



**Hématologie
cellulaire
Oncohématologie**

Introduction à l'hématologie

- I. Anatomie de la moelle osseuse
- II. Anatomie des organes lymphoïdes
- III. Hématopoïèse : cellules souches
- IV. Régulation de l'hématopoïèse
- V. Physiologie des éléments figurés du sang
- VI. Exploration du sang et des organes hématopoïétiques
- VII. Présentation schématique des principales hémopathies

Le sang est une suspension cellulaire dont la couleur rouge est due à la présence très majoritaire de globules rouges, ou hématies, riches en hémoglobine. Les cellules sont en suspension dans le plasma, un liquide complexe constitué d'eau, de sels minéraux et de molécules organiques. Après coagulation, le plasma dépourvu de fibrinogène constitue le sérum.

Le sang apparaît chez l'homme dès le vingt et unième jour de l'embryogenèse, en même temps que les premiers vaisseaux. Il est produit dans l'AGM (aorte-gonades-mésonephros) et le sac vitellin (origine mésodermique). Entre le deuxième et le septième mois de la vie, le foie et la rate prennent la relève, et ce n'est que dans les deux derniers mois de la vie intra-utérine que la moelle osseuse devient le site prédominant de la formation du sang (figure 1.1). Après la naissance, la moelle est le site exclusif de production sanguine. Progressivement, au cours de l'enfance, le tissu hématopoïétique des os longs est remplacé par du tissu adipeux, avec pour conséquence chez l'adulte une localisation des trois quarts de la moelle osseuse hématopoïétique dans les os plats (bassin, sternum) et les vertèbres.

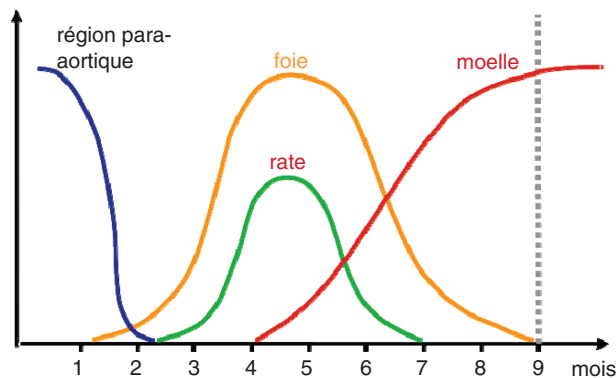


Fig. 1.1. Localisation de l'hématopoïèse chez l'embryon et le fœtus.

I. Anatomie de la moelle osseuse

La moelle osseuse hématopoïétique fonctionne dans un espace contraint (cadre osseux), non extensible et très richement vascularisé. L'examen au microscope d'une biopsie ostéoméduleuse met en évidence les travées osseuses, des espaces adipeux et des amas de cellules hématopoïétiques entourant des sinus vasculaires. Les cellules hématopoïétiques établissent des relations étroites avec le microenvironnement médullaire, plus particulièrement avec la matrice protéique extracellulaire (fibronectine, laminine, collagènes, etc.) et les cellules stromales, avec lesquelles elles interagissent *via* des molécules d'adhérence. Les cellules les plus immatures sont fixées aux cellules stromales au sein de niches hématopoïétiques, et leur maturation/différenciation favorise la libération dans le flux sanguin des cellules différenciées *via* la modification de l'expression des facteurs d'ancrage au microenvironnement (figure 1.2).

II. Anatomie des organes lymphoïdes

A. Organes lymphoïdes centraux : moelle et thymus

La moelle comprend un tissu lymphoïde diffus, non folliculaire, en étroite interaction avec le microenvironnement médullaire.

Le thymus a une structure non folliculaire, avec des lobules comprenant une zone corticale, riche en thymocytes immatures ($CD3^+ CD4^+ CD8^+$), et une zone médullaire dans laquelle les thymocytes sont des lymphocytes T matures $CD3^+ CD4^+$ ou $CD3^+ CD8^+$. Ces cellules quittent ensuite le thymus par voie sanguine pour migrer vers les organes lymphoïdes périphériques (figure 1.3). Apparu dès la sixième semaine chez l'embryon, le thymus diminue progressivement après la naissance, involue à partir de la puberté et persiste à l'état de traces jusqu'à 60 ans environ.

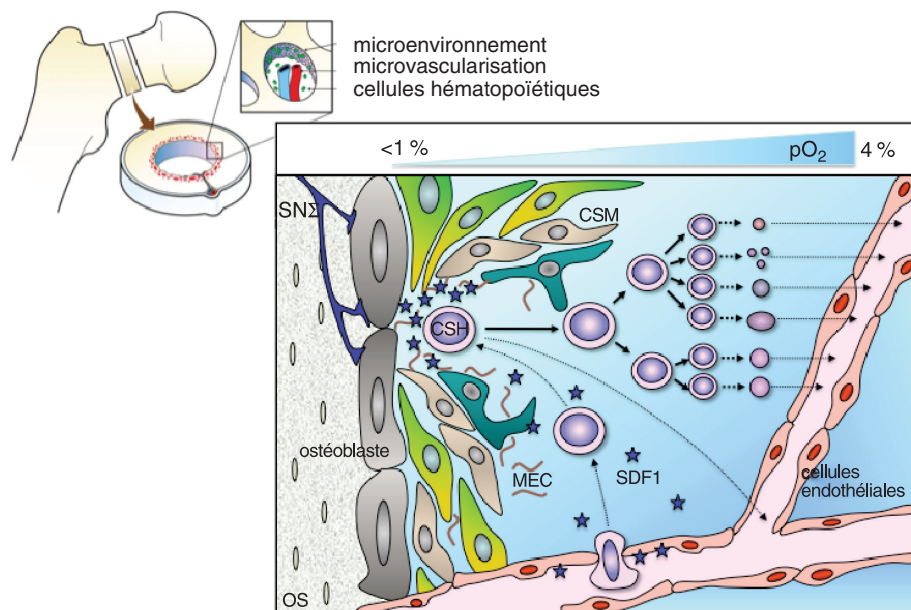


Fig. 1.2. Le microenvironnement médullaire et la niche hématopoïétique.

CSH, cellule souche hématopoïétique ; CSM, cellule souche mésenchymateuse ; MEC, matrice extracellulaire ; SNΣ, système nerveux sympathique ; SDF1, *Stromal Cell-Derived Factor 1*.

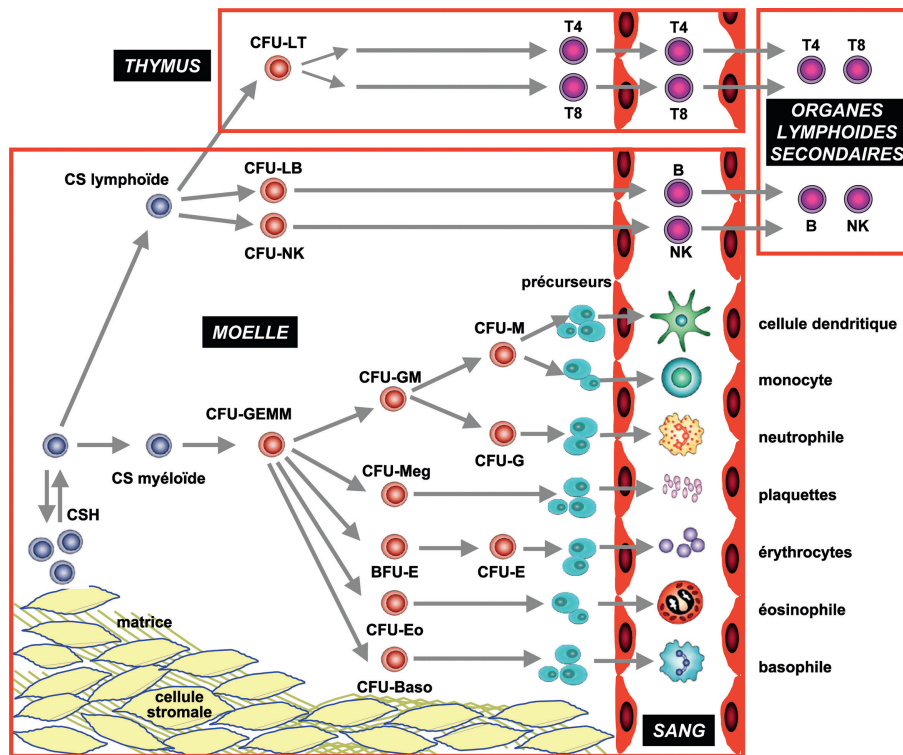


Fig. 1.3. Cascade hématopoïétique.

Les progéniteurs clonogéniques (en anglais CFU, *Colony-Forming Unit*) sont principalement : la CFU-GEMM (*Granulocytic-Erythroid-Megakaryocytic-Monocytic*), la CFU-GM, la CFU-G, la CFU-M, le progéniteur commun mégacaryocytaire et érythroblastique MEP, le BFU-E (*Burst-Forming Unit Erythroid*), le BFU-Mk (mégacaryocytaire), et les CFU-Eo (éosinophile) et CFU-Baso (basophiles).

B. Organes lymphoïdes périphériques

Les organes lymphoïdes périphériques comprennent les ganglions lymphatiques, la rate, les amygdales, le tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT, *Mucosa-Associated Lymphoid Tissue*) et le système lymphoïde cutané. On retrouve en outre des lymphocytes dans presque tous les organes (sauf le système nerveux central).

Sur le plan anatomique, il existe sous la capsule ganglionnaire un sinus dans la continuité des lymphatiques afférents. Sous le sinus, le parenchyme ganglionnaire comprend successivement, de l'extérieur vers le centre :

- une zone corticale externe comprenant les follicules lymphoïdes (lymphocytes B) ;
- une zone paracorticale avec les lymphocytes T et les cellules dendritiques ;
- une zone médullaire pauvre en cellules.

Il existe deux types de follicules ganglionnaires :

- les follicules primaires (non stimulés) : lymphocytes B au repos et cellules dendritiques ;
- les follicules secondaires (après stimulation antigénique), qui comprennent trois zones, de la périphérie vers le centre :
 - le manteau, reste du follicule primaire ;
 - le centre germinatif, avec :
 - une zone sombre centroblastique (grandes cellules à noyau non clivé), siège de la prolifération lymphoïde et de la commutation isotypique ;

- une zone claire centrocytique (petites cellules à noyau clivé), siège de la sélection des lymphocytes par l'antigène, puis de leur différenciation en lymphocytes B mémoire et en plasmocytes.

La rate est un organe hématopoïétique jusqu'au neuvième mois de la vie intra-utérine. Elle comprend la pulpe rouge majoritaire, constituée de sinus veineux et des cordons de Billroth, et la pulpe blanche périartériolaire, constituée de manchons lymphoïdes (lymphocytes T) et de follicules lymphoïdes à leur périphérie. La zone marginale entourant les manchons lymphoïdes et les follicules est riche en lymphocytes et macrophages.

III. Hématopoïèse : cellules souches

Le système hématopoïétique doit produire tout au long de la vie des cellules spécialisées en quantité très importante pour assurer le renouvellement des cellules lymphoïdes (lymphocytes) et myéloïdes (érythrocytes, plaquettes sanguines, polynucléaires et monocytes). Tous les éléments figurés du sang proviennent de cellules souches hématopoïétiques (CSH) qui, par définition, assurent deux fonctions : leur propre renouvellement (ou autorenouvellement) et la production de cellules différenciées. Au cours de l'embryogenèse, l'autorenouvellement prédominant est dit d'« expansion », avec une division cellulaire symétrique (une cellule souche produit deux cellules souches) permettant l'amplification du pool de cellules souches. Après la naissance, l'autorenouvellement est dit « de maintien », avec une division cellulaire asymétrique produisant une cellule souche et un progéniteur qui s'engagera dans la différenciation cellulaire. D'autres cellules souches sont présentes dans la moelle osseuse : les cellules souches mésenchymateuses, qui sont à l'origine des cellules du stroma médullaire, des ostéoblastes, des adipocytes et des cellules musculaires lisses.

La cascade hématopoïétique (figure 1.3) comprend trois compartiments : les progéniteurs hématopoïétiques, les précurseurs et les cellules différenciées. Les CSH correspondent à une sous-population très minoritaire de progéniteurs immatures multipotents capable de reconstituer à long terme une hématopoïèse complète (lymphoïde et myéloïde) après myéloablation. Les cellules souches au sein des niches hématopoïétiques ne font que très peu de mitoses et sont très majoritairement dans un état de quiescence, permettant en cela de les protéger des effets délétères des traitements antimitotiques (chimiothérapies) utilisés à doses conventionnelles. Les progéniteurs expriment à leur surface la sialomucine CD34. Les cellules CD34⁺ représentant environ 1 % des cellules mononucléées médullaires et l'absence d'expression de CD38 caractérise la fraction des progéniteurs les plus immatures (cellules CD34⁺ CD38⁻). La capacité d'autorenouvellement des progéniteurs diminue avec leur maturation (par exemple : cellule souche multipotente > cellule souche myéloïde > CFU-GEMM > CFU-GM > CFU-G). Les CSH présentent deux caractéristiques importantes mises à profit en thérapie cellulaire (greffe) : elles résistent à la congélation à – 196 °C (azote liquide) et elles sont capables de migrer dans la circulation sanguine, ce qui permet de les collecter par cytophérèse dans des voies veineuses périphériques (cellules souches périphériques).

Les progéniteurs ne sont pas identifiables morphologiquement et leur quantification nécessite des techniques spécialisées de culture cellulaire. Leurs noms (par exemple, BFU-E, *Burst-Forming Unit-Erythroid*) correspondent aux caractéristiques morphologiques des colonies obtenues *in vitro* à partir de ces progéniteurs alors dits « clonogéniques » (capables de former des colonies). Ainsi, dans la lignée érythroïde, la colonie issue d'une BFU-E est formée de plusieurs amas cellulaires rougeâtres « éclatés » d'érythroblastes. Dans chaque lignée, les progéniteurs les plus matures (CFU-E, CFU-G, CFU-M, CFU-Meg, etc.) se différencient en précurseurs, dont les caractéristiques morphologiques permettent l'identification dans la moelle (myélogramme) comme dans le sang en cas de myélémie ou d'érythroblastémie (frottis sanguin). Leurs noms correspondent aux caractéristiques morphologiques des cellules elles-mêmes et sont terminés par le suffixe « -blaste » (par exemple, érythroblastes dans la lignée érythroïde), témoignant de leur caractère jeune ou immature morphologiquement — attention ! le terme « blastes »

utilisé seul désigne *a priori* des cellules malignes. Au terme de leur différenciation, les précurseurs deviennent des cellules matures spécialisées qui quittent le compartiment médullaire et rejoignent la circulation sanguine.

IV. Régulation de l'hématopoïèse

La production médullaire quotidienne atteint $200 \cdot 10^9$ érythrocytes, $100 \cdot 10^9$ plaquettes et $50 \cdot 10^9$ polynucléaires neutrophiles. Elle est très finement régulée pour permettre une adaptation de chaque lignée en fonction de ses besoins propres. Cette régulation très complexe fait intervenir principalement des facteurs cellulaires (interactions avec les cellules stromales) et moléculaires (facteurs de croissance hématopoïétiques). Les interactions avec les cellules du microenvironnement médullaire intéressent principalement les CSH au sein des niches hématopoïétiques, et les cellules différenciées qui quittent le compartiment médullaire par migration transendothéliale.

Les facteurs de croissance hématopoïétiques jouent un rôle central dans l'hématopoïèse et peuvent être regroupés en catégories.

A. Facteurs de différenciation terminale

Ils sont indispensables à la fabrication des cellules matures de chaque lignée, qui seront produites, et pour certaines d'entre elles stockées, dans la moelle avant de rejoindre le compartiment sanguin :

- l'érythropoïétine (EPO) pour la lignée érythroïde¹ ;
- la thrombopoïétine (TPO) pour la lignée mégacaryocytaire¹ ;
- le *Granulocyte-Macrophage-Colony Stimulating Factor* (GM-CSF) pour les lignées granuleuse et monocytaire ;
- le *Granulocyte-Colony Stimulating Factor* (G-CSF) pour la lignée granuleuse ;
- le *Macrophage-Colony Stimulating Factor* (M-CSF) pour la lignée monocytaire ;
- l'interleukine 5 (IL-5) pour la lignée éosinophile ;
- le *Stem Cell Factor* ou *Kit ligand* (SCF ou KL) pour la lignée basophile.

B. Facteurs actifs en amont

Les mécanismes régulant les CSH sont très complexes et impliquent des facteurs de croissance comme le SCF, la TPO, le GM-CSF, et plusieurs interleukines comme l'IL-3 et l'IL-6. Ils sont notamment actifs sur le cycle cellulaire, les CSH étant très majoritairement quiescentes. D'autres molécules ont un rôle clé comme la chimiokine *Stromal cell-Derived Factor-1* (SDF1 ou CXCL12), dont la forte concentration au niveau des niches (figure 1.2) permet l'attraction des CSH exprimant à leur surface son récepteur CXCR4.

Chacune de ces molécules a un ou plusieurs récepteurs membranaires connus, comme par exemple c-Kit pour le SCF et c-mpl pour la TPO. Les progéniteurs expriment plusieurs de ces récepteurs en faible quantité et, au cours de la différenciation, leur expression sur les précurseurs se restreint et prédomine sur tel ou tel récepteur pour un facteur de croissance spécifique

¹ L'EPO est synthétisée essentiellement par le rein et la TPO essentiellement par le foie : elles assurent une régulation de type hormonal.

d'une lignée. Par exemple, dans la lignée érythroïde, le récepteur de l'EPO est très peu présent sur les BFU-E, augmente sur les CFU-E et est abondant sur les proérythroblastes et érythroblastes basophiles. La signalisation en aval de ces récepteurs permet l'activation de gènes clés du programme de différenciation cellulaire. Par exemple, la signalisation en aval du récepteur de l'EPO met en jeu la voie JAK/STAT (en particulier JAK2 et STAT5), qui active le gène *GATA1* codant un facteur de transcription essentiel dans la lignée érythroïde, notamment pour la production de spectrine, un élément du cytosquelette des érythrocytes.

Conjointement à ces facteurs cellulaires et moléculaires, l'hématopoïèse au sein de la moelle est aussi dépendante des paramètres physicochimiques. Par exemple, il existe un gradient d'oxygène dans la moelle entre le vaisseau sanguin ($pO_2 = 4\%$) et le fond des niches hématopoïétiques ($pO_2 < 1\%$) (figure 1.2), et il est bien établi que les CSH fonctionnent de façon optimale en hypoxie chronique. De plus, l'organisation spatiale au sein de la moelle des différents acteurs cellulaires permet une régulation fine de la production des éléments matures. Ainsi, au sein des îlots érythroblastiques, les différents érythroblastes sont étroitement au contact les uns des autres autour d'une cellule pourvoyeuse de fer, le macrophage. Les proérythroblastes expriment à leur surface des récepteurs (Fas) pour des molécules capables de déclencher leur apoptose (Fas-ligand ou FasL). En présentant FasL aux proérythroblastes voisins, les érythroblastes matures vont déclencher leur mort cellulaire *via* l'interaction Fas/FasL, permettant ainsi de freiner l'érythropoïèse (figure 1.4).

V. Physiologie des éléments figurés du sang

A. Globules rouges, ou hématies ou érythrocytes

Les érythrocytes sont les cellules les plus abondantes de la circulation sanguine. La production quotidienne est de $200 \cdot 10^9$ par jour, et leur durée de vie est de 120 jours, au cours desquels ils effectuent un déplacement de près de 500 km dans la microcirculation. Ils ont pour fonction de transporter l'oxygène (O_2) des poumons vers les tissus, et d'évacuer le dioxyde de carbone

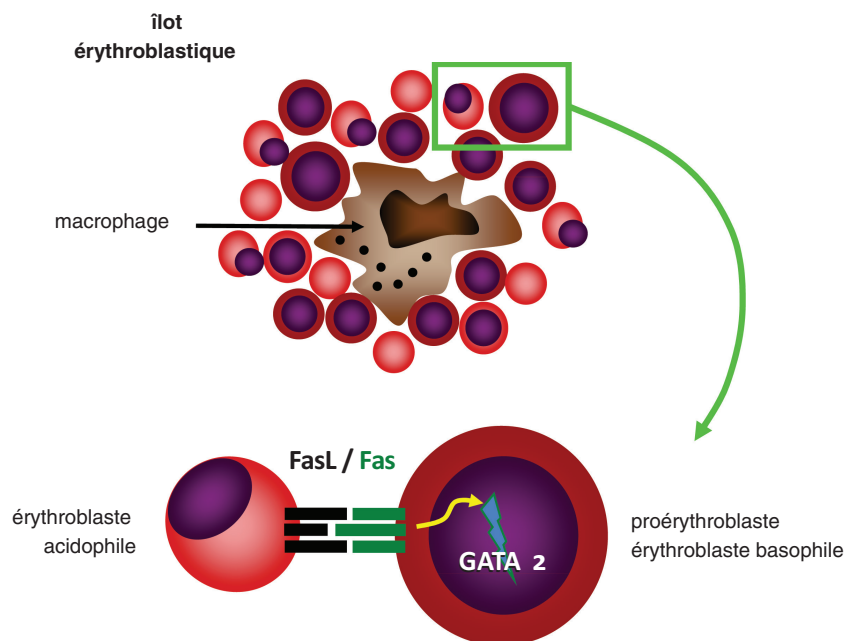


Fig. 1.4. Régulation cellulaire de l'érythropoïèse dans les îlots érythroblastiques.

(CO₂) en sens inverse. Au terme de l'érythropoïèse, les érythroblastes perdent leur noyau (énucléation) et deviennent des érythrocytes de forme biconcave, avec une grande capacité de déformation, pour circuler dans les capillaires.

1. Érythropoïèse

Après la CFU-GEMM (*Colony-Forming Unit Granulocyte-Erythroid-Megakaryocyte-Monocyte*), les progéniteurs érythroïdes sont successivement la BFU-E (*Burst-Forming Unit Erythroid*) et la CFU-E (*Colony-Forming Unit Erythroid*). Les précurseurs sont successivement le proérythroblaste et les érythroblastes basophiles (I et II) polychromatophiles et acidophiles. Après énucléation, ce dernier type d'érythroblaste devient un réticulocyte (hématie jeune riche en ARN). Cette cascade érythroïde (figure 1.5) permet la production de seize réticulocytes à partir d'un proérythroblaste. Comme dans toutes les lignées, chaque division s'accompagne d'une diminution de la taille de la cellule et du rapport nucléocytoplasmique ainsi que d'une condensation de la chromatine. De plus, le caractère acidophile (orangé) du cytoplasme traduit la fabrication d'hémoglobine. Les réticulocytes correspondent au cytoplasme des érythroblastes acidophiles après expulsion du noyau : ils demeurent dans la moelle osseuse un à trois jours et un à deux jours dans le sang. Comme ils contiennent encore un peu d'ARN, ils peuvent être identifiés et comptés spécifiquement (coloration spéciale ou fluorescence détectée par un cytomètre en flux) : leur nombre permet d'apprécier la production médullaire en globules rouges (valeur normale : 20–100 giga/l). Quelques hématies sortant de la moelle peuvent contenir un reliquat nucléaire (corps de Howell-Jolly) ou des grains de fer : on ne les observe pas à l'état normal car elles sont éliminées en quelques minutes par les macrophages spléniques lors de leur passage dans la rate. La présence de corps de Howell-Jolly visibles sur le frottis sanguin est constante en cas de splénectomie, ou fait suspecter une asplénie (le plus souvent fonctionnelle).

L'érythropoïèse normale dure sept jours. Cette durée peut être diminuée en cas de besoins augmentés. Ceci a plusieurs conséquences pratiques : après une hémorragie, par exemple, la moelle osseuse ne peut délivrer de nouvelles hématies qu'après un délai minimum de trois jours. La réticulocytose sanguine reflète le fonctionnement médullaire et traduira le caractère régénératif ou non d'une anémie. L'EPO est le principal facteur de croissance hématopoïétique de l'érythropoïèse. Elle

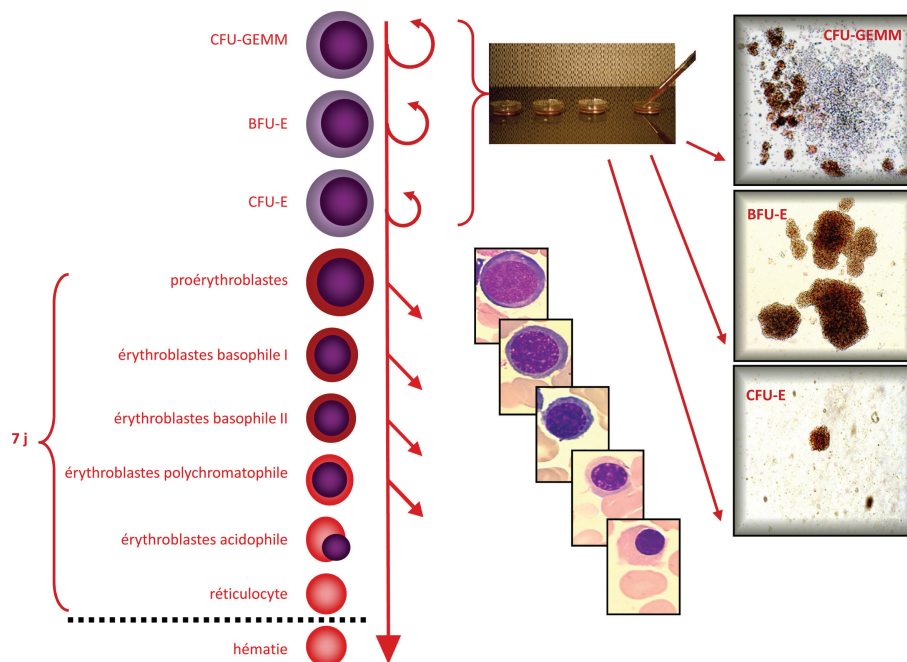


Fig. 1.5. Érythropoïèse.

est principalement synthétisée par les cellules endothéliales péri-tubulaires du rein en réponse à une hypoxie tissulaire. L'érythropoïèse nécessite des vitamines B9 (acide folique) et B12; indispensables pour la synthèse d'ADN, elles le seront donc aussi dans les autres lignées de l'hématopoïèse. Le fer est lui aussi nécessaire, mais exclusivement pour l'érythropoïèse (synthèse de l'hème). La vitamine B6 est nécessaire pour la synthèse de l'hème, mais ses besoins sont très limités. Compte tenu de ces éléments, une carence en vitamine B9 ou B12 diminuant le nombre de mitoses induit une anémie macrocytaire qui peut être associée à une thrombopénie et/ou une leucopénie (pancytopénie), et la régénération après supplémentation vitaminique ne sera visible qu'après quelques jours (crise réticulocytaire). À l'inverse, une carence martiale diminuant la synthèse d'hémoglobine induit une anémie microcytaire sans autre cytopénie.

Métabolisme du fer

L'organisme contient 4 à 5 g de fer, 80 % sous forme hémique (hémoglobine, myoglobine, cytochromes, peroxydases et catalases) et 20 % sous forme non hémique (ferritine, transferrine, hémosidérine). Le fer est le facteur le plus important de l'érythropoïèse. Il est principalement réparti dans l'hémoglobine des hématies (10 ml de sang contiennent 5 mg de fer), et dans des réserves sous forme de ferritine, principalement dans les hépatocytes, les macrophages et les érythroblastes.

Les besoins quotidiens sont dictés par les pertes. Les pertes dans les urines, les fèces, la sueur, les phanères et la desquamation cellulaire sont très faibles, de l'ordre de 1 mg par jour. Elles sont physiologiquement majorées par les menstruations (2 à 3 mg par jour). Toute hémorragie provoque la perte d'hémoglobine et donc la perte de fer. Les apports alimentaires doivent compenser les pertes. Par ordre décroissant, les aliments riches en fer hémique sont le boudin noir, le foie de veau, les huîtres, la viande rouge; ceux riches en fer non hémique sont le vin rouge, les céréales, le cacao, les lentilles et les épinards. Le fer hémique est absorbé directement par la muqueuse intestinale, contrairement au fer non hémique qui doit être libéré des complexes protéiques, être ionisé, rencontrer des transporteurs et enfin arriver sur une muqueuse saine.

Dans les pays développés, l'alimentation normale apporte 10 à 25 mg de fer dont seulement 10 à 20 % est absorbé, essentiellement au niveau du duodénum. Le fer alimentaire, réduit à l'état ferreux, est capté au pôle apical de l'entérocyte puis internalisé grâce à DMT1 (*Divalent Metal Transporter 1*). Il peut alors être stocké dans l'entérocyte sous forme de ferritine ou être relargué dans la circulation, au pôle basolatéral, grâce à la ferroportine. L'expression des transporteurs (DMT1 et ferroportine) dépend des stocks de fer intracellulaire. L'hepcidine, synthétisée par le foie, est l'hormone de régulation de l'absorption du fer; elle agit sur la ferroportine pour inhiber le transport du fer, entraînant une diminution de son absorption et une augmentation de sa rétention dans les cellules macrophagiques. Dans le sang circulant, le fer est pris en charge au niveau sanguin par la transferrine (ou sidérophylène) qui le transporte jusqu'aux utilisateurs principaux, les érythroblastes, lesquels présentent un récepteur spécifique à la transferrine — le fer sérique n'est jamais libre dans le plasma. Il existe ensuite un circuit « presque » fermé entre les érythroblastes et les cellules macrophagiques : le pool érythroblastique consomme 25 à 30 mg de fer par jour pour la production des hématies qui, au terme de leur vie, sont phagocytées par des macrophages qui remettent ce fer à disposition des érythroblastes, avec toutefois une perte de 1 à 3 mg par jour qui doit être compensée par les apports alimentaires (figure 1.6).

Plus les besoins sont grands, plus la transferrine livre rapidement le fer, et plus elle est donc désaturée, élevant ainsi le taux d'absorption, qui est au tiers de sa capacité à l'état physiologique. Ce phénomène est accru par une augmentation de la production de transferrine dans les carences martiales sévères. De plus, la synthèse de l'hepcidine diminue lorsque les besoins en fer augmentent. Il y a cependant, au niveau du pôle apical des cellules intestinales, peu de régulation de l'absorption, et celle-ci est limitée à 5–10 mg par jour maximum.

Les réserves macrophagiques de fer dans le foie, la rate et la moelle osseuse sont de 600 mg chez la femme à 1 200 mg chez l'homme, soit un tiers du fer présent dans les hématies. On en distingue deux types : une rapidement disponible, la ferritine, qui comprend jusqu'à 4 000

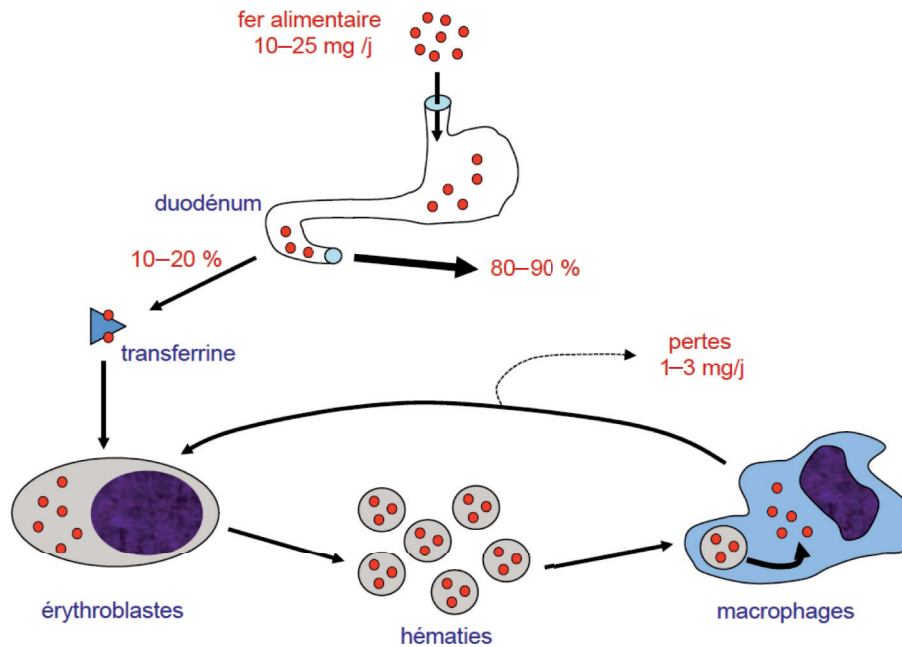


Fig. 1.6. Métabolisme du fer.

atomes de fer, et une plus lentement disponible, l'hémossidérine (gros grains dans le cytoplasme des macrophages et des érythroblastes, mis en évidence avec la réaction cytochimique de Perl). Les besoins en fer sont augmentés au cours de la grossesse, atteignant 8 à 10 mg par jour, compensés par une augmentation de l'absorption intestinale et l'utilisation des réserves. Néanmoins, des grossesses répétées et rapprochées peuvent induire une carence martiale. Les besoins sont aussi augmentés chez le nourrisson (l'apport alimentaire lacté est pratiquement nul), ainsi que chez l'adolescent.

L'exploration clinique du métabolisme martial repose sur le dosage du *fer sérique* (11 $\mu\text{mol/l}$ [femme] ou 12,5 $\mu\text{mol/l}$ [homme], à 34 $\mu\text{mol/l}$), le dosage de la transferrine ou de la *capacité totale de fixation* (ou de saturation) de la transferrine (60 à 75 $\mu\text{mol/l}$), ou le dosage de la *ferritine*.

D'autres explorations (métabolisme du ^{59}Fe , absorption digestive du fer) sont d'indications exceptionnelles.

Métabolisme de l'acide folique, ou vitamine B9

L'acide folique, ou acide ptéroylglutamique ou vitamine B9, est une vitamine hydrosoluble thermolabile (résistant mal à la cuisson), présente dans les légumes verts, les céréales, le foie et les viandes. Les besoins à l'âge adulte sont de 400 μg par jour. L'absorption se fait dans l'intestin grêle, principalement dans le jéjunum. Après déconjugaison des folates en monoglutamates par les bactéries de la lumière intestinale, ceux-ci sont absorbés par un mécanisme actif, mais aussi passif (utile en cas de dose massive thérapeutique). Dans le plasma, les folates sont liés à des protéines (surtout l'albumine), sans protéine transporteuse spécifique. Les folates sont aussi présents en quantité abondante dans les érythrocytes. L'excrétion est principalement fécale (200 μg par jour) et très faiblement urinaire, et correspond à une perte quotidienne de 1 à 2 % des réserves (figure 1.7a). Ces réserves, réparties dans les tissus (10 à 15 mg, surtout dans le foie), sont faibles, épuisables en deux à quatre mois en cas de carence d'apport.

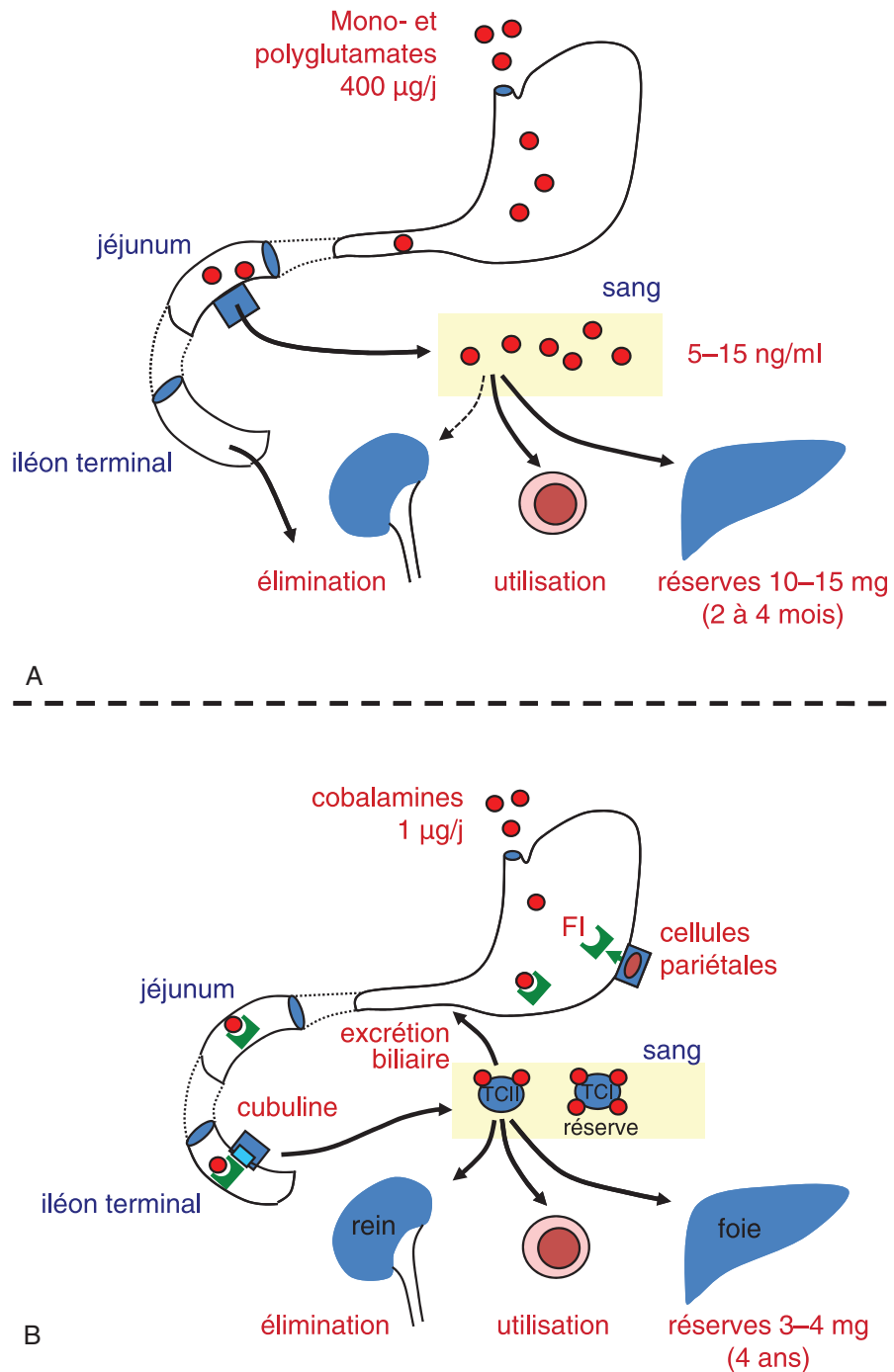


Fig. 1.7. A. Métabolisme de l'acide folique. B. Métabolisme de la vitamine B12.

Les besoins sont augmentés en cas de grossesse (600 µg par jour), d'allaitement (500 µg par jour) et en cas de régénération médullaire importante. Ils sont plus faibles dans l'enfance, estimés de 50 à 300 µg par jour de la naissance à la puberté.

La synthèse de l'ADN (et non de l'ARN) nécessite la transformation de désoxy-uridine monophosphate en désoxythymidine monophosphate par la thymidilate synthétase, une enzyme dépendant du métabolisme des folates. Ainsi, pour être actifs au niveau cellulaire, les folates

sont très rapidement transformés en tétrahydrofolates (THF) qui seront ensuite métabolisés dans le cycle enzymatique des folates, impliquant notamment la dihydrofolate réductase. La vitamine B12 intervient également, en facilitant la pénétration des folates dans la cellule ainsi que la régénération du THF. Les enzymes impliquées dans le cycle des folates peuvent être inhibées par certains médicaments (par exemple, la dihydrofolate réductase par le méthotrexate, la thymidilate synthétase par le 5-fluoro-uracile, etc.).

L'exploration clinique du métabolisme des folates repose essentiellement sur le dosage des folates sériques (5 à 15 ng/ml).

Métabolisme de la vitamine B12

La vitamine B12 existe sous diverses formes : les cobalamines. Absentes du règne végétal, elles sont présentes dans le foie, les viandes, laitages, œufs et poissons. Les besoins quotidiens de l'adulte sont de 3 µg par jour. Ils sont largement couverts par une alimentation équilibrée, mais pas par un régime végétalien strict. Après libération des cobalamines alimentaires par hydrolyse peptique dans l'estomac, celles-ci sont conjuguées à une protéine transporteuse, le facteur intrinsèque (FI). C'est une glycoprotéine sécrétée par les cellules pariétales fundiques, qui se dimérise en fixant la vitamine B12 sur un site spécifique et qui assure son transport jusqu'à l'iléon terminal. La vitamine B12 est alors absorbée à ce niveau après fixation du complexe FI-vitamine B12 sur un récepteur spécifique, la cubuline, présent sur les cellules en brosse de la muqueuse. Dans le sang circulant, la vitamine B12 est fixée à des protéines transporteuses, les transcobalamines. La transcobalamine I (TC I) fixe 90 % de la vitamine B12 du plasma et a un taux de renouvellement lent (réserves). La transcobalamine II (TC II) est la plus importante sur le plan physiologique, constituant la seule source de vitamine B12 pour l'ensemble des cellules. Elle fixe une faible quantité de vitamine B12 et a un taux de renouvellement très rapide. Les réserves essentiellement hépatiques sont très importantes, permettant de répondre aux besoins pendant quatre ans en cas de carence. L'excrétion est biliaire et urinaire (figure 1.7b). La vitamine B12 intervient dans deux réactions métaboliques : la conversion de l'homocystéine en méthionine et le catabolisme du L-méthylmalonyl-CoA. La première participe à la production de THF libre, et donc à la synthèse d'ADN. Dans la seconde, la vitamine B12 est indispensable au fonctionnement de la méthylmalonyl mutase : sa carence induit un excès d'acide méthylmalonique dont l'accumulation serait à l'origine des complications neurologiques observées au cours des carences en vitamine B12.

L'exploration clinique du métabolisme de la vitamine B12 repose essentiellement sur le dosage sérique de la vitamine B12 (200 à 400 pg/ml) et sur le dosage du FI dans le liquide gastrique avant et après stimulation (pentagastrine).

Le classique test d'absorption de la vitamine B12 radiomarquée, dit « de Schilling », n'est pratiquement plus réalisé.

2. Structure des hématies

L'hématie mature est un disque biconcave ayant un diamètre de 7,8 µm et une épaisseur de 1,7 µm. La structure de la membrane permet à l'hématie de se déformer pour traverser les plus petits capillaires (5 µm de diamètre) et de reprendre sa forme. La membrane est composée d'une bicouche lipidique de phospholipides stabilisée par du cholestérol. À l'extérieur, il existe une couche riche en mucopolysaccharides contenant notamment les substances de groupes sanguins. Les protéines peuvent être superficielles et mobiles dans la bicouche lipidique, transmembranaires ou sous-membranaires, constituant un réseau complexe, le cytosquelette, dont

les principales protéines sont la spectrine, l'actine, la protéine « bande 4.1 » (désignation par la migration électrophorétique) et l'ankyrine. La spectrine s'organise en tétramères reliés entre eux par l'actine et la protéine « bande 4.1 ». Ce squelette flexible est ancré au reste de la membrane par l'intermédiaire de l'ankyrine, qui relie la spectrine à l'extrémité cytoplasmique de la protéine transmembranaire « bande 3 » (figure 1.8). La bicouche lipidique est composée de phospholipides et de cholestérol. Des anomalies des protéines membranaires et des lipides peuvent modifier la forme et diminuer la déformabilité de l'hématie, induisant leur destruction prématurée (hémolyse), comme dans la sphérocytose héréditaire ou maladie de Minkowski-Chauffard.

Le cytoplasme a pour constituant essentiel l'hémoglobine (300 millions de molécules d'hémoglobine dans chaque globule rouge). On y trouve aussi des enzymes, du glucose et des ions (essentiellement K^+).

3. Hémoglobine

La fonction principale de l'hémoglobine est le transport de l'oxygène. Elle sert aussi à transporter du monoxyde d'azote (NO) et une partie (environ 40 %) du gaz carbonique (CO_2) des tissus aux poumons, celui-ci étant alors fixé sur des groupements aminés latéraux (carbhémoglobine ou carbaminohémoglobine) et non sur le fer comme l'oxygène.

De poids moléculaire 64 500, l'hémoglobine est constituée de quatre chaînes de globine, identiques deux à deux (dénommées α et β , pour l'hémoglobine A : $\alpha_2\beta_2$) et auxquelles sont ancrées quatre molécules d'hème. La globine est un ensemble de quatre chaînes polypeptidiques de 141 acides aminés pour la chaîne α et 146 pour la chaîne β . La structure tertiaire de chaque chaîne organise la « poche de l'hème » dans laquelle s'implante une molécule d'hème. L'hème est une molécule plane de porphyrine ayant une structure tétrapyrrolique avec, au centre, un atome de fer fixé sur quatre azotes des noyaux pyrrole. L'atome de fer garde donc deux valences libres : une pour fixer l'oxygène et l'autre pour ancrer l'hème à la globine *via* une histidine. Les quatre sous-unités de l'hémoglobine (une chaîne de globine et un hème) sont fixées les unes aux autres par de nombreux contacts entre acides aminés de chaque molécule de globine. La poche centrale entre les quatre sous-unités permet la fixation du 2,3-diphosphoglycérate (2,3-DPG) à l'état désoxygéné (figure 1.9). Cette molécule issue de la glycolyse (shunt de Rapoport-Luebering, en annexe de la voie principale) régule l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène, avec libération du 2,3-DPG et contraction de la poche centrale au cours de la fixation de l'oxygène sur les molécules d'hème (« compétition » entre l'oxygène et le 2,3-DPG). L'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène est augmentée dans les poumons et diminuée dans les tissus. La courbe de dissociation de l'oxygène (saturation en oxygène contre pression partielle en oxygène) se déplace vers la gauche lorsque l'affinité pour l'oxygène augmente et vers la droite lorsqu'elle diminue.

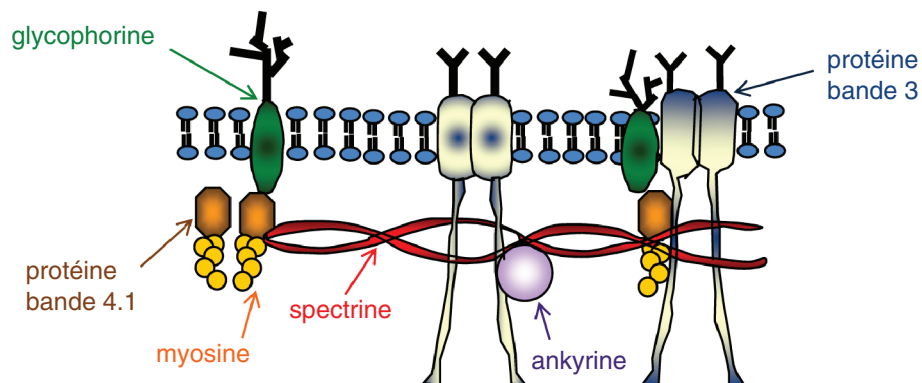


Fig. 1.8. Structure de la membrane érythrocytaire.

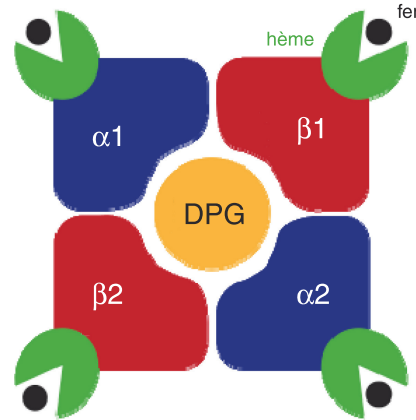


Fig. 1.9. Structure de l'hémoglobine.

DPG, 2,3-diphosphoglycérate.

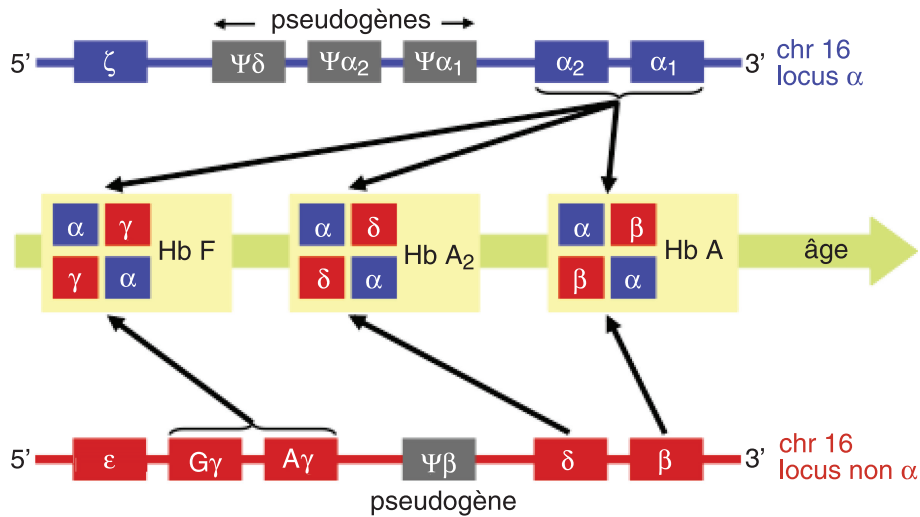


Fig. 1.10. Organisation des gènes de l'hémoglobine.

L'hème résulte de l'incorporation de fer dans la protoporphyrine III. Sa synthèse est effectuée dans les mitochondries des érythroblastes à partir de la glycine et de l'acide succinique, les constituants de base pour la synthèse de porphyrines. La vitamine B6 (pyridoxine) est le coenzyme de deux enzymes clés présentes aux deux extrémités de la chaîne réactionnelle, l'ala-synthétase et l'hème-synthétase ; un déficit en vitamine B6 est parfois associé à un défaut de synthèse de l'hème. L'hème stimule la synthèse des chaînes de globine par des gènes localisés sur les chromosomes 16 (locus α comprenant le gène ζ et deux gènes α identiques) et 11 (locus non- α comprenant les gènes ϵ , γ , δ et β dans cet ordre, avec deux gènes γ non identiques). Il existe une synchronisation de la synthèse des chaînes α et non- α , ainsi qu'une certaine coordination dans l'expression des gènes non- α (γ , δ et β). En effet, la diminution d'activité de l'un deux, comme par exemple dans les β -thalassémies, est généralement associée à une augmentation de l'activité de l'un ou des deux autres (figure 1.10).

La constitution de l'hémoglobine varie en fonction de l'âge. Chez l'embryon, on retrouve les hémoglobines Gowers ($\zeta 2\epsilon 2$ et $\alpha 2\epsilon 2$) et Portland ($\zeta 2\gamma 2$). Chez le fœtus, l'hémoglobine fœtale est prédominante (hémoglobine F : $\alpha 2\gamma 2$). Six mois après la naissance comme chez l'adulte, on retrouve concomitamment plusieurs types d'hémoglobine : 97 à 99 % d'hémoglobine

A ($\alpha_2\beta_2$), 1 à 3,5 % d'hémoglobine A2 ($\alpha_2\delta_2$) et des traces d'hémoglobine F; il existe par ailleurs des constituants minoritaires, dont l'hémoglobine A1c correspondant à l'hémoglobine A glycosylée, dont le taux est augmenté au cours du diabète.

4. Métabolisme érythrocytaire

Le métabolisme des hématies a deux objectifs majeurs : fabriquer l'énergie nécessaire pour maintenir la forme biconcave en évitant l'hyperhydratation, et lutter contre l'oxydation, notamment du fer et de la globine. Cette énergie est exclusivement fournie par la glycolyse intraérythrocytaire.

Le glucose est transformé en glucose-6-phosphate (par l'hexokinase) qui est catabolisé par deux voies métaboliques (figure 1.11) : la voie principale anaérobie (90 %), dite « voie d'Embden-Meyerhof », et la voie accessoire (10 %), dite « shunt des pentoses ». La voie principale permet la production de molécules d'ATP (à partir d'ADP) et de deux molécules de NADH réduit grâce à une cascade enzymatique comprenant notamment la pyruvate kinase. La voie accessoire est la seule source de régénération du NADPH réduit, avec une cascade enzymatique initiée par la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD). Tout déficit enzymatique dans la glycolyse intraérythrocytaire, en particulier en G6PD ou en pyruvate kinase, pourra être à l'origine d'une hémolyse. En effet, l'ATP, le NADH réduit et le NADPH réduit sont essentiels pour la vie de l'hématie.

L'ATP maintient la pression osmotique de la cellule en fournissant l'énergie aux pompes à sodium de la membrane. Cette énergie est aussi utilisée pour le maintien de la forme biconcave (cytosquelette) et le renouvellement des lipides membranaires. Le NADH réduit permet

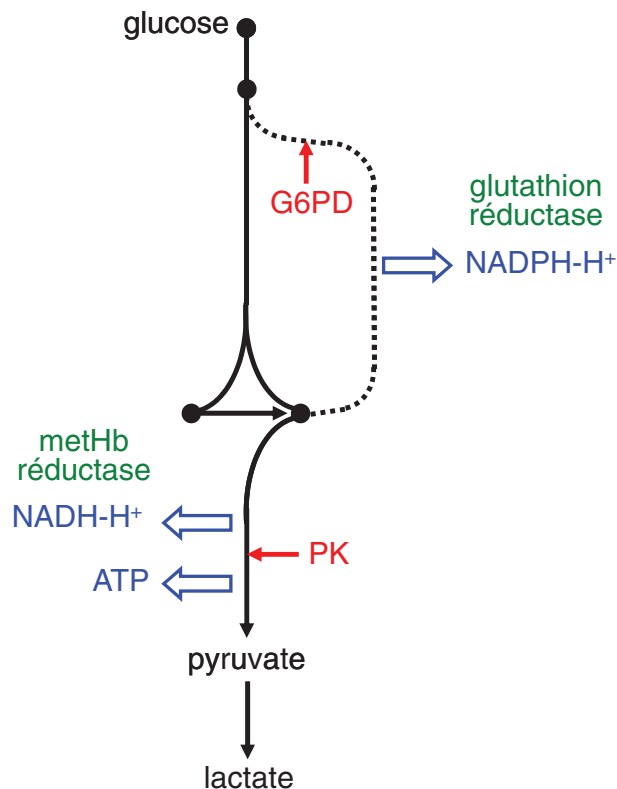


Fig. 1.11. Glycolyse intraérythrocytaire.

PK, pyruvate kinase; G6PD, glucose-6-phosphate déshydrogénase.

le maintien de l'hème à l'état fonctionnel (fer ferreux Fe^{++}) en étant le coenzyme de la principale méthémoglobine réductase, ou diaphorase, qui réduit la méthémoglobine inactive (fer ferrique Fe^{+++}) en hémoglobine. Le NADPH réduit intervient aussi dans ce processus en étant le coenzyme d'une méthémoglobine réductase accessoire. Étant surtout le coenzyme de la glutathion réductase, le rôle principal du NADPH réduit est de lutter contre l'oxydation de la globine et des protéines structurale en fournissant du glutathion réduit (GSH) à la glutathion peroxydase.

5. Hémolyse

La durée de vie des hématies est en moyenne de 120 jours. Leur vieillissement résulte de l'épuisement progressif du stock d'enzymes de la glycolyse, avec pour conséquence une hyperhydratation avec perte de leur forme biconcave et altération de la membrane. Les hématies devenues sphériques sont piégées dans les capillaires de la moelle osseuse et du foie — la rate n'est pas un organe prépondérant de l'hémolyse physiologique —, où les macrophages les phagocytent.

La globine est dégradée en acides aminés, ce qui consomme de l'énergie (fébricule fréquente en cas d'hyperhémolyse). Concernant l'hème, le fer capté par les macrophages est remis à la disposition des érythroblastes pour l'érythropoïèse. Le noyau tétrapyrrolique de l'hème est transformé en biliverdine puis en bilirubine. Après transfert dans le plasma et fixation à l'albumine, celle-ci est qualifiée de bilirubine « libre » (ou non conjuguée). Elle sera glycuconjuguée dans les cellules hépatiques par une glycuronyl transférase, passera dans la bile et sera ensuite éliminée majoritairement par les fèces, sous forme de stercobiline et de stercobilinogène, et très partiellement par les urines après réabsorption, sous forme d'urobiline et d'urobilinogène.

Le taux de bilirubine libre dans le plasma est normalement inférieur à $17 \mu\text{mol/l}$. Il est proportionnel à la quantité d'hémoglobine libérée par l'hémolyse. Le potentiel de glycuconjugaison étant assez variable selon les individus et augmentant en cas d'hyperbilirubinémie, la bilirubinémie libre reflète parfois imparfaitement le niveau d'hémolyse. Elle est liposoluble et traverse la barrière hématoencéphalique si elle dépasse les capacités de fixation de l'albumine, avec un risque de lésions cérébrales irréversibles (ictère nucléaire de la maladie hémolytique du nouveau-né).

Physiologiquement, les hématies sont détruites par les macrophages (hémolyse tissulaire). En cas d'hémolyse intravasculaire, l'hémoglobine est libérée dans le plasma : elle sera alors captée par l'haptoglobine, puis ce complexe sera rapidement éliminé. L'effondrement du taux d'haptoglobine sérique est utilisé pour le diagnostic des hyperhémolyses.

B. Leucocytes

Le terme « globules blancs » ou « leucocytes » désigne les cellules nucléées du sang, qui jouent toutes un rôle dans la défense de l'organisme contre les infections et autres agressions. On distingue morphologiquement :

- les granulocytes, ou polynucléaires, sur les caractéristiques de leur noyau (bi- ou pluri-segmenté) et de leur cytoplasme, qui contient de nombreuses granulations neutrophiles, éosinophiles ou basophiles définies par leur affinité pour divers colorants ;
- les cellules dites mononucléées (monocytes et lymphocytes), dont le noyau est arrondi ou peu segmenté.

1. Polynucléaires neutrophiles

Leur diamètre moyen est de 12 à 15 μm . Sur le plan morphologique, le noyau est polylobé, avec une chromatine dense et sans nucléole. Le nombre de lobes varie de deux à cinq selon les cellules, mais au moins la moitié des polynucléaires neutrophiles possèdent un noyau à trois lobes : la formule d'Arneth donne le pourcentage des éléments selon le nombre de lobes. Le cytoplasme contient de fines granulations. Une analyse au microscope distingue les granules primaires azurophiles (rouges), qui correspondent à des lysosomes riches en myéloperoxydase,

phosphatases acides, hydrolases, collagénases, lysozyme..., et des granulations secondaires neutrophiles (beiges) riches en phosphatases alcalines, lactoferrine, lysozyme et collagénase. La moelle fabrique environ $50 \cdot 10^9$ polynucléaires neutrophiles par jour. À partir de la CFU-GEMM, les progéniteurs sont successivement la CFU-GM (*Colony-Forming Unit Granulocyte-Monocyte*) et la CFU-G (*Colony-Forming Unit Granulocyte*). La granulopoïèse dure dix jours et comprend deux compartiments :

- le secteur de multiplication/différenciation comprend les myéloblastes, promyélocytes et myélocytes;
- le secteur de maturation/stockage (réserves) comprend les métamyélocytes (issus de la division des myélocytes) et les polynucléaires neutrophiles, suite à plusieurs étranglements ou pincements du noyau allongé du métamyélocyte (ce qui forme les lobes du polynucléaire). Ce compartiment de stockage est quantitativement très important, contenant huit fois plus de polynucléaires neutrophiles que le compartiment sanguin dans sa totalité, et peut être mobilisé rapidement vers le sang en cas de besoin aigu (figure 1.12, tableau 1.1).

Les polynucléaires neutrophiles ont une durée de vie de vingt-quatre heures dans le sang, et leur fonction essentielle est la défense antibactérienne, fondée sur la phagocytose. La numération leucocytaire ne reflète que la moitié du nombre réel de neutrophiles du sang (pool circulant), le reste adhérant à la paroi des vaisseaux (pool marginé). Les polynucléaires du pool marginé redeviennent circulants dans diverses circonstances (stress, en postprandial, etc.) avant de se « remarginer » quelques heures plus tard, ce qui explique l'augmentation transitoire du nombre de neutrophiles circulants dans ces conditions, par simple modification de répartition. Leur fonction est de combattre les infections après pénétration dans les tissus, ceci requérant des propriétés de mobilité par chimiotactisme, de phagocytose, de bactéricidie et de digestion.

En réponse à des facteurs chimiotactiques (toxines et fragments bactériens, fractions C3a et C5a du complément, médiateurs tissulaires) produits par les bactéries et les leucocytes déjà présents sur le site infectieux, les polynucléaires effectuent des mouvements amœboïdes et s'infiltrent entre les cellules endothéliales vasculaires pour passer dans les tissus (diapédèse). Une fois sur le foyer infectieux, la phagocytose est intense, particulièrement pour les particules « opsonisées » (recouvertes d'anticorps). La vacuole de phagocytose fusionne avec les granulations pour déclencher la destruction de la bactérie. La bactéricidie est la première étape de la destruction des bactéries : elle est due à l'accumulation dans le phagosome de dérivés actifs

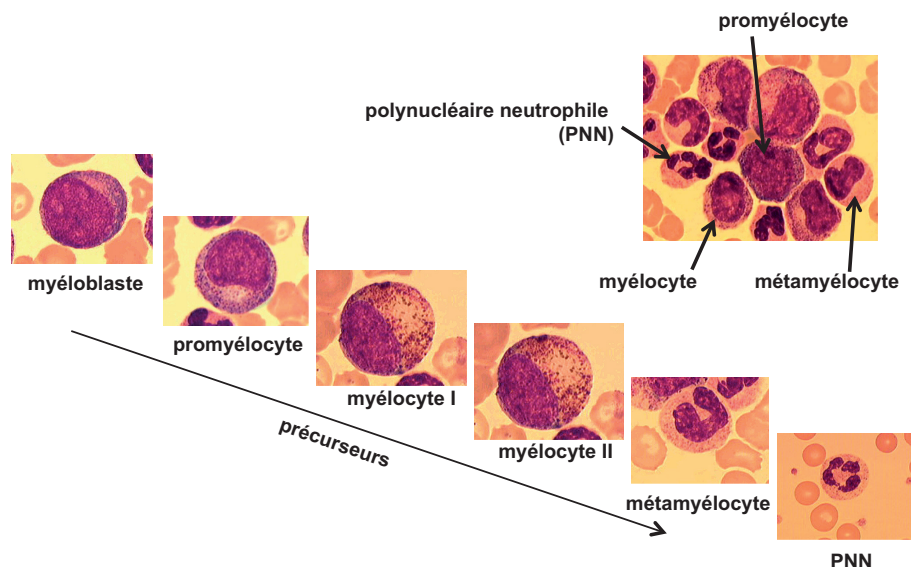


Fig. 1.12. Granulopoïèse.

Tableau 1.1. Le myélogramme normal (adulte)

Richesse	Normale : environ 30 à 60 cellules nucléées/champ (× 1 000)	
Lignée plaquettaire (mégacaryocytes)	Présents	
Cellules indifférenciées (hémoblastes)	1–2 %	
Lignée granulocytaire neutrophile	Myéloblastes	2–3 %
	Promyélocytes	4–8 %
	Myélocytes	10–15 %
	Métamyélocytes	15–20 %
	Polynucléaires	20–30 %
Lignée éosinophile	1–4 %	
Lignée basophile	0,5–1 %	
Lignée érythroblastique	Proérythroblastes	1–2 %
	Érythroblastes basophiles	4–8 %
	Érythroblastes polychromatophiles	6–10 %
	Érythroblastes acidophiles	4–10 %
Lignée monocytaire	2–3 %	
Lymphocytes	5–15 %	
Plasmocytes	1–3 %	
Commentaires :		

oxygénés, dont le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) produit par l'activation du shunt des pentoses, de myéloperoxydase, d'iode, de brome ou de chlore. Une fois tuée, la bactérie est digérée par les hydrolases. Au terme du processus, les polynucléaires meurent en libérant leur contenu, dont particulièrement des facteurs chimiotactiques qui attirent d'autres neutrophiles. Ces cellules mortes participent à la formation du « pus ».

2. Polynucléaires éosinophiles

Les polynucléaires éosinophiles ont un noyau bi- ou trilobé avec une chromatine dense; leur cytoplasme est rempli de grosses granulations leur donnant un aspect de sac « bourré de billes ». En microscopie électronique, à l'inverse des neutrophiles, il n'existe qu'un seul type de granulations (les grains éosinophiles) qui possèdent une structure cristalline interne. Ces granulations ont une affinité tinctoriale particulière pour les colorants acides (coloration rouge orangée avec l'éosine).

Au cours de l'hématopoïèse, l'engagement de CSH pluripotentes en progéniteurs granuleux qui deviendront des polynucléaires éosinophiles est conditionné par l'environnement stromal et l'expression de facteurs de transcription (GATA1, PU1, C/EBP α et C/EBP ϵ), qui favorisent l'expression de protéines contenues dans les granulations — protéines cationiques comme la *Major Basic Protein* (MBP), *Eosinophil Peroxidase*, *Eosinophil Cationic Protein* (ECP), *Eosinophil-Derived Neurotoxin* (EDN). Trois cytokines apparaissent essentielles pour l'éosinophilopoïèse : l'IL-5, la plus importante, l'IL-3 et le GM-CSF. L'IL-5, majoritairement produite par les lymphocytes T CD4⁺, favorise la production, la différenciation et la libération des polynucléaires éosinophiles dans le sang. Ils sont ensuite rapidement attirés vers les tissus cibles sous l'influence de facteurs chimiotactiques spécifiques (éotaxines) ou non spécifiques (leucotriènes, C5a, C3a, cytokines). L'IL-5 est aussi impliquée dans le chimiotactisme comme dans leur survie au niveau tissulaire. L'éosinophilopoïèse est inhibée par les corticoïdes, les immunosuppresseurs, l'interféron α et la thymectomie.

Leurs fonctions principales sont la phagocytose des œufs de parasites (helminthes) et la neutralisation des réactions d'hypersensibilité immédiate (allergie) par la libération d'histaminase.

Ils ont aussi un rôle délétère dans de nombreux états pathologiques, lié à leur capacité à libérer, au sein de différents tissus, plusieurs types de médiateurs inflammatoires (protéines cationiques, cytokines, leucotriènes, peroxydase, radicaux oxygénés) responsables de l'altération des cellules endothéliales, d'une augmentation de la perméabilité vasculaire et de contractions des fibres musculaires lisses.

Les causes les plus fréquentes d'hyperéosinophilie sont les dermatoses prurigènes, les helminthiases et les allergies.

3. Polynucléaires basophiles

Les polynucléaires basophiles sont les moins nombreux des leucocytes sanguins, mais s'avèrent facilement identifiables grâce à leurs abondantes et volumineuses granulations basophiles (de teinte violet foncé). Les granulations contiennent des médiateurs de l'inflammation aiguë, dont l'histamine et la 5-hydroxytryptamine.

Comme pour l'éosinophilopoïèse, leur production intramédullaire est contrôlée par l'IL-3 et le GM-CSF. Le SCF, un facteur de croissance hématopoïétique également actif à des stades très précoces de l'hématopoïèse, a un rôle clé pour la différenciation, la prolifération, l'activation et la survie des basophiles tissulaires (mastocytes). Ils passent ensuite dans le sang et rapidement dans les tissus (mastocytes), où ils sont en quantité abondante, en particulier dans les muqueuses.

Les basophiles expriment des récepteurs pour les fragments Fc des IgE, mais aussi des IgG. Ils ont un rôle important dans les réactions inflammatoires locales et dans l'hypersensibilité immédiate, au cours desquelles le contact des IgE présentes sur leur membrane avec des antigènes spécifiques (allergènes) provoque la dégranulation des basophiles/mastocytes. Celle-ci libère dans l'environnement péricellulaire l'histamine et la 5-hydroxytryptamine, mais aussi de l'IL-5 qui attire localement les polynucléaires éosinophiles.

4. Monocytes

Les monocytes apparaissent comme les plus grandes cellules du sang, du fait de leur grande capacité d'étalement lors de la confection des frottis sanguins. Le noyau des monocytes est encoché (mais non polylobé) et le cytoplasme dit « gris ciel d'orage » contient de fines granulations azurophiles. Ils se distinguent des polynucléaires neutrophiles sur le plan cytochimique par une faible activité phosphatase alcaline et une forte activité peroxydasique (labile) et estérasique.

Les monocytes sont produits dans la moelle et partagent avec les polynucléaires neutrophiles un progéniteur commun, la CFU-GM, qui se transforme en CFU-M (*Colony-Forming Unit Monocyte*). La monocytopoïèse (successivement monoblaste, promonocyte et monocyte) est plus rapide que la granulopoïèse, environ quarante-huit heures, et le séjour sanguin des monocytes est plus long que celui des polynucléaires neutrophiles, entre deux et trois jours. Certains facteurs de croissance de cette lignée sont communs à d'autres lignées myéloïdes (GM-CSF, IL-3), tandis que le M-CSF en est spécifique.

Ils circulent dans le sang avant de pénétrer dans les tissus où ils deviennent des macrophages ou des cellules dendritiques. Les macrophages sont des cellules phagocytaires qui, contrairement aux polynucléaires neutrophiles, sont capables de survivre après la phagocytose. Les cellules dendritiques sont des cellules présentatrices d'antigènes aux lymphocytes T, principalement au niveau des organes lymphoïdes.

Le monocyte est capable d'éliminer des bactéries par phagocytose grâce à des granulations lysosomales dont le contenu diffère peu de celui des polynucléaires neutrophiles. Dans les tissus, cette fonction perdure pour les macrophages, tandis qu'après transformation en cellules dendritiques, ils sont à la phase initiale de la réponse immunitaire en présentant les antigènes aux lymphocytes T et en sécrétant de nombreuses cytokines impliquées dans l'inflammation et la réponse immunitaire.

5. Lymphocytes

Les lymphocytes sont les éléments essentiels de l'immunité. Dans le sang, leur morphologie est quelque peu variable : petites cellules avec noyau arrondi et quantité variable de cytoplasme avec parfois quelques granulations azurophiles. Il y a peu de correspondance entre morphologie et phénotype B ou T, et c'est l'immunophénotype réalisé par cytométrie en flux qui permet de quantifier chacun de ces types cellulaires.

La lymphopoïèse B survient dans la moelle osseuse : les progéniteurs lymphoïdes prolifèrent intensément et, en se différenciant, acquièrent progressivement divers antigènes. On définit les stades suivants de la différenciation lymphoïde B : cellules pro-B (CD34⁺ CD19⁺ CD10⁺), puis pré-B (CD19⁺ CD10⁺, avec une chaîne μ intracytoplasmique), puis cellules B immatures (CD19⁺ CD20⁺ avec une IgM de surface) et enfin cellules B matures (CD19⁺ CD20⁺ avec IgM et IgD de surface). L'expression de l'immunoglobuline (Ig) à la surface des cellules lymphoïdes coïncide avec l'arrêt de prolifération et le passage à l'état de lymphocytes matures. Ces lymphocytes qui n'ont jamais été en contact avec un antigène sont appelés « lymphocytes naïfs ». Ils quittent la moelle pour le sang périphérique, puis circulent dans l'ensemble des tissus à la recherche de contacts avec un antigène. Ces lymphocytes B représentent 10 % des lymphocytes circulants.

Dans le thymus, la différenciation des progéniteurs lymphoïdes caractérise la lymphopoïèse T, qui présente elle aussi divers stades successifs de différenciation : prothymocytes (CD2⁺ CD7⁺ CD4⁻ CD8⁻), thymocytes corticaux (exprimant à la fois les CD4 et CD8) et thymocytes médullaires CD3⁺ exprimant soit le CD4 soit le CD8. Toutes ces cellules expriment le récepteur T (TCR), dont il existe deux variétés : l'une, majoritaire, faite des chaînes α et β ($T\alpha\beta$) et l'autre, très minoritaire, $T\gamma\delta$. Les lymphocytes $T\alpha\beta$ comprennent les lymphocytes CD3⁺ CD4⁻ CD8⁺ et CD3⁺ CD4⁺ CD8⁻ qui reconnaissent respectivement les antigènes associés aux molécules HLA de classe I et de classe II. Ils représentent au total 70–80 % des lymphocytes circulants.

Les lymphocytes B et T recherchent le contact avec tout élément étranger, afin de développer une réponse immune adaptée à la nature de l'antigène en cause : l'ensemble des étapes modifiant ces lymphocytes B et T en cellules très spécifiques d'une action immune correspond à l'immunopoïèse. Le contact de lymphocytes B naïfs avec un antigène — soit dans un tissu de l'organisme, soit au niveau d'un organe lymphoïde périphérique où l'antigène est présenté par un macrophage — provoque une phase de prolifération au cours de laquelle les lymphocytes B vont modifier leurs gènes d'Ig, puis vont redevenir matures, soit sous la forme de lymphocytes mémoire pouvant répondre plus rapidement à une nouvelle stimulation immune, soit sous la forme de cellules préplasmocytaires qui migrent dans la moelle osseuse et se différencient en plasmocytes qui sécrètent des Ig spécifiques de l'antigène en cause, avec des caractéristiques adaptées à cet antigène : IgG opsonisantes pour la lutte antibactérienne, IgA sécrétoires, IgE pour la lutte antiparasite ou l'allergie, etc.

Le rôle des lymphocytes T est majeur dans la modulation de la réponse immunitaire. Généralement, les lymphocytes T CD4⁺ coopèrent avec les cellules B pour la synthèse d'anticorps (cellules dites « auxiliaires »), tandis que les cellules CD8⁺ sont cytotoxiques.

Il existe environ 10 % de lymphocytes NK (*Natural Killer*) dans le sang : ce sont des cellules CD3⁻ CD16⁺ CD56⁺ qui, sur le plan morphologique, sont de grands lymphocytes avec granulations azurophiles. Ils sont impliqués dans l'élimination des cellules étrangères à l'organisme de manière indépendante de l'antigène et sans activation préalable, contrairement aux lymphocytes T et B.

C. Plaquettes sanguines

Les plaquettes proviennent de la fragmentation du cytoplasme de grandes cellules hyperploïdes de la moelle osseuse : les mégacaryocytes. Leur morphologie et leur physiologie sont abordées dans le chapitre 19 « Hémostase : physiologie et exploration en pratique courante ».

VI. Exploration du sang et des organes hématopoïétiques

A. Hémogramme, ou numération-formule sanguine (NFS)

L'Item 208, intitulé « Hémogramme : indications et interprétation » (cf. chapitre 2) :

- définit et argumente les principales indications de l'hémogramme ;
- discute l'interprétation des résultats ;
- justifie la démarche diagnostique en cas d'anomalie de celui-ci.

Sur le plan technique, l'hémogramme est réalisé à partir d'un prélèvement de sang veineux recueilli sur un anticoagulant qui chélate le calcium plasmatique : l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA). Des automates dédiés déterminent l'ensemble des paramètres de l'hémogramme : mesure de la quantité d'hémoglobine, du nombre des globules rouges, de leucocytes et de plaquettes, du volume globulaire moyen (VGM), calcul de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH), à l'aide de méthodes physiques (spectrophotométrie, variation d'impédance électrique, diffraction optique ou laser). La précision de ces machines est très grande, mais des anomalies peuvent être constatées lorsque l'hémogramme est très anormal, qui nécessitent la vigilance constante des biologistes.

La formule leucocytaire correspond à l'examen au microscope d'une goutte de sang étalée sur une lame de verre puis séchée et colorée avec un ensemble de réactifs (coloration de May-Grünwald et Giemsa, MGG). Sur le « frottis sanguin », les globules rouges sont colorés en beige rosé et disposés les uns à côté des autres, ce qui permet de rechercher s'ils présentent ou non des anomalies morphologiques, utiles pour l'orientation diagnostique dans de nombreux types d'anémie. De place en place, on observe un leucocyte, que l'on identifie selon ses critères morphologiques (cf. *supra*). L'observateur dénombre cent leucocytes qu'il classe chez le sujet sain en cinq catégories : polynucléaires neutrophiles, éosinophiles, basophiles, lymphocytes et monocytes. La « formule leucocytaire » correspond au pourcentage respectif de chaque type cellulaire : ce pourcentage rapporté au nombre total de leucocytes fournit la formule leucocytaire en valeur absolue (exprimé en giga/l), et c'est à partir de ces valeurs absolues qu'on définit les variations de la formule leucocytaire (cf. Item 316, au chapitre 12).

Les automates les plus perfectionnés réalisent une formule leucocytaire dite « automatisée », en analysant en quelques minutes plusieurs milliers de leucocytes selon divers critères physiques ou physicochimiques. Les résultats sont fiables chez le sujet sain et quand il existe des variations quantitatives des divers leucocytes sanguins, mais insuffisants quand il existe des variations qualitatives (anomalies morphologiques qui caractérisent certaines pathologies, comme les carences vitaminiques, le myélodysplasies), quand des cellules anormales sont présentes (blastés, cellules lymphomateuses, tricholeucocytes) ou quand on doit étudier les anomalies morphologiques des hématies pour le diagnostic de certaines anémies. L'automate de numération signale habituellement ses difficultés d'analyse, et un frottis sanguin obtenu par étalement puis coloration MGG est examiné au microscope afin de fournir le résultat optimal.

B. Exploration morphologique de la moelle osseuse

1. Myélogramme

La moelle osseuse est un tissu liquide qu'on peut prélever par ponction avec un trocart au niveau du sternum ou d'une épine iliaque antérosupérieure ou postérosupérieure. La moelle est aspirée (quelques gouttes) à la seringue et étalée sur des lames de verre (comme pour un frottis sanguin), puis colorée (MGG) et analysée au microscope par un cytologiste expérimenté. En fonction des hypothèses diagnostiques, le geste peut être complété en utilisant une seconde seringue et l'aspiration de 1 à 3 ml de suc médullaire recueilli sur un anticoagulant (héparine ou EDTA selon le cas) aux fins d'autres analyses, en particulier cytogénétiques et moléculaires.

Le myélogramme correspond à l'analyse cytomorphologique des cellules de la moelle osseuse et donne en pourcentage les proportions relatives des diverses cellules médullaires et, contrairement à l'hémogramme, ne fournit pas de numérations par unité de volume. Son analyse comporte trois étapes :

- l'appréciation de la richesse globale en cellules : elle est estimée de manière empirique (richesse « normale », « augmentée » ou « diminuée », selon la densité en cellules par champ microscopique). On estime de la même manière la densité ou nombre approximatif en mégacaryocytes (« nombreux », nombre « normal », « diminué », « absents »). La discrimination entre une moelle pauvre d'aplasie médullaire et une moelle diluée par du sang lors du prélèvement n'est pas toujours aisée (la comparaison avec la formule leucocytaire du sang est utile);
- la détermination des pourcentages respectifs des diverses cellules observées sur l'étalement médullaire : le résultat d'un myélogramme normal est reporté dans le tableau 1.1. Cette étape définit l'existence d'un excès ou d'un défaut quantitatif d'une ou plusieurs lignées myéloïdes comparativement aux valeurs normales (le rapport érythroblastes/granuleux varie entre 1/3 et 1/4 chez le sujet sain). Elle permet également de définir une éventuelle anomalie de la maturation au sein d'une lignée, en montrant un excès ou un défaut des cellules les moins ou au contraire les plus matures au sein d'une lignée : par exemple, un excès de myéloblastes et promyélocytes avec absence de myélocytes, métamyélocytes et polynucléaires qui caractérise l'« arrêt de maturation » caractéristique des agranulocytoses médicamenteuses (cf. Item 293, au chapitre 7). Enfin, elle quantifiera un type cellulaire anormal (blastes, notamment);
- l'étude cytomorphologique qualitative : elle définit les anomalies morphologiques des cellules d'une ou plusieurs lignées, qui orientent plus précisément vers une pathologie définie : par exemple, la modification morphologique des érythroblastes qui deviennent des mégaloblastes au cours des carences vitaminiques, ou la disparition des granulations neutrophiles au cours des myélodysplasies.

Un commentaire général conclut l'étude médullaire.

Rappelons que certains éléments ne sont pas inclus dans le décompte, car trop peu nombreux : histiocytes, cellules du microenvironnement (ostéoblastes, ostéoclastes, cellules endothéliales, fibroblastes, mastocytes, adipocytes). Ces diverses cellules ne sont signalées en commentaire que quand leur nombre apparaît augmenté. Les cellules malignes hématopoïétiques sont intégrées dans les pourcentages, à l'inverse des cellules métastatiques non hématopoïétiques dont on signale uniquement la présence. Les techniques de prélèvement, de coloration et les observations microscopiques sont simples et permettent d'obtenir un résultat dans la journée.

2. Biopsie ostéomédullaire

La biopsie ostéomédullaire est un examen anatomopathologique complémentaire du myélogramme permettant une analyse histologique de la moelle. Elle est prescrite en seconde intention après la ponction sternale (ou iliaque) et le myélogramme. Sa réalisation après vérification de l'absence de thrombopénie sévère et de trouble de la coagulation nécessite un milieu spécialisé, une anesthésie locale et des conditions d'asepsie très stricte. Le prélèvement est réalisé dans une épine iliaque antérosupérieure ou postérosupérieure avec un trocart retirant un petit cylindre d'os spongieux de 2 à 3 cm de long et de 2 à 3 mm de diamètre. Cette carotte d'os est plongée dans un liquide fixateur, puis traitée par divers réactifs, incluse en paraffine et finalement coupée en fines sections longitudinales (microtome) qui seront colorées et observées au microscope. La technique demande au total deux à trois jours.

La biopsie ostéomédullaire apprécie moins bien la morphologie cellulaire que le myélogramme, mais elle apprécie beaucoup mieux la richesse médullaire et est la seule à définir l'architecture médullaire.

Le myélogramme est cytologique et qualitatif, alors que la biopsie ostéomédullaire est histologique et quantitative.

L'examen des coupes permet de définir la surface occupée par le tissu hématopoïétique par rapport à celle occupée par les lamelles osseuses et les adipocytes : on peut ainsi apprécier l'augmentation ou la diminution (parfois la disparition) du tissu hématopoïétique dans sa globalité ou pour une lignée particulièrement — dans la moelle normale adulte, le tissu hématopoïétique occupe 50 à 60 % de la surface analysée, le reste étant du tissu adipeux. La biopsie ostéomédullaire est le seul examen qui mette en évidence les anomalies de la charpente médullaire (par exemple, la myélofibrose) et elle est beaucoup plus performante que le myélogramme pour visualiser un envahissement nodulaire (lymphomes, métastases de tumeurs non hématopoïétiques). La myélofibrose est une anomalie mise en évidence par des colorations spécifiques, qui peut évoluer en plusieurs stades (*réticulinique* coloré par les dérivés argentiques, *collagène* visible au trichrome, ou *sclérosante* et alors volontiers mutilante) et empêche souvent l'aspiration du suc médullaire. Si elle n'est pas spécifique, elle entraîne fréquemment la modification de l'aspect des globules rouges sur frottis et évoque prioritairement certains syndromes myéloprolifératifs dont l'un s'appelle la myélofibrose primitive (ou splénomégalie myéloïde), quelques leucémies aiguës, la leucémie à tricholeucocytes et quelques cancers métastatiques.

3. Cytochimie, immunocytochimie et immunohistochimie

Dans certaines situations pathologiques, l'examen morphologique après coloration conventionnelle ne suffit pas pour caractériser les anomalies observées. Certaines techniques cytochimiques mettent en évidence un composant précis :

- mise en évidence de la myéloperoxydase : utilisée par exemple pour affirmer le caractère myéloïde des blastes d'une leucémie aiguë ;
- cytochimie des estérases : utilisée par exemple pour mettre en évidence la présence d'une estérase active en présence de fluorure de sodium dans les blastes d'une leucémie aiguë monoblastique ;
- coloration de Perls, qui visualise la présence de fer sous la forme de granules dans les érythroblastes (alors appelés « sidéroblastes ») et, par exemple, la distribution anormale des granulations « en couronne » autour du noyau dans certains syndromes myélodysplasiques.

Les analyses immunocytochimiques et immunohistochimiques sont réalisées en complément de l'étude morphologique sur les frottis ou sur les coupes de biopsies avec des anticorps spécifiques de lignée médullaire et de stade de différenciation au sein d'une lignée. Les anticorps qui se fixent sur une structure cellulaire sont secondairement révélés avec des anticorps couplés à une enzyme (peroxydase ou phosphatase alcaline) et révélés par une réaction cytochimique ou, plus rarement, avec des anticorps fluorescents.

C. Immunophénotypage par cytométrie en flux

La cytométrie (ou cytofluorométrie) en flux permet l'analyse rapide de grandes quantités de cellules en suspension, préalablement marquées par des anticorps fluorescents dirigés contre des antigènes spécifiques d'une lignée cellulaire et du niveau de maturité ou de différenciation dans une lignée. La majorité de ces antigènes est caractérisée sur le plan moléculaire, ce qui permet de les classer au sein de classes de différenciation (CD) : CD1 à CD363 en 2010. Le cytomètre en flux mesure l'intensité de fluorescence des cellules réactives à l'anticorps, exprimée en pourcentage de cellules positives au sein de la suspension de cellules analysées (c'est-à-dire en pourcentage de cellules exprimant un antigène donné). Classiquement, la positivité correspond à plus de 20 % des cellules exprimant l'antigène considéré.

Chaque cellule de l'hématopoïèse a une signature immunophénotypique qui complète très utilement l'analyse cellulaire, surtout quand les cellules sont morphologiquement proches (les diverses cellules lymphoïdes, les progéniteurs hématopoïétiques, qui possèdent chacun un « profil » immunophénotypique spécifique). Certaines CD sont ainsi utilisées pour caractériser plus précisément les diverses cellules d'une lignée :

- progéniteurs hématopoïétiques : CD34 ;
- lignée lymphoïde B : CD19, CD20 ;
- lignée lymphoïde T : CD3 ;
- lignée érythroïde : CD235a (glycophorine A) ;
- lignée plaquettaire : CD41a (GPIIb/IIIa), CD61a ;
- lignée granulocytaire : CD15s (sialyl Lewis X) ;
- lignée monocytaire : CD14.

Ces antigènes sont présents sur les cellules leucémiques ou lymphomateuses, et l'immunophénotypage est alors particulièrement utile pour la caractérisation et le diagnostic des leucémies aiguës (surtout lymphoïdes) et des syndromes lymphoprolifératifs. La cytométrie en flux est aussi très largement utilisée pour la numération des progéniteurs hématopoïétiques CD34⁺ en thérapie cellulaire (greffes de CSH).

D. Cultures de progéniteurs hématopoïétiques

Ces cultures sont réalisées à partir de sang périphérique ou de moelle et utilisent la capacité de maturation/différenciation *in vitro* des progéniteurs clonogéniques.

Le principe de l'évaluation repose sur le fait qu'un progéniteur clonogénique non identifiable morphologiquement a la capacité de développer (dans un milieu semi-solide, après une à trois semaines à 37 °C sous 5 % de CO₂ et en présence de facteurs de croissance hématopoïétiques) une colonie de cellules aisément visible en microscopie optique inversée. La morphologie de la colonie et son délai d'apparition sont caractéristiques du progéniteur « initiateur ». Les progéniteurs clonogéniques évalués par cette technique sont les CFU-GEMM, BFUE, CFUE, CFU-Meg, CFU-GM, CFU-G et CFU-M.

Les principales indications de la culture de progéniteurs sont :

- la numération des progéniteurs clonogéniques par l'identification des colonies formées, essentiellement dans le cadre de greffe de CSH, la quantité de progéniteurs clonogéniques fonctionnels dans un produit de thérapie cellulaire étant un bon reflet de la quantité de CSH ;
- la recherche d'une croissance « spontanée », sans facteur de croissance hématopoïétique, dans les polyglobulies primitives ;
- la recherche du mécanisme d'inhibition de la granulopoïèse lors d'une agranulocytose (par le sérum du patient ou par le médicament incriminé).

E. Étude cytogénétique et biologie moléculaire

La cytogénétique est l'étude des chromosomes et de la façon dont la variation de leur structure et de leur nombre est liée à la maladie.

L'étude cytogénétique conventionnelle est fondée sur l'étude de quelques dizaines de cellules tumorales mises en culture *in vitro* et dont le cycle mitotique a été bloqué au stade métaphasique par l'addition de colchicine, ce qui permet l'étude des chromosomes individualisés (colorés par diverses méthodes visualisant les bandes claires et sombres qui strient différemment chaque chromosome). Cette technique peut être complétée par la fluorescence *in situ* après hybridation (FISH) pour rechercher ou préciser certains remaniements chromosomiques,

surtout quand l'anomalie à rechercher est très fine ou que les cellules ne se divisent pas. Globalement, ces deux méthodes mettent en évidence divers remaniements chromosomiques (surtout des translocations et des délétions) indispensables au diagnostic, à la classification et au pronostic des leucémies aiguës (myéloïdes et lymphoïdes, cf. Item 312 au chapitre 4), des leucémies chroniques (comme la leucémie myéloïde chronique avec la translocation t(9;22) correspondant au chromosome Philadelphie), des lymphomes (cf. Item 316 au chapitre 12) ou des syndromes myéلودysplasiques (cf. Item 313 au chapitre 5).

Les techniques de biologie moléculaire recherchent les conséquences moléculaires des anomalies cytogénétiques (transcrit de fusion, translocation) ou des anomalies sans corrélation cytogénétique (mutation, etc.). Très sensibles (*Polymerase Chain Reaction*, PCR), elles sont très utilisées pour le diagnostic et le pronostic des hémopathies malignes. Les études sur l'ADN recherchent des mutations comme, par exemple, la mutation V617F du gène *JAK2* dans les syndromes myéloprolifératifs. Les études sur l'ARN recherchent des transcrits de fusion, comme par exemple BCR-ABL dans la leucémie myéloïde chronique. Les évolutions technologiques continues — hybridation génomique comparative (CGH), *High Resolution Melting* (HRM), séquençage à haut débit, etc. — placent de plus en plus la biologie moléculaire au cœur de la prise en charge des hémopathies.

F. Ponction et biopsie ganglionnaire

1. Adénogramme

Il est réalisé par ponction du suc ganglionnaire d'une adénopathie à l'aiguille fine, sans aspiration. On ne doit jamais ponctionner une masse possiblement vasculaire, surtout sur les axes carotidiens et fémoraux. L'analyse cytologique du frottis permet d'établir les différentes proportions des cellules ganglionnaires. La ponction peut être diagnostique (identification de blastes de leucémie aiguë, de parasites, de cellules métastatiques) ou orienter la biopsie ganglionnaire (présence de cellules lymphomateuses). En cas d'infection, la ponction permet l'examen bactériologique, le suc ganglionnaire d'aspect plus ou moins purulent étant alors recueilli dès l'aspiration dans un tube stérile.

2. Biopsie ganglionnaire

Le ganglion est prélevé entier, sous anesthésie générale au bloc opératoire. Quelques petits fragments sont immédiatement prélevés aux fins d'analyses bactériologiques, cytogénétiques (caryotype), immunophénotypiques, moléculaires, la réalisation d'empreintes sur lames pour l'analyse cytologique (selon l'orientation diagnostique), et le ganglion est ensuite recueilli dans un liquide fixateur. Il sera inclus en paraffine et de fines sections seront colorées en vue de l'examen anatomopathologique.

VII. Présentation schématique des principales hémopathies

L'hématologue est confronté au diagnostic et au traitement des diverses maladies pouvant altérer chacun des constituants du sang, de la moelle osseuse ou des autres organes hématopoïétiques. Les pathologies hématologiques sont réactionnelles ou résultent d'anomalies génétiques constitutionnelles ou acquises. Les pathologies réactionnelles comprennent notamment les carences en fer et en vitamines antimégaloblastiques (B9 et B12). Les anomalies génétiques constitutionnelles, présentes dès la naissance, affectent principalement la structure et le métabolisme des globules rouges (thalassémies, drépanocytose, maladie de Minkowski-Chauffard,

déficit en G6PD, etc.). Les pathologies acquises (leucémies, syndromes myéloprolifératifs, syndromes lymphoprolifératifs, etc.) résultent de mutations et translocations qui apparaissent au cours des innombrables mitoses observées lors de l'hématopoïèse, le tissu hématopoïétique se comportant comme un tissu embryonnaire tout au long de la vie de l'individu.

A. Anomalies par excès de production intramédullaire ou au sein d'un organe lymphoïde

Une ou plusieurs anomalies du génome peuvent survenir au sein de l'un des progéniteurs ou précurseurs de l'hématopoïèse (anomalies acquises). Lorsqu'elles portent sur des gènes ou des régulateurs de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire, ou au contraire sur des gènes impliqués dans la survie, ces anomalies peuvent induire une capacité accrue de prolifération et souvent augmenter la durée de vie de la cellule en cause. Devenu cancéreux, ce progéniteur/précurseur donne naissance à un clone cellulaire qui, selon la ou les anomalies génomiques causales, aura gardé ou non sa capacité de différenciation, c'est-à-dire de produire ou non des cellules matures (leucocytes, hématies, plaquettes).

Le clone se développe d'abord au sein de la moelle osseuse, occupe progressivement l'espace médullaire et inhibe l'hématopoïèse normale. Lorsque la taille du clone atteint 10^{11} cellules, la maladie devient patente, avec possibilité pour le clone de disséminer dans le sang et se localiser à divers tissus (ganglions, rate, peau, etc.).

L'inhibition de l'hématopoïèse normale se traduit sur le plan clinique par les signes de l'insuffisance médullaire (troubles cardiorespiratoires secondaires à l'anémie, signes d'infection par manque de neutrophiles, tableau hémorragique par défaut de plaquettes sanguines) et par des degrés variables d'infiltration d'organes (adénopathies, splénomégalie, leucémides, localisation cérébro-méningée, etc.). Le défaut de production des cellules sanguines normales est révélé par des cytopénies de profondeur variable à l'hémogramme, l'hyperleucocytose fréquemment observée correspondant au passage dans le sang des cellules anormales (dissémination sanguine). Les principales anomalies de l'hémogramme sont développées dans l'Item 208 au chapitre 2.

Lorsque le progéniteur/précurseur a perdu sa capacité de différenciation, les cellules du clone tumoral, appelées « blastes », s'accumulent dans la moelle : c'est une leucémie aiguë (myéloïde ou lymphoïde). Dans la très grande majorité des cas, les blastes disséminent dans le sang. Les signes cliniques apparaissent souvent de manière brutale, expliquant la définition de leucémie « aiguë ». L'item 312 porte sur les moyens du diagnostic et de traitement des diverses leucémies aiguës (chapitre 4).

Lorsque le progéniteur/précurseur a conservé sa capacité de différenciation terminale, la production dérégulée de cellules matures conduit à un syndrome myéloprolifératif ou lymphoprolifératif :

- les syndromes myéloprolifératifs regroupent principalement quatre maladies (cf. Item 314, au chapitre 6) :
 - soit une atteinte préférentielle de la lignée érythroïde, aboutissant à une augmentation du nombre de globules rouges et de l'hémoglobine sanguine responsable de la polyglobulie primitive, ou maladie de Vaquez ;
 - soit une atteinte préférentielle de la lignée neutrophile, aboutissant à la leucémie myéloïde chronique, secondaire à l'apparition d'une anomalie chromosomique particulière, le chromosome Philadelphie, résultat d'une translocation entre les chromosomes 9 et 22 et impliquant les gènes *BCR* et *ABL* ;
 - soit une atteinte préférentielle de la lignée mégacaryocytoplaquettaire et aboutissant à une hyperplaquettose : c'est la thrombocytémie essentielle ;
 - soit une association d'hyperproduction médullaire et de fibrose : c'est la splénomégalie myéloïde, ou myélofibrose primitive ;

- les syndromes lymphoprolifératifs sont observés lorsqu'une anomalie génomique (ou plusieurs) se produit plus particulièrement dans une cellule lymphoïde à la fin de la lymphopoïèse ou au cours de l'immunopoïèse, provoquant une leucémie lymphoïde chronique, un lymphome malin ou un myélome. Les items 315, 316 et 317 définissent respectivement comment diagnostiquer ces affections (chapitres 8, 9 et 12).

La figure 1.13 reprend de manière schématique ces diverses hémopathies.

B. Anomalies par défaut de production intramédullaire

La moelle osseuse hématopoïétique présente un cadre osseux inextensible, contenant des CSH et traversé par des vaisseaux sanguins qui apportent les nutriments aux cellules hématopoïétiques et recueillent les cellules matures produites (figure 1.14). Quatre conditions sont indispensables au bon fonctionnement de ce système :

- la présence de CSH;
- l'absence de dysfonctionnement des CSH;
- des apports adéquats en fer, folates et vitamine B12;
- un espace suffisant pour l'hématopoïèse physiologique.

Toute défaillance d'une de ces conditions conduit à une (des) cytopénie(s) dont les étiologies sont les suivantes (figure 1.14) :

- l'absence de CSH : aplasie médullaire;

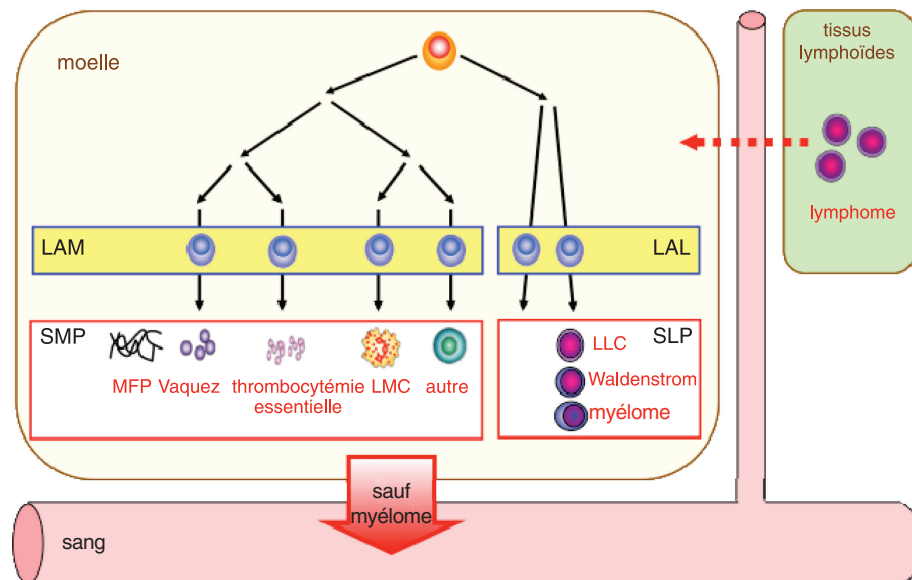


Fig. 1.13. Principales hémopathies.

Le schéma présente trois compartiments : la moelle, le sang périphérique et les tissus lymphoïdes. Les cellules produites en excès dans la moelle traversent la barrière endothéliale médullaire pour passer dans le sang (à l'exception des plasmocytes tumoraux de la maladie de Kahler, ou myélome multiple) et les cellules lymphomateuses (maladie de Hodgkin et lymphomes malins non hodgkiniens) provenant de tissus lymphoïdes extramédullaires peuvent envahir la moelle osseuse. Au sein de la moelle, les hémopathies avec excès de production se répartissent soit en affections myéloïdes (ou non lymphoïdes, donc correspondant aux lignées érythrocytaire, plaquettaire, granuleuse et monocyttaire), soit en affections lymphoïdes.

SLP, syndromes lymphoprolifératifs; SMP, syndromes myéloprolifératifs. LAL, leucémie aiguë lymphoblastique; LAM, leucémie aiguë myéloïde; LLC, leucémie lymphoïde chronique; LMC, leucémie myéloïde chronique; MFP, myélofibrose primitive.

- un dysfonctionnement des CSH : syndromes myélodysplasiques (cf. Item 313, au chapitre 5, qui définit comment diagnostiquer un syndrome myélodysplasique);
- des apports trop faibles en fer, folates ou vitamine B12 : carence martiale, carence en folates, carence en vitamine B12 (cf. Item 209, au chapitre 3, qui définit les critères du diagnostic des anémies et les modalités thérapeutiques de certaines d'entre elles);
- un manque d'espace pour l'hématopoïèse normale : secondaire à un envahissement cellulaire (déjà évoqué pour les leucémies, les lymphomes et le myélome, mais devant inclure aussi la localisation métastatique de diverses tumeurs solides) ou faisant suite au développement excessif de la charpente médullaire (myélofibroses).

Les maladies hématologiques malignes des tissus hématopoïétique et lymphoïde sont définies au sein de la classification OMS des hémopathies (2008), dont une version simplifiée figure dans le [tableau 1.2](#).

C. Anomalies constitutionnelles et acquises des hématies

La liste des anomalies génétiques affectant l'érythropoïèse est longue. Elles peuvent être regroupées en anomalies de l'hémoglobine, de la membrane cellulaire (cytosquelette) et des enzymes de la glycolyse intraérythrocytaire ([figure 1.15](#)) :

- hémoglobine :
 - production insuffisante d'hémoglobine(s) normale(s) : thalassémies;
 - production d'une hémoglobine anormale : drépanocytose;
- membrane (cytosquelette) : maladie de Minkowski-Chauffard;
- enzymes : déficit en G6PD et en pyruvate kinase.

Les anomalies acquises des hématies correspondent aux polyglobulies (Item 314, au chapitre 6) et aux diverses catégories d'anémies, qu'on explore selon une démarche explicitée dans le chapitre 3 (Item 209).

Tableau 1.2. Classification OMS (2008) des tumeurs des tissus hématopoïétique et lymphoïde

1.	Syndromes myéloprolifératifs : leucémie myéloïde chronique, polyglobulie primitive de Vaquez, splénomégalie myéloïde chronique, thrombocythémie essentielle, mastocytoses
2.	Maladies myéloïdes ou lymphoïdes avec hyperéosinophilie et anomalies moléculaires de gènes récepteurs de facteurs de croissance
3.	Syndromes myélodysplasiques : plusieurs catégories selon le nombre de cytopénies sanguines, les anomalies morphologiques des lignées myéloïdes, le pourcentage de blastes et la nature des anomalies cytogénétiques
4.	Syndromes myélodysplasiques/myéloprolifératifs : leucémie myélomonocytaire chronique et diverses maladies ne pouvant être classées ni dans la catégorie 1 ni dans la catégorie 3
5.	Leucémies aiguës myéloïdes (et tumeurs apparentées) : plusieurs types, selon l'existence d'un syndrome myélodysplasique ou d'une chimiothérapie préalable, la nature d'anomalies cytogénétiques (récurrentes ou non), l'existence d'une myélofibrose
6.	Leucémies aiguës lymphoblastiques B ou T
7.	Leucémies aiguës inclassables
8.	Hémopathies lymphoïdes malignes de phénotype B : leucémie lymphoïde chronique, lymphomes non hodgkiniens de faible grade (folliculaire, zone marginale, zone manteau) et de haut grade (lymphomes diffus à grandes cellules) de malignité, lymphome de Burkitt, myélome multiple, maladie de Waldenström, etc.
9.	Hémopathies lymphoïdes malignes de phénotype T : lymphomes T périphériques, mycosis fungoïdes, syndrome de Sézary, lymphomes T à grandes cellules, etc.
10.	Lymphome de Hodgkin
11.	Tumeurs des cellules histiocytaïres et dendritiques : histiocytoses langerhansiennes, etc.
12.	Maladies lymphoprolifératives après transplantation d'organe

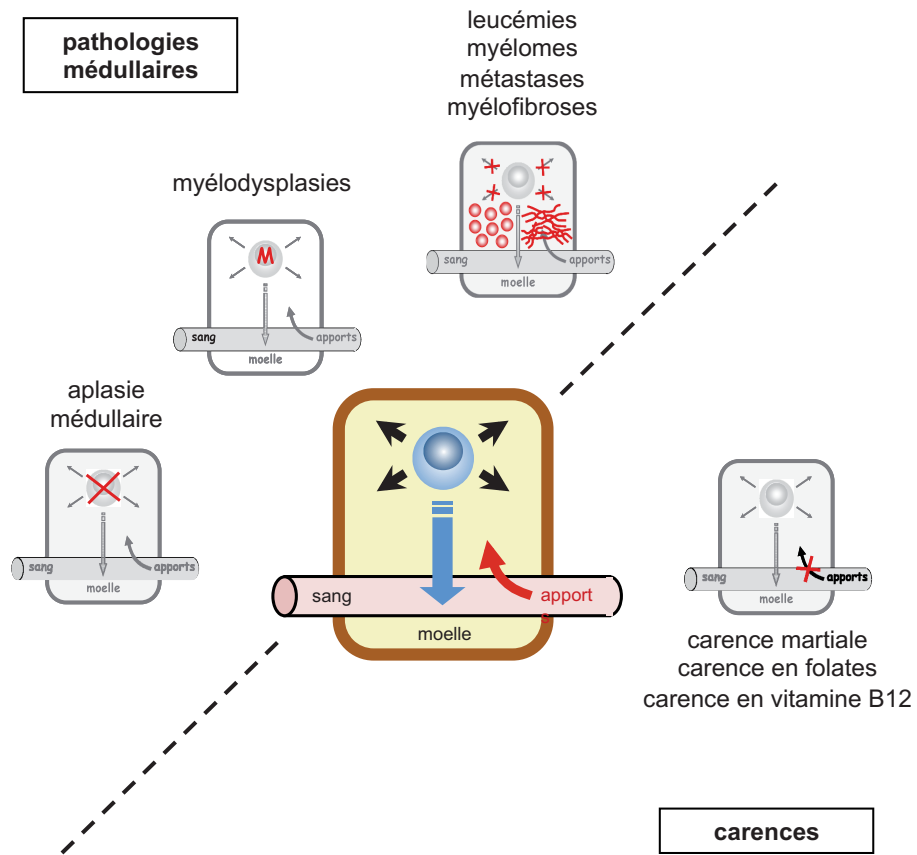


Fig. 1.14. Principales situations pathologiques à l'origine d'un déficit de production intramédullaire.

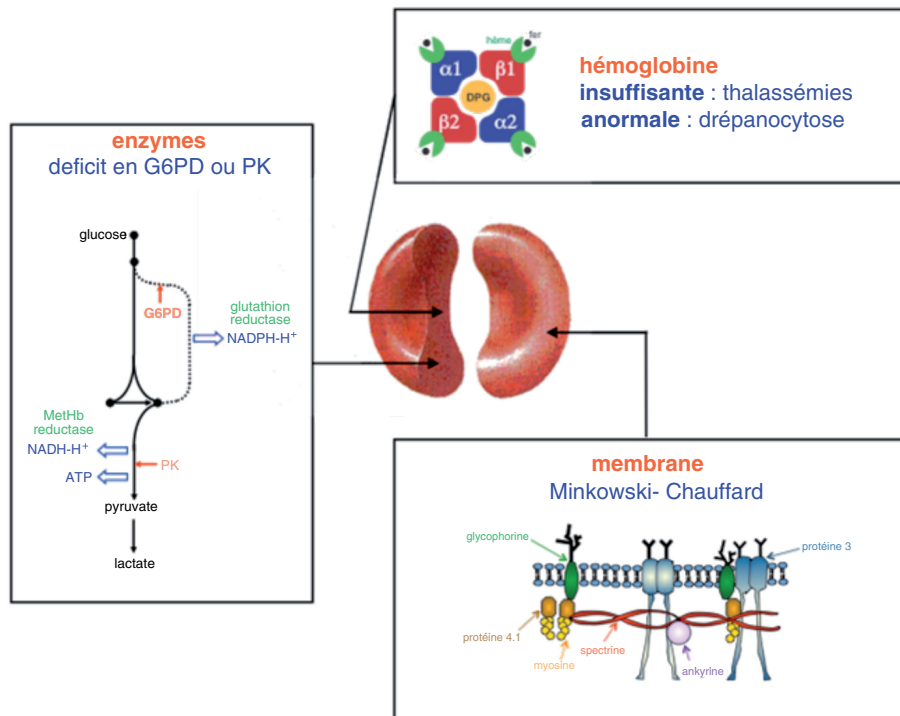


Fig. 1.15. Anomalies constitutionnelles des hématies.