité d'énergie : seule source = la glycolyse intra-érythrocytaire

= dégradation du glucose

2 voies:

- 90% en l'absence d'O2
- = Voie principale anaérobie dite d'EMBDEN MEYERHOF (A)
- 10% en présence d'O2
 - = voie accessoire ou « shunt des pentoses » (B)

Métabolisme érythrocytaire



Glycolyse intra-érythrocytaire

S. Huet -2024

Production des érythrocytes

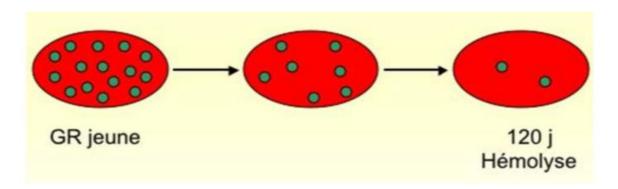
= érythropoïèse

- Dans la moelle osseuse
- Phénomène <u>permanent</u> :
 - ✓ Assure le renouvellement des GR (durée de vie = 120 jours)
 - ✓ chaque jour, 1/120è des GR produit
- Phénomène <u>adaptatif</u>: X 7 à 8 en cas de besoin accru
- Régulation : EPO (érythropoïétine)

Destruction des érythrocytes

« Vieillissement » physiologique du GR :

- Ralentissement métabolique : ↓ activité enzymatique
- Altérations membranaires : ↑ sphéricité et ↓ déformabilité
- Oxydation de ses composants (globine, lipides...)
- Hyperhydratation (défaut de fonctionnement des pompes cationiques)



Destruction des érythrocytes

Hémolyse physiologique :

- Phénomène irréversible
- ❖ Survient après 120 jours de vie
- ❖ Aboutit à la libération du contenu du GR puis à la dégradation et recyclage de ses composants

2 lieux d'hémolyse :

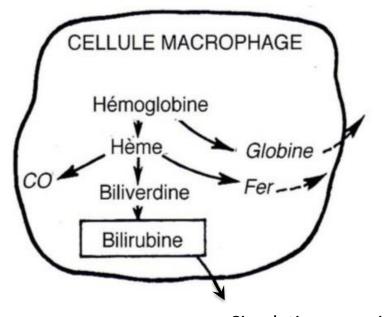
- ☐ Intra-tissulaire : 90%
- ☐ Intra-vasculaire: 10%

Destruction des érythrocytes

☐ Hémolyse intra-tissulaire : 90%

Captation des GR par les macrophages dans le foie, la rate, la MO

- → Libération de l'hémoglobine
- → Recyclage de la globine, de l'hème et du fer

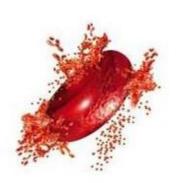


Circulation sanguine

☐ Hémolyse intra-vasculaire : 10%

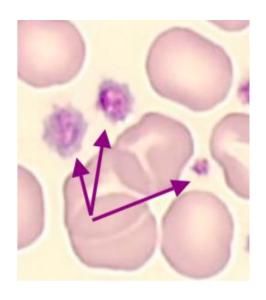
Hémolyse spontanée mineure dans les vaisseaux sanguins

→ Libération de l'hémoglobine → élimination (foie/rein)

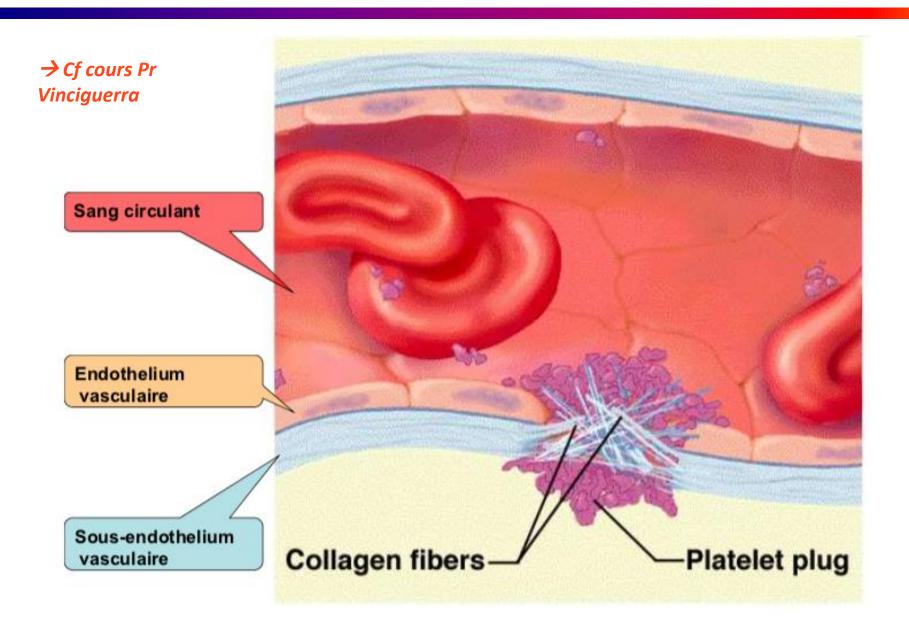


II - Les plaquettes

- Fragments cellulaires anucléés, 3 µm de diamètre
- Forte capacité d'adhésion aux parois endothéliales
- Rôle essentiel au cours de l'hémostase



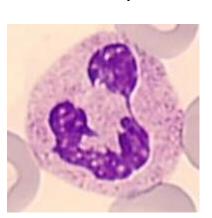
Les plaquettes



III - Les leucocytes

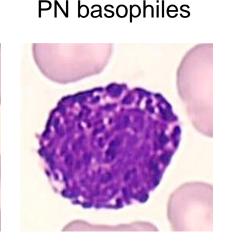
Globules blancs = leucocytes

Cellules « polynucléées » :
Polynucléaires
(noyaux plurilobés)

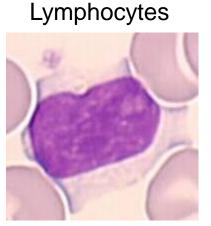


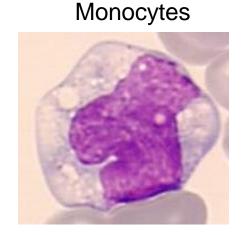
PN neutrophiles





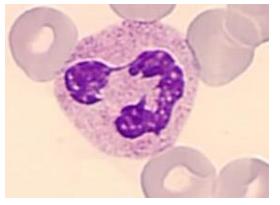
Cellules « mononucléées » :





S. Huet - 2024

- 50-70% des leucocytes sanguins
- Fonction principale : défense anti-bactérienne et anti-fongique (immunité innée)



Granulations: Contiennent différentes protéines dont les fonctions sont :

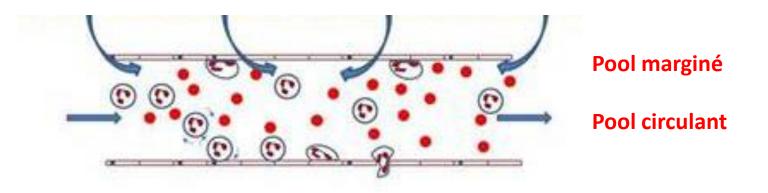
- Chimiotaxie et migration cellulaire (récepteurs et molécules d'adhésion, collagénases)
- Action anti-bactérienne (lysozyme, peroxydases, cathepsines, défensines...)
- Modulation de l'inflammation

Cycle de vie et fonctions des PNN :

Production par la moelle osseuse, puis :

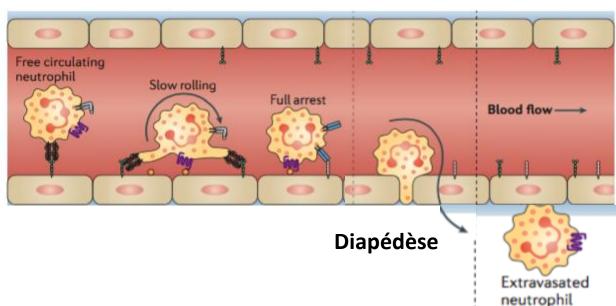
- 1 Circulation sanguine
- (2) Mobilisation vers les tissus
- (3) Défense anti-bactérienne
- (4) Elimination des PNN

- 1 Circulation sanguine
- Durée de vie d'env. 12h dans le sang
- Equilibre entre pool circulant et pool marginé



- 2 Mobilisation des PNN/Extravasation vers les tissus :
 - > Adhésion Diapédèse Migration par chimiotaxie

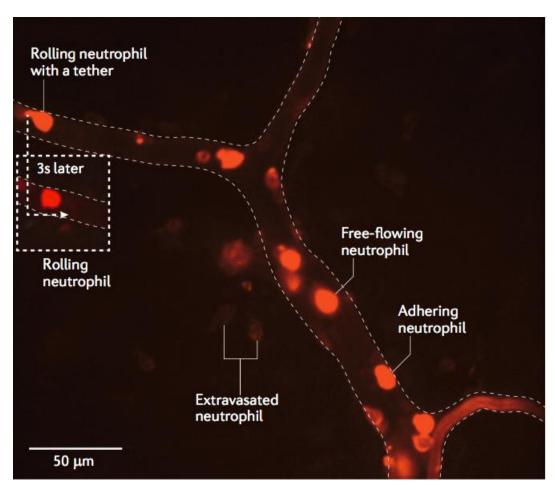
PNN circulant Roulement Adhésion



→ Rôle les molécules d'adhésion

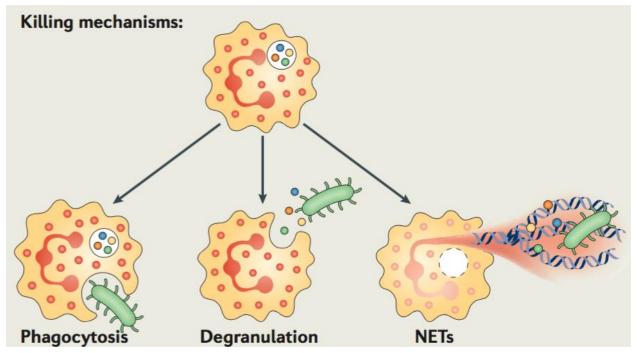
(peptides microbiens)

Migration



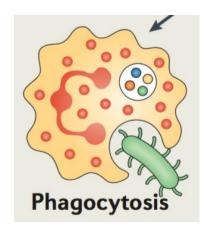
Kolaczkowska et al., Nat. Rev. Immunol. 2013

- **3** Mécanismes d'action anti-bactérienne :
 - Phagocytose
 - Dégranulation
 - Pièges extracellulaires des neutrophiles (NETs)

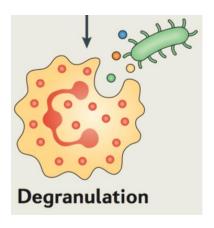


Kolaczkowska et al., Nat. Rev. Immunol. 2013

- a) Phagocytose (= intracellulaire):
- Encapsulation dans un phagosome
- Libération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS)
- Libération dans le phagosome de protéines antibactériennes : cathepsines, défensines, lactoferrine, lysozyme.



- **b) Dégranulation** (= extracellulaire) :
- Libération extracellulaire de protéines antibactériennes

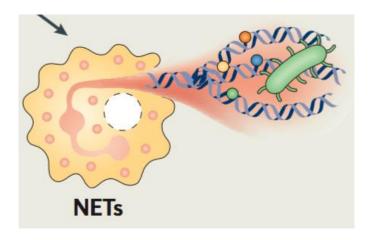


c) Pièges extracellulaires des neutrophiles

(NETs = Neutrophils Extracellular Traps)

« Filet » d'ADN auquel sont attachées des histones, des protéines antibactériennes et des enzymes (myéloperoxydase, élastase)

- Immobilisation du pathogène
- Lyse directe et/ou aide à la phagocytose

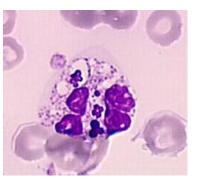


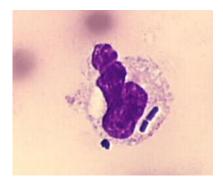
4 Mort et élimination des PNN

Durée de vie dans les tissus : 1-3 jours

Elimination dans les tissus après avoir exercé leur fonction (mais aussi : moelle osseuse, foie, rate)

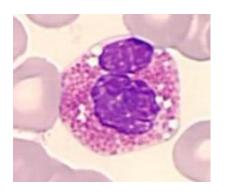
Apoptose → Débris phagocytés par les macrophages (cellules de Küppfer dans le foie)



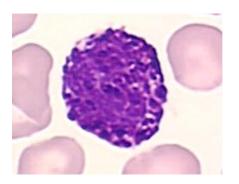


Polynucléaires éosinophiles & basophiles

- Polynucléaires éosinophiles :
 - Représentent <5% des leucocytes



- Polynucléaires basophiles :
 - Représentent <1% des leucocytes



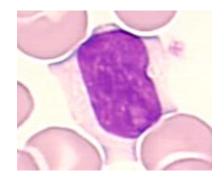
Fonctions: défense anti-parasitaire, hypersensibilité

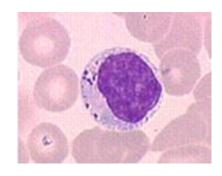
- Pool circulant << pool tissulaire
- Margination et migration tissulaire (PNE : tractus gastro-intestinal ++)
- Mécanismes d'action :
 - Activité phagocytaire < PNN
 - Dégranulation par exocytose → action anti-parasitaire

Lymphocytes

- Représentent 20-40 % des leucocytes
 - Lymphocytes T ≈ 70%
 - Lymphocytes B ≈ 20%
 - Cellules NK ≈ 10% (NK : Natural Killer, « cellules tueuses »)







Lymphocytes

Fonctions:

- Immunité innée : rapide, non spécifique :
- → barrières naturelles, cytokines, complément, polynucléaires, monocytes, cellules NK
- Immunité acquise : lente, spécifique, adaptative (reconnaissance et mémoire d'un Ag spécifique) :

lymphocytes B

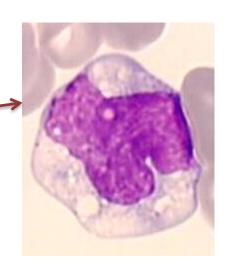
Immunité humorale

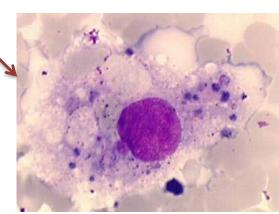
lymphocytes T

Immunité cellulaire

Monocytes

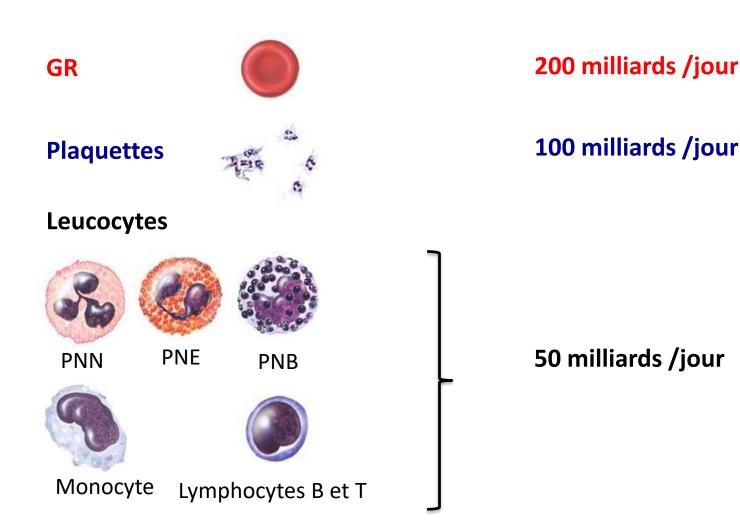
- Représentent 2-10% des leucocytes
- Passage sanguin : 1-3 jours
 - Compartiment sanguin, compartiment marginé
- Passage dans les tissus (diapédèse)
 - → Transformation en histiocytes (macrophages)
 - Durée de vie : 3 mois 3 ans
- Fonctions :
 - Défense anti-infectieuse
 - Phagocytose
 - Présentation de l'antigène aux lymphocytes
 - Sécrétion d'interleukines
 - Métabolisme (ex : recyclage du fer)





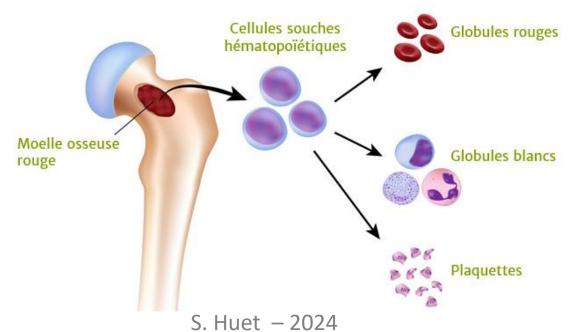
II. Hématopoïèse

Production des cellules sanguines



Quelques définitions...

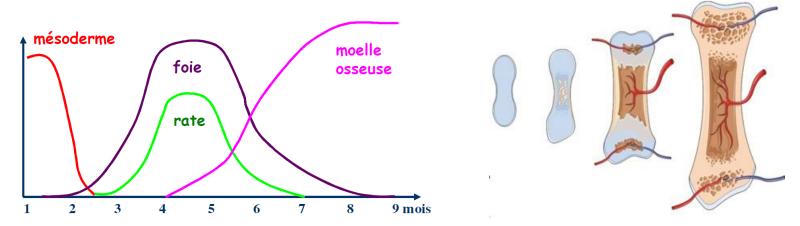
- Hématopoïèse = ensemble des mécanismes impliqués dans la production des cellules sanguines à partir de cellules souches hématopoïétiques.
 Production organisée, adaptée aux besoins et régulée.
- Cellule souche hématopoïétique = cellule indifférenciée capable d'initier l'ensemble des différentes lignées de cellules sanguines (globules rouges, plaquettes, globules blancs).



Ontogénie de l'hématopoïèse

Chez le fœtus:

- Débute à J21 de la vie embryonnaire, : formation d'ilôts sanguins au sein du mésoderme (tissu conjonctif embryonnaire)
- A partir du 3^{ème} mois, les cellules souches hématopoïétiques colonisent le foie et la rate, puis la moelle osseuse à partir du 5^{ème} mois



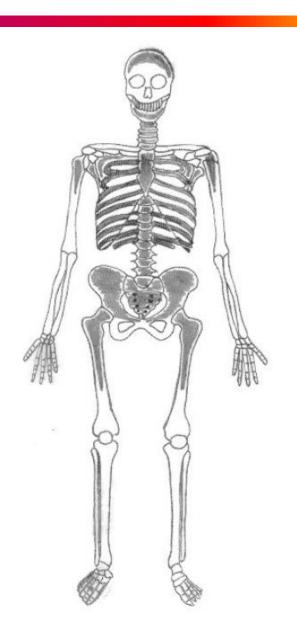
→ Moelle osseuse : site exclusif d'hématopoïèse dès la naissance

Ontogénie de l'hématopoïèse

- De la naissance à 4 ans :
 Tous les os participent à l'hématopoïèse
- Après 4 ans :

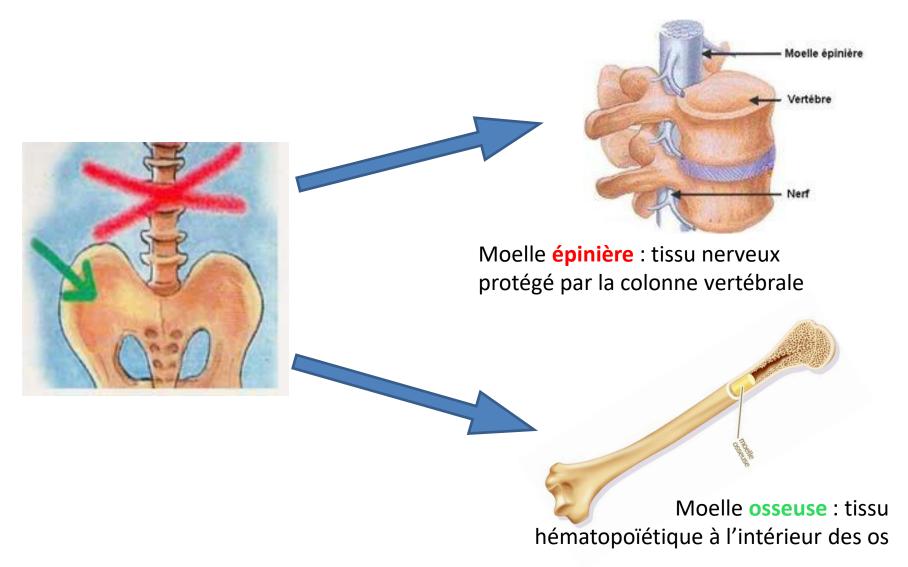
Seuls sont impliqués :

- les os courts ou plats : sternum, côtes, bassin, crâne, vertèbres
- L'épiphyse (os spongieux) des os longs (fémur, humérus, tibia)

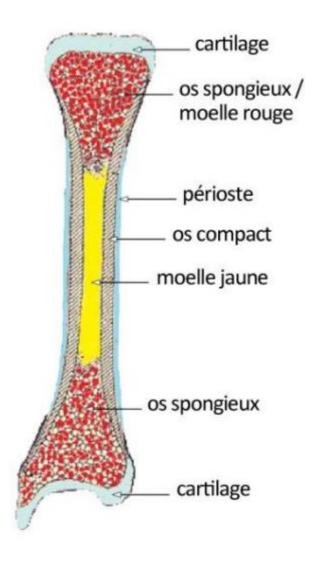




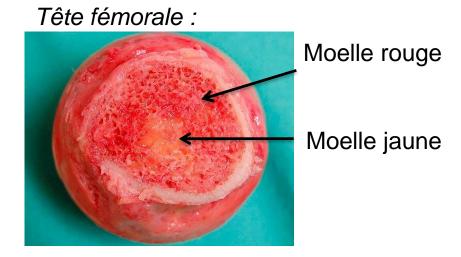
Moelle osseuse ≠ Moelle épinière



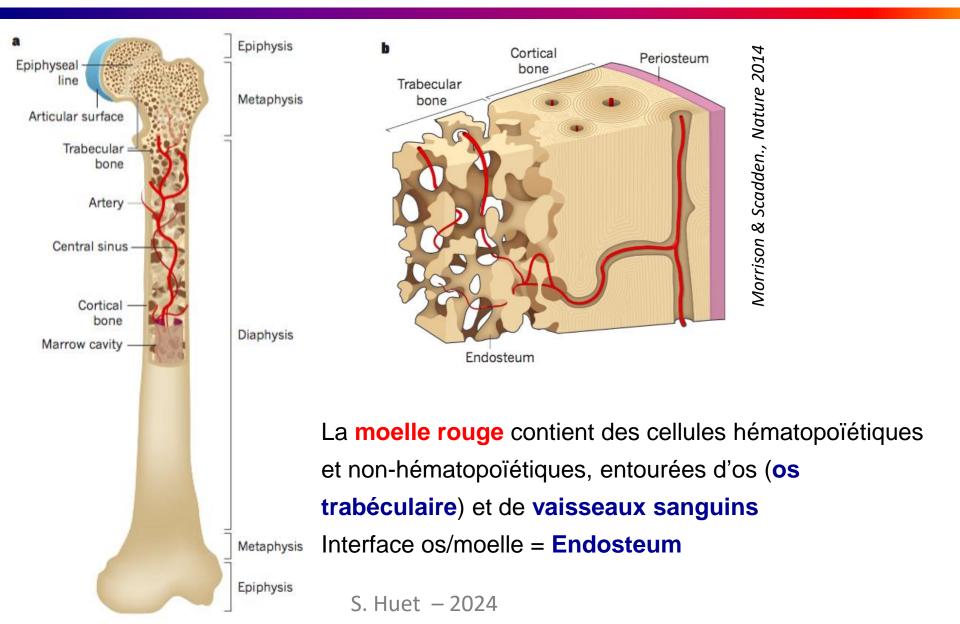
Anatomie de la moelle osseuse



- Moelle rouge = zone active d'hématopoïèse
 - Riche en cellules hématopoïétiques et en vaisseaux sanguins
 - Située dans l'os spongieux = os trabéculaire
- Moelle jaune = zone inactive
 - Riche en adipocytes



Anatomie de la moelle osseuse

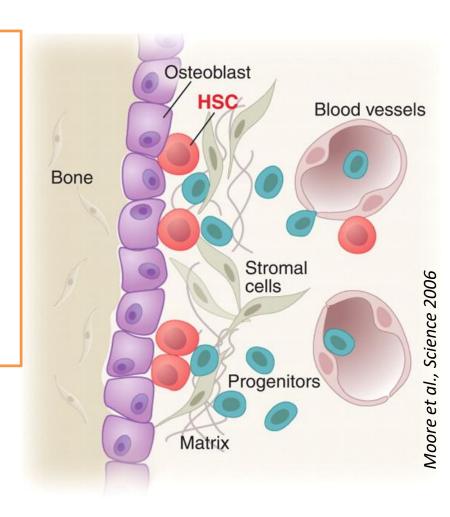


Composition de la moelle osseuse

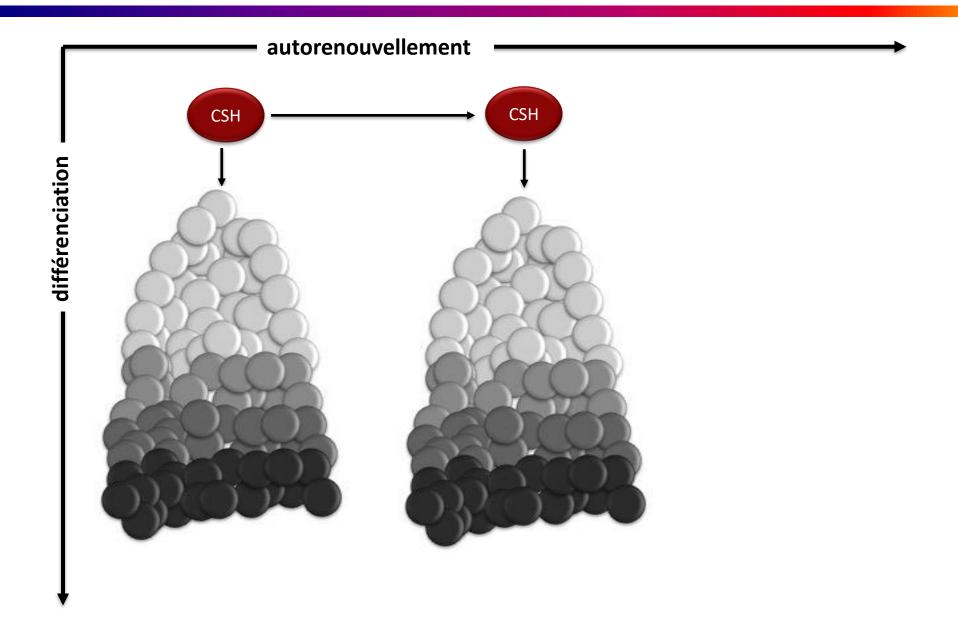
- Ostéoblastes et ostéoclastes
- Cellules stromales : cellules
 mésenchymateuses, fibroblastes,
 adipocytes, cellules endothéliales, ...
- Vaisseaux sanguins
- Matrice extracellulaire

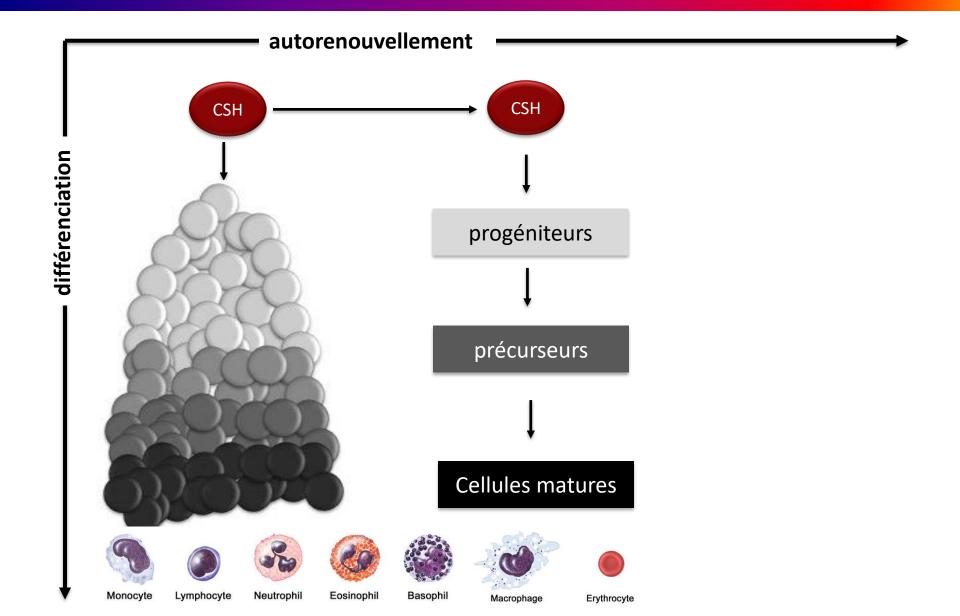


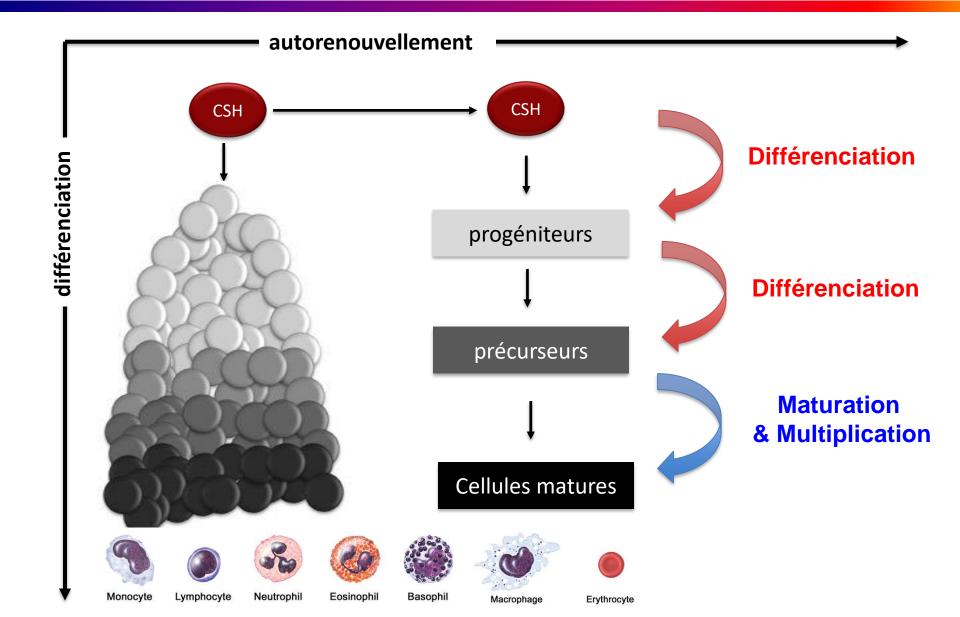
Niche hématopoïétique

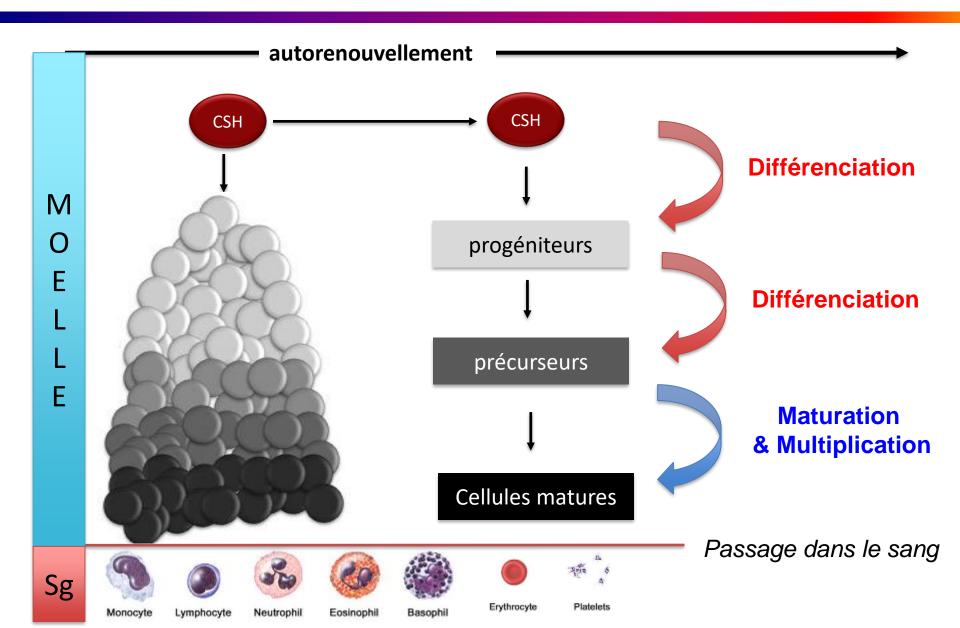


HSC: Hematopoietic Stem Cell

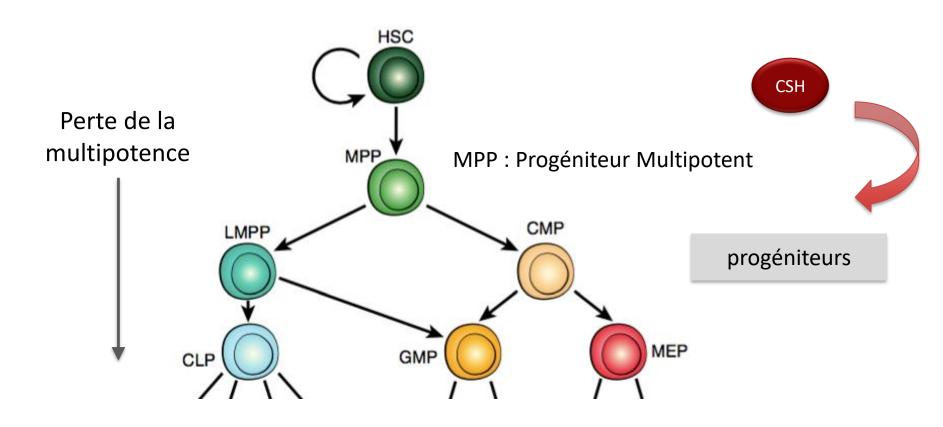








Différenciation CSH -> progéniteurs



LMPP : Progéniteur Multipotent Lymphoïde

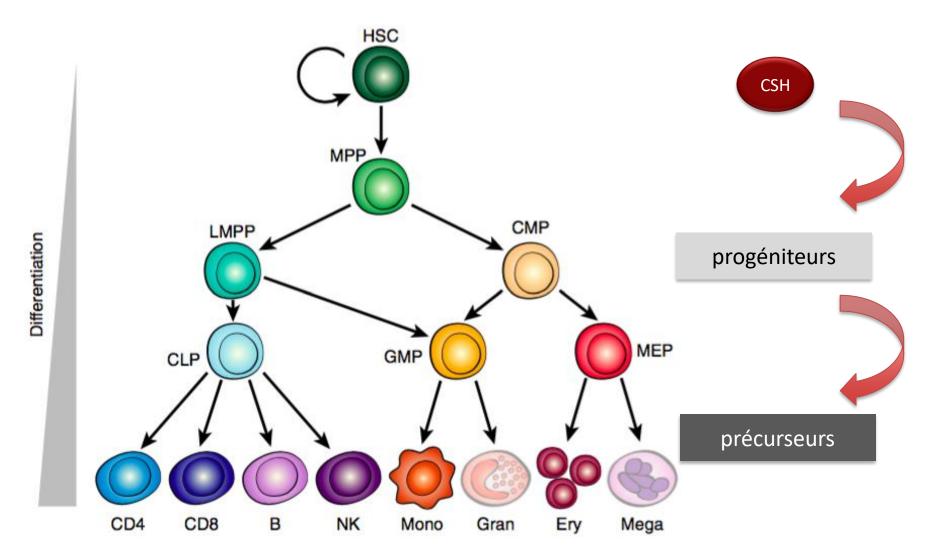
CLP: Progéniteur Lymphoïde Pluripotent

CMP: Progéniteur Myéloïde Commun

GMP: Progéniteur Monocytaire/Granulocytaire

MEP: Progéniteur Erythrocytaire/Mégacaryocytaire

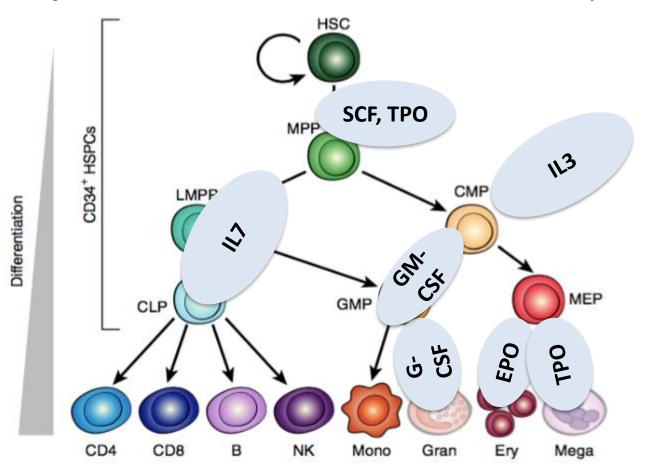
Différenciation progéniteurs -> précurseurs



S. Huet -2024

Contrôle de la différenciation

La différenciation hématopoïétique est dirigée par des cytokines/hormones et des facteurs de transcription



Contrôle de la différenciation

La différenciation hématopoïétique est dirigée par des cytokines/hormones et des facteurs de transcription

SCF: Stem Cell Factor

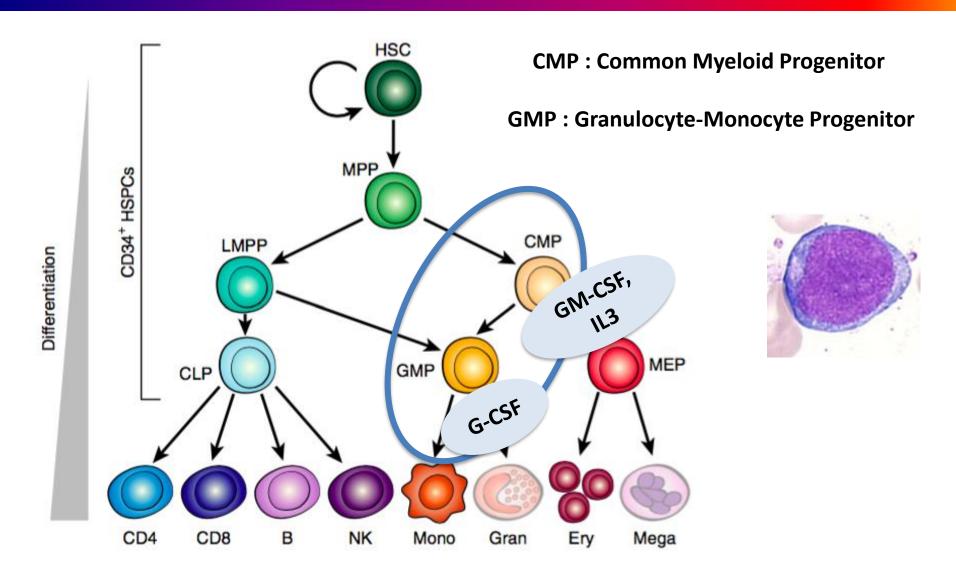
TPO: Thrombopoietin (Thrombopoïétine)

IL: Interleukine

GM-CSF et G-CSF : Granulocyte (-Monocyte) Colony Stimulating Factor

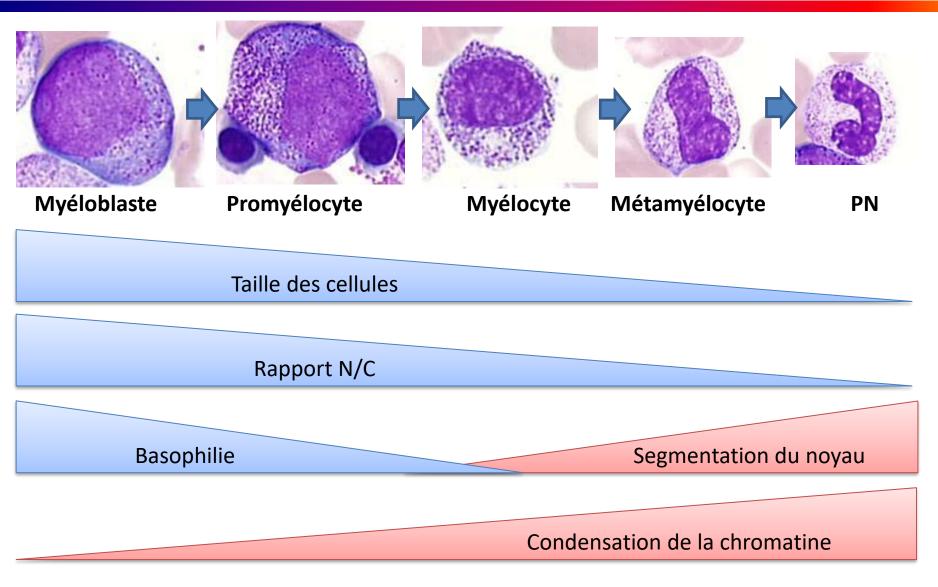
EPO: Erythropoietin (Erythropoïétine)

Granulopoïèse: progéniteurs



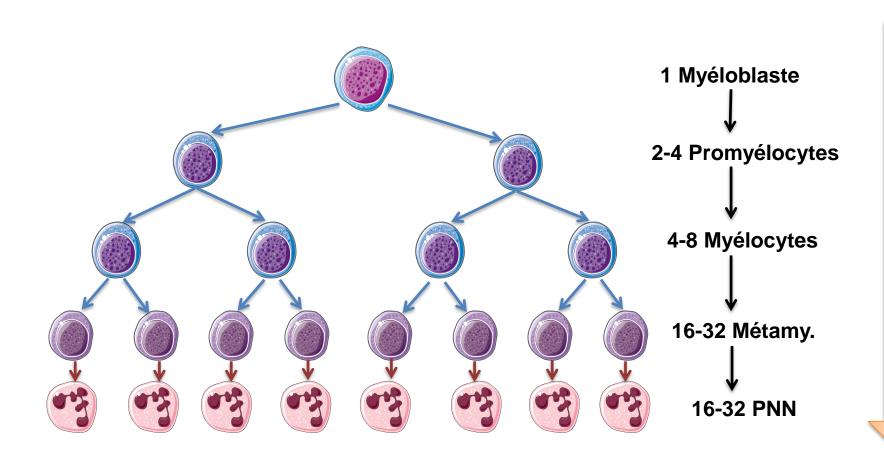
S. Huet -2024

Granulopoïèse: précurseurs



S. Huet - 2024

Granulopoïèse



Granulopoïèse: régulation

- Cytokines: GM-CSF, IL-3, G-CSF....
- Endotoxines bactériennes
- Inflammation



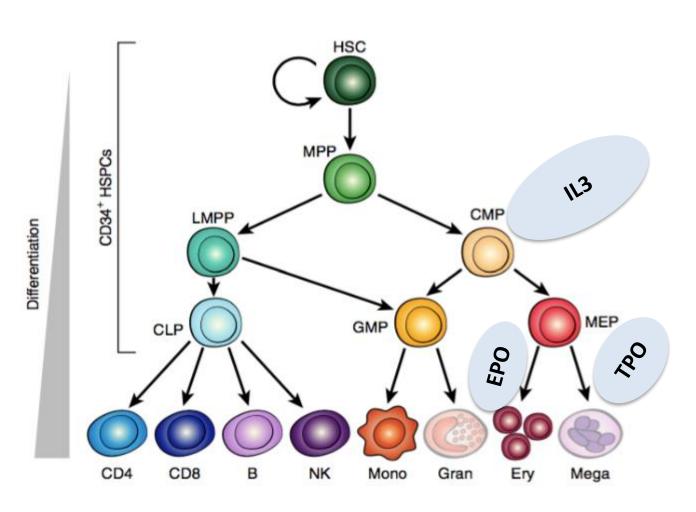
Conséquences en pathologie :

- → Polynucléose neutrophile en cas d'infection bactérienne ou d'inflammation
- → Neutropénie/agranulocytose = risque infectieux +++



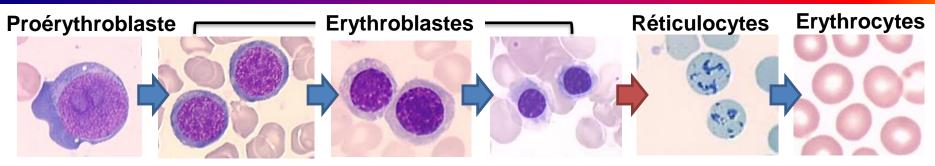
Applications thérapeutiques : G-CSF recombinant

Erythropoïèse : progéniteurs



*CSF: colony-stimulating factor

Erythropoïèse



Expulsion du noyau Passage de l'érythroblaste dans le sang

Taille des cellules

Cytoplasme:

Acidophilie (Hb)

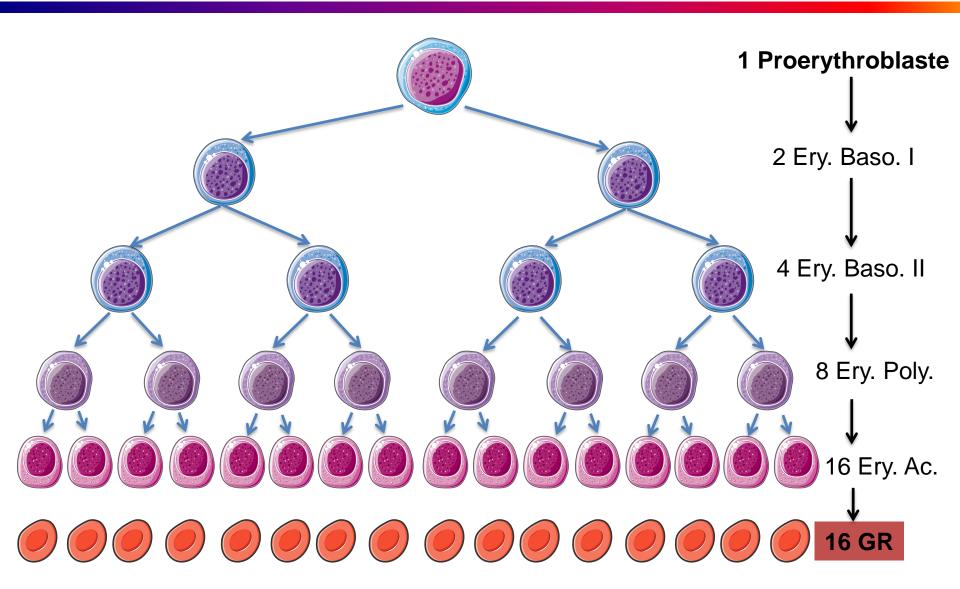
Basophilie (ARN)

Saturation en hémoglobine

Durée de différenciation : env. 6 jours

S. Huet - 2024

Erythropoïèse



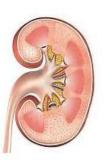
Régulation de l'érythropoïèse

Cytokines :

- IL-3, IL-1, IL-4, IL-6, IL-9
- SCF et GM-CSF
- EPO

EPO = principal facteur de croissance de l'érythropoïèse

- Production majoritairement rénale
- Liaison à l'EPO-R
- Synthèse modulée par l'oxygénation cellulaire
- Fer → Synthèse de l'hémoglobine
- Acide folique (=vit B9), vitamine B12 → Synthèse de l'ADN



Régulation de l'érythropoïèse



Conséquences en pathologie :

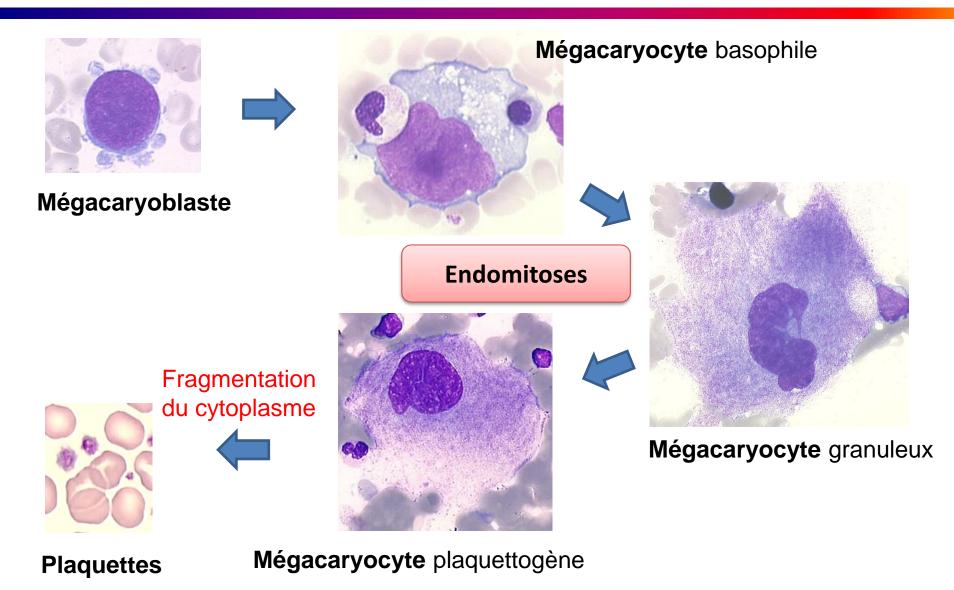
Déficit en Fer ou en Vitamines B9 ou B12

Troubles de l'érythropoïèse



Applications thérapeutiques : EPO recombinante

Mégacaryopoïèse



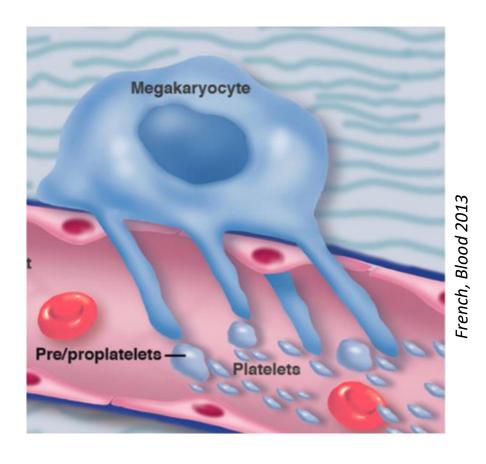
S. Huet - 2024 Photos: www.hematocell.fr

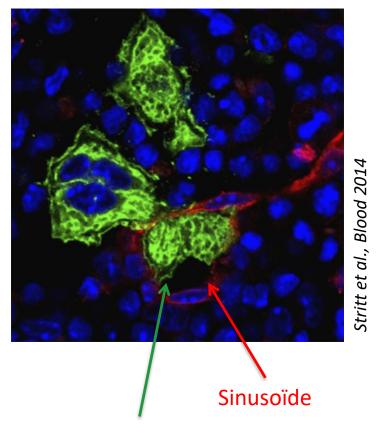
Mégacaryopoïèse & Thrombopoïèse

- Mégacaryopoïèse : différenciation d'une cellule souche en mégacaryocyte mature
 - Les MK représentent <1% des cellules médullaires
 - Maturation dure env. 8 jours
 - Se fait par endomitoses
- Thrombopoïèse : production des plaquettes par les mégacaryocytes
 - Chaque MK mature produit 2000-5000 plaquettes par fragmentation du cytoplasme
 - Durée de vie des plaquettes : 7-10 jours

Thrombopoïèse

Les mégacaryocytes libèrent les plaquettes dans les sinusoïdes médullaires





Prolongements cytoplasmiques du mégacaryocyte

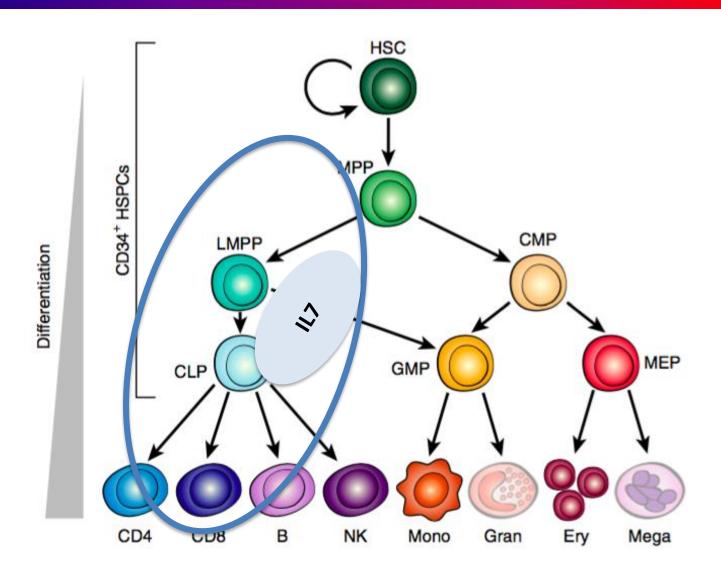
Régulation de la mégacaryo/thrombopoïèse

- Cytokines : SCF, GM-CSF, IL-3, IL-6, TPO
- TPO: Thrombopoïétine
 - Produite par le foie → protéine de l'inflammation
 - Homologie de structure avec l'EPO
 - Récepteur présent sur les progéniteurs, les précurseurs et les plaquettes
 - Effet thrombopoïétique régulé par le nombre de plaquettes circulantes



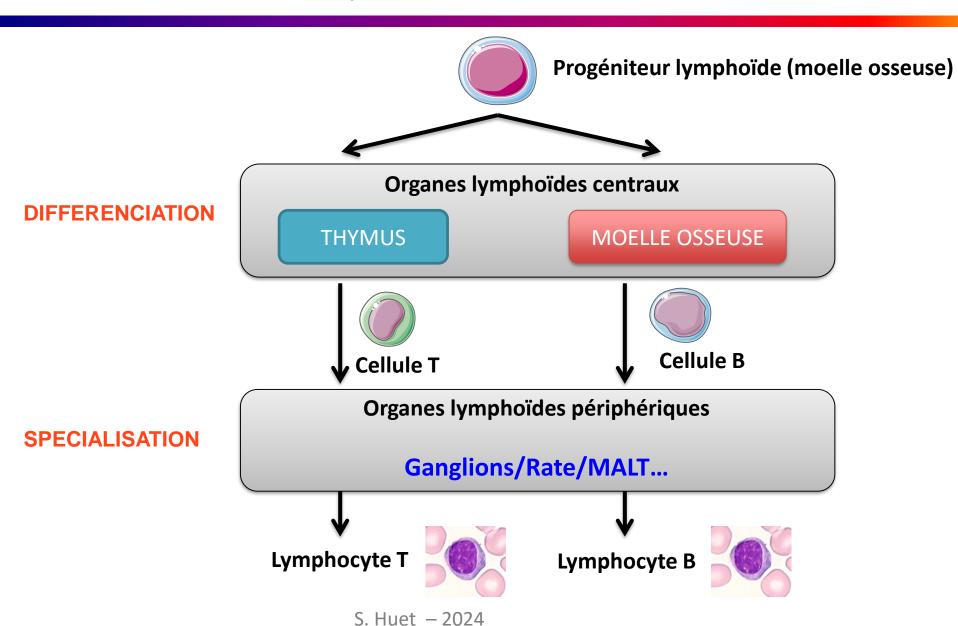
Applications thérapeutiques : agonistes du TPO-R

Lymphopoïèse



S. Huet -2024

Lymphopoïèse



III. L'hémogramme

L'hémogramme

- = Analyse <u>quantitative</u> et <u>qualitative</u> des cellules sanguines
- Examen médical le plus prescrit en France
- Prélèvement de sang veineux au pli du coude
- Examen sur sang total (non centrifugé)



Principe de l'hémogramme

- Analyse <u>quantitative</u> et <u>qualitative</u>
- Sur automate et/ou microscope

Laboratoire d'hématologie, Centre Hospitalier Lyon Sud



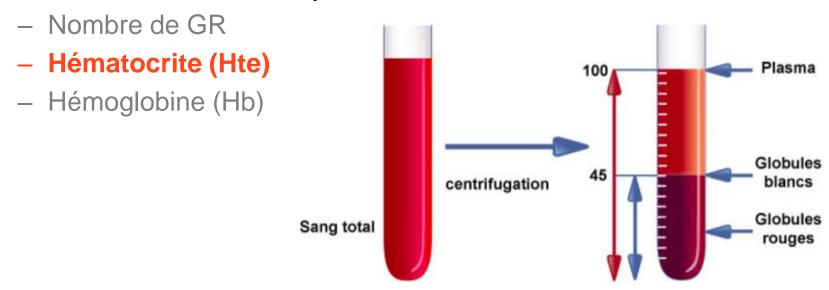


Principe de l'hémogramme

- 1) Analyse quantitative
- → Comptage des différents types cellulaires
- → Mesure de l'hémoglobine

- Paramètres mesurés par l'automate :
 - Nombre de GR
 - Hématocrite (Hte)
 - Hémoglobine (Hb)

Paramètres mesurés par l'automate :



Hématocrite = Volume occupé par l'ensemble des GR dans un volume connu de sang total

- Paramètres mesurés par l'automate :
 - Nombre de GR
 - Hématocrite (Hte)
 - Hémoglobine (Hb)

Valeurs usuelles:

Homme: 130 - 170 g/L

Femme: 120 - 160 g/L

Taux d'Hb abaissé

= ----

ANEMIE

Remarque : taux d'Hb physiologiquement plus élevé chez le nouveau-né et plus bas chez la femme enceinte

- Paramètres mesurés par l'automate :
 - Nombre de GR
 - Hématocrite (Hte)
 - Hémoglobine (Hb)
- Paramètres calculés à partir des paramètres précédents :
 - VGM : Volume Globulaire Moyen (fL = femtolitre = 10⁻¹⁵L)
 - TCMH : <u>Teneur</u> Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (pg)
 - CCMH: Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (g/L)

Intérêt des Indices érythrocytaires : indications sur le <u>mécanisme</u> <u>physiopathologique</u> (responsable d'une anémie par ex.)

Numération des réticulocytes

Réticulocytes = **jeunes** GR passés dans la circulation sanguine depuis < **48h**

Valeurs usuelles : 20-80 G/L

reflètent la **production médullaire** des GR

En cas d'anémie :

- Taux de réticulocytes augmenté
 - Signe une origine périphérique de l'anémie = problème de destruction ou de perte « en périphérie »
- Taux de réticulocytes normal ou abaissé
 - Signe une origine centrale de l'anémie = défaut de production
- Oriente sur la cause possible de l'anémie

Interprétation de l'hémogramme (1)

Paramètre	Valeurs usuelles	Variations	Terme	
GR = érythrocytes	H: 4,5 - 5,7 T/L F: 4,2 - 5,2 T/L	E \(\delta\)	Erythrocytose Erythropénie	
Hématocrite	H: 42 - 54% F: 37 - 47%	/	Pas de terme spécifique	
Hémoglobine	H: 130 – 170 g/L F: 120 – 160 g/L	7	Polyglobulie Anémie	
VGM	80 – 100 fL	7	Macrocytose Microcytose	
TCMH	27 – 32 pg	7	Hypochromie	
ССМН	320 – 350 g/L	7	Hypochromie	
Réticulocytes	20 – 80 G/L	7	(Réticulocytose)	



Données à titre informatif



Interprétation de l'hémogramme (2)

Cellules	Valeurs usuelles	Variation	Terme	
Laviacantas	4.10.6/1	7	Hyperleucocytose	
Leucocytes	4-10 G/L	7	Leucopénie	
PNN	2-7,5 G/L	7	Polynucléose	
		7	Neutropénie	
PNE	0,04-0,5 G/L	7	Hyperéosinophilie	
Lymanhaaytaa	1.4.6./1	7	Hyperlymphocytose	
Lymphocytes	1-4 G/L	4	Lymphopénie	
Monocytes	0,2-1 G/L	71	Monocytose	
		4	Monocytopénie	
Dlaguettes	150-450 G/L	7	Thrombocytose	
Plaquettes		4	Thrombopénie	





Principe de l'hémogramme

2) Analyse qualitative

- → Analyse de la morphologie des cellules
- → Nécessite la réalisation d'un frottis sanguin et l'observation au microscope optique

Analyse morphologique : le frottis sanguin

- 1 Réalisation du frottis
- (2) Coloration

MGG = May-Grünwald Giemsa



(3) Lecture









Microscope optique

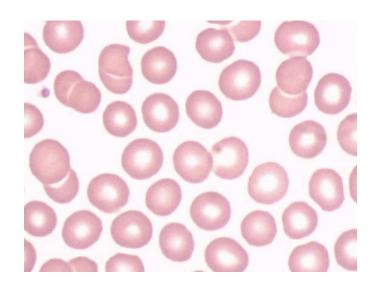
Microscope automatisé

S. Huet - 2024

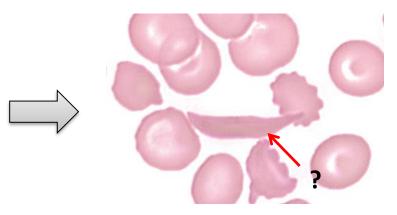
Exemple: Analyse morphologique des GR

Analyse qualitative → détection des anomalies :

- ➤ de taille
- > de forme
- > de coloration



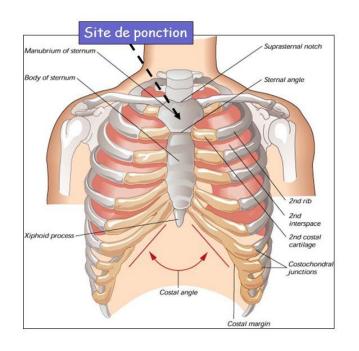
Anomalie de forme :



IV. Le myélogramme

- But : analyser la composition cellulaire de la MO
- Lieu : épines iliaques ou manubrium sternal

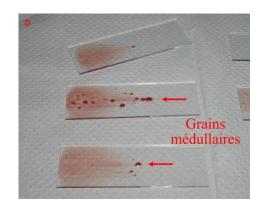


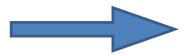


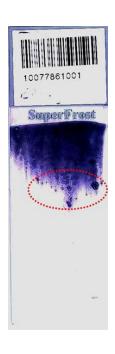


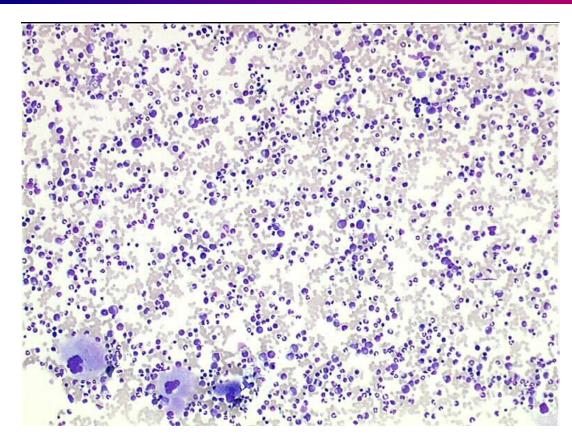
S. Huet - 2024

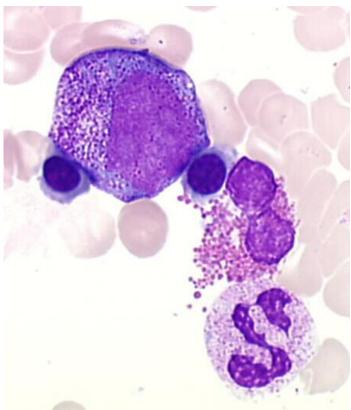
- Ponction de grains médullaires
- tube EDTA
- Coloration au MGG











Objectif x10

Objectif x100

Appréciation de la richesse globale : richesse diminuée / normale / augmentée

<u>Lignée mégacaryocyta</u>	<u>ire</u> présente
Cellules indifférenciées	5 0-3%
Lignée granuleuse	45 à 75%
Myéloblastes Promyélocytes Myélocytes neutrophil Métamyélocytes neutrophil Polynucléaires neutrop	ophiles 10 -20
Eosinophiles 0 – 3	
Basophiles	0 – 2
Monocytes	0 - 3

<u>Lignée érythroblastique</u>	8 à 2	25%
Proérythroblastes Érythroblastes basophiles Érythroblastes polychromatophile Érythroblastes acidophiles	es	0 - 2 2 - 8 5 - 10 7 - 15
Lignée lymphoïde	5 à 1	15%

Conclusion

 Analyse attentive de l'hémogramme (numération + formule leucocytaire) → Détection de la majorité des anomalies

 Si suspicion de trouble de l'hématopoïèse (problème central) → myélogramme

Questions?



sarah.huet@univ-lyon1.fr