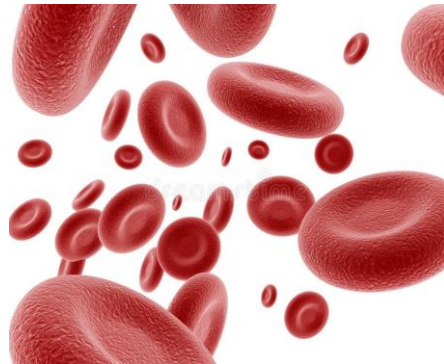


# Hématologie

*Oussama Essahili*



## **PARTIE OUKKACHE**

Hémostase primaire  
Coagulation plasmatique  
Fibrinolyse  
Syndrome hémorragique

## **PARTIE LAMCHAHEB**

L'hémogramme  
Les anémies  
Le syndrome hémolytique


## **PARTIE QACHOUH**

Généralités sur l'étude du sang  
Hématopoïèse  
Éléments figurés du sang

## **PARTIE RACHID**

Les groupes sanguins  
Les produits sanguins

# PARTIE OUKKACHE



*Hémostase primaire  
Coagulation plasmatique  
Fibrinolyse  
Syndrome hémorragique*

# I. Hémostase primaire

## DÉFINITION DE L'HÉMOSTASE

- Processus permettant de garder le sang à l'état fluide.

### Rôle :

- Arrêter l'hémorragie
- Eviter les thromboses

- Hémostase devra être rapidement déclenché et exécuté, localisé et régulé.

### Brèche de la paroi vasculaire



Hémostase primaire => Thrombus blanc



Coagulation sanguine => Consolidation du caillot



Fibrinolyse => Recanalisation du vaisseau

## DÉFINITION – Hémostase primaire

- Ensemble de phénomènes qui concourent à l'arrêt du saignement après section de petits vaisseaux par obturation de la brèche vasculaire par un thrombus blanc plaquettaire (clou hémostatique de Hayem)

- Il existe 2 temps :

- 1- Vasculaire
- 2- Plaquettaire

## FACTEURS DE L'HÉMOSTASE PRIMAIRE

- Paroi vasculaire
- Protéines plasmatiques (Fibrinogène, facteur de Von Willebrand)
- Plaquettes ou thrombocytes

### A- PAROI VASCULAIRE

#### MORPHOLOGIE – 3 couches

Intima	<ul style="list-style-type: none"><li>- Endothélium</li><li>- Membrane basale</li><li>- Sous endothélium : Fibres de collagène</li></ul>
Média	<ul style="list-style-type: none"><li>- Limitante élastique interne</li><li>- Tissu conjonctif (Fibroblastes et fibres musculaires)</li></ul>
Adventice	<ul style="list-style-type: none"><li>- Limitante élastique externe</li><li>- Couche nourricière</li></ul>

#### Propriétés

##### Endothélium vasculaire

- Monocouche cellulaire - En contact avec le flux sanguin
- Lieu d'échange permanent, contrôle entre le secteur intraVx et extraVx
- Fonctions multiples et essentielles :
  - + Propriétés **anti thrombotiques ou thrombo-résistance** : à l'état physiologique : sécrétion de substances anticoagulantes (Prostacyclines, héparane sulfate, inhibiteur de facteurs de la coagulation, activateur de la fibrinolyse...)
  - + Propriétés **pro-thrombotiques** : se manifestent lors de lésion de l'endothélium, par sécrétion du facteur willebrand, facteur tissulaire, inhibiteur de la fibrinolyse...

##### Sous endothélium

- Hautement **thrombogène**

##### Média

- Propriétés **vaso-constrictive**

Oussama Essahili

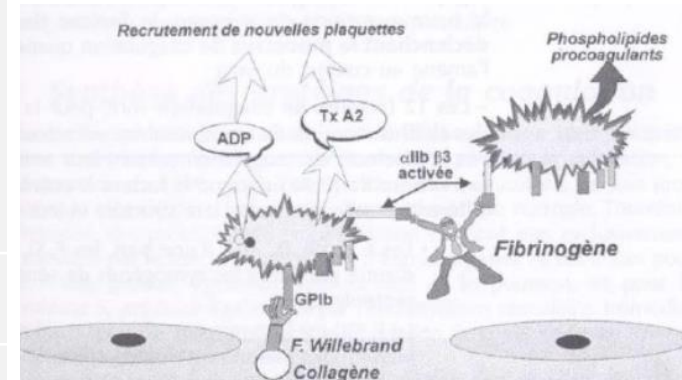
### B- PROTÉINES PLASMATIQUES

#### Fibrinogène

- Synthèse **hépatique**
- Nécessaire à l'**agrégation plaquettaire**
- Rôle essentiel : **Coagulation plasmatique**

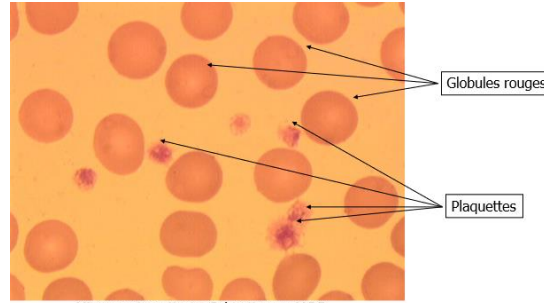
#### Facteur de von Willebrand (vW-F)

- Glycoprotéines multimériques de haut poids moléculaire
- Synthèse : **Cell endothéliale et plaquettes**
- Circule dans le sang lié au **facteur 8 (Facteur anti hémophilique A)** et le **protège contre la dégradation**.
- Rôle important dans l'**adhésion plaquettaire au sous endothélium** (pont entre collagène et plaquettes) par les GP de surface.



## C- PLAQUETTES : MORPHOLOGIE

- Cellules **anucclées discoïde**
- Mégacaryopoïese ++ (**mégacaryocyte**)
- Valeurs normales : **150.000 à 400.000/mm<sup>3</sup>**
- Durée de vie : **7 à 10 jours**
- Lieu de destruction : **Rate**
- Circule à l'état inactivé
- Fonction principale : **Hémostase primaire**



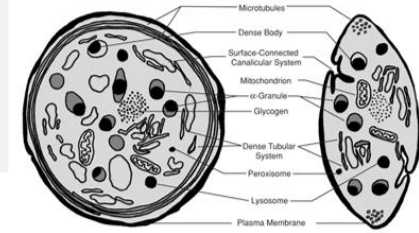
Microscopie optique: Coloration au MGG

### Microscopie optique

- Forme arrondie/ovale
- 2 à 3  $\mu$  de diamètre
- **VMP** : 7-12 fl
- Cytoplasme **clair** légèrement **basophile** et contenant des **granulations**.

### Microscopie électronique

- Forme discoïde au repos
- Permet de distinguer les différents composants des plaquettes.



## Mégacaryopoïese ou thrombopoïèse

- Les plaquettes proviennent de la fragmentation du cytoplasme de précurseurs médullaires : Mégacaryocytes MK
- 2000 à 5000 plaquettes / MK
- Représente **0,02 à 0,05** des cellules nucléées de la moelle osseuse.

- MK proviennent d'une cellule souche totipotente qui se spécialise en progéniteur mégacaryocytaire.

- Ensuite il y'a 4 phases :

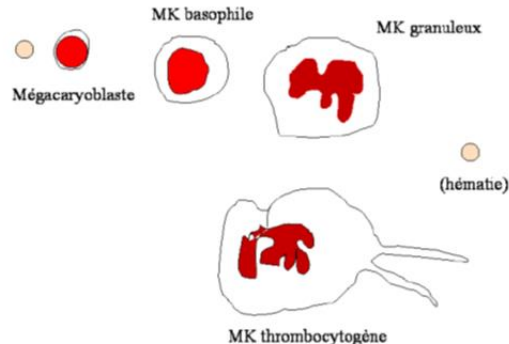
1<sup>ère</sup> phase : **Prolifération**

2<sup>ème</sup> phase : **Endomitose** (division du noyau sans division cellulaire arrivant parfois à 16N)

3<sup>ème</sup> phase : **Maturation cytoplasmique** (Augmentation de la taille du MK par augmentation de la taille du cytoplasme, 120 $\mu$ m de diamètre)

4<sup>ème</sup> phase : **Fragmentation du cytoplasme du MK mature**

### Les différents stades morphologiques



### Mégacaryoblastes : ou MK stade I

- Morphologie : 20 à 30  $\mu$ m de diamètre, rapport N/C élevé, noyau rond, chromatine fine
- Cytoplasme très basophile, non granuleux.

### Mégacaryocyte basophile : MK stade II ou promégacaryocyte

- La ploïdie atteint son apogée à ce stade et la synthèse d'ADN cesse (**la majorité des MK a une ploïdie = 16N**)
- Morphologie : grandes cellules (40 – 80 $\mu$ m de diamètre) dont le noyau commence à se lobuler
- + La quantité de cytoplasme augmente (le rapport N/C diminue).
- + Le cytoplasme est de plus en plus abondant, basophile.
- Quelques granulations alpha et granulations denses apparaissent.

### Mégacaryocyte granuleux : MK stade III

- Les granulations plaquettaires sont nombreuses et le système de membranes de démarcation délimitant des territoires plaquettaires commence à s'organiser.
- Morphologie : grandes cellules (50- 100 $\mu$ m de diamètre, parfois plus); le rapport N/C diminue, le noyau est multilobulé et la chromatine plus dense.
- Le cytoplasme perd une partie de sa basophilie, devenant plus rosé (acidophile) et riche en granulations.

### Mégacaryocytes matures : MK stade IV ou plaquettogènes ou thrombocytoïdènes

- Les granulations se regroupent en petits paquets dans le cytoplasme, ébauches des futures plaquettes.
- Morphologie : le noyau est multilobulé, dense, pycnotique et la cytoplasme variablement abondant a une teinte qui évoque celle des plaquettes.
- Taille totale : 50 – 120  $\mu$ m de diamètre, selon la quantité de cytoplasme qui persiste.

### Libération des plaquettes – stade mature

- Les MK sont proches des sinusoides et **émettent de longs prolongements cytoplasmiques** (pseudopodes ou pro plaquettes) qui traversent la paroi des sinusoides et se fragmentent dans la lumière de ces derniers sous forme de plaquettes.

**Durée totale de la maturation : 8 jours**

**Durée de vie des plaquettes : 7-10 jours**

### Adaptativité de la mégacaryopoïese :

- En cas de thrombopénie, la masse totale des MK peut augmenter jusqu'à 10 fois
- Augmentation de la taille nucléaire (augmentation de la ploïdie), de la taille cytoplasmique, et du nombre total de MK.

## C- PLAQUETTES : STRUCTURE ET ANATOMIE FONCTIONNELLE

### 1- Membrane plaquettaire

- **Double couche phospholipidique :**
  - Distribution asymétrique
  - Riches en **acide arachidonique ++**
- Glycoprotéines de surface (**GPIb et GPIIb/IIIa**)
  - Récepteurs de protéines plasmatiques
- Antigènes plaquettaires
  - Ag du système ABO érythrocytaire**
  - Ag du système HLA
  - Ag spécifiques HPA Human platelet Antigen
- Charge négative
  - Répulsion des plaquettes

### Double couche lipidique : phospholipides

- Feuillet externe hydrophile
- Feuillet interne hydrophobe, glycoprotéines de l'hémostasie
- **Fluidité**

- Inversion de la polarité des phospholipides
- Extériorisation du **F3P** = un ensemble de phospholipides essentiellement **phosphatidylsérine** sur lequel vont se fixer :
  - + Directement : **Les facteurs 5 et 8 de la coagulation**
  - + Indirectement : Facteurs vitamine K dépendants (Par l'intermédiaire de ponts calcium)

### 2- Système membranaire intraplaquettaire

#### Système canaliculaire ouvert (de surface)

- Invaginations profondes la membrane
- Permet les échanges et sécrétion plaquettaires

#### Système tubulaire dense

- Lieu de stockage du **Ca++/enzymes**

### 3- Cytosquelette

Contrôle la morphologie plaquettaire (microfilaments d'actine, microtubules)

### 4- Granules intra plaquettaires

Déversent leur contenu à l'extérieur lors de l'action plaquettaire en s'unissant à la membrane cellulaire ou au système canaliculaire ouvert.

- Plusieurs types :

<b>Granules alpha</b> 8 à 10/Plaquette	<ul style="list-style-type: none"><li>- Facteur 4 plaquettaire (F4P)</li><li>- Facteur Willebrand</li><li>- <math>\beta</math>Thromboglobuline</li><li>- Fibrinogène..</li></ul>
---	--

<b>Granules denses</b> 4 à 5/Plaquette	<ul style="list-style-type: none"><li>- <b>ADP, ATP</b></li><li>- <b>Ca++</b></li><li>- <b>Sérotonine</b></li></ul>
---	---

<b>Lysosomes</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Hydrolases acides</li><li>- Phosphatases acides</li><li>- Collagénase</li></ul>
------------------	---

<b>Glycogène</b>	
------------------	--

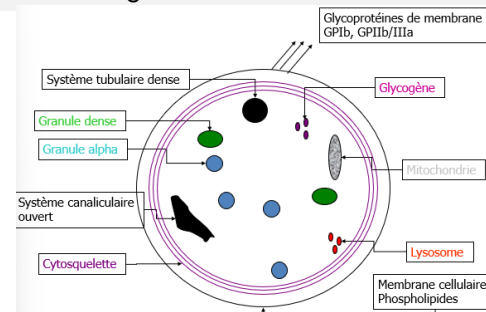
### PATHOLOGIE

#### Anomalies quantitatives

- Thrombopénie ( $< 150.000/\text{mm}^3$ )
  - + Centrale : Aplasie médullaire, leucémies
  - + Périphérique : Purpura thrombopénique auto-immun
- Thrombocytose ( $> 400.000/\text{mm}^3$ )
  - + Inflammation, splénectomie, thrombocytémie essentielle

#### Anomalies qualitatives

- Déficit en GP de surface
- Déficit en granules



## EXPLORATION

### TESTS COURANTS

#### A)- Numération plaquettaire

- Automatisée -  $150.000$  à  $400.000/\text{mm}^3$
- Thrombopénies : cause la plus fréquente des troubles de l'hémostasie primaire.

#### B)- Temps de saignement (TS)

- **Principe** : Plaie cutanée (petit vaisseaux) et **mesurer le temps nécessaire à l'arrêt du saignement.**

#### - Plusieurs méthodes :

+ Méthode de DUKE : Abandonnée

+ **Méthode d'IVY** : Méthode de référence

- Brassard maintenue à  $40 \text{ mm de Hg}$
- Incision de  $1 \text{ cm}$  de longueur sur  $1 \text{ mm}$  de profondeur par un appareil approprié au niveau de la face dorsale de l'avant-bras.

#### • Valeur normale : $< 10 \text{ min}$

➤ **Précautions** : (*cas TS allongé : Thrombopénie, aspirine, Maladie de Willebrand, anti-agrégants plaquettaire, insuffisance rénale chronique*)

TS inutile si **thrombopénie**, faussement allongée si  $\text{Hb} < 8 \text{ g/dl}$

Pas de **prise d'aspirine** dans les 8 jours précédant le TS.

### TESTS SPÉCIALISÉS : LABORATOIRES SPÉCIALISÉS

#### A)- Etude de l'agrégation plaquettaire :

- Etude in vitro : Agrégomètre
- Principe : Mesure du degré de clarification lié à agrégation (photomètre) d'un plasma riche en plaquette en **présence d'agents agrégants**. (ADP, Adrénaline, collagène, thrombine, ristocétine...)

#### B)- Dosage du facteur Willebrand :

- Dosage antigénique et dosage fonctionnel

#### C)- Etude de la durée de vie des plaquettes :

- Technique isotopique : marquage des plaquettes au chrome 51 vu à l'indium 111.
- > Comptage sur des prélèvements sanguins -> Evaluations de la  $\frac{1}{2}$  vie plaquettaire.
- > Comptage externe : siège de séquestration et destruction plaquettaire

### PATHOLOGIE

### PURPURA

#### Définition :

- Lésion élémentaire cutané et/ou muqueuse due à une extravasation de sang en dehors des capillaires :
  - + Pétéchies + Ecchymoses (spontanées ou provoquées)
- Association fréquente à des hémorragies muqueuse ou viscérale.





# MISE EN JEU DE L'HÉMOSTASE PRIMAIRE (3 étapes)

## 1- ADHÉSION PLAQUETTAIRE

= Adhésion des plaquettes au **sous-endothélium vasculaire**

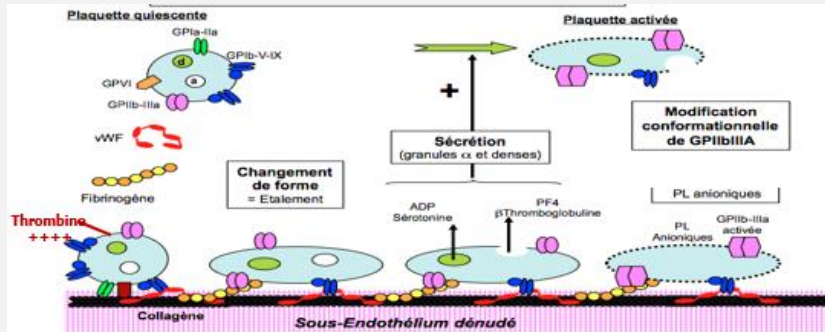
- Les plaquettes adhèrent au collagène du sous-endothélium grâce au **vWF** (Véritable colle biologique)

- Le **vWF** se lie aux plaquettes par le biais des GP de surface : **GPIb**

## 2- ACTIVATION PLAQUETTAIRE

- Comporte plusieurs phénomènes : Synthèse, sécrétoires, modification de la forme

- L'adhésion plaquettaire initie le phénomène d'activation.



### Modification de forme

+ Les plaquettes deviennent sphériques et émettent des pseudopodes

+ Les granules se concentrent au milieu de la plaquette

### Sécrétion du contenu de granules

#### Granules denses

- Sérotonine : Vasoconstriction - **ADP** : Agrégation plaquettaire

#### Granules alpha

- vWF - **Fibrinogène**

- **F4P** : agit comme médiateur dans la neutralisation de l'héparine du sang et joue un rôle dans l'agrégation plaquettaire.

### Induction du métabolisme des prostaglandines

## 3- AGRÉGATION PLAQUETTAIRE = Accolement des plaquettes les unes aux autres

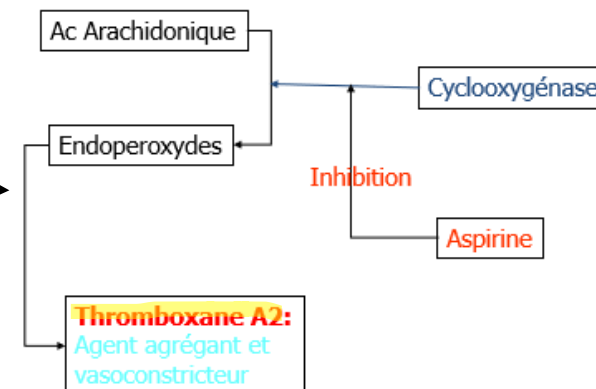
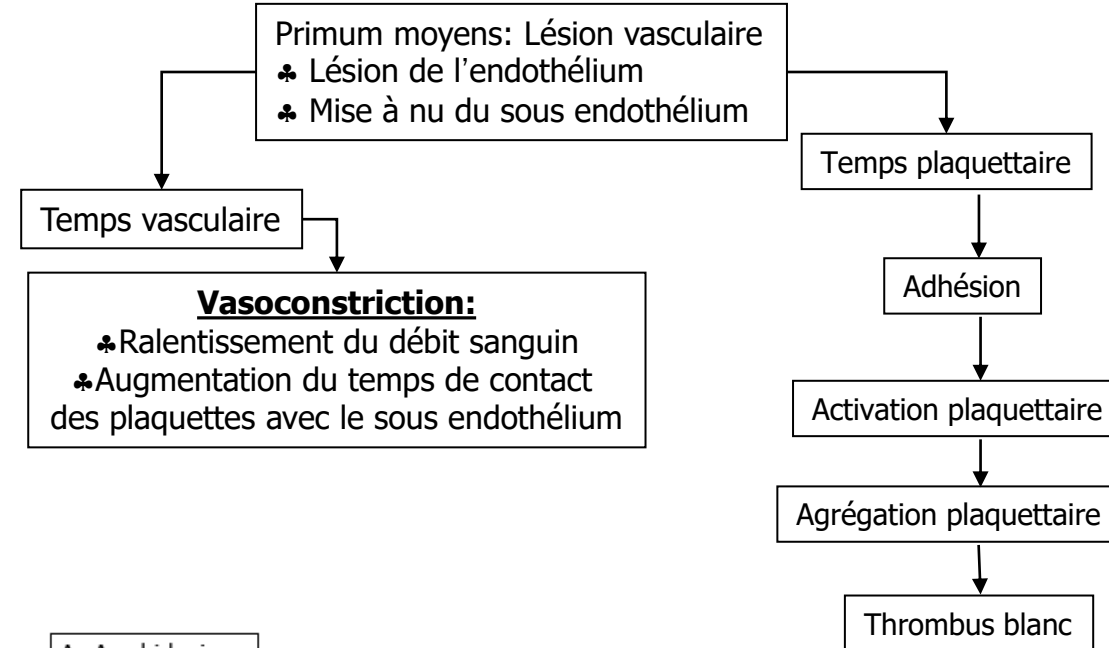
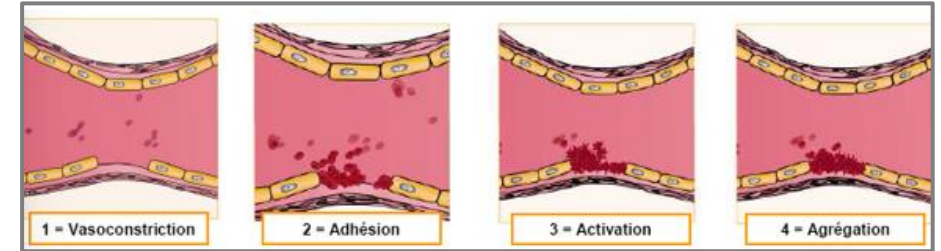
- Agents agrégants : **ADP**, **Thromboxane A2**, Collagène, **Thrombine**, Sérotonine...

- Mécanisme de l'agrégation plaquettaire : le **fibrinogène** crée des ponts entre les plaquettes en se fixant au **GPIIb/IIIa**. Agrégat renforcée par thrombine.

### Rétraction du caillot

Rétraction des plaquettes grâce au cytosquelette

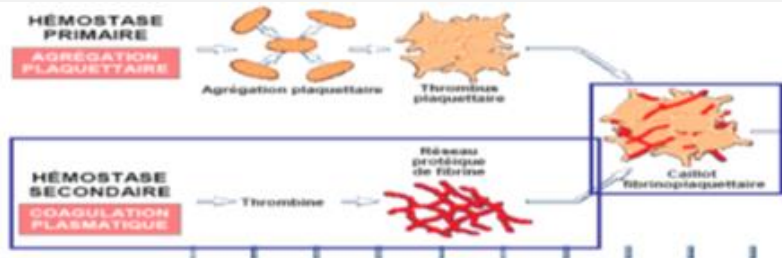
Oussama Essahili



# II. Coagulation sanguine

## DÉFINITION

- Ensemble de réactions enzymatiques conduisant à la transformation du fibrinogène soluble en fibrine insoluble.
- **Consolide le clou plaquettaire** pour former le clou fibrino-plaquettaire.



- Débute en même temps que l'hémostase primaire
- **Réactions enzymatiques** en cascade sous contrôle continu permettant de maintenir la coagulation au niveau de la lésion vasculaire  
=> Phénomène **localisé**

## INTERACTION

Hémostase primaire/Coagulation plasmatique

2 processus concomitants et indissociables

### - L'hémostase primaire :

- + Libère le **PF3**
- + Libère le **Ca<sup>++</sup>**
- + Le **fibrinogène**, substrat de la coagulation plasmatique, participe à l'agrégation plaquettaire.

### - La coagulation plasmatique :

- + Génère la **thrombine**, puissant agrégant plaquettaire.

## FACTEURS DE LA COAGULATION

### Dénominations

- **1 : Fibrinogène**
- **2 : Prothrombine**
- **3 : Facteur tissulaire (Thromboplastine tissulaire FT)**
- **4 : Ca<sup>++</sup>**
- **5 : Proaccélérine**
- **7 : Proconvertine**
- **8 : Facteur antihémophilique A**
- **9 : Facteur antihémophilique B**
- **10 : Facteur Stuart**
- 11 : Plasma Thromboplastin Antecedant (PTA) ou Facteur Rosenthal
- 12 : Facteur Hageman
- 13 : Facteur stabilisateur de fibrine
- Prékallikreine (Facteur Fletcher)
- Kininogène de haut poids moléculaire (KHPM) (Facteur Flaueac)

### Facteurs synthétisés par le foie

- Tous les facteurs sont synthétisés par le foie sauf :
- **6 (Ca<sup>++</sup>) et le 3 (FT : cell endothéliales lésées)**
- Facteur 8 : peut être aussi synthétisé par la rate, poumon, rein.

### Substrat : Fibrinogène ou facteur I

- Transformé en **fibrine**
- Synthétisé par le foie
- Taux sanguin : 2 à 4 g/l

### Calcium

- Nécessaire à presque toutes les étapes de la coagulation
- Chélateur de Ca<sup>++</sup> dans les tubes de prélèvements sanguins.

### Zymogènes / enzymes

- Présents dans le plasma sous forme inactive :
- **Proenzymes ou zymogènes**
- Activés lors des réactions enzymatiques par protéolyse.
- On ajoute le suffixe a quand ils sont activés.
- Ex : Prothrombine II -> Thrombine : IIa

### Facteur tissulaire (Thromboplastine tissulaire)

- Lipoprotéine synthétisé par les fibroblastes, monocytes et la cellule endothéliale lésée.
- Support du facteur 7
- **Elément déclenchant majeur de la coagulation.**

### Co-enzymes

- **Facteur 5 et Facteur 8**
- Dénués d'activités enzymatiques
- Accélèrent les réactions enzymatiques

### Facteurs synthétisés en présence de Vitamine K

- => Facteurs vitamino K dépendants
- Ce sont : **2, 7, 9 10 (PPSB)**
- En l'absence de vitamine K : synthèse de composants inactifs : PIVKA (Protein induced by Vitamine K absence)
- La vitamine K permet la Gamma-carboxylation des PIVKA -> Facteurs actifs.
- Antivitamines K en thérapeutique.

**1972**

### Facteurs consommés lors de la coagulation

- Non retrouvés dans le sérum après coagulation
- **1, 2, 5 et 8**

**1825**

### Facteurs contact

- 4 facteurs : **11 et 12, Prékallikreine et KHPM**
- Activés lors contact avec une surface électronégative
- Jouent un rôle dans l'inflammation + fibrinolyse

# MISE EN JEU DE LA COAGULATION PLASMATIQUE

- Cascade de réactions enzymatiques permettant la formation de **fibrine**

- Enzyme central : **Thrombine**

- Support : plaquettes, cellules endothéliales/**Phospholipides**

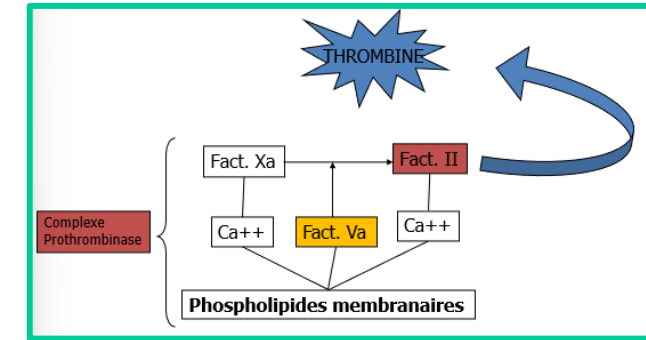
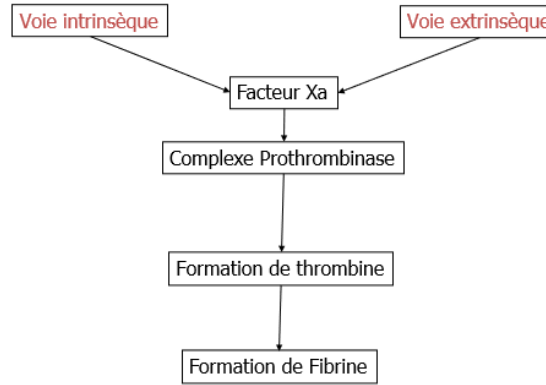
## Formation du complexe prothrombinase

- Complexe permettant de transformer le prothrombine inactive en Thrombine active.

- La conception classique : 2 voies d'activation

+ **Voie intrinsèque ou endogène**

+ **Voie extrinsèque ou exogène**



## Formation du complexe prothrombinase

## THROMBINO-FORMATION

- Génération de thrombine (Facteur 2a) à partir de la prothrombine (Facteur 2) par action du complexe prothrombinase.

## AMPLIFICATION DE LA COAGULATION

### Action de la thrombine +++

- Active le facteur 13

- Favorise la génération de 5a, 8a et 11a

- Recrutent et **activent de nouvelles plaquettes**

**1311  
85P**

## VOIE EXTRINSEQUE

- Voie courte et rapide

- Voie physiologique, voie d'initiation de la coagulation in vivo

- Lors de lésion vasculaire :

=> **Libération de la Thromboplastine tissulaire (FT)** qui active le **Facteur 7** en présence de  $Ca^{++}$

- Le complexe **FT-F7a** : active le facteur 10 en présence de  $Ca^{++}$

## VOIE INTRINSEQUE

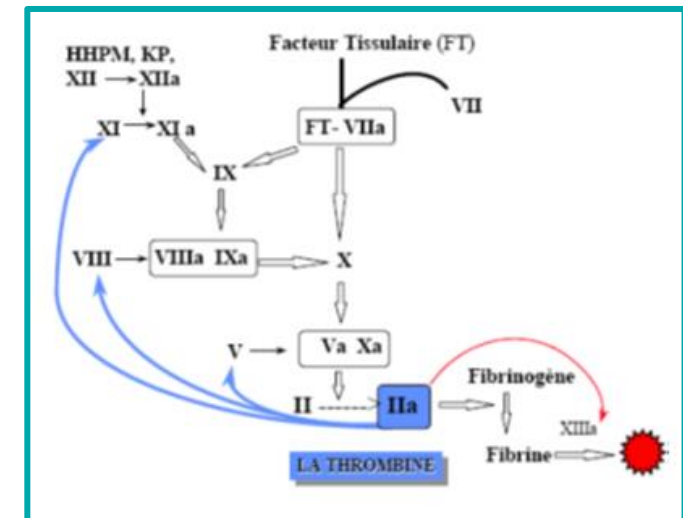
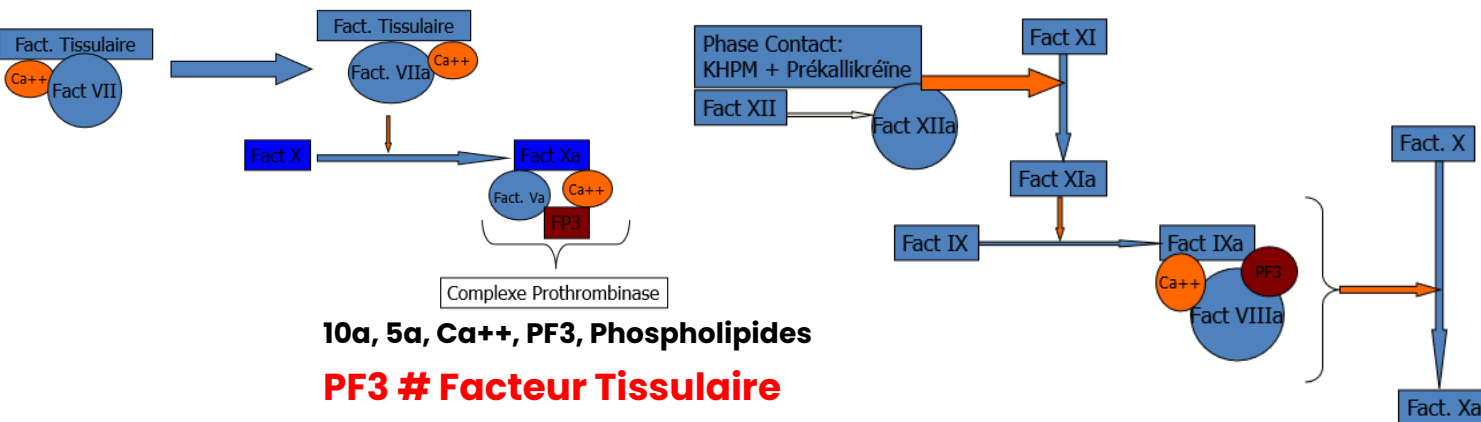
- Voie lente, paraît secondaire in vivo

- Débute par l'activation du **Facteur 12** avec le sous endothélium en présence de **prékallokrène et KHPM**.

- Le Facteur 12a accentre l'action du facteur 11

- Le facteur 11a en présence de  $Ca^{++}$  entraîne l'activation du Facteur 9

- Le facteur 9a, en présence de **Facteur 8, de  $Ca^{++}$  et PF3**, active le facteur 10 et génère le complexe prothrombinase.

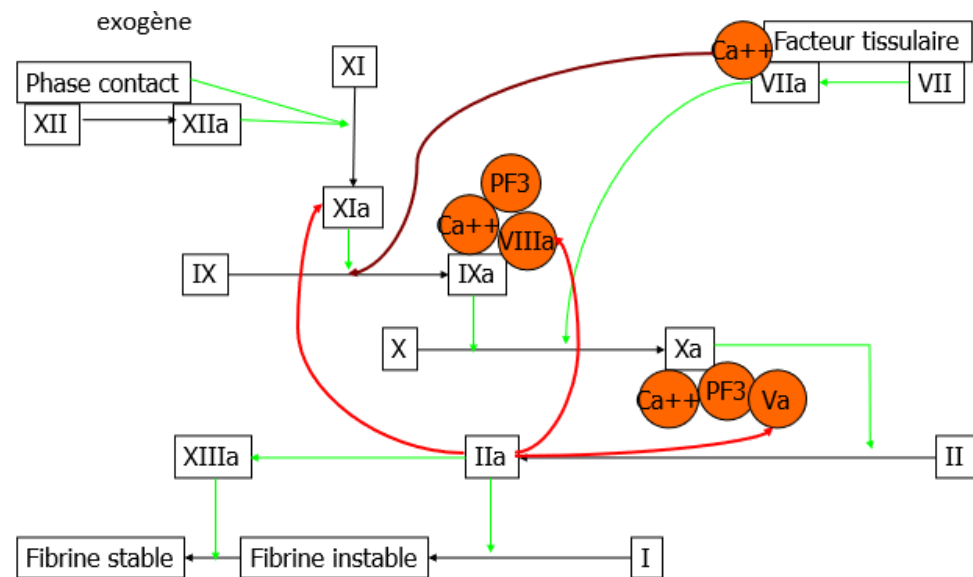
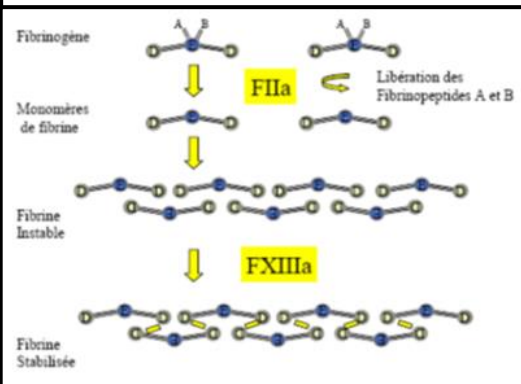




# MISE EN JEU DE LA COAGULATION PLASMATIQUE

## FIBRINOFORMATION

- Transformation du **fibrinogène soluble en fibrine** insoluble sous l'action de la thrombine
- La thrombine va cliver des petits peptides (Fibrinopeptides A et B) de la molécule de fibrinogène formant des monomères de fibrine libérant ainsi des sites de liaison.
- Plusieurs monomères de fibrine vont s'agencer pour former des polymères de fibrine.
- Le **facteur 13** activé par la thrombine va stabiliser les liaisons entre les différents monomères de fibrine pour former la **Fibrine stable, produit final de la coagulation plasmatique**.



**Schéma général :** Coagulation et interaction voie endogène/voie exogène

## MÉCANISMES DE RÉGULATION

Permet de localiser le phénomène hémostatique au niveau de la lésion vasculaire.

- Si déficit => **Thromboses**
- Se compose d'inhibiteurs physiologiques qui freinent la coagulation en inactivant les facteurs activés.
- Il existe :
  - + Inhibiteurs de la voie endogène (**Antithrombine**, **Système protéine C – protéine S**)
  - + Inhibiteur de la voie exogène (**TFPI** : Tissue Factor Pathway inhibitor)

### ANTITHROMBINE : AT ou AT3

Inactive les facteurs 9, 10, 11

- Synthèse **hépatique**
  - **Action principale** : inhibition de la thrombine
  - Action physiologique relativement lente
  - S'accélère en présence d'Héparane sulfate (co-facteur de l'héparine)
- L'héparine augmente 2000 à 3000 fois la vitesse de réaction entre l'AT et la thrombine.
- Un déficit en AT est responsable de thromboses à répétition.

### SYSTÈME PROTEINE C – PROTÉINE S

Composé de 2 protéines

#### A/ Protéine C (PC)

- PC synthétisé par le foie **en présence de Vitamine K**
- Protéine plasmatique circulant sous forme inactive
- PC **activée par la thrombine**
- Pca inhibe le **Facteur 5a** et **Facteur 8a**

58

#### B/ Protéine S

- Glycoprotéine synthétisée par le foie **en présence de Vitamine K**
- Cofacteur de la Pca, augmente son activité.

### TISSU FACTOR PATHWAY INHIBITOR (TFPI)

- Inhibiteur de la voie exogène
- Inhibe l'activation du facteur 10 par le complexe Facteur 7a-FT

## EXPLORATION

### CONDITIONS DE PRÉLÈVEMENT

- Tube adéquat : **Anticoagulant (Citrates)**
- Garrot peu serré
- Ponction franche
- Respect des proportions : 9 volume de sang pour un volume de citrate
- Mélange sang/citrate par retournement
- Transport rapide au laboratoire

### TESTS DE 1<sup>ÈRE</sup> INTENTION OU TESTS GLOBAUX

1)- **TCA : Temps de céphaline + activateur**  
 - Explore la voie **endogène** : 12, 11, 9, 8 et 2, 5 et 10. **1985 1211**  
 - Temps de coagulation d'un plasma pauvre en plaquettes, recalcifié en présence de **phospholipides** (substitut des plaquettes) après **activation** du **système contact**.

- Réactif phospholipidique : Céphaline  
 - Activateur du système contact : Kaolin, Célite  
**TCA** : Test basé sur le temps nécessaire pour former un caillot de fibrine après **l'addition d'un activateur de contact**, et de **phospholipides (PL)** et de **calcium** à un plasma pauvre en plaquettes et décalcifié.

2)- **TQ : Temps de Quick (Taux de prothrombine : TP)**  
 - Explore la voie **exogène** : 7 et 2, 5 et 10.  
 - Temps de coagulation d'un plasma recalcifié en présence de thromboplastine tissulaire.

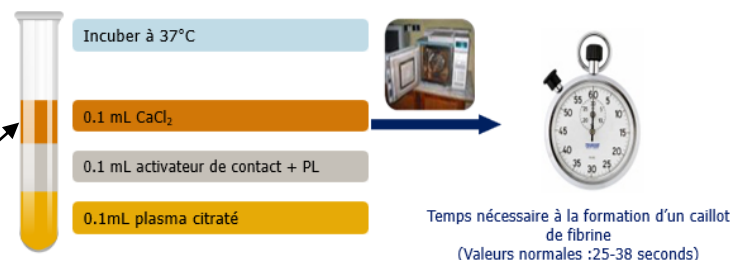
**TQ** (exprimé en sec) : le temps nécessaire pour la formation d'un caillot de fibrine après l'addition d'un **facteur tissulaire**, de **phospholipides** et de **calcium** à un plasma pauvre en plaquettes et décalcifié.

3)- **Dosage du fibrinogène**

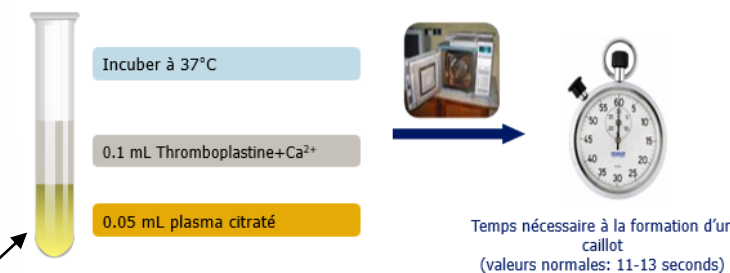
- Réalisé avec les tests globaux
- Valeurs normales : 2 à 4 g/L

### TESTS DE 2<sup>ÈME</sup> INTENTION : DOSAGE SPECIFIQUES DES FACTEURS

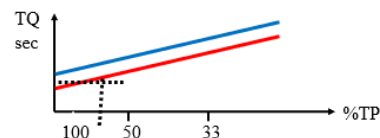
- Orienté par le résultat des tests globaux  
 Ex : **TQ allongé** et TCA normal : **Dosage du facteur 7**



Comparées à un plasma normal



Comparées à un plasma normal



**Exemple de droite de Thivolle pour convertir les temps de Quick en temps de prothrombine**

TP valeur normale : 70-140%

- **TP bas si < 70% = TQ (seconde) allongé)**

## PATHOLOGIE

### Hémophilies

- Maladie hémorragique héréditaire due à un **déficit** constitutionnelle de synthèse en :  
 + **facteur 8** (Hémophilie A)  
 ou en **facteur 9** (Hémophilie B)
- Responsable d'hémorragies sous forme d'hématome (musculaire, articulaire...)
- Transmission liée au sexe, seuls les garçons sont touchés, les femmes sont conductrices.
- Diagnostic biologique : **Allongement isolé du TCA, TQ normal**



- Dosage des facteurs de la voie **endogène** :

- + Facteur 8 bas : Hémophilie A
- + Facteur 9 bas : Hémophilie B

### Coagulation plasmatique du foie

- A)- **Insuffisance hépato-cellulaire**
- **Baisse de tout les facteurs synthétisés** par le foie sauf 8
- **Allongement du TQ et TCA**
- B)- **Déficit en Vitamine K**
- **Allongement du TQ et TCA**
- **Baisse des facteurs Vitamine K dépendants : 2, 7, 9, 10.**
- Diagnostic différentiel avec insuffisance hépatocellulaire : **Facteur V** est normal dans le déficit en vitamine K
- Maladie hémorragique du nouveau né : administration prophylactique de vitamine K.



### Résultat exprimé :

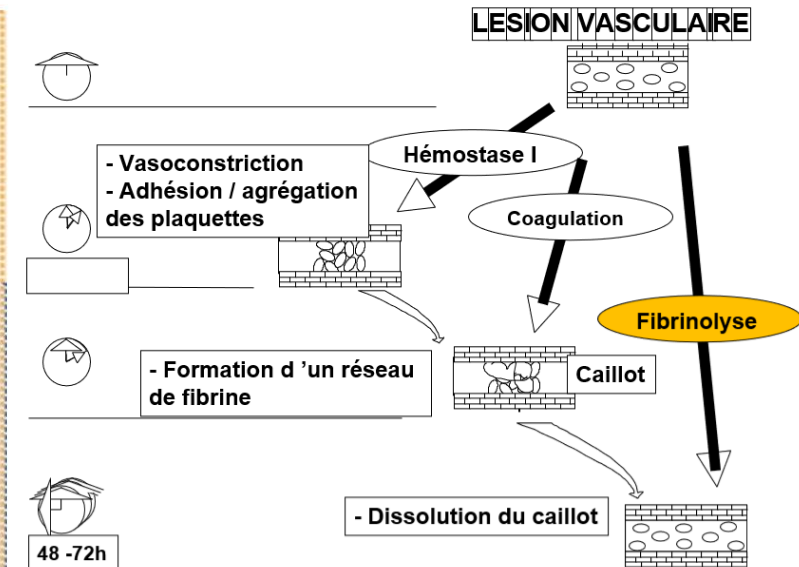
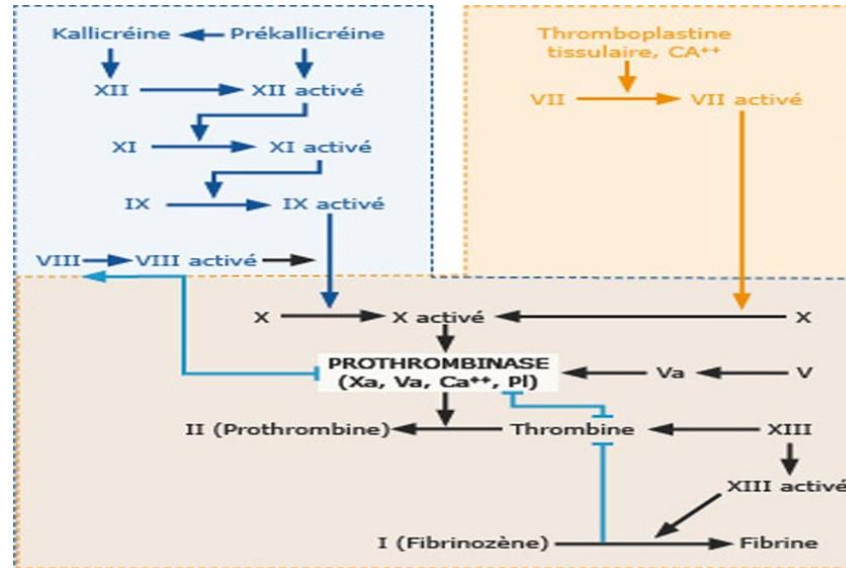
- En sec : 11 à 13 sec (toujours par rapport à un témoin)
- En % d'activité => **Taux de prothrombine (TP)**
- Le TP (%) : calculé en utilisant une droite d'étalonnage (droite de Thivolle)
- La droite de Thivolle : obtenue à partir de dilutions successives de plasma témoin « normal » : dont le TP est égal :  
 => à 100% lorsqu'il n'est pas dilué.  
 => à 50% lorsqu'il est dilué au demi, etc.

# III. Fibrinolyse

Oussama Essahili

## DÉFINITION

- **Processus physiologique** permettant la **dissolution du caillot de fibrine** une fois son rôle hémostatique achevé.
- La dissolution du caillot de fibrine se fait par une **réaction enzymatique protéolytique** grâce à une enzyme : **PLASMINE**
- Ce système joue un rôle dans la lutte contre l'apparition des thromboses.
- Permet ainsi d'éliminer le caillot mais également de prévenir son extension évitant l'occlusion de la lumière vasculaire.
- Est contrôlée par un système d'activateurs et d'inhibiteurs.
- Intérêt majeur en thérapeutique : Thrombolytiques, Antifibrinolytiques.



## FACTEURS DE LA COAGULATION

### 1)- PLASMINOGENÈ

- Glycoprotéine synthétisée par le foie sous forme inactive : zymogène
- Sous l'action d'activateurs, le plasminogène inactif est transformé en **Plasmine active (enzyme clé de la fibrinolyse)**
- Localisation : sang circulant / surface des cellules endothéliales et des plaquettes.
- Le plasmine a une activité protéolytique : une enzyme très puissante capable de dégrader :
  - + Le caillot de fibrine
  - + Le fibrinogène : si formé en excès
  - + Certains facteurs de coagulation (1, 5, 8)

### 2)- ACTIVATEURS DE LA FIBRINOLYSE

- Permettent d'activer le plasminogène pour générer le plasmine.

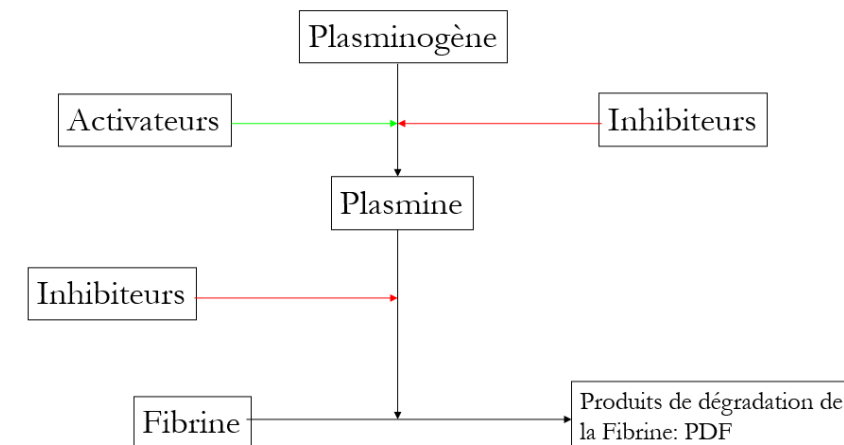
#### Activateur tissulaire du plasminogène (t-PA)

- Synthétisé de façon quasi exclusive par la **cellule endothéliale +++**
- Plasminogène → Plasmine
- Action potentialisée par la présence de Fibrine : x1000 si plasminogène fixé sur la fibrine
- Thrombine peut activer le t-PA

- **t-PA recombinant (Alteplase) : traitement thrombolytique.**

#### Activateur urinaire du plasminogène (U-PA)

- Urokinase produite à partir de la Pro-Urokinase
- Pro-urokinase est synthétisée par le rein/autres tissus
- + S'active en urokinase essentiellement au contact du caillot de fibrine.
- Plasmine active le pro-urokinase (Amplification)
- **Système contact** : Kallicréine active aussi la transformation du Pro-urokinase en urokinase active.
- **Utilisée en thérapeutique thrombolytique**





## MISE EN JEU DE LA FIBRINOLYSE

- En absence de fibrine : le plasminogène circulant est inactif (Proenzyme)
- Le plasminogène libre se fixe sur la fibrine
- Dès que se forment des traces de fibrine : la cellule endothéliale libère le t-PA
- t-PA libéré va également se fixer sur la fibrine
- Système Contact / Fibrine vont activer l'u-PA

- Les premières traces de plasmine vont également agir sur le plasminogène pour le transformer en plasmine

= Phénomène d'amplification

- La fibrine est protégé par l' $\alpha$ -2 anti-plasmine fixé à sa surface, lorsque sa capacité d'inhibition est dépassée la lyse du caillot va avoir lieu.
- La plasmine dégrade des réseaux de fibrine = **Fibrinolyse**
- La fibrinolyse va générer des produits de dégradations (PDF) : très hétérogènes qui seront libérés dans la circulation (Produits précoces X, Y)

- α-2 macroglobuline**  
**α-1-antitrypsine**  
- Interviennent en seconde  
ligne après saturation de  
l'α-2 anti-plasmine.

- La fibrinolyse génère d'abord des produits de dégradation volumineux, puis par dégradation successive des produits plus petits : les fragments DD (D-Dimères) et E.
- Dans les cas de coagulopathies majeurs ou dans les traitements thrombolytiques : on aura une **dégradation du fibrinogène** avec apparition de produits D et E

PAI 2

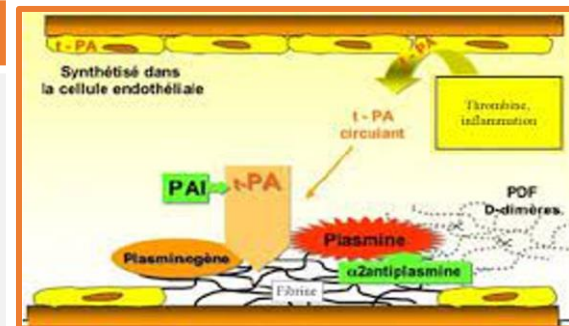
- Ne se trouve pas en général dans le plasma normal
- Présent essentiellement chez la femme enceinte : synthétisé par le placenta
- Monocytes
- **Inhibiteur de l'urokinase ++**

## EXPLORATION

- ## I- Test globaux

- A- Temps de lyse d'un caillot de sang total
  - Test long, normal (48-72 h) - N'est plus utilisé
- B- Temps de lyse des euglobulines
  - = C'est le temps de lyse d'un caillot formé à partir d'un plasma déplété en inhibiteurs de la fibrinolyse par précipitation en milieu acide.
  - **Normal > 3h - En cas d'hyperfibrinolyse** : le test est court < 3h
- C- Dosage du fibrinogène
- D- Dosage des PDF : leur augmentation peut être le reflet d'une hypercoagulation
- E- Dosage des D-Dimères : Intérêt (une valeur normale des D-Dimères exclut la présence d'un dépôt de fibrine (Embolie pulmonaire, phlébite...))

## II- Tests spécifiques : Dosage des facteurs de la fibrinolyse (Plasminogène, t-PA, PAI, Antiplasmines)



**FIBRINOGENÈ**

**FIBRINE**

fragment X

fragment D

fragment Y

fragment E

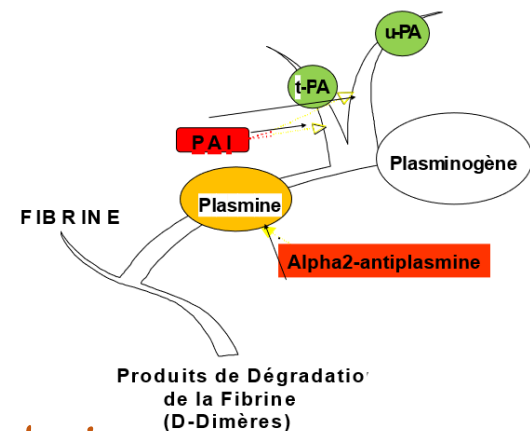
fragment D

fragment DD/E

fragment YD/DY

fragment YY/DDX

fragment YD/DY



## A retenir

- Tout se passe au niveau d'un **caillot**.
- Pas de plasmine libre circulante
- => **Danger de lyse du fibrinogène**
- **D-Dimères** sont un des produits de la dégradation de la fibrine : dont la mesure est très utile en clinique pour exclure une maladie thromboembolique veineuse.

# IV. Syndrome hémorragique

## DÉFINITION

### Hémorragies

- = Saignements extériorisés ou non, caractérisé par :
- + Leur survenue spontanée ou suite à des traumatismes minimes
- + Leur répétition dans plusieurs territoires dont certains sont évocateurs d'une pathologie précise.
- + Leur liaison à un trouble de l'hémostase congénital ou acquis.

### Maladies hémorragiques

- Ensemble de pathologies caractérisées par une tendance hémorragique de façon spontanée ou provoquée.
- Les troubles d'hémostase (se traduisant par un syndrome hémorragique) **congénitaux** sont plus **rares** que les troubles d'hémostase **acquis**.
- Etiologies du syndrome hémorragique : traitement adéquat

### 3)- BILAN BIOLOGIQUE

#### Hémogramme

- Taux de plaquette, taux d'hémoglobine

#### Temps de saignement

- Explore l'hémostase primaire dans sa globalité
- TS allongé (>10mn selon la méthode d'Ivy)
- Peut être allongé d'anémie franche

**Temps d'occlusion** : équivalent de temps de saignement in vitro, test coûteux.

#### Temps de céphaline + activateur (TCA)

- Explore la voie endogène de la coagulation
- le TCA allongé permet de dépister
- + déficit en facteur anti-hémophiliques
- + déficit en facteur 11
- + déficit en facteur 12, non hémorragique
- Lorsqu'il est associé à un allongement du TQ : déficit en facteurs de la voie commune (5, 10, 2, 1)

#### Temps de Quick (TQ) ou Taux de Prothrombine (TP)

- Explore la voie exogène de la coagulation
- TQ allongé permet de dépister :
- S'il est isolé un déficit en facteur 12
- Lorsqu'il est associé à un allongement du TCA : déficit isolé en facteurs 5, 10, 2, 1 ou combiné.

## DIAGNOSTIC POSITIF

### 1)- CIRCONSTANCES DE DÉCOUVERTE – INTERROGATOIRE

- **Etape essentielle +++**
- Doit préciser :
- ° Les ATCD hémorragiques : familiaux, personnels
- ° La date de début (postnatal, dès l'enfant, à l'âge adulte)
- ° Le type de saignement (cutané, muqueux, viscéral, articulaire)
- ° Le caractère spontané ou provoqué : saignement après des gestes invasifs ou chirurgie
- ° Chez la femme : ménorragies
- ° Fréquence du saignement et l'abondance.
- ° ATCD d'anémies
- ° Antécédents familiaux : si notion d'un syndrome hémorragique familial, établir un arbre généalogique si plusieurs sujets sont atteints.
- ° Traitement médicaux récents, tout particulièrement ceux interférant avec l'hémostase (antiagrégant comme **Aspirine**, antithrombotiques)

### 2)- EXAMEN CLINIQUE

#### a)- Saignements externes

Saignements cutané-muqueux

#### - Cutanés de type purpurique :

Purpura = **extravasation plus au moins étendu de sang hors des petits vaisseaux du derme en général, non effaçable à la vitropression**, peut-être :

- + Pétéchial (punctiformes, prédominant aux parties déclives et au niveau des zones de frottement)
- + Ecchymotiques : plus étendu, non compressif
- + Nérotiques : centré par une zone noire
- + Vibices : taches longilignes, siégeant au niveau des plis

#### Saignements muqueux

- Les épistaxis (anté/post), uni-bilatérales
- Les gingivorragies
- Les hémorragies buccales : pétéchies, bulles hémorragiques
- Les hématomèses, méléna, rectorragies : associés ou non à des douleurs abdominales
- Les hémoptysies
- Les hématuries
- Saignements prolongés lors de la chute d'une dent ou après extraction dentaire

#### b)- Saignements internes

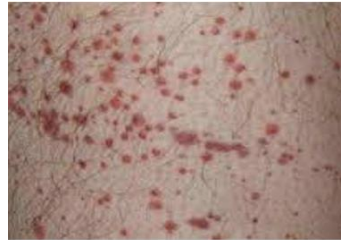
- Les **hématomes** (Rupture traumatique d'un vaisseau de moyen calibre, musculaire, sous cutané, cavité) : réalisant un tableau douloureux focalisé et fébrile; ils peuvent être **compressifs**.
- Les **hémarthroses** (localisation articulaire), traumatique ou spontanés, évoquent en premier **l'hémophilie**.
- Les **hémorragies rétinienne**s : asymptomatiques (Fond d'œil) diminution de l'acuité visuelle, si présent risque d'hémorragie cérébro-méningée.
- Les **signes annonciateurs d'hémorragies méningées** : Hémorragies rétinienne / signes neurologiques (céphalées, convulsion...) : **Pronostic vital est en jeu**.

#### c)- Retentissement de l'hémorragie : **Signes de gravité++**

- Sd anémique : pâleur, tachycardie, polypnée, hypothermie...
- Sd hypovolémique : d'apparition tardive, si pertes sanguines importantes

d)- Signes en faveur d'une pathologie sous-jacente  
Insuffisance hépatique, hémopathie.

## Purpura



Pétéchies : taches de 2-3mm



Ecchymoses : taches bleues-violettes évoluant vers la jaune-vert = teinte de biligénie



- **L'interrogatoire et l'examen cliniques permettent de :**
- + **distinguer une pathologie de l'hémostase primaire d'une maladie de la coagulation**
- + **orienter vers une étiologie constitutionnelle ou acquise**



# DIAGNOSTIC ETIOLOGIQUE

## PATHOLOGIE DE L'HEMOSTASE PRIMAIRE

### Cliniquement :

- Hémorragies cutanéomuqueuses
- Purpura pétéchiales ou ecchymotiques
- Saignements spontanés et/ou provoqués
- Saignement précoce

### Bilan biologique :

- Taux de plaquettes normal ou diminué
- TS : allongé > 10min
- **TCA/TP : normaux**

### ➤ Anomalies de plaquettes :

- Thrombopénies – Thrombopathies

### ➤ Maladie de Willebrand

- **Maladie vasculaire** : Fragilité capillaire (âge, inflammation, infection)

### B- Thrombopathies :

Evoquée : saignements cutanéomuqueux inexplicables, associés à :

- Une numération de plaquette normale
- TS allongé
- Un TCA et un TQ normaux

### Thrombopathies acquises

- Thrombopathies médicamenteuses, très fréquentes (Aspirine, anti-inflammatoires non stéroïdiens...)

### Thrombopathies constitutionnelles

Beaucoup plus rare, évoqué chez l'enfant et s'il existe des ATCD familiaux de saignement

- **Absence de la G1b** : anomalie de l'adhésion plaquettaire (Syndrome de Bernard-Soulier)
- **Absence de la G1Ib-IIIa** : Anomalie de l'agrégation (Thrombasthénie et Glanzmann)
- Anomalie de la sécrétion : déficit enzymatique ou en granule.

=> **Test Agrégation plaquettaire (Etude fonctionnelle)**

### A- Thrombopénie

- Bilan biologique : Pas d'indication du TS

- **Hémogramme** : Taux d'Hb, plaquettes, GB (normal ou augmenté), morphologie cellulaire
- **Myélogramme** : Permet d'évaluer la Mégacaryopoïèse
  - + Mégacaryocytes normales ou augmentés (**Thrombopénie d'origine périphérique**)
  - + Mégacaryocytes diminués (**Thrombopénie centrale**)
- Taux de plaquettes < 150000/mm<sup>3</sup>
- Eliminer une **fausse thrombopénie** :
  - + Erreur technique : présence de caillot dans le tube
  - + Thrombopénie induite par l'EDTA
- **> 50000/mm<sup>3</sup>** : Absence de saignements spontanés
- **20000 – 50000/mm<sup>3</sup>** : Saignements spontanés peut être observé (cutanéomuqueux +++)
- **< 20000/mm<sup>3</sup>** : Thrombopénie sévère/profonde
  - Saignements spontanés +++
  - Risque d'hémorragies sévères (Urgence++)

- Signes de sévérités :

Purpura extensif, bulles hémorragiques (cavités buccales), hémorragies conjonctivales, hémorragies cérébro-méningées, hémorragies viscérales.

### C- Maladie de Willebrand :

- La plus fréquente des maladies constitutionnelles de l'hémostase - Déficit quantitatif ou qualitatif
- Déficit en facteur 8 peut être associé
- Transmis le plus souvent selon un mode autosomique dominant - Affecte les deux sexes.

### Clinique :

Gravité liée à la profondeur du déficit (minime ou sévère)

### Bilan biologique

- Bilan d'orientation

Taux de plaquette : **NRML**

TS ou Temps d'occlusion : **Allongé**

**TCA : normal ou diminué**

TQ ou TP : **normal**

- Bilan de confirmation

Dosage du Facteur de Willebrand

Dosage du facteur 8

## PATHOLOGIE DE LA COAGULATION

### Cliniquement :

- Hémorragies touchant les tissus profonds
- Saignement provoqué par un traumatisme minime
- Saignement retardé

### Bilan biologique :

- Taux de plaquettes normal ou diminué
- TS : normal

- **TCA et/ou TQ allongé**

### Interprétation TCA/TQ :

- **TCA** : Normal 25-38s (= valeur en seconde de TCA témoin +/- 5)

+ Allongé (temps patient > TCA témoin + 5)

- **TQ** : Normal 11-13sec (allongé > 13s) = **TP : 70-140% (allongé < 70%)**

- **Taux normal de facteurs de coagulation** : 70-140% (Taux de facteur bas si le taux < 70%)

### Acquises :

- **Insuffisance hépatocellulaire** - Hypovitaminose K
- **Coagulopathie intravasculaire disséminée (CIVD)**

### Constitutionnelle :

- **Hémophilie**
- Autres déficits en facteurs de coagulations (très rare)

### A-Insuffisance hépatocellulaire

- Gravité liée au degré de l'atteinte hépatique quelle qu'en soit l'origine (Hépatite, Cirrhose éthylique...)

- **Bilan biologique** : variable

+ Allongement du temps de Quick (TQ) + Allongement du TCA

+ **Facteur 8 : normal**

### B- Coagulation intravasculaire disséminée (CIVD)

= Conséquence d'une activation diffuse de la coagulation

- Le + souvent : Liée à une expression en excès de facteur tissulaire (FT) : infection, placenta, cancer...

+ Manif. hémorragiques : diffuses, sévère et/ou thrombotiques : **Urgence**


**Bilan biologique** : Variable +++

+ **Thrombopénie** (< 50000/mm<sup>3</sup>) + **Hypofibrinogénémi**e (< 1g/l taux très évocateur) + TCA/TQ : allongés

+ **Diminution des facteurs de coagulation**

+ D. Dimères, PDF : **augmentés**

# PARTIE QACHOUH



*Généralités sur l'étude du sang  
Hématopoïèse  
Éléments figurés du sang*

# I. Généralités sur l'étude du sang

Le sang

Oussama Essahili

## NATURE ET FONCTIONS

### NATURE

- Tissu liquide rouge ubiquitaire
- Circulant à l'intérieur d'un système vasculaire clos
- Volume : **5 litres** chez l'adulte dont **45% de cellules**

### FONCTIONS

- Transport des gaz
- Elimination des déchets
- Transit des substances nutritionnelles
- Défense de l'organisme

## 2 PARTIES

### FRACTION CELLULAIRE PLURISPÉCIALISÉE :

#### Elements figurés du sang

- **GR ou hématies ou érythrocytes** : le transport des gaz
- **GB ou leucocytes** : Défense de l'organisme
- **Plaquettes ou thrombocytes** : Hémostase

### FRACTION LIQUIDE : Plasma

- **Eau** : 90%
- **Substances solubles** :
  - + Protéines (Albumine, fibrinogène, globulines) : 70 g/l explorée par électrophorèse des protides
  - + Lipides, glucides, sels minéraux, déchets, gaz dissous, vitamines, hormones, médicaments.

## LES CELLULES SANGUINES

### 99% = Globules rouges ou érythrocytes ou hématies

#### - Erythrocytes ou Hématies

Cellules **anuéées** sans organites :

**SAC de forme biconcave** (cf. centre clair sur le frottis)  
(7 à 8 µm sur 2,5 µm)

**Contenu** : Hb (1/3), Enzymes, Glucose, Eau et électrolytes

**Durée de vie = 120 jours.**

### 0,6 à 1% = Plaquettes ou Thrombocytes

Cellules **anuéées** de moins de 2 à 3 µm **avec des organites**  
= Fragments du cytoplasme des Mégacaryocytes

**Rôle dans l'Hémostase primaire** # Coagulation :

Formation du clou plaquettaire

**Durée de vie = 8 à 10 jours**

### 0,2 = Globules blancs ou leucocytes

- **Polynucléaires** (= Granulocytes) car les noyaux paraissent **polynucléés**... mais en fait **polylobés**

=> P. Neutrophiles (**Durée de vie = quelques heures**),

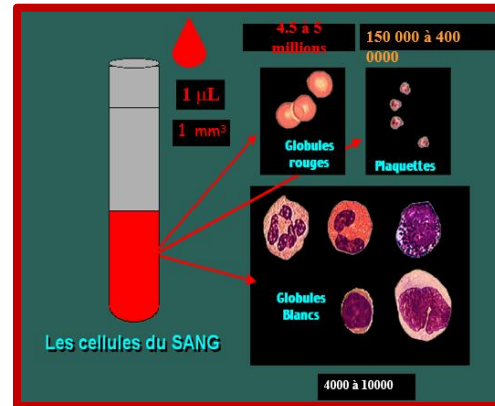
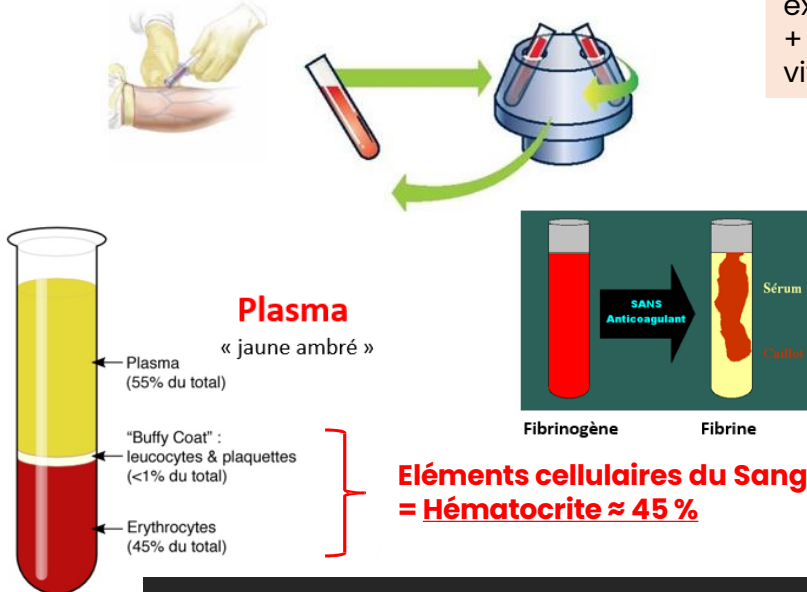
P. Eosinophiles, P. Basophiles

- **Elements « mononucléés » 2 types :**

+ Lymphocytes + Monocytes

## RÔLE DU SANG

- **Transport des gaz respiratoires** : O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>
- **Transport des déchets** (Urée, créatinémie, bilirubine...)
- **Nutrition** (Apport d'eau et de nutriments à toutes les cellules)
- **Immunité** (Globules blancs défenseurs de l'organisme)
- **Identité biologique** : Agglutinogènes des groupes sanguins sur la membrane des hématies
- **Communication** au sein de l'organisme, transport d'hormones et de facteurs divers.
- **Thermorégulation** (échanges thermiques avec le milieu extérieur)
- **Pouvoir tampon** (ions bicarbonates, phosphates, Hb..)



**Eléments cellulaires du Sang**  
**= Hématocrite ≈ 45 %**

## Elements observés sur un frottis sanguin

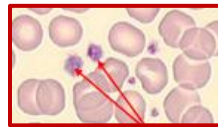


Hématies

Lymphocytes



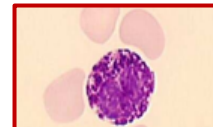
Monocytes



Plaquettes



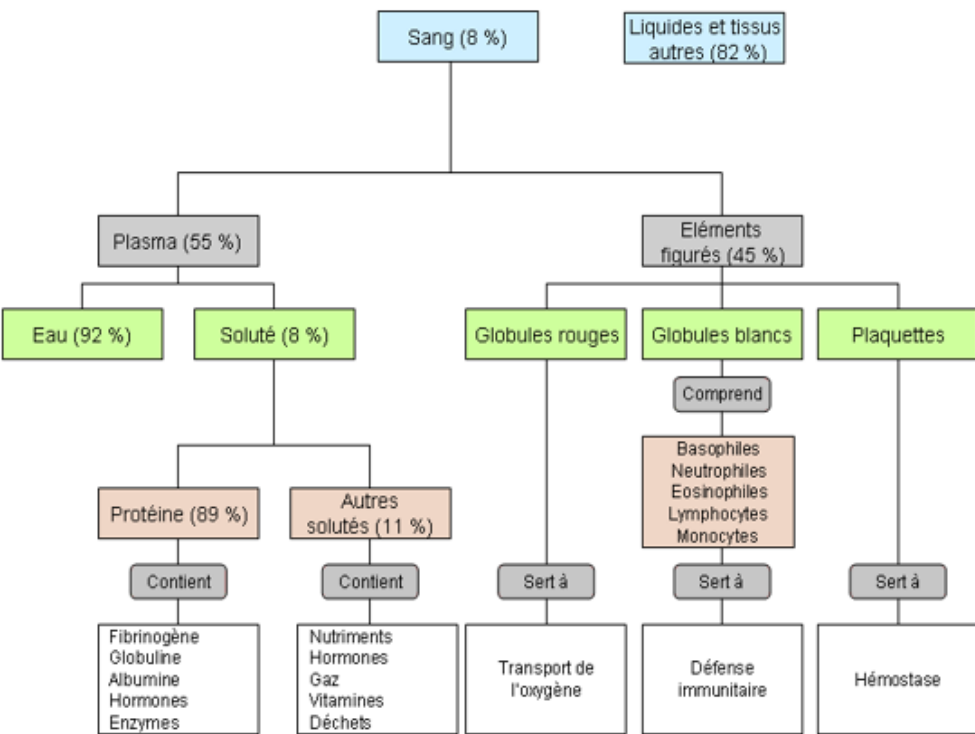
Polynucléaires  
éosinophiles



Polynucléaires  
basophile



Polynucléaires  
neutrophile



## L'étude de l'hémostase

- **Mécanismes cellulaires et biochimiques permettant la prévention et l'arrêt de l'hémorragie.**
- **Fait intervenir :**
- + **Plaquettes**
- + **Facteurs biochimiques de l'hémostase :** Enzymes, Ions, Protéines, Vaisseaux sanguins...

## Immuno-hématologie

- Etude des groupes sanguins
- Applications à la transfusion sanguine

# Méthodes d'étude du sang

## - Etude clinique

### Signes Fonctionnels

- + Syndrome anémique
- + Syndrome hémorragique
- + Syndrome infectieux

### Signes physiques

- + Pâleur, dyspnée d'effort...
- + Purpura, hémorragies muqueuses...
- + Polyadénopathie
- + Splénomégalie

## - Biologie

### Hémogramme (Numérotation Formule sanguine)

- + Comptage des cellules sanguines
- + Formule : répartition des différentes variétés de GB

### Frottis sanguin

- + Etude microscopie optique de la morphologie des cellules sanguines : coloration **May Grunwald Giemsa (MGG)**

Les colorants de ce groupe contiennent du bleu de méthylène (colorant basique) et de l'éosine (colorant acide) en différentes proportions :

- Les **structures acidophiles** de la cellule sont colorées en rose, rouge, ou orangé.
- Les **structures basophiles** en bleu (bleu clair, bleu foncé, bleu violet, pourpre)
- + **NOYAU** : rouge violet
- + **CYTOPLASME** : Acidophile (rose), Basophile (Bleu ciel ou Bleu foncé), Polychromatophile (Grisâtre)
- + **GRANULATIONS** : Neutrophile (marron), Eosinophiles (oranges), Basophile (violet foncé), Azurophile (rouge pourpre)

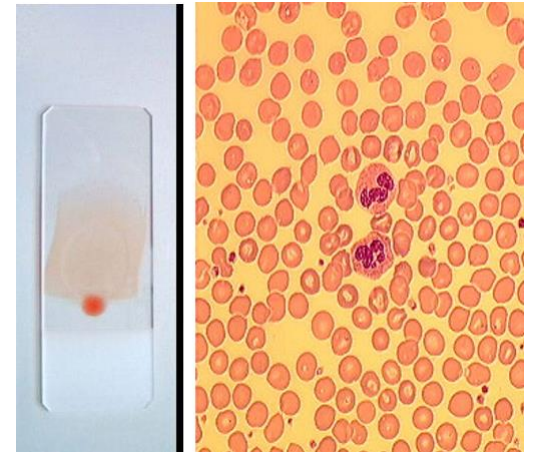
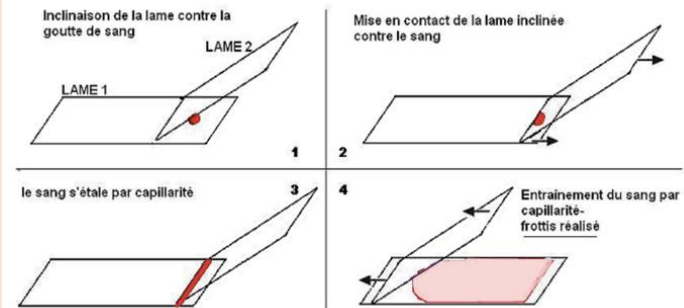
### Exploration de la moelle osseuse

- + Myélogramme, Biopsie ostéo-médullaire

### Etude de l'hémostase

*Oussama Essahili*

## Réalisation du frottis sanguin





# II. Hématopoïèse

## Définition

- L'ensemble des mécanismes permettant la **production** et le **renouvellement continu** et **régulés** des cellules sanguines.
- C'est un processus progressif de **prolifération** et de **différenciation** qui permet la production des éléments figurés du sang à partir de cellules souches hématopoïétiques (CSH).
- Les CSH doivent assurer le **renouvellement permanent** durant toute la vie des cellules sanguines tout en préservant leur population.
- Phénomène qui **s'adapte en continu** aux conditions physiologiques et pathologiques.

## Les cellules sanguines

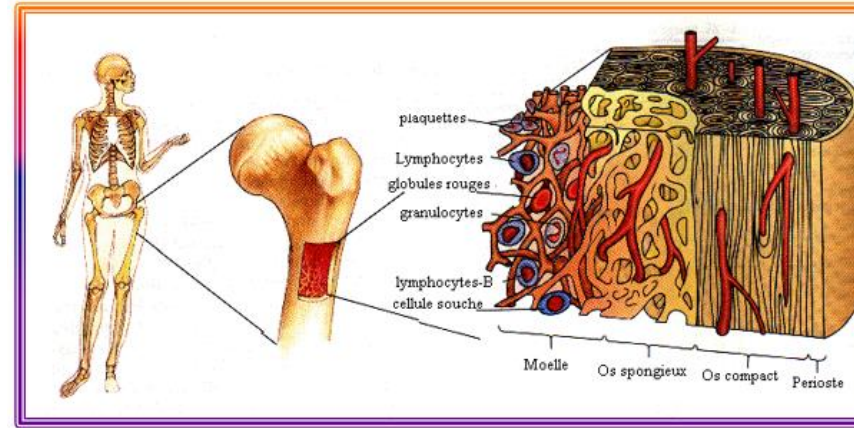
- Sont très différenciées
- Ne sont pas capables de se multiplier (sauf monocytes et Lc)
- Ont une durée de vie **limitée**
- Leur nombre est élevé
- Production quantitativement **très importante**  $10^{13}$  cellules/j (28g de sang)
- Mécanisme de remplacement **permanent**

## Rôle de l'hématopoïèse

- Permet une homéostasie du système hématopoïétique ; càd une production de cellules telle qu'on ait toujours, par mm<sup>3</sup> de sang :
  - + **4,5 millions de GR.**
  - + **4000 à 10000 GB (granulo, lympho, mono).**
  - + **150 000 à 450 000 plaquettes.**

## LIEU DE L'HEMATOPOIESE

### Moelle Osseuse



### A la naissance

- L'hématopoïèse est **exclusivement médullaire** : **moelle osseuse (cavités médullaires des os)**
- **2 compartiments** :
  - + Moelle active dite rouge
  - + Moelle adipeuse dite jaune

### Chez l'enfant (-5 ans)

- La moelle de la **totalité** des cavités osseuses est une moelle rouge qui assure une hématopoïèse active.

### Chez l'adulte

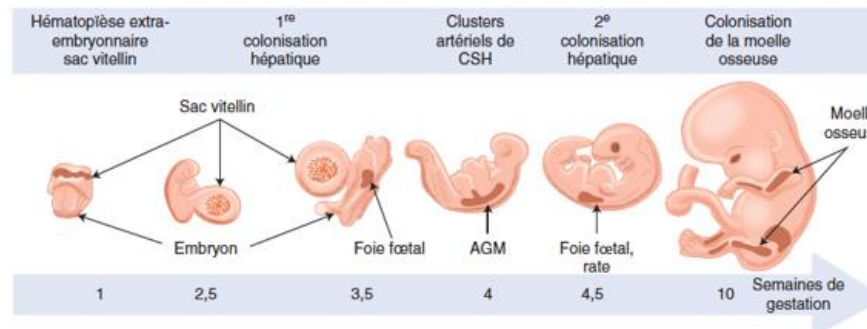
- **Les os courts et plats** : sternum, cotes, vertèbres, os iliaque.

## Hématopoïèse embryonnaire et fœtale

- Le système hématopoïétique apparaît très tôt au cours de l'embryogenèse à partir du **mésoderme**, et se développe successivement sur plusieurs sites.

On distingue **trois phases successives**

- **1<sup>ère</sup> phase d'hématopoïèse primitive** : apparaît dans le pli primaire postérieur puis dans le sac vitellin, dans l'embryon et au niveau du placenta. Elle sera transitoire ;
- **2<sup>ème</sup> phase** : se développe dans le foie fœtal
- **Au cours de la 3<sup>ème</sup> phase** : L'hématopoïèse prend place dans la moelle osseuse, de manière exclusive chez l'homme.



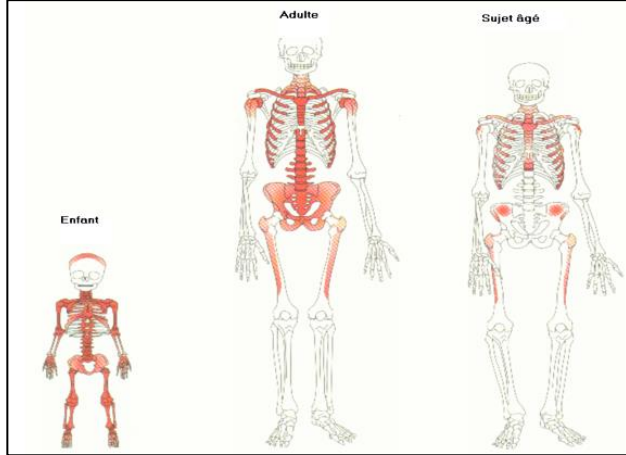
- **AGM** : Zone aorte-gonade-mésonephros
- Les CSH fœtales colonisent de nouveau le foie et la rate à 4 à 5 semaines.
- **Hématopoïèse hépatosplénique** débute à la 10<sup>ème</sup> semaine.
- La **moelle osseuse** devient l'organe hématopoïétique majoritaire au 3<sup>ème</sup> trimestre de la grossesse.



# LIEU DE L'HEMATOPOIESE

## Répartition de moelle rouge active selon l'âge

4-6% du poids



## LES ORGANES HÉMATOPOIÉTIQUES

### Organes primaires

#### La moelle osseuse

- Assure la production de l'ensemble des cellules myéloïdes et lymphoïdes.

#### Le thymus

- Assure la différenciation des lymphocytes T à partir des cellules provenant de la moelle osseuse.

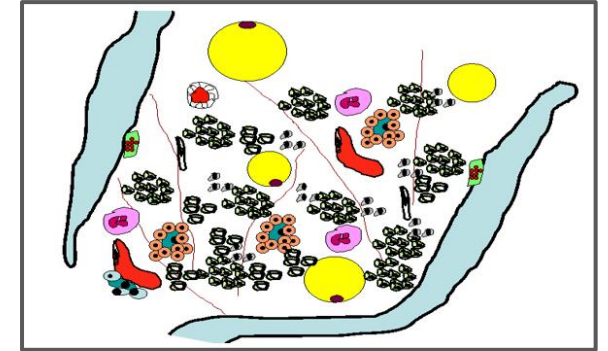
### Organes secondaires

=> Fonction **lymphopoïétique**

- Les ganglions

- La rate

- Le tissu lymphoïde des muqueuses : MALT



- Adipocytes – Fibroblaste – Fin réseau de fibrilles – Lamelle osseuse délimitant une logette médullaire – Sinusoïde médullaire – Artériole
- Ostéoclaste – Mégacaryocyte – Ilots érythroblastique – Macrophage et plasmocytes

## LE MICROENVIRONNEMENT MÉDULLAIRE

### Le cadre osseux

- C'est de l'os spongieux composé de lamelles osseuses ou trabécules, qui vont délimiter des petits espaces qui sont les logettes.
- On y trouve des cellules impliquées dans la production et la destruction de l'os :

#### + Les ostéoblastes :

- Forment l'os en sécrétant du collagène qui forme la trame de l'os.
- Ils sécrètent également des facteurs de croissance, par exemple du M-CSF (lignée monocyttaire) ou GM-CSF (lignée granulomonocytaire).
- Les ostéoblastes sont localisés à côté des lamelles osseuses.

#### + Les ostéoclastes :

- Sécrètent des enzymes, par exemple les collagénases qui vont détruire l'os.

#### + Les ostéocytes :

- Ce sont des ostéoblastes insérés dans la matrice extracellulaire

### Le réseau vasculaire médullaire

- Extrêmement riche, beaucoup de vaisseaux.
- Plusieurs fonctions : de nutrition, d'oxygénation, de production de facteurs de croissance, de libération de cellules sanguines matures.

- L'artériole afférente se ramifie pour donner des artérioles, qui sont dirigées vers la périphérie des cavités osseuses.
- Ces capillaires se transforment en sinusoides qui sont contournés et forment un arbre sinusoidal.

- Pas de vaisseaux lymphatiques dans la moelle osseuse.

### Le stroma

- **Trame de soutien** du tissu hématopoïétique dans la moelle osseuse.

- On y trouve des cellules de plusieurs types  
= **cellules stromales** : fibroblastes, des cellules endothéliales, des adipocytes et des ostéoblastes.
- Ces cellules sont associées à la matrice extracellulaire = réseau de fibrilles qui stabilisent le contenu des logettes et accrochent les cellules hématopoïétiques.

- Ces fibrilles sont constituées de collagène et de molécules qui fixent, mobilisent et renouvellent les cellules hématopoïétiques soit directe soit par la sécrétion de chimiokines et cytokines.

### Les îlots hématopoïétiques

- Ce sont des îlots de cellules hématopoïétiques qui sont dans les espaces extravasculaires.
- On trouve les cellules les plus immatures près de l'os, les plus matures sont vers le centre (se rapprochent des vaisseaux pour sortir)

# DEROULEMENT DE L'HEMATOPOIESE

## Expérience de Till et Mc Culloch

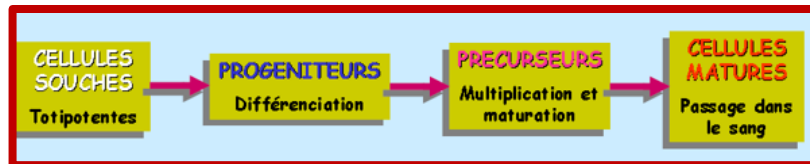
### Preuve de l'existence de précurseurs hématopoïétiques

Existence prouvée depuis 1961

- Irradiation -> Aplasie médullaire
- Greffe de Moelle osseuse -> Colonies cellulaires hématopoïétiques en cours de différenciation sur la rate.
- Nombre de colonies = Nombre de cellules souches injectées

- Les études de la clonalité montrent que ces amas proviennent chacun d'une cellule transplantée unique, qui va être nommée **colony forming unit in the spleen (CFU-S)**.
- Quand les cellules de ces amas sont transplantées chez d'autres souris irradiées, on observe à nouveau les mêmes amas dans les rates au 8<sup>ème</sup> jour, ce qui implique une reproduction des CFU-S.

## LES COMPARTIMENTS DE L'HEMATOPOIESE



## LES CELLULES SOUCHES HÉMATOPOIÉTIQUES (CSH)

### Propriétés des CSH

- **Totipotence** : une CSH peut donner naissance à n'importe quelle cellule sanguine.
- **Auto-renouvellement** : une CSH peut se reproduire à l'identique pour maintenir un stock constant
- **Différenciation** : une CSH, en réponse à un signal donné, se différencie de façon irréversible en une lignée cellulaire donnée.
- Sont très **peu nombreuses** dans la moelle osseuse.
- **Ne sont pas différenciables morphologiquement.**
- Circulation temporaire sanguine : cellules souches périphériques
- Marqueurs membranaires spécifiques : **CD34+**
- Prélèvement spécifique de cellules souches : médullaire ou sanguin.
- Concentration possible par tri de cellules CD34+, congélation possible.
- Usage thérapeutique : allogreffe ou autogreffe de cellules souches : Si on greffe ces cellules, elles sont capables de reformer de nouvelles lignées hématopoïétiques.

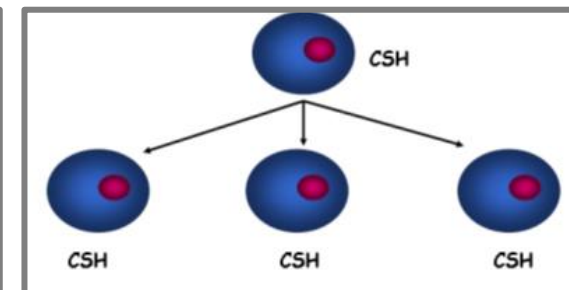
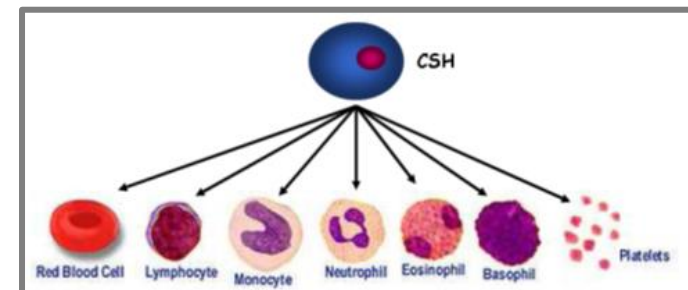
## LES PROGÉNITEURS

- Cellules **non identifiables morphologiquement.**
- Acquièrent d'autres marqueurs de surface
- Proviennent de la division des CSH sous l'influence d'un facteur de croissance.
- Elles sont **multipotentes** et vont peu à peu perdre cette multipotentialité, pour se diriger vers une lignée sanguine.
- Elles **ont perdu toute capacité d'auto renouvellement.**
- Sont orientées de façon irréversible vers la formation d'une lignée cellulaire (lymphoïde ou myéloïde)

## LES PRÉCURSEURS

- **Identifiables en microscopie optique.**
- Cellules engagées dans la différenciation vers **une seule lignée.**
- Subissent des modifications morphologiques au cours de la différenciation (maturation)
- Elles ont une moindre capacité de prolifération par rapport aux cellules précédentes, ne sont plus multipotentes.
- Acquisition de marqueurs membranaires spécifiques de lignée.

	CSH	PROGENITEURS	PRECURSEURS
Identifiable M.O	-	-	+
Multipotente	+++	+	-
Auto-renouvellement	+	-	-



# DEROULEMENT DE L'HEMATOPOIESE

**1<sup>ère</sup> étape de l'hématopoïèse** est constituée par l'engagement d'une CSH vers la formation de progéniteurs multipotents aux capacités lymphoïdes et myéloïdes.

- **CSH** -> **devient le CFU-lymphoïde** précurseur des LT et LB

- **CSH** -> **CFU-myéloïde** -> **CFU-GEMM** multipotent et peut donner :

+ le **BFU-E** = progéniteur de la lignée des GR

+ le **CFU-GM** = progéniteur de la lignée granulomonocytaire, multipotent et pourra donner :

**CFU-M** (monocytaire), **CFU-G** (granulocytaire),

**CFU-Eo** (progéniteur des éosinophiles), **CFU-BAS** (progéniteur des basophiles),

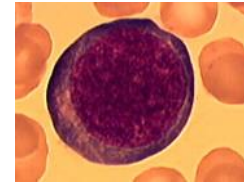
**CFU-MEG** (progéniteur des mégacaryocytes, plaquettes)

## Erythropoïèse

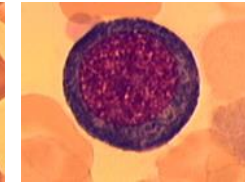
- Correspond aux différents étapes de la formation des érythrocytes à partir des progéniteurs communs érythromégacaryocytaires.

- Les progéniteurs érythroblastiques les plus immatures sont les **BFU-E**

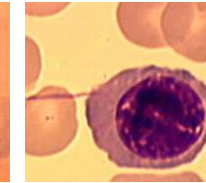
- Les progéniteurs les plus matures sont les **CFU-E**



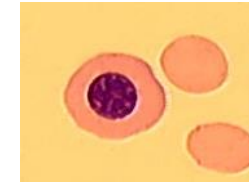
Proérythroblaste



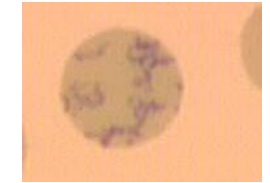
Erythroblaste basophile



Erythroblaste polychromatophile



Erythroblaste acidophile



Réticulocyte

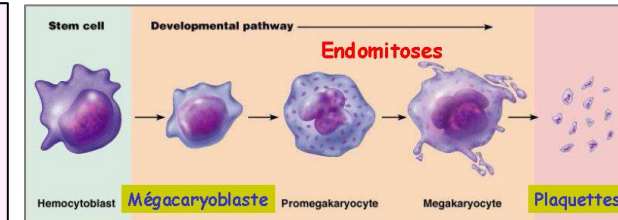
## Mégacaryopoïèse

- Processus conduisant à la formation des plaquettes sanguines à partir de l'engagement et de la différenciation du progéniteur mégacaryocytaire CFU-MK

- Après plusieurs cycles de division cellulaire, ces progéniteurs vont donner naissance aux mégacaryoblastes.

- A partir de ce stade différenciation, la lignée se caractérise par une série d'**endomitoses** ou endoduplications, au cours desquelles les précurseurs **ont perdu leur capacité de division cellulaire**, tout en maintenant la réplication de l'ADN.

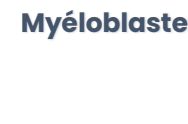
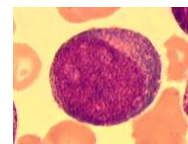
- La différenciation mégacaryocytaire est caractérisée par une augmentation progressive du volume des promégacaryocytes puis des mégacaryocytes qui vont accomplir des étapes successives de maturation pour **libérer les plaquettes par fragmentation cytoplasmique dans le flux sanguin**.



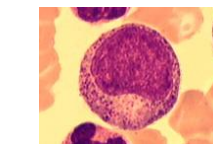
• **Endomitoses** sans division cellulaire

• Les plaquettes sont produites par fragmentation du cytoplasme

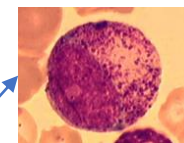
## Granulopoïèse



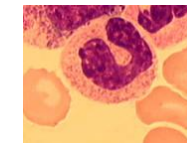
Myéloblaste



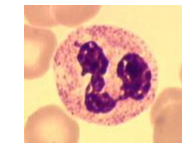
Promyéloblaste



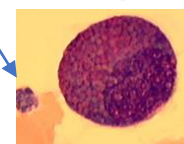
Myélocyte éosinophile



Métamyélocyte éosinophile



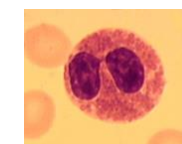
PNE



Myélocyte

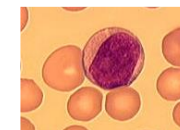


Métamyélocyte

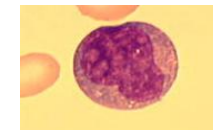


PNN

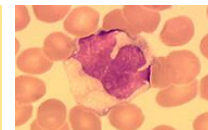
## Monocytopoïèse



Monoblaste



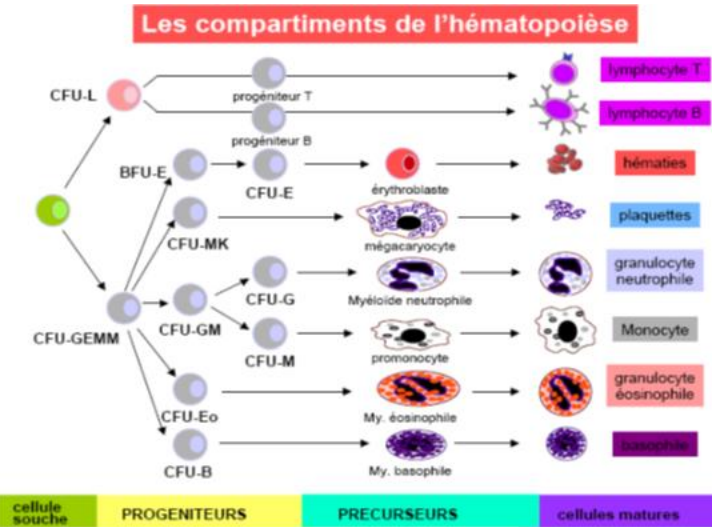
Promonocyte



Monocyte

## Myélopoïèse

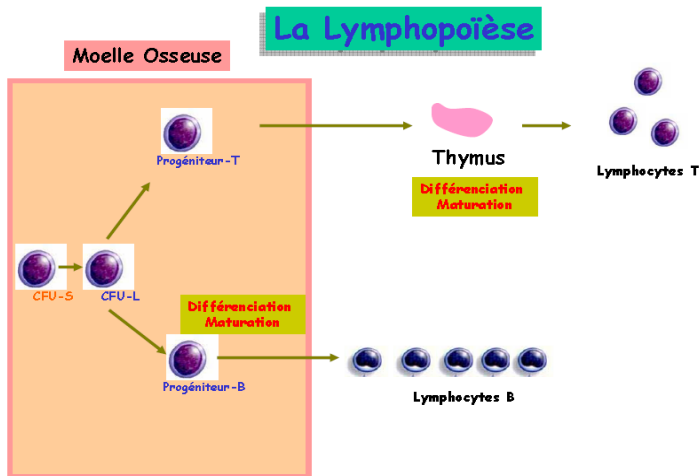
- Processus aboutissant à la formation de l'ensemble des cellules myéloïdes qui comporte les hématies et les plaquettes, les monocytes, les polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et basophiles issus de la différenciation granulomonocytaire.





# DEROULEMENT DE L'HEMATOPOIESE

## Lymphopoïèse



## Régulation de l'hématopoïèse

### MICRO-ENVIRONNEMENT

- Assuré par le stroma médullaire qui crée un environnement favorable à la fixation des cellules souches (Récepteurs membranaires) et leur multiplication (Production des facteurs de croissance)

### VITAMINES ET OLIGOELEMENTS INDISPENSABLES

- **Vitamine B12 et de l'acide folique** nécessaire à la synthèse de l'ADN et donc à la division cellulaire.

- **Le fer**, indispensable à l'érythropoïèse pour la synthèse de l'hémoglobine

### FACTEURS DE CROISSANCE HEMATOPOETIQUES

#### Facteurs de promotion

- Augmentent le nb de cellules souches en cycle cellulaire : **SCF**

#### Facteurs multipotents

- Agissent au niveau des cellules souches et jeunes progéniteurs

- **GM-CSF** : Granulocyte Monocyte-Colony Stimulating Factor, IL3

#### Facteurs restreints

- **EPO** : Erythropoïétine, stimule l'érythropoïèse, synthétisée par le rein.

- **G-CSF** : Granulocyte-Colony Stimulating Factor, stimule la granulopoïèse

- **TPO** : Thrombopoïétine, stimule la formation des plaquettes.

### FACTEURS INHIBITEURS

#### Il en existe plusieurs, par exemple :

- Les interférons

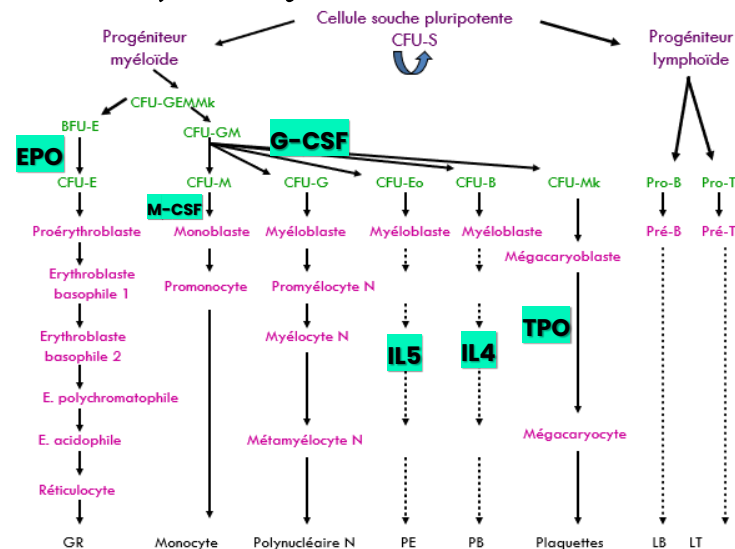
- Le TGF- $\beta$

- Le TNF- $\alpha$  et  $\beta$

- Les prostaglandines

- La lactoferrine...

## Récapulatif



# METHODES D'ETUDES

## Hémogramme ou Numération Formule sanguine NFS

- Reflète l'activité médullaire

- Donne le nombre des différents cellules sanguines ainsi que les constantes hématimétriques.

- Etude de la morphologie des cellules sanguines sur le frottis sanguin.

- Réalisée par des automates, résultats en quelques secondes.

## Myélogramme

- Ponction osseuse et aspiration du suc médullaire

- Etalement sur lame puis coloration pour étude cytologique au microscope (**frottis médullaire**)

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

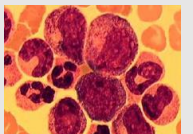


### Indications

- Suspicion d'une atteinte fonctionnelle de la MO

- Diagnostic de pathologies médullaires (cytopénie d'origine centrale, leucémie aigue...)

- Prélèvements pour investigations complémentaires (immunophénotypage, caryotype, biologie moléculaire, myéloculture...)



### - Résultats (en 1 heure et +)

- A interpréter conjointement à la NFS.

- **Coloration au May Grunwald-Giemsa**

- Cytochimie (coloration de Perls, Myélopéroxydase, estérases...)

- **Au faible grossissement** : apprécier la richesse cellulaire, la présence de mégacaryocytes, rechercher la présence d'amas de cellules cancéreuses

- **Au fort grossissement** : analyses quantitatives et qualitatives des différentes lignées

## Myélogramme

<b>Erythroblastique</b> (10 - 30 %)	Proérythroblaste	0 - 2
	Erythroblaste basophile	2 - 4
	Erythroblaste polychromatophile	4 - 8
<b>Granulocytaire</b> (50 - 70 %)	Erythroblaste acidophile	3 - 6
	Myéloblaste	0 - 3
	Promyélocyte	1 - 5
	Myélocyte neutrophile	10 - 15
	Métamyélocyte neutrophile	10 - 15
	Polynucléaire neutrophile	10 - 20
<b>Lympho-monocytaire</b> (10 - 30 %)	Polynucléaire éosinophile	1 - 3
	Polynucléaire basophile	0 - 1
	Lymphocytes	5 - 20
	Plasmocytes	0 - 3
	Monocytes	0 - 2
<b>Mégacaryocytaire</b>	Mégacaryocytes	10 à 100/frottis

## Conclusion

La compréhension de l'hématopoïèse est **INDISPENSABLE** pour mieux appréhender la **physiopathologie**, le **diagnostic**, le **traitement** et le **suivi** des hémopathies **bénignes** et **malignes**.

## Biopsie ostéomédullaire

- Etude histologique de la moelle de l'ensemble du tissu osseux : moelle osseuse **ET** stroma médullaire
- Biopsie percutanée au niveau de l'épine iliaque postéro-supérieure sous anesthésie locale.
- **Résultats en 48 heures.**



## Culture des progéniteurs hématopoïétiques

- Culture en milieux spéciaux enrichis en facteur de croissance
- Formation de colonies après deux semaines de culture.



# III. Globules Rouges

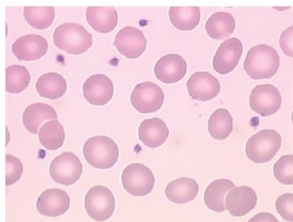
## Introduction

Prélèvement du sang veineux



Plasma (55%)  
Couche leucocytaire (<1%)  
Erythrocytes (45%)

- Globules rouges, hématies ou érythrocytes
- Cellules les plus abondantes dans le sang : **4,5 à 5 téra/l (millions/mm<sup>3</sup>)**
- Fonction : Transport d'O<sub>2</sub> des poumons vers les tissus et du CO<sub>2</sub> en sens inverse.
- Contiennent l'Hémoglobine, pigment coloré, chargé du transport des gaz du sang.
- Cellule mature de la lignée érythrocytaire.
- Cellule **anucléée**, ayant perdu la faculté d'effectuer toute synthèse.
- Ne contient ni mitochondrie ni ribosome ni REG.
- Métabolisme limité mais suffisant pour assurer sa fonction et sa survie.
- **Durée de vie limitée : 120 jours**
- Erythropoïèse : Production quotidienne de  $200 \times 10^9/j$



Frottis sanguin normal coloré au MGG  
GR normaux (taille, coloration, forme)  
Plaquettes normales (Taille, contenu en grains)

## MORPHOLOGIE

- Disque **biconcave** (discocyte) **colore en orange au MGG** avec une **zone claire centrale**.
- Diamètre : 7 à 8  $\mu\text{m}$  – Epaisseur : 1 – 2  $\mu\text{m}$
- Volume de 85 à 95 fentolitre ( $\mu\text{m}^3$ ) – Surface : 140  $\mu\text{m}^2$
- Sa forme : importante pour la physiologie de la cellule :
- + Une **grande surface** par rapport à son volume favorise les échanges gazeux.
- + Une **plasticité** et une **déformabilité** importante permet le passage dans le microcirculation (0,5 à 2,5  $\mu\text{m}$ )



- La forme et la taille des GR sont à l'état normal **très homogènes**.
- Toute **variation** traduit une **anomalie cellulaire**.
- L'étude des variations morphologiques des GR est **essentielle** en pathologie.
- Certaines anomalies morphologiques sont **évocatrices** de pathologies particulières.

## Anomalies morphologiques

### 1)- TAILLE

#### ANISOCYTOSE

Carences martiales, vitaminiques

- La plus fréquent : macrocytose ou microcytose

### 2)- COLORATION

#### POLYCHROMATOPHILIE

Anomalie de la coloration des hématies

Ex :

- Hématies hypochromes au cours d'une carence martiale.
- Hématies en cible (**Syndrome thalassémique**)

### 3)- FORME

#### POIKILOCYTOSE

Anomalie de forme se voit essentiellement dans 2 circonstances :

- Anomalie de l'érythropoïèse
- Traumatisme des GR circulants

Ex :

- Sphérocytes : GR arrondis plus denses et plus petits (**Sphérocytose héréditaire**)
- Drépanocytes (**Drépanocytose**)
- Hématies en larmes (Dacryocytes) et Erythromyélocytose (**Fibrose médullaire**)
- Schizocytes (**Hématies fragmentées**) : Hémolyses mécaniques, thromboses

# STRUCTURE

## Contenu du Globule Rouge

- Eau : **60%** du poids
- Hémoglobine : **35%** du poids (300 millions de molécules par cellule)
- Enzymes du GR fournissent l'énergie nécessaire à la survie du GR
- Ions minéraux :  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ....
- Glucose en provenance du plasma nécessaire au métabolisme énergétique, ATP, NADP...

## Membrane du Globule Rouge

### COMPOSITION

#### Lipides (42%)

- Rôle important dans les échanges avec le plasma
- 2 couches (65% de phospholipides disposés en double couche : les sphingolipides, 25% de cholestérol, 10% d'acide gras)

#### Glucides (8%)

- Sont liés de manière covalente aux protéines et lipides membranaires
- Situés sur la face externe de la membrane
- Les **groupes sanguins** sont localisés sur ces chaînes glucidiques liés à des glycolipides ou glycoprotéines de la membrane du GR.
- Le GR comporte des charges négatives empêche l'agglutination entre eux.

#### Protéines (50%)

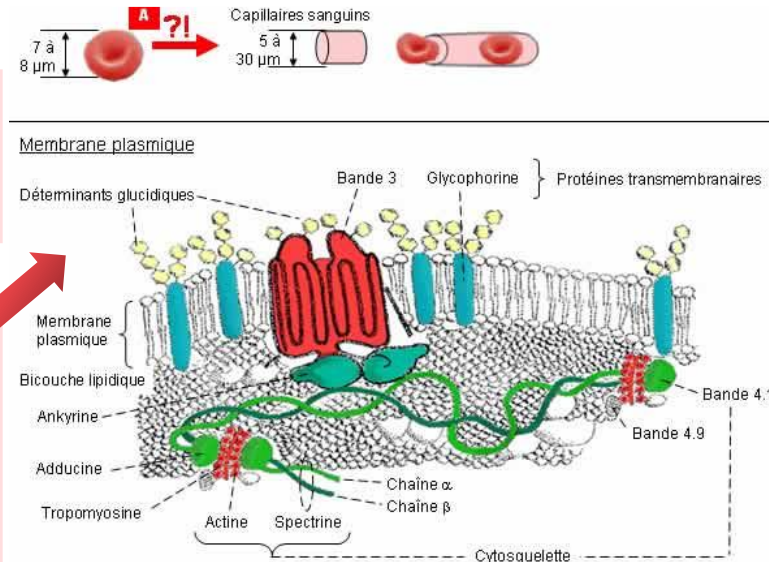
##### Cytosquelette

- Formé de deux chaînes polypeptidiques de **spectrine**
- Sont reliées entre elles par de **l'actine F**
- L'ensemble formant un réseau ancré à la membrane plasmique par des protéines associées : **l'ankyrine**
- **L'ankyrine**, accrochée à une protéine transmembranaire : **Protéine 3**
- Protéine 3 : Protéine la + abondante (25% de l'ensemble des protéines de membrane)

**Rôle :** Maintien de la forme aplatie de la cellule et permet sa déformabilité notamment pour circuler dans les petits capillaires dont le diamètre ne dépasse pas 3 microns.

##### Protéines transmembranaires

- La protéine 3 → Transport d'anions
- Les glycophorines portent les antigènes des groupes sanguins – peuvent être liées à la protéine 4.1 (ou bande 4.1) elle-même fixée aux filaments d'actine.
- Porteurs d'Antigène
- Protéines fonctionnelles à activité enzymatique : ATPases → transport actif du  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , anions et glucose.



### PROPRIETES

- Plasticité : déformabilité et étirement
- Conservation de la forme biconcave
- Pompe à  $\text{Na}^+$  → Lutter contre l'inflation hydrosodée
- Comporte les groupes sanguins et Ag de différenciation et des enzymes

- Anomalies congénitales ou acquises sont à l'origine d'anémies hémolytiques (Sphérocytose, Elliptocytose..)

### Etude de la membrane

- Aspect des GR sur le frottis sanguin
- Tests de résistance globulaire

## Enzymes et Métabolisme du Globule Rouge

Le métabolisme du GR a **deux** objectifs majeurs :

- 1)- **Energie** nécessaire pour maintenir la forme biconcave en évitant l'hyperhydratation.
- 2)- **Lutte contre l'oxydation** du fer et de la globine.

GR = Cellule anucléée : Capital enzymatique et non renouvelable.

L'énergie du GR provient du glucose par 2 voies métaboliques :

- + **Glycolyse anaérobie +++ : 90%, voie d'Embden-Myerhoff**
- + **Voie accessoire aérobie : shunt des pentoses (10%)**

**La voie principale** de la glycolyse fournit :

- **Deux molécules d'ATP** par molécule de glucose.
- **NADH** : maintient le fer à l'état ferrique  $\text{Fe}^{++}$

La méthémoglobine  $\text{Fe}^{+++}$  (forme oxydée ferreuse) est inactive pour le transport d' $\text{O}_2$

- Sur la voie principale est branché le shunt de Rapoport qui fournit le **2-3 DPG** qui régule l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène.

**La voie des pentoses** est celle de la formation de **NADPH** (co-enzyme qui permet de lutter contre les agents oxydants).

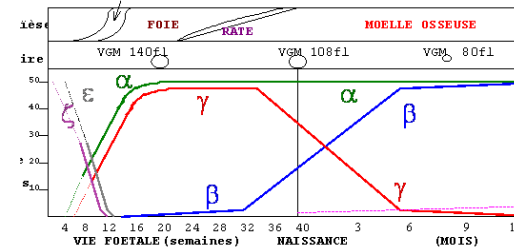
# STRUCTURE

## L'hémoglobine

- Pigment rouge
- Transport des gaz du sang :  $O_2$  +++ aux différents tissus pour assurer leur oxygénation, en retour elle va transporter le  $CO_2$ .
- **Tétramère** : 4 chaînes polypeptidiques **identiques** 2 à 2 : 2 chaînes **alpha** et 2 chaînes **béta**
- Chaque chaîne comporte :
  - + une chaîne protéique : **Globine**
  - + un groupement prosthétique (**Hème**) où se fixe le fer et l'oxygène.
- 300 millions molécules / Globule Rouge.

### Globine

- Chaque molécule d'Hb est formée de **4 chaînes de globines identiques 2 à 2**
- Enchaînement d'acides aminés : structure primaire
- Chaîne  $\alpha$  : 141 acides aminés, présentes dans toutes les Hb normales.
- Chaîne non  $\alpha$  : 146 acides aminés
  - + Les chaînes  $\beta$  caractérisent **L'HbA  $\alpha_2\beta_2$**
  - + Les chaînes  $\gamma$  caractérisent **L'HbF  $\alpha_2\gamma_2$**
  - + Les chaînes  $\delta$  caractérisent **L'HbA2  $\alpha_2\delta_2$**



- Profil adulte à partir du **6<sup>ème</sup> mois**
- **L'HbF** peut persister au-delà de l'âge d'un an dans :
  - + les thalassémies
  - + la **Persistance Héritaire d'Hémoglobine Fœtale (PHHF)**

### Ontogénèse des Hb humaines

### Biosynthèse de l'hémoglobine

- Débute au stade de proérythroblaste et s'achève au niveau du réticulocyte.
- La synthèse des chaînes de globine suit le mécanisme de la synthèse protéique.
- Elle dépend des gènes se localisant au niveau du **chromosome 16** pour les chaînes de type  $\alpha$  et sur le **chromosome 11** pour les chaînes de type **non  $\alpha$** .
- Apparition successive de plusieurs chaînes de globines.

#### GLOBINE

- Structure **secondaire** : Enroulement hélicoïdale de la chaîne en **hélice**.
- Structure **tertiaire** : l'hélice se compacte, réalise une forme **globulaire** dans laquelle **la poche de l'hème** est proche de la surface, lieu de fixation de l'hème et du fer.
- Structure **quaternaire** : Elle correspond à l'assemblage des **4 sous-unités structurales**. La **cavité centrale** située entre les chaînes  $\beta$  représente le site de fixation du **2,3-DPG** (2-3 diphosphoglycérate) dans la forme désoxygénée.

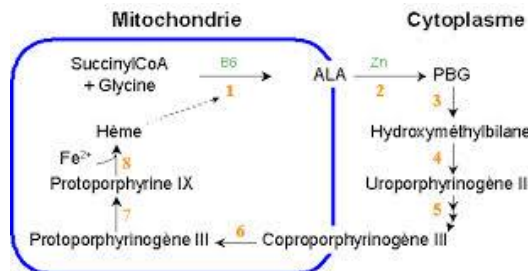
- La synthèse des chaînes est **induite par l'hème**.

- Le déficit en Fe (donc en hème) entraîne l'arrêt de la biosynthèse des chaînes qui reprend avec l'addition de Fe.
- Les chaînes  $\alpha$  et non  $\alpha$  sont normalement synthétisées de façon **synchrone**.
- La biosynthèse de l'hème est indépendante de la synthèse des chaînes de globine.
- L'hème ne vient que secondairement s'accrocher aux chaînes néosynthétisées pour réaliser la sous-unité d'Hb.
- L'hème libre exerce une **rétro-inhibition** de sa synthèse lorsqu'il se trouve en excès par rapport aux chaînes de globine.

### Hème

- Protoporphyrine avec en son centre, un atome de fer divalent (**Fe<sup>++</sup>**)
- Le Fe<sup>++</sup> **fixe l'O<sub>2</sub>**

### Synthèse de l'hème



## Fonctions de l'hémoglobine

Fonction oxyphorique : affinité pour l'O<sub>2</sub>

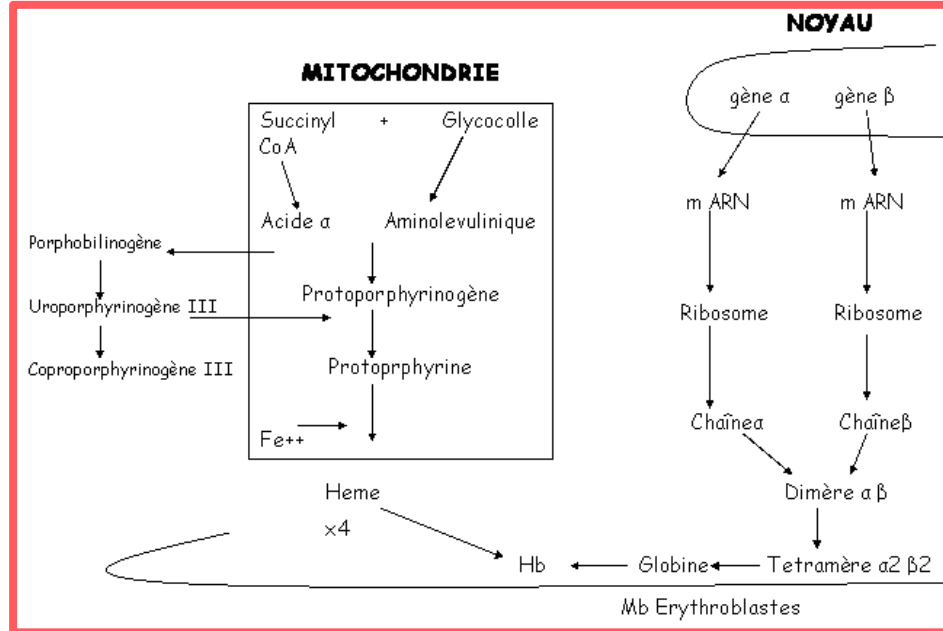
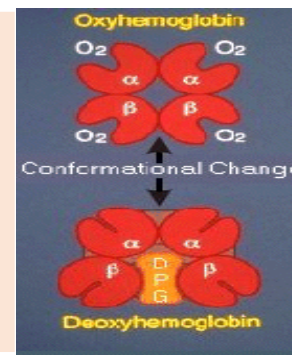
=> **Transport d'O<sub>2</sub>** : 4 molécules d'O<sub>2</sub> / molécule d'Hb = **oxyhémoglobine**

Le transport d'oxygène nécessite que le fer de l'hème soit sous forme réduite (Fe<sup>2+</sup>)

+ 2 conformations de l'Hb à forte et à faible affinité pour l'O<sub>2</sub>

+ **Transport du gaz carbonique CO<sub>2</sub>** : environ 40% du CO<sub>2</sub> fixé sur les groupements aminés latéraux de la globine et non sur le fer, **carbhémoglobine**.

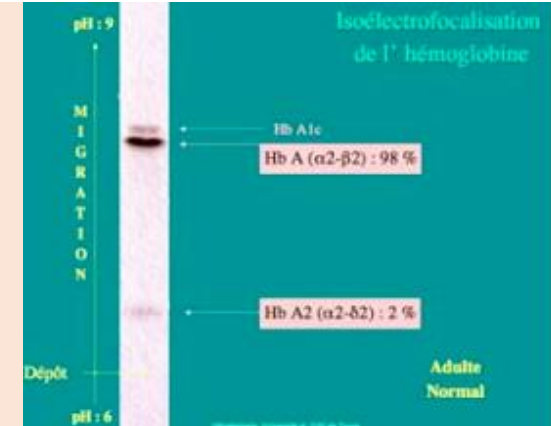
+ Transport du monoxyde de carbone CO, monoxyde d'azote NO



## Moyens d'études de l'Hb

Electrophorèse de l'hémoglobine

Chez l'adulte normal :  
HbA (98%) et HbA2 (2%)



## Variations de l'hémoglobine

1)- Variations physiologiques  
Age et Sexe

2)- Variations pathologiques = **Hémoglobinopathies**

- **Quantitatives** de synthèse des chaînes de globine : Ce sont les **thalassémies**

- **Qualitatives** de l'hémoglobine ou anomalie de structure : Exemple de la **drépanocytose**

- Les anomalies de l'Hb sont responsables d'anémies hémolytiques constitutionnelles chroniques



# ERYTHROPOIESE

- Correspond aux différentes étapes de la formation des érythrocytes à partir des progéniteurs communs myéloïdes.
- Les progéniteurs unipotents érythroblastiques les plus immatures sont les **BFU-E** qui vont se diviser pour former des progéniteurs plus matures, les **CFU-E**.
- Les CFU-E, stimulées par le SCF, l'EPO, vont alors se différencier vers **les précurseurs érythroblastiques** qui **vont synthétiser les chaînes de globine et l'hème pour se charger en hémoglobine**.
- Le déroulement de l'érythropoïèse terminale comporte plusieurs mitoses entre les **proérythroblastes**, les **érythroblastes basophiles** et les **érythroblastes polychromatophiles**.
- Une dernière phase de maturation cytoplasmique et **d'énucléation au stade érythroblaste acidophile** aboutit ensuite à la formation **des réticulocytes** qui seront libérés dans la circulation pour devenir des érythrocytes matures au bout de 24 heures.
- Le contrôle de l'érythropoïèse est assuré par la sécrétion rénale de **l'EPO** en réponse à l'hypoxie tissulaire.

- Ensemble des mécanismes conduisant à la formation du GR  
 **$200 \times 10^9/j$  et 2,5 Million/sec**
- Se déroule au niveau de la moelle osseuse à partir de la CSH
- La 1<sup>ère</sup> cellule reconnaissance morphologiquement est le **Proérythroblaste**
- 1 érythroblaste donne **16 Globules Rouges**
- La lignée érythroblastiques constitue **20 à 30%** des cellules médullaires
- Phénomène **adaptatif**, la moelle pouvant multiplier sa production par 8 à 10.

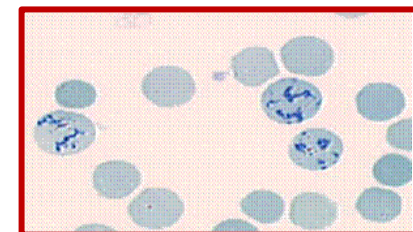
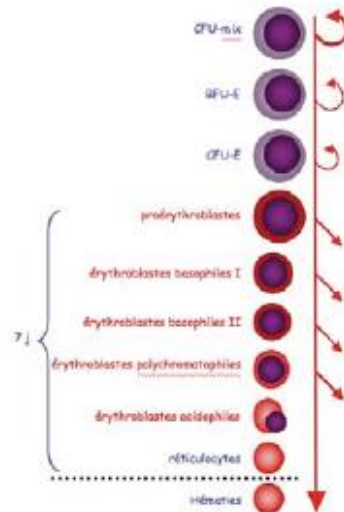
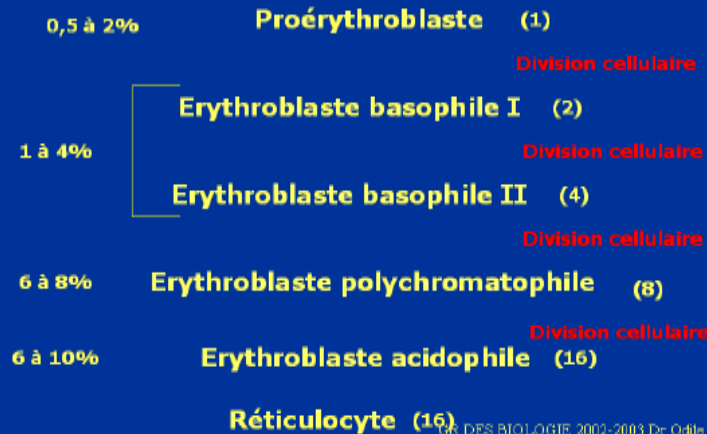
## Evolution de la lignée érythroblastique

- Diminution progressive de la taille des cellules.
- Le noyau se condense, il devient ensuite picnotique et est expulsé.
- Le cytoplasme, très basophile, devient acidophile au fur et à mesure de la synthèse de l'Hb
- Synchronisme de maturation** : noyau et cytoplasme
- Regroupement des érythroblaste en îlots autour d'un macrophage**
- Phagocytose de noyaux
- Métabolisme du fer

## LE RETICULOCYTE

- Provient de 1 érythroblaste acidophile qui a expulsé son noyau
- Possède de ribosomes, des mitochondries qui précipitent à la coloration au **Bleu de Crésyl**
- Son taux est également donnée par des automates (fluorescence au cytomètre en flux)
- La réticulocytose sanguine reflète le fonctionnement médullaire et traduit le caractère **régénératif** ou non de l'anémie
  - + Centrale : Réticulocytes bas
  - + Périphérique : Réticulocytes élevés
- Valeurs normales : 25000 à 75000/mm<sup>3</sup>

## Lignée érythroblastique 10 à 30% des cellules médullaires





# ERYTHROPOIESE

## FACTEURS DE L'ÉRYTHROPOÏÈSE

- Facteurs nécessaires à la synthèse de l'ADN : Vitamine B12 et Acide folique
- Facteurs nécessaires à la synthèse de l'Hb : Fer et Acides Aminés
- Facteurs de régulation : Erythropoïétine

## L' Erythropoïétine EPO

- Hormone synthétisée essentiellement par le **rein**.
- Une faible partie : synthétisée par le foie
- Synthèse stimulée par l'**hypoxie rénale**
- L'EPO stimule la différenciation des cellules souches érythropoïétiques et la synthèse de l'Hb.
- **Dosage d'érythropoïétine sérique** par des techniques radio immunologiques ou par des techniques d'ELISA
- **L'EPO recombinante** humaine est produite et commercialisée pour le traitement de l'anémie des patients insuffisants rénaux chroniques et cancéreux.
- **Sécrétion anormale et/ou ectopique** d'EPO peut survenir lors des tumeurs rénales du rein, hépatomes, hémangioblastomes du cervelet, fibromes utérins.

## Le Fer

**BESOINS** - Homme 1 mg/j et Femme 2 mg/j

- Augmentation physiologique des besoins : grossesse, allaitement, nourrisson (croissance et régime lacté), adolescent.

**APPORT ALIMENTAIRE** (viande, lentille, fruits sec) : 10-25 mg/j

**ABSORPTION** : duodénum +++, 1 mg/j (10-20%)

**TRANSPORT** : se fait par sidérophiline ou **transferrine** (saturée à 30%)

### RÉPARTITION DU FER

+ Pool plasmatique 60 à 180µg

+ Erythropoïèse : utilisation de 80% du Fer absorbé

+ Réserves : rapidement mobilisables (**ferritine**), lentement disponible (hemosidérine) gros grains dans le cytoplasme des macrophages et érythroblastes.

**PERTES PHYSIOLOGIQUES JOURNALIERE** : Faible = 1 mg

- Urines, selles, desquamation (peau, phanères, muqueuse intestinale)

- Perte supp pour la femme (menstruation = 30 mg/cycle soit 1mg/j)

- Cette quantité est récupérée par absorption intestinale du Fer apportée par alimentation.

- Un déséquilibre entre l'apport et les besoins se manifestera plus ou moins vite par une anomalie (carence ou surcharge)

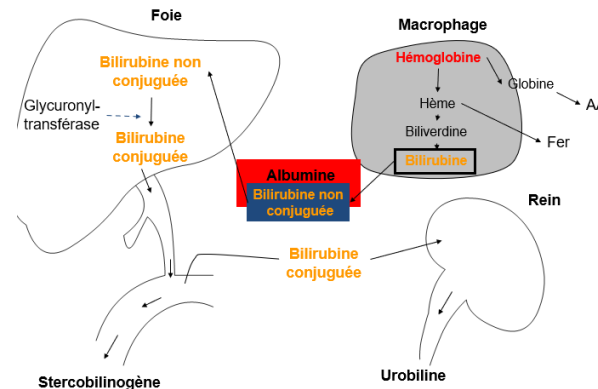
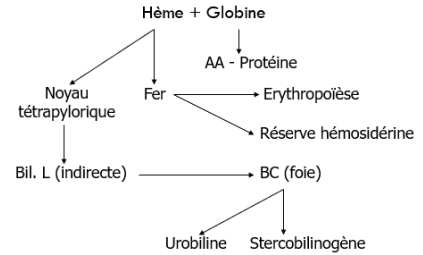
- **Seul moyen de perdre du Fer : hémorragie chronique** | Un litre de sang = 500 mg de Fer

# HEMOLYSE

## DEVENIR DU GLOBULE ROUGE

- Durée de vie : 120 jours
- Epuisement du capital enzymatique
- Pénétration d'eau -> perte de la forme biconcave
- Altération de la membrane du GR
- Piégeage par les capillaires de la MO +++
- Phagocytose par le système monocytemacrophagique
- Destruction du GR (Hémolyse)
- **Siège principal : Moelle osseuse.**

## HEMOLYSE



## Hémolyse physiologique intra tissulaire

## VARIATIONS PATHOLOGIQUES

### Anémies

- Diminution du taux de l'Hémoglobine
- Mécanisme : Excès de perte, défaut de production.

### Polyglobulie

- Augmentation de la masse totale de l'Hb

- Les polyglobulies **secondaires** :
  - + L'hypoxie : altitude, fumeur, insuffisances respiratoires, cardiopathies cyanogènes
  - + Une sécrétion inappropriée d'EPO

- Les polyglobulies **primaires**

## METHODE D'ETUDE DU GR

### Hémogramme

**1. Prélèvement** : veineux sous EDTA

**2. Données numériques**

- Nombre de GR/unité de volume ( $10^6/mm$  ou  $\mu L$ ) ou téra ( $10^{12}/L$ )
- VGM en fL - Dosage de Hb en g/dl
- L'hématocrite (Ht) : volume occupé par les GR par rapport au volume du sang total en %
- TCMH - CCMH

**3. Frottis sanguin +++**

- Coloration MGG, Anomalies morphologiques

**4. Numérotation des réticulocytes**

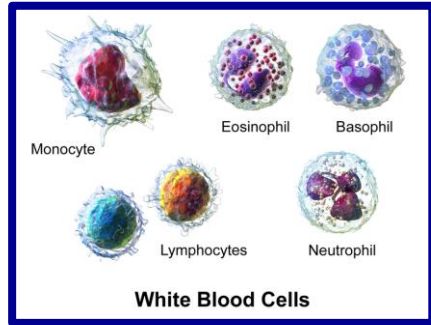
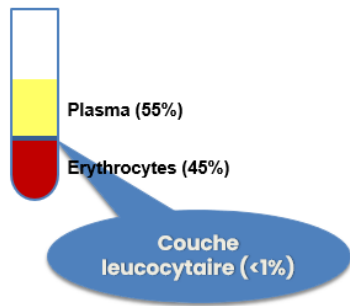
- 0,5 à 2% des GR
- **Caractère régénératif de l'anémie**  
> 120000/mm<sup>3</sup>

## Conclusion

- La connaissance de la physiologie du GR et de la lignée érythroblastique permet d'organiser une approche logique du diagnostic.
- Malgré un niveau de connaissance important sur le GR, aucun traitement susceptible de le remplacer n'a été jusqu'à présent mis au point.

# IV. Globules Blancs

## Introduction



- Appelés aussi : **leucocytes**
- Cellules sanguins **les moins nombreuses**, **4 à 10 000/mm<sup>3</sup>**
- **Taille plus grande**, **présence d'un noyau**.
- Leur durée de vie dans le sang est courte (sauf les lymphocytes)
- Présentes dans le sang, la lymphe, les organes lymphoïdes, et de nombreux tissus conjonctifs.
- Chaque type joue un rôle important dans le **système immunitaire**.
- Participent à la protection contre les agressions extérieures de **manière coordonnée**.

Plusieurs types :

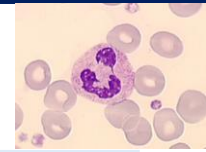
- **Granulocytes (grains) ou polynucléaires**  
Neutrophiles PNN, Eosinophile PNE, Basophile PNB
  - **Cellules mononuclées**  
Monocytes et Lymphocytes
- => De nombreuses pathologies peuvent atteindre ces cellules, par anomalie de production ou de fonctionnement.

## GRANULOCYTES OU POLYNUCLÉAIRES

- Noyau **polylobé**
- La **coloration** de leurs granulations qui permet de les classer en :  
Neutrophile : granulations fines neutres  
Eosinophile : grosses granulations réfringentes orangées  
Basophile : grosses granulations violacées
- **Défense non spécifique**
- Cellules **migratrices**

## POLYNUCLÉAIRES NEUTROPHILE PNN

- **60 à 75%** des globules blancs (**2000 à 7500/mm<sup>3</sup>**)

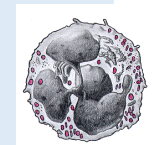


### MICROSCOPIE OPTIQUE (MGG)

- Taille **moyenne de 10 à 15 µ** et une forme grossièrement **arrondie**.
- Noyau **polylobé** avec une chromatine assez dense, sans nucléoles visibles.
- Noyau apparaît unique mais segmenté de façon plus ou moins importantes (3 à 5 lobes)
- Le cytoplasme légèrement **acidophile** renferme des granulations très fines de couleur violet à marron.

### MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

- Les granulations primaires (peu nombreuses, volumineuses) : lysosomes riches en **peroxydase, protéinase...**
- Les granulations secondaires : petites, nombreuses (en grain de riz) : riches en **phosphatase alcaline, collagénase...**
- **Cytoplasme** riche en glycogène
- Le **cytosquelette** : actine, myosine, tubuline



### CYTOCHIMIE

- Les techniques cytochimiques témoignent de la richesse en composants enzymatiques :  
+ La **myélopéroxydase MPO positive**  
+ La **phosphatase alcaline leucocytaire (PAL) positive**

## Granulopoïèse neutrophile

- Processus aboutissant à la production des PNN.
- Débute par l'engagement progéniteur commun granulomonocytaire **CFU-GM**, vers la lignée granulocytaire.
- L'engagement aboutit à la formation du progéniteur unipotent granulocytaire, défini en culture clonogénique comme **CFU-G**.
- Après plusieurs cycles de divisions cellulaires, ce progéniteur va donner naissance aux **précurseurs granulocytaires neutrophiles**.
- Progressivement, les précurseurs de la série granulocytaire neutrophile vont acquérir des caractéristiques de **maturité nucléaire et cytoplasmique** (production de granules, expression de la myélopéroxydase...)
- **Plusieurs divisions cellulaires** vont avoir lieu entre les myéloblastes, les promyélocytes et les myélocytes neutrophiles. A partir de ce stade, une **maturation terminale sans mitose supplémentaire** va donner naissance au métamyélocyte puis aux PNN pleinement fonctionnel.

- Production et mise en circulation des PNN : **50 × 10<sup>9</sup>/jour**
- Facteurs stimulants GM-CSF, G-CSF
- **10 jours**
- **Deux compartiments** :  
1)- **Prolifération et différenciation**  
Myéloblaste au myélocyte  
2)- **Maturation et stockage (réserve)**  
Métamyélocytes et PNN  
+ **8 fois plus de PNN** que le compartiment sanguin  
+ Rapidement mobilisation en cas de besoin aigu.

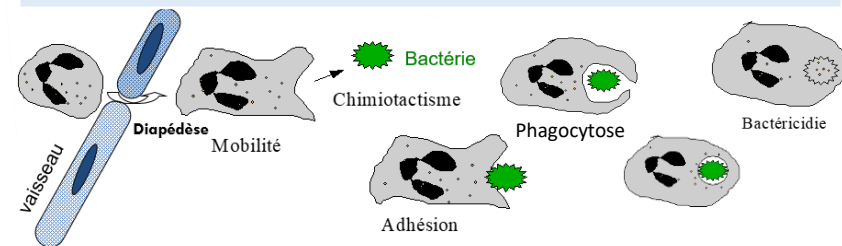
# POLYNUCLEAIRES NEUTROPHILE PNN

## Cinétique et répartition dans l'organisme

- **Séjour sanguin** bref de 8 à 10 h
- **Répartition en deux pools d'égale importance** avec des échanges rapides de l'un à l'autre :
  - + Le pool **circulant**, seul concerné par l'hémogramme
  - + Le pool **marginal** des éléments collés à la paroi du vaisseau.
- **Dans les tissus, durée de vie = 1 à 3 jours**, ne retourne pas en circulation sanguine.

## Rôle du PNN

- 1<sup>ère</sup> cellule immunitaire à migrer au foyer inflammatoire
- Immunité non spécifique de l'agent étranger :
  - + Agents **infectieux** : **bactéries** +++, virus, levures
  - + Cellules anormales
- > Intervention **rapide** et en **nombre suffisant** en tout point de l'organisme
- > Activité **tueuse**.
- + Sous l'effet de facteurs chimiotactiques (bactéries, fraction du complément...) les PNN vont migrer à travers la paroi vasculaire, la franchissent : **DIAPÉDÈSE**



## La bactéricidie

- L'agent phagocyté subit l'action des enzymes contenus dans les granules : La **myéloperoxydase** confère cette propriété de **bactéricidie**.
- Lors de cette digestive, une action oxydative a lieu, conduisant à la production de substances bactéricides ( $H_2O_2$  et radicaux  $OH$ )
- Le PNN est victime de son succès, car il meurt après avoir accompli son rôle : **PUS**

## Variations

### PHYSIOLOGIQUES

- **Age** : Nouveau né : 14000/mm<sup>3</sup>  
Enfant jusqu'à 4 à 8 ans : 1500 à 6000/mm<sup>3</sup>
- **Pseudo neutropénie des Noirs**, par excès de margination
- **Accroissement rapide des PN circulants** : le stress, l'anxiété, la douleur, l'exercice physique, tabagisme.
- **Accroissement médicamenteux des PN** par mobilisation des réserves médullaires ou par démargination : Adrénaline, corticoïdes.

### PATHOLOGIQUES

- **Polynucléose (PNN > 7500/mm<sup>3</sup>)**  
Post-infectieuses, Maladies inflammatoires, des syndromes myéloprolifératifs.
- **Neutropénie (PNN < 1500/mm<sup>3</sup>)**  
Toxique, immunologique, aplasie médullaire, envahissement de la moelle
- **Agranulocytose (PNN < 500/mm<sup>3</sup>)**

## Méthodes d'études

### Hémogramme

Données quantitatives, cytologie, cytochimie

### Myélogramme

### Ag de surface : cytométrie en flux

### Tests fonctionnels

Etude de chimiotactisme in vitro  
Etude de la phagocytose in vitro de germes  
Etude de pouvoir bactéricide : formation de radicaux oxygénés

### Test à l'adrénaline, à l'hydrocortisone

### Culture cellulaires

# POLYNUCLEAIRES EOSINOPHILE PNE

- 1 à 3% des globules blancs (**0 à 500/mm<sup>3</sup>**)



## MICROSCOPIE OPTIQUE

- Cellules d'aspect arrondi, d'environ 15  $\mu m$  de diamètre
- Le noyau ne présente habituellement que deux lobes.
- Cytoplasme est légèrement rosé, peu visible car il est contient de nombreuses granulations rondes, orangées, de grande taille « sac bourré de billes »
- Ces granulations sont volumineuses et acidophiles.

## CYTOCHIMIE

- **MPO positive**
- Récepteurs pour **les IgE, le complément et l'histamine**
- Séjour sanguin : 4 à 5h, puis passage dans les tissus (Peau, poumon, tube digestif 8-10j)

## MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

- Granulations spécifiques, éosinophiles sont volumineuses, de 0,5 à 1,5  $\mu m$  de diamètre.
- Contiennent une matrice granulaire au sein de laquelle se trouve une **formation cristalloïde allongée**.
- Ces granulations contiennent une **peroxydase** (différente de la myéloperoxydase des neutrophiles) et des **hydrolases acides, histaminase**.

## Fonctions du PNE

### ANTIPARASITAIRE

- Phagocytose des œufs de parasites (helminthes)
- Elles interviennent essentiellement dans la destruction des parasites par l'intermédiaire de protéines de haut poids molécules (ECP et MBP) contenues dans les cristalloïdes des granulations

### REACTION D'HYPERSENSIBILITE

- En synergie avec d'autres cellules : libération d'histaminase

Elles ont à des degrés moindres que les neutrophiles des propriétés de bactéricidie et de phagocytose.

## Variations

### - Hyper éosinophilie PNE > 500/mm<sup>3</sup>

Allergies : asthme, eczéma...  
Infections parasitaires  
Dermatoses, Maladies de système : Périartérite noueuse  
Hémopathies malignes : lymphomes, leucémies...  
Syndrome hyperéosinophilique

< 1% des GB (**0 à 50/mm<sup>3</sup>**) : les plus rares

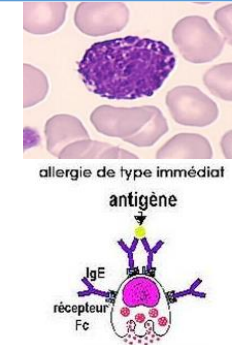
## MICROSCOPIE OPTIQUE

- Cellules d'aspect arrondi, d'environ 12 à 15  $\mu\text{m}$  de diamètre
- Le noyau est habituellement très peu visible, car la cellule est remplie de volumineuses granulations violet foncé
- Granulations : histamine, sérotonine, héparine... (médiateurs de l'inflammation aigue)
- **Durée de vie : 1 à 3 jours** puis passage tissulaire pour former les mastocytes.

## Rôle du PNB

- Réactions inflammatoires et allergiques : se transforment dans les tissus en **mastocytes** qui dégranulent au contact de l'allergène en libérant histamine, sérotonine et héparine...

Rôle dans l'**hypersensibilité immédiate** (Propriétés : Diapédèse, chimiotactisme, dégranulation par histamine, phagocytose faible)



# MONOCYTES

2 à 8% des leucocytes dans la formule soit 150 à 600 / $\mu\text{L}$   
**Le plus grand** des leucocytes sanguins normaux du fait de sa grande capacité d'étalement.

## MICROSCOPIE OPTIQUE

- Cellule arrondie ou quadrangulaire, avec un diamètre de 15 à 25  $\mu\text{m}$
- Le noyau est **très polymorphe**, cérébriforme, encoché, non polylobé.
- Le cytoplasme est gris bleu et contient quelques granulations très fines « gris ciel d'orage »

## MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

- Lysosomes riches en enzymes hydrolytiques : peroxydase, lysozyme, estérases.

## CYTOCHIMIE

- Activité **peroxydase** - **Forte activité estérasique** - Séjour sanguin 2 à 3 jours - Durée de vie : 48 h



## Variations pathologiques

**Monocytose** (monocyte > 1000/mm<sup>3</sup>)

- Maladies infectieuses ou inflammatoires
- Phase de sortie d'aplasie
- Syndromes myéloprolifératifs
- Syndromes myélodysplasiques

## Devenir du monocyte

- Transit sanguin puis passage dans les tissus où ils vont donner naissance aux macrophages tissulaires.

## LES PRINCIPALES CELLULES MACROPHAGIQUES DE L'ORGANISME

- Les cellules de Kupffer du foie
- Les macrophages de la moelle osseuse
- Les macrophages des organes lymphoïdes (rate, ganglions)
- Les macrophages alvéolaires du poumon
- Les histiocytes du tissu conjonctif
- Les macrophages séreux de la plèvre et du péritoine
- Les macrophages glomérules rénaux
- La microglie
- Les ostéoclastes

## Rôle des macrophages

**Immunité non spécifique : Phagocytose** des bactéries et particules.

Le monocyte ne meurt pas après la phagocytose.

- Substances endogènes : GR, plaquettes, lipides
- Substances exogènes : bactéries

## Immunité spécifique

- **Cellule présentatrice d'Ag** aux lymphocytes T4 et B
- **Sécrétion d'interleukine et interféron** : stimulation du lymphocyte

## Rôle dans le métabolisme

- Recyclage du fer au niveau de la MO, hémolyse

## Rôle dans l'inflammation et hématopoïèse

- Libération de **nombreux cytokines**



# LYMPHOCYTES

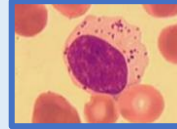
- **20 à 30%** des GB (**1500 à 4000/mm<sup>3</sup>**)
- Cellules immunocompétentes → immunité spécifique cellulaire et humorale
- Répartition ubiquitaire
- Second élément dans la formule adulte
- Différentes familles : même morphologie | **Ag de surface** → **immunomarquage** +++

## MICROSCOPIE OPTIQUE

- Taille **variable**

### Petit lymphocyte : 75%

- Cellule arrondie, de 8 à 12µm de diamètre, avec un rapport N/C supérieur à 0,9.
- Noyau très dense, rouge-violet foncé, arrondi avec parfois une petite encoche ou dépression
- C'est au niveau de cette dépression que l'on observe un petit cytoplasme bleuté



### Grand lymphocyte : 25%

- Diamètre varie de 12 à 15 µm, avec un rapport N/C de 0,8 à 0,6.
- Noyau ovalaire ou quadrangulaire, avec chromatine dense.
- Cytoplasme translucide, parfois discrètement bleuté, qui peut contenir quelques granulations rouges (de 5 à 30) définissant les grands lymphocytes granuleux.
- Distinction schématique NF/ automates

## MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

- **Cytoplasme** : pauvre en organelle, riche en ribosomes libres, en microfibrilles et microtubules
- Membrane montre des images de pinocytose
- Noyau profondément encoché
- Cellule activée → le nbre des organites ↑ ; forte activité de multiplication et de synthèse protéique

## Marqueurs de surface

**IMMUNOFLUORESCENCE** directe ou indirecte avec un AC couplé à un **fluorochrome**.

Observation en microscopie UV ou par, cytofluorimétrie.

## PRINCIPAUX MARQUEURS

### 1. Les antigènes de différenciation leucocytaires (CD)

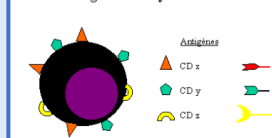
<b>Lymphocyte T</b>	<b>CD2, CD3, CD5, CD7</b> <b>CD4</b> (2/3 des Lc T périphériques helper HIV) <b>CD8</b> (1/3 des Lc T périphériques suppresseurs)
<b>Lymphocyte B</b>	CD19, CD20, CD21, CD22, CD79 CD23 et CD25 : Lc B activés
<b>Lymphocyte NK</b>	CD16, CD56, CD57

### 2. Les immunoglobulines (Ig)

Ig de surface et Ig intracytoplasmiques

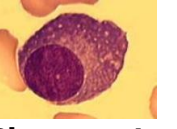
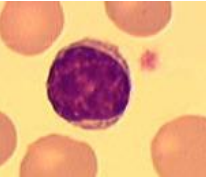
#### Cytométrie en flux

Notion de CD et d'immunomarquage



## Plasmocyte

- Cellule en œuf (Grandeur 10-20µm)
- Cellule **arrondie** ou ovalaire (15 à 30µm de diamètre)
- Noyau **ovale**, petit (rapport N/C = 0,3 à 0,4), **excentré**, avec une chromatine densément mottée en rayon de roue.
- Cytoplasme abondant, **basophile**, avec une région mal délimitée et plus claire qui colle au noyau : l'archoplasme (cette zone claire correspond à l'appareil de Golgi)



Plasmocyte

## Répartition des Lc

- Le corps humain contient environ 10<sup>12</sup> lymphocytes, soit 2% du poids du corps.
- Lc sanguins : faible partie du pool lymphocytaire de l'organisme (3g/1300g)
- Les T dominant dans le sang (65-85%), dans les ganglions et le canal thoracique.
- Les B dominant dans la rate (50-65%)
- Les NK : 5-15% des Lc du sang

## Rôles

### LYMPHOCYTE B

- Interviennent dans l'immunité humorale.
- Ils se différencient en plasmocytes qui ont pour rôle la production d'**ANTICORPS**.

### PLASMOCYTES

- Production des anticorps.
- Localisation : moelle osseuse, système lymphatique, **jamais dans le sang périphérique**.

## Méthodes d'étude

Hémogramme, frottis, cytométrie en flux

**Exploration des ganglions** : clinique, imagerie (échographie, scanner), imagerie fonctionnelle, ponction, biopsie exérèse.

### Biopsie ganglionnaire :

=> Prélèvement ganglion entier par technique chirurgicale.

A l'aiguille : sous scanner, sous échographie

Morphologie, coupes histologiques

Immunomarquages sur lame (Immunocytochimie)

Suspension de cellules

## Variations

### NORMALES

Adulte : 1500-4000/mm<sup>3</sup>

Enfant : 2500-7000/mm<sup>3</sup>

### PATHOLOGIQUES

#### - Lymphocytose circulante

> 4 x 10<sup>9</sup> /L chez l'adulte

> 7 x 10<sup>9</sup> /L chez l'enfant

> 11 x 10<sup>9</sup> /L chez le nourrisson


Etiologies : infections virales, bactériennes (coqueluche, brucellose...), hémopathies lymphoïdes comme **leucémie lymphoïde chronique** (Sujet âgé > 50 ans, Polyadénopathie diffuses, hyperlymphocytose > 5000mm<sup>3</sup>, diagnostic positif par immunomarquage)

#### - Lymphopénie < 1500 mm<sup>3</sup>

Déficit immunitaire constitutionnels, déficit immunitaires acquis (SIDA), médicaments immunosuppresseurs (Corticoïdes...), lymphomes

**Exploration de la rate** : clinique, imagerie (échographie, scanner), imagerie fonctionnelle, biopsie nodule.

# PARTIE LAMCHAHEB



*L'hémogramme  
Les anémies  
Le syndrome hémolytique*

# I. L'hémogramme

## DÉFINITION

- Analyse **quantitative** et **qualitative** des éléments figurés du sang.

= **Numérotation formule sanguine (NFS)**

- **Numération des cellules sanguines dans 1mm<sup>3</sup> de sang.**

- Examen biologique **le plus prescrit**

- Indications sont très nombreuses

- Examen simple, peu coûteux, **automatisé et standardisé.**

## Rôles

- **Numération des Globules Rouges** accompagné de paramètres permettant de caractériser la population érythrocytaire.

- **Numération et la formule leucocytaire :** détermination de la proportion des différents types de leucocytes (polynucléaires neutrophiles, éosinophiles, basophiles, lymphocytes, monocytes)

- **Numération des plaquettes**

- **Etudier la morphologie**

- Demande séparée :

**NFS, Frottis sanguin, Réticulocytes**

- **Valeurs de référence : distinguer le normal du pathologique.**

- Pour exploiter correctement les résultats il faut :  
=> Connaître les valeurs normales, savoir reconnaître et définir les anomalies.

## TECHNIQUE D'EXAMEN

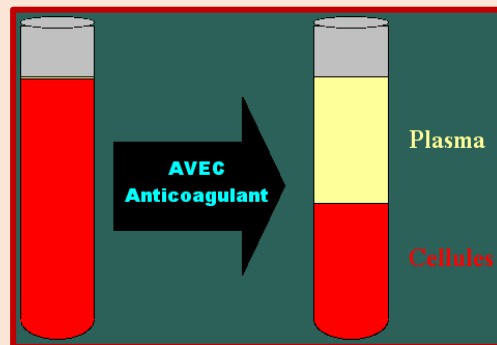
- Prélèvement sur sang **veineux**

- Prélèvement **capillaire** : nourrisson et petit enfant

- **Tube contenant un anticoagulant (EDTA)**

- Tube doit être agité pour éviter la formation de micro caillots (les cellules doivent rester en suspension)

- Tubes sont calibrés pour des prélèvements de 5ml/2ml

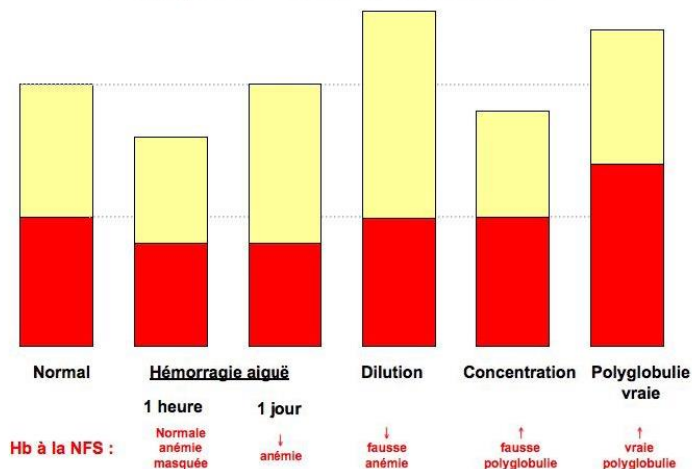


**Plasma :** Eau, électrolytes, sels minéraux, glucides, lipides, urée, acide urique, enzymes, protéines

**Cellules du sang :** GR, plaquettes, Globules blancs

## Variations imputables aux variations plasmatiques

Hémoglobine : valeur en concentration



Oussama Essahili

## MÉTHODES D'ANALYSE

### Méthode automatique

- Actuellement, automates permettent de donner une formule exacte dans la plupart des cas.

- **Rapide et reproductible**

- Lecture fiable et **précise** (appareil doit être bien étalonné)

### Frottis sanguin

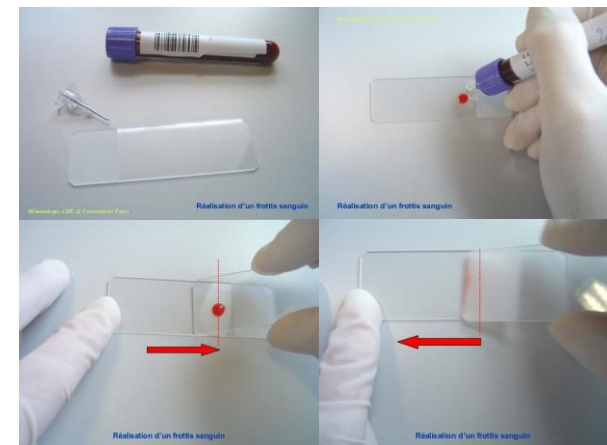
- Réalisation de la formule leucocytaire : **Compter 100 cellules**

- Etalement d'une goutte de sang sur une lame de verre et colorée au **May Grünwald Giemsa (MGG)**

- **Correct** : Homogène, ne touche pas les bords, correctement séché.

- **Sang prélevé sur EDTA**

Hémogramme = N.F.S. = Numération Formule Sanguine



# INTERPRÉTATION DE L'HÉMOGRAMME

## 1 - Globules Rouges

### Numération érythrocytaire (GR)

Nombre de GR circulant dans un volume de sang (millions/mm<sup>3</sup>) (**M/mm<sup>3</sup>**)

+ Chez l'homme : 4,4 – 5,4

+ Chez la femme : 4 – 5

+ **Chez l'enfant** : 4 – 5

+ **Chez le nouveau-né** : 5 – 6

**Polyglobulie** : GR > 5,5 chez l'homme

**Érythropénie** : GR < 5 chez l'homme

### Taux d'hémoglobine (Hb)

Quantité d'Hb contenue dans les hématies par unité de volume sanguin (**g/dl**) (g/100ml)

+ Chez l'homme : 13 – 18

+ Chez la femme : 12 – 16

+ **Chez l'enfant** : 11,5 – 16

+ **Chez le nouveau né** : 14 – 19

**Polyglobulie** : Hb > 18 chez l'homme

**Anémie** : Hb < 13 chez l'homme

## CONSTANTES HEMATIMETRIQUES

### Taux d'Hématocrite (Ht)

Volume globulaire contenu dans 1 mm<sup>3</sup> de sang (%)

+ Chez l'homme : 40 – 50

+ Chez la femme : 38 – 47

+ **Chez l'enfant** : 38 – 47

+ **Chez le nouveau-né** : 44 – 77

**Polyglobulie** : Ht > 55% chez l'homme

**Indices érythrocytaires** : VGM, TCMH, CCMH

- **Volume globulaire moyen (VGM)**

Volume moyen d'un GR

$$VGM = \frac{\text{Hématocrites}}{\text{Nb de GR}} = 80 - 95 \mu^3 (\text{femtolitre, fl})$$

**VGM** : 80 – 95 fl = normocytose globulaire

< 80 fl : microcytose

> 95 fl : macrocytose

- **Teneur corpusculaire moyenne en Hb (TCMH)**

Quantité moyenne d'hémoglobine contenu dans chaque GR.

$$TCMH = \frac{\text{Hémoglobines}}{\text{Nb de GR}} = 27 - 32 \text{ Picogrammes (pg)}$$

**TCMH** : 27 – 32 pg : normochromie

Si TCMH < 27 pg : hypochromie

- **Concentration corpusculaire moyenne en Hb (CCMH)**

Volume Occupé par l'Hb dans un GR

$$CCMH = \frac{\text{Hémoglobines}}{\text{Hématocrites}} \times 100$$

**32 – 36%** : normochromie

**CCMH** : < 32% = hypochromie

## INDICES DE DISTRIBUTION ERYTHROCYTAIRE (IDR/ RDW)

- Degré d'anisocytose

- 11,5 – 14,5%

## VARIATIONS PATHOLOGIQUES

- **Anémie** : diminution du **taux d'Hb** (avec ou sans diminution des GR)

- **Polyglobulie** :

↗ Hb (> 18 g/100ml)

↗ Hte (> 55%)

↗ GR (> 6 millions/mm<sup>3</sup>)

**VGM** : classe les anémies en

- normocytaire

- microcytaire

- macrocytaire

**TCMH** : définit les anémies hypochromes

**CCMH** : définit les anémies hypochromes



# INTERPRÉTATION DE L'HÉMOGRAMME

*Oussama Essahili*

## Numération des réticulocytes

Reflète le taux de production médullaire de l'érythropoïèse.

- Valeur normale : **25000 à 75000/mm<sup>3</sup>**

- Taux de réticulocytes : **0,2 à 2%/GR**

**Anémie régénérative** : Taux de réticulocytes  $> 120000/\text{mm}^3$

**Anémies non régénérative** : Taux de réticulocytes  $< 120000/\text{mm}^3$

## Frottis sanguin

La population érythrocytaire normale est homogène, ce qui peut s'apprécier d'après 3 critères :

1)- **La forme** : Disque biconcave se présentant sur les frottis sur leur face arrondie.

2)- **La taille** : 7,2 microns

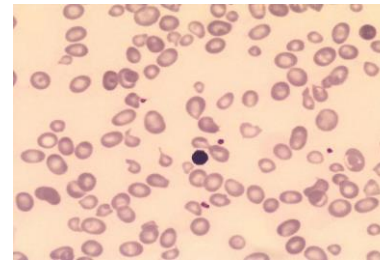
3)- **La coloration** : liée au contenu en hémoglobine.

Sur une même lame, tous les GR doivent avoir la même coloration avec une petite dépression centrale correspondant à la partie concave.

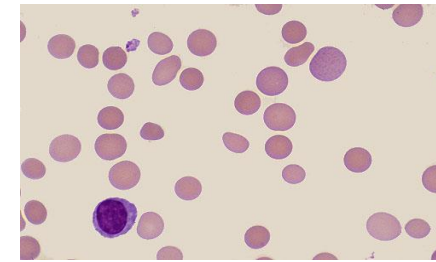
Toute population érythrocytaire qui ne correspond pas à ces 3 critères est pathologique et les anomalies seront classées selon ces critères :

+ **Anisocytose** : GR de **taille** différente.

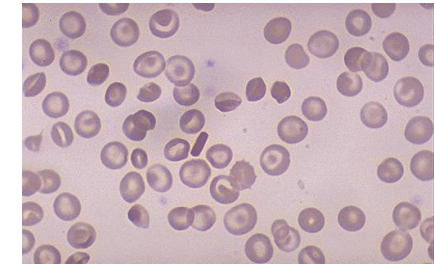
+ **Poikilocytose** : Anomalie de **forme**.



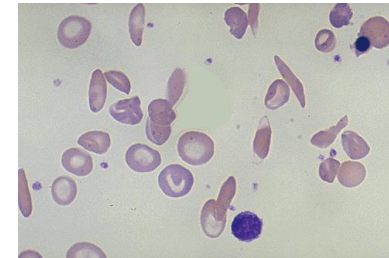
**Anicytose  
Poikilocytose**



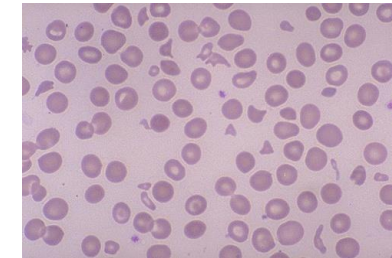
**Sphérocytes : GR de petit diamètre,  
très colorés, sans centre clair**



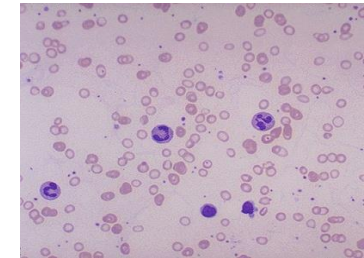
**Cellules cibles :  
Centre foncé du GR**



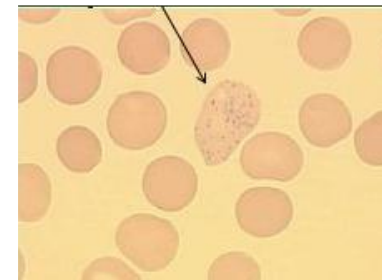
**Drépanocytes :  
Hématies en faucilles**



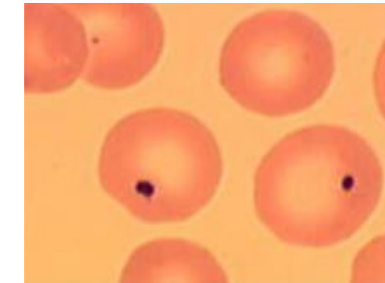
**Schizocytes :  
Hématies fragmentées**



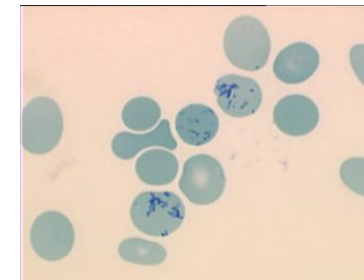
**Hypochromie**



**Hématies à granulations  
basophiles  
(ou hématies ponctuées)**



**Corps de Jolly :  
Résidus nucléaires**



**Réticulocytes**

## 2- Globules Blancs

### La numération leucocytaire

= GB circulants dans un volume de sang.  
- Valeur normale : 4000 – 10000/mm<sup>3</sup>

GB > 10000/mm<sup>3</sup> : hyperleucocytose  
GB < 4000/mm<sup>3</sup> : leucopénie

### La formule leucocytaire

Elle doit être exprimée en **valeur absolue** et non pas en pourcentage.

Calcul en multipliant le % de chaque catégorie leucocytaire par la numération leucocytaire.

## 3- Plaquettes

### La numération plaquettaire

- Examen essentiel  
- Décompte des plaquettes dans le sang circulant.  
**Taux normal : 150000 – 400000 mm<sup>3</sup>**

Taux < 150000 : Thrombopénie ou thrombocytopénie  
Taux > 400000 : Thrombocytose ou hyperplaquettose

### Volume moyen plaquettaire (VMP)

8 – 11 fl

- Oriente vers **l'origine de la thrombopénie**

+ **Diminué** : Thrombopénie **centrale**  
+ **Augmenté** : Thrombopénie **périphérique**.

## LA LIGNÉE GRANULEUSE

### - Les polynucléaires neutrophiles (PNN)

65 à 70% des GB  
1500 – 7000/mm<sup>3</sup>

PNN > 7000/mm<sup>3</sup> : Polynucléose neutrophile

PNN < 1500/mm<sup>3</sup> : Neutropénie

PNN < 500/mm<sup>3</sup> : Agranulocytose

### - Les polynucléaires éosinophiles (PNE)

1-3 % GB

Taux normal : 0 – 500/mm<sup>3</sup>

PNE > 500/mm<sup>3</sup> : une éosinophilie, hyperéosinophilie.

### - Les polynucléaires basophiles (PNB)

< 1% GB

Taux normal : 0 – 50/mm<sup>3</sup>

PNB > 50/mm<sup>3</sup> : une basophilie

### - La lignée monocyttaire

2 – 8% GB

Taux normal de monocytes : 100 – 1000/mm<sup>3</sup>

Taux de monocyte > 1000/mm<sup>3</sup> : Monocytose

Taux de monocytes < 100/mm<sup>3</sup> : Monocytopénie.

## Indications de l'hémogramme

- **Situations systématiques** : Grossesse, médecine de travail, bilan préopératoire, bilan pré thérapeutique, suivi thérapeutique.

- **Atteinte de l'état général** : devant un symptôme évocateur (asthénie, anorexie, amaigrissement, fièvre au long cours), syndrome anémique, infectieux, hémorragique, tumoral.

**!!!! A faire avant tout début du traitement (fer, vitamine B12, acide folique, avant toute transfusion)**

## La lignée lymphoïde

Taux normal : 1500 – 5000/mm<sup>3</sup>

Taux > 5000/mm<sup>3</sup> : Hyperlymphocytose

Taux < 5000/mm<sup>3</sup> : Lymphopénie

## Variations physiologiques

**Age** : Au cours du premier mois de vie s'établit une formule sanguine à prédominance lymphocytaire (**inversion de formule**) qui persistera jusqu'à l'âge de 5-6 ans  
=> **8000 à 15000/mm<sup>3</sup>**

## Variations pathologiques

- Hyperleucocytose, leucopénie, polynucléose neutrophile, neutropénie, hyperéosinophilie, lymphopénie, Monocytose.

- **Morphologie** : Myélémie (passage dans le sang de cellules granulocytaires immatures)

## Conclusion

- L'hémogramme est un outil de travail précieux.  
- Élément de diagnostic, de pronostic et de surveillance.

# II. Les anémies

## DÉFINITION

- Diminution du taux d'hémoglobine fonctionnelle circulante.

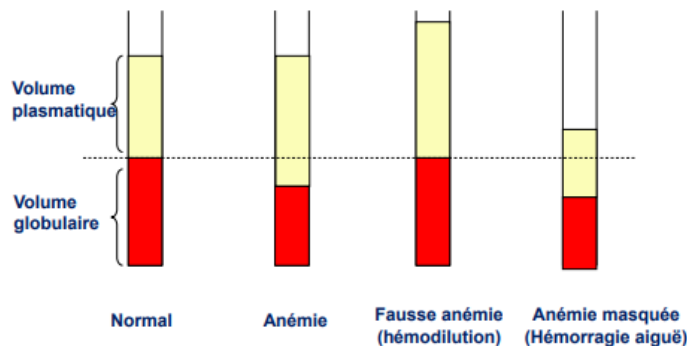
Homme < 13 g/100ml

Femme < 12 g/100ml (Enceinte < 11,5)

Enfant < 11,5/100ml (Nouveau né < 14)

Pas de corrélation obligatoire avec la numération des GR et l'hématocrite.

Les variations de volémie peuvent masquer une anémie et induire un faux diagnostic d'anémie.



## Le syndrome anémique

- Regroupe les signes qu'entraîne une anémie  
- Les signes cliniques et biologiques sont influencés par les modalités d'apparition de l'anémie :

=> **Anémie aiguë** : Brutale, bruyante  
**Mal tolérée**

=> **Anémie chronique** : D'évolution lente  
**Bien tolérée**

## PATHOGENE

Schématiquement,

**2 mécanismes conduisent à cet état d'anémie**

**1- Défaut de production par la moelle osseuse**

- Insuffisance médullaire quantitative
- Insuffisance médullaire qualitative (ex : carence en Fer, Vitamine B12, Acide folique)

**2- Excès de perte (Spoliation, hémolyse)**

## PHYSIOPATHOLOGIE

- 1- Diminution Hb
- 2- Diminution de l'oxygénation tissulaire
- 3- Retentissement sur les organes gros consommateurs d'oxygène
- 4- Mécanisme d'adaptation de l'organisme

**Pigmentation => Pâleur**

**Oxygénation => Anoxie**

## MÉCANISMES D'ADAPTATION

**1- Ajustement cardio-vasculaire**

- Redistribution de la masse sanguine grâce à une vasoconstriction (Pâleur)
- ↑ de la ventilation pulmonaire et fréquence cardiaque.

**2- Diminution de l'affinité de l'Hb pour l'O2**

**3- Réaction compensatrice de l'organisme**

- Hypoxie -> ↑ Sécrétion de l'EPO -> Erythropoïèse
- Stimulation de l'érythropoïèse médullaire.
  - Réticulocytose : ↑ des réticulocytes circulants après un délai de 5 jours.

**4- Souffrance des organes** les plus sensibles à l'hypoxie.

## CIRCONSTANCES DU DIAGNOSTIC

**A- NFS systématique**

Découverte fortuite d'une anémie

**B- Syndrome anémique**

Pâleur +++

Dyspnée surtout à l'effort

Tachycardie

Lipothymie

Asthénie +++

Céphalées

**C- Circonstances trompeuses**

- Signes cardiovasculaires
- Troubles neurologiques (irritabilité, perte de connaissance, coma)

**D- Signes accompagnateurs** orientant vers l'étiologie

- Anémie hémolytique : Ictère, SMG (Sd myélodysplasique)
- Syndrome d'insuffisance médullaire : hémorragie, fièvre
- Anémie par carence en Fer : troubles des phanères

⇒ **Faire le diagnostic positif de l'anémie**

## 1- Interrogatoire

- Caractères de l'anémie** : Aigue, chronique
- Origine du malade +++** : Thalassémie, paludisme
- Prise médicamenteuse** : AINS, aspirine, anti-vitamine K...
- Profession** : ex Saturnisme
- Habitudes alimentaires** : Géophagie
- Antécédents** : Ulcère, Hémorroïdes, ATCD familiaux...

## 2- Signes cliniques

⇒ Signes d'hypoxie tissulaire et signes d'adaptation

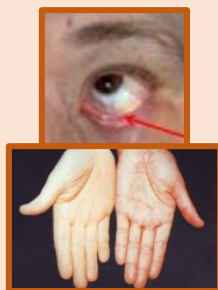
### A)- Signes cutané-muqueux

- Pâleur cutanée +++, d'intensité variable
- Pâleur muqueuse, conjonctivale +++

### A différencier de l'ictère

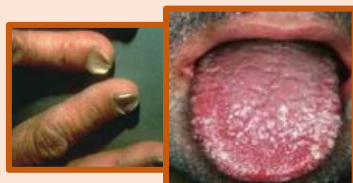
### B)- Signes associés

- Non obligatoires
- Ils complètent les signes précédents à un stade plus avancé de l'anémie.
- Signes cardio-vasculaire : tachycardie, polypnée, palpitations, angor (par insuffisance coronarienne)
- Signes d'hypoxie cérébrale : Asthénie et fatigabilité accrue, signes neurosensoriels (céphalées, lipothymies, éblouissements, vertiges, acouphènes), troubles de comportement (irritabilité), troubles du goût, troubles du sommeil (somnolence).
- Signes divers : Anorexie fréquente, chute des cheveux +++ (troubles de phanères), aménorrhée, troubles digestifs.



## 3- Signes physiques

- L'examen doit être minutieux et complet.
- **Evaluer l'importance de l'anémie et de sa tolérance.**
- Rechercher des troubles des phanères :
  - + Ongles striés, cassants, plats, **ongles en cupule ou koïlonichie**.
  - + Langue dépaillée, lisse, rouge, luisante = **Glossite**
  - + Autres : sécheresse cutanée, perlèche.



**En cas d'anémie aigue : mal tolérée même si non sévère.**

Présence de signes d'hypovolémie, état de choc, diminution TA, pouls rapide et filant, vertiges...

## 4)- Signes biologiques

Hémogramme est la clé du diagnostic

### 1- Confirmer l'anémie

### 2- Type d'anémie pour la classer

### 3- La réponse médullaire (= réticulocytes)

## Hémogramme +++

**Complet** : GR, GB (formule), **Hb**, Plaquettes, Ht, **TCMH**, **CCMH**, **VGM**, **IDR**

- Etude du frottis sanguin sur lames +++

- Numération des réticulocytes +/-

## Classification des anémies

**TCMH : 27-32 pg** – Anémie normochrome

< **27 pg** – Anémie hypochrome

**CCMH : 32-36%** Anémie normochrome

< **32%** – Anémie hypochrome

**VGM : 80-95  $\mu^3$  (fl) : Anémie normocytaire**

< **80  $\mu^3$  (fl) : Anémie microcytaire**

> **95  $\mu^3$  (fl) : Anémie macrocytaire**

**Réticulocytes : 25000 – 75000/mm<sup>3</sup>**

> **120 000** : Anémie régénérative

< **120 000** : Anémie arégénérative

### 1- Anémies hypochromes microcytaires

↓ Hb, CCMH < 32%, VGM < 80 fl

### 2- Anémies normochromes normocytaires

↓ Hb, CCMH = Normal, VGM = Normal

### 3- Anémies normochromes macrocytaires

↓ Hb, CCMH = Normal, VGM > 95 fl



# DIAGNOSTIC ETIOLOGIQUE

## Anémies hypochromes microcytaires

↓ Hb, CCMH < 32%, VGM < 80 fl

- Ce sont les plus fréquents, 60 à 70% des anémies
- Elles évoluent sur un mode chronique (**bien tolérées**)

### - 4 hypothèses diagnostiques :

- a- Anémies par carence en fer
- b- Anémie inflammatoire
- c- Thalassémie
- d- Anémie par myélodysplasie

### - Exploration du métabolisme du Fer

	1	2	3
Fer sérique 60 à 160 µg /100ml	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	⊥ ou <input type="checkbox"/>
CTF 200 à 300 µg /100ml	<input type="checkbox"/>	⊥ ou <input type="checkbox"/>	⊥ ou <input type="checkbox"/>
Ferritinémie 10 à 30 ng/ml	<input type="checkbox"/>	⊥ ou <input type="checkbox"/>	⊥

**1 : Carence martiale** (bas niveau socio-économique, saignement chronique)

**2 : Inflammation** (état infectieux, affection inflammatoire [Lupus, rhumatisme...])

**3 : Thalassémie**

## A- ANÉMIE PAR CARENCE EN FER (FERRIPRIVE)

- Hb à des taux variables 3 à 10g
- Fer sérique diminué et CTF augmentée
- Ferritinémie est diminuée

### Etiologies :

- Manque d'apport du fer : enfant, femme en âge de procréation.
- Hémorragies distillantes = occultes.
- Augmentation des besoins : croissance, grossesse, allaitement, prématurité, grossesse gémellaire.
- Syndrome de malabsorption.

## B- ANÉMIES INFLAMMATOIRES

- ↓ modérée de l'Hb : 8 à 10g/100 ml
- Fer sérique ↓ et CTF ↓ ou normale.
- Ferritinémie normale

### Etiologies :

- Infections
- Maladies de système = connectivite
- Néoplasie
- Polyarthrite rhumatoïde

**Il faut la cause à l'origine de l'inflammation pour corriger l'anémie.**

## C- ANÉMIES HYPERSIDEREMIKES

### β thalassémie

- Hémoglobinopathie congénitale
- Anémie hémolytique chronique
- Anémie hypochrome microcytaire régénérative
- Taux d'Hb variable
- Fer sérique ↑ et CTF ↓
- Ferritinémie est augmentée
- Diagnostic est fait grâce à l'électrophorèse de l'Hb

### Anémie par myélodysplasie

- Anémie acquise du sujet âgé.

## Anémies normochromes macrocytaires

↓ Hb, CCMH = Normal, VGM > 95 fl

## A- ANÉMIES ARÉGÉNÉRATIVES

**= Anémies liées à une carence en Vit B12 ou en acide folique.**

### - Clinique :

- + Sd anémique chronique, signes digestifs
- + Signes neurologiques : Sd extrapyramidal spécifique au manque en vitamine B12

### - Biologique :

- + **Hémogramme** : ↓ Hb CCMH= Nle VGM= ↑ **Rétic** ↓ ↓ GB et Plaquettes normaux ou diminués
- + **Myélogramme** : Moelle riche avec des mégalo blasts (gigantisme cellulaire) : **Anémies mégalo blastiques.**
- Dosage Vit B12 et acide folique

### Myélogramme (Indispensable au diagnostic)

- Moelle riche et bleue
- Gigantisme cellulaire (**25 microns**)
- Asynchronisme de maturation nucléo-cytoplasmique.

### Etiologies :

- Maladie de Biermer, Gastrectomie, Iléectomie, Diarrhée, Causes médicamenteuses (Néomycine, Bactrim, hydantoine, 6 mercaptopurine).

## B- ANÉMIE REGENERATIVE

- La **macrocytose** est secondaire à un passage de cellules jeune dans le sang (**Fausse macrocytose**)
- Les mêmes étiologiques que les anémies normochromes normocytaires régénératives.

## Anémies normochromes normocytaires

↓ Hb, CCMH = Normal, VGM = Normal

Deux origines : **centrale** (arégénératives),  
et **périphérique** (régénératives)

### A- ANÉMIE AREGENERATIVE

#### Aplasie médullaire

- Moelle est pauvre, désertique
- Syndrome d'insuffisance médullaire
- Pancytopénie à l'hémogramme (anémie + neutropénie + thrombopénie)
- Myélogramme = Moelle pauvre
- Biopsie médullaire = moelle désertique
- Etiologies diverses à rechercher

#### Moelle envahie par des cellules atypiques

##### - Clinique :

- + Sd d'insuffisance médullaire
- + Sd tumoral (ADM, SMG, HMG...)

##### - Biologie :

- + **Hémogramme** : ↓ Hb CCMH= NIe VGM= NI  
Thrombopénie (plaquettes < 150000)  
GB ↑ (hyperleucocytose) ↓ (leucopénie) ou normaux
- + **Myélogramme** : Moelle riche infiltrée par des cellules anormales (blastes, cancéreuses)

##### - Etiologies :

Leucémies aiguës, lymphomes, myélome, métastases d'un cancer.

### B- ANÉMIE REGENERATIVE

#### Les hémorragies

##### - Clinique :

- + Contexte évocateur
- + Risque d'hypovolémie : ↓TA, pouls filant, sueurs froides, choc (URGENCE +++)

##### - Biologie :

- + **Hémogramme** : ↓ Hb CCMH= NIe VGM= NI, **Rétic ++**, érythroblastes, plaquettes normales, GB ↑ (discrète hyperleucocytose) ou normaux

#### Les hémolyses

- Diminution de la durée de vie des GR
- Hémolyse constitutionnelle
- Hémolyse acquise : AHAI

### UNE ANÉMIE MICROCYTAIRE

#### Rechercher une carence martiale

Ferritinémie/Fer-CTF

- Causes d'apport
- Malabsorption
- Saignements chroniques

### UNE ANÉMIE MACROCYTAIRE

#### Est-elle régénérative?

- Hémorragies
- Hémolyse (Chronique, aiguë)

### UNE ANÉMIE NORMOCYTAIRE

#### Est-elle d'origine centrale ?

- Anémies normocytaires **régénératives** (Hémolyse)
- Anémies normocytaires **arégénératives** (Envahissement médullaire, insuffisance rénale)

## Conclusion

- L'anémie = problème de **santé publique**
- Syndrome anémique + **Signes accompagnateurs** +++
- **Hémogramme** permet de faire le **diagnostic positif** et de les **classer**.
- Rechercher de l'étiologie obligatoire.

# III. Syndrome hémolytique

## DÉFINITION

- Réunit des signes cliniques et biologiques correspondant à une **↓ durée de vie des GR circulants par destruction prématurée.**

### Hémolyse intra-tissulaire

- Destruction des GR dans système mono-phagocytaire (Rate, Foie, Moelle osseuse)

### Hémolyse intra-vasculaire

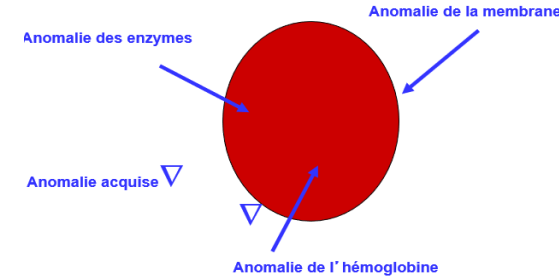
- Destruction GR dans système vasculaire

## Hémolyse intra-tissulaire

### Rappel Physiologie

- La plasticité des GR est conditionné par :
- + La forme du GR (disque biconcave)
- + Qualité de la membrane et du cytosquelette
- + Caractère malléable de l'Hb
- + Fourniture énergétique (enzymes)

=> **Passage à travers la micro-circulation « système de filtres »**



### Pathogénie

- Rétention des GR au niveau des microfiltres de la micro-circulation.
  - + Perte de la plasticité du GR -> **Rigidité**
  - + Reconnaissance d'une lésion de la membrane par un anticorps, complément
- => **Phagocytose**

### A- Conséquences directes de l'hémolyse:

- ↓ Hb circulante (parfois compensée, nombre de réticulocytes ↑)
- Hypercatabolisme de l'Hb
- Libération du fer

### B- Conséquences à long terme :

- Splénomégalie (SMG)
  - Précipitation du bilirubinate de Ca au niveau des voies biliaires, voies urinaires
- => **Lithiase**
- Régénération érythrocytaire => ↑ Réticulocytes
  - Extension tissu hématopoïétique intra-osseux => **Déformations osseuses** (Aspect mongoloïde)

### Complications

- Lithiase de la vésicule biliaire
- Déformations osseuses
- Retard staturo-pondéral, retard pubertaire

### Signes biologiques

- **Hémogramme** = étape importante diagnostic Hb, VGM, CCMH +/- réticulocytes
- **Frottis sanguin**
- **Signes d'hémolyse**  
Bilirubine augmentée (bilirubine non conjuguée)  
Fer sérique augmentée, CTF diminuée
- **Bilan sera complété selon le type d'anémie**

### Signes cliniques

- En fonction de l'importance du processus hémolytique et de sa durée
  - Tableau commun d'anémie hémolytique chronique
- Triade de l'hémolyse :
- **Pâleur - Ictère (Subictère) SMG** (de taille variable de 3-4cm à volumineuse)

# Hémolyse intra-vasculaire

Oussama Essahili

- Destruction GR dans système vasculaire
- Beaucoup plus rare
- Tableau gravissime
- **URGENCE**

## Pathogénie :

- Lésions de la membrane érythrocytaire
- => **Libération de l'Hb dans circulation sanguine**
- Membrane perméable, entrée d'eau dans la cellule => **Hémolyse osmotique**

## Physiopathologie :

- **Hémoglobinémie plasmatique +++**
- Hémoglobinurie
- ↑ Bilirubine libre
- ↓↓ Haptoglobine
- Réaction médullaire : ↑ Réticulocytes

Intravasculaire => Elimination urinaire de l'Hb  
=> Hémoglobinurie : **Urines Coca-cola**

## Signes cliniques **BRUYANTS**

- **Crise hémolytique aigue le plus souvent :**

Hémoglobinurie : urine rose ou rouge

⚠ **A différencier de l'hématurie**

- Signes cardio-vasculaires : tableau de choc
- Signes d'hypoxie cérébrale -> coma

## Signes biologiques

- **Sang**

Hémogramme

↓↓ Hb tardivement ↑ **réticulocytes**

Hémoglobinémie plasmatique

**Haptoglobine diminuée** (< 0,2 g/L)

LDH augmenté

- **Urines : hémoglobinurie +++**

## ETIOLOGIES (Laisser placer à l'interrogatoire ++)

### Hémolyses constitutionnelles

= Héréditaires, congénitales

#### a)- Hémoglobinopathies

- Thalassémie – Drépanocytose
- Autres : HbC

#### b)- Anomalies de la membrane

- Sphérocytose héréditaire ou maladie de Minkowski Chauffard
- Elliptocytose

#### c)- Anomalies enzymatiques

- Déficit en G6PD (hémolyse aigue)
- Déficit en Purivate kinase

### Hémolyses acquises

#### a)- Anémies hémolytiques auto-immunes : AHAI et Allo-immune

- En rapport avec des auto-anticorps dirigés contre les GR
- Tableau souvent aigu : Pâleur + Ictère
- Diagnostic : Test de Coombs
- Etiologies diverses à rechercher +++
- Maladie de système, hémopathies malignes (lymphome, LLC), idiopathiques

#### b)- Microangiopathie : Sd hémolytique et urémique (Purpura thrombopénique et thrombotique)


#### c)- Hémolyse parasitaire : Paludisme

#### d)- Hémolyse médicamenteuse

#### e)- Hémolyse mécanique



# PARTIE RACHID



*Les groupes sanguins*  
*Les produits sanguins*

# I. Groupes sanguins

## DÉFINITION

- Ensemble **d'antigènes** présents sur le GR et qui sont **génétiquement déterminés**.
- Sont répartis en système indépendants.
- Il existe actuellement 33 systèmes.

- Les plus importants :
  - + Système ABO
  - + Système Rhésus

- Connaissance des groupes sanguins :
  - + Base de la transfusion sanguine
  - + Médecine légale.

## HISTORIQUE

**18<sup>ème</sup> siècle** : Usage du sang animal (transfuser du sang de veau à l'Homme)  
+ Accidents fréquents (hémolyse)  
+ Infections...  
+ Décès +++

1900 (Landsteiner) : Groupes A, B et O  
1901 (Castillo) : Groupe AB  
1910 : Règles de la transfusion  
1924 (Bernstein) : Transmission héréditaires des groupes  
1940 (Landsteiner et Wiener) : Système Rhésus

### Seconde guerre mondiale :

Transfusion bras à bras  
Flacons de verre « sang total » et transfusion en groupe « O »

**1970-1980** : Poches en plastiques (concentré globulaire, plasma congelé, plaquettes)

## SYSTÈME ABO

### DÉFINITION

Système défini par :

- Des **antigènes** présents à la surface érythrocytaires **ET**
- Des **anticorps** régulièrement présents dans le sérum correspondant à ou aux antigènes absents chez le sujet.
- Le **plus important** des systèmes à respecter lors de la transfusion de part l'existence des anticorps naturels.

## Les antigènes

2 antigènes **A** et **B** définissant **4 groupes**.

<b>Groupe A</b>	Ag A seul présent
<b>Groupe B</b>	Ag B seul présent
<b>Groupe AB</b>	Ag A + Ag B présents
<b>Groupe O</b>	Ag A et Ag B absents

### Biochimie

- Glycoprotéines présents à la surface des GR.

### Distribution

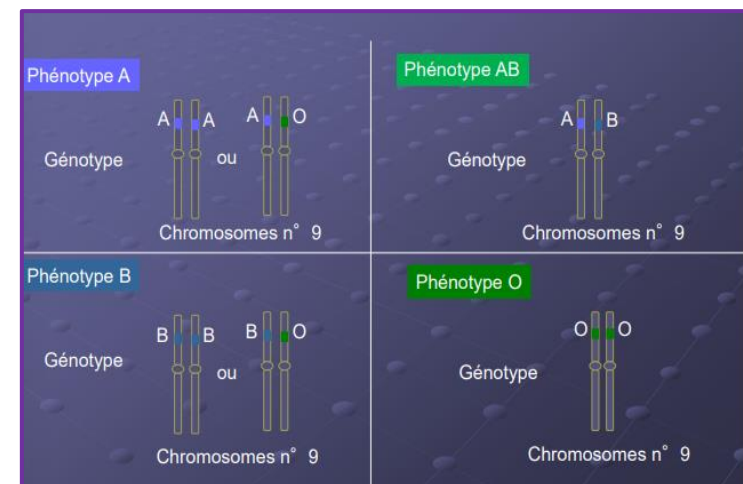
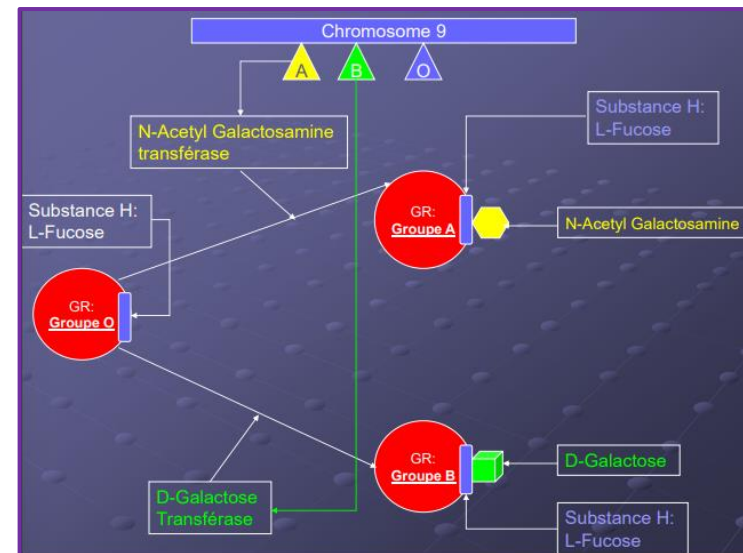
- Les Ag ABO = Ag tissulaires
- Présents au niveau de la majorité des tissus (GB, Plaquettes, endothélium, épithéliums...)
- Présents au niveau de certaines bactéries et plantes.

### Biosynthèse

- **Sous contrôle génétique**
- Gène localisé au niveau du **chromosome 9**
- Gène **A** : Synthèse d'une **N-Acetyl Galactosamine transférase**
- Gène **B** : Synthèse d'une **D-Galactose transférase**
- Gène **O** : Gène amorphe

### Génétique

- **Gène A et B : gènes codominants**
- **Gène O : Récessif**
- Phénotypes + Génotypes :  
A (AA ou AO) B (BB ou BO) AB (AB) O (OO)



## SYSTÈME ABO

### Les anticorps

- Sont **naturels** : sans stimulation préalable
- Sont **réguliers** : **toujours présents** quand l'Ag correspondant est **absent**.
- Natures des Ac : **IgM**
- Sont **agglutinants**

### Phénotype

= Identification des Ag et des Ac

#### A (45%)

<b>GLOBULE ROUGE</b>	Antigène A
<b>SÉRUM</b>	Anticorps anti-B

#### B (9%)

<b>GLOBULE ROUGE</b>	Antigène B
<b>SÉRUM</b>	Anticorps anti-A

#### AB (3%)

<b>GLOBULE ROUGE</b>	Antigène A et B
<b>SÉRUM</b>	Aucun anticorps

#### O (43%) – donneur universelle

<b>GLOBULE ROUGE</b>	Aucun antigène
<b>SÉRUM</b>	Anticorps anti-A et anti-B

## SYSTÈME RHÉSUS

### DÉFINITION

Défini par :

- La présence d'**Ag** érythrocytaires
- Les **Ac** correspondants ne sont normalement présents que si immunisation antérieure.

### Les antigènes

**5 antigènes** les plus importants :

<b>Ag D</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- <b>Le plus immunogène</b>, définit le caractère Rh+ ou Rh-</li><li>- Les sujets possédants l'Ag D sont dits <b>Rhésus + (85%)</b></li><li>- Les sujets ne possédant l'Ag D sont dits <b>Rhésus - (15%)</b></li></ul>
<b>Ag C / Ag c</b>	
<b>Ag E / Ag e</b>	

Les ag du système Rhésus ne sont présents que sur le GR.

### Génétique

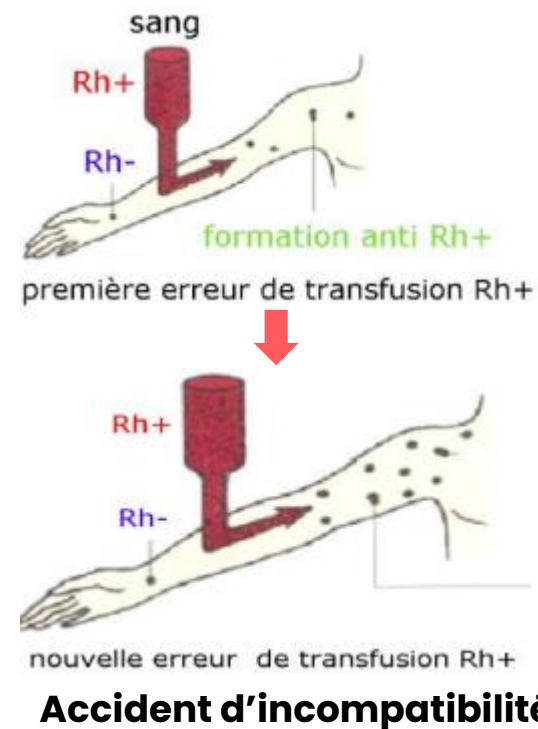
- 5 antigènes principaux : Ag D, Ag C, Ag c, Ag E, Ag e
- 3 allèles :
- + RH D (Rhésus positif) / d (gène silencieux)
- + RH C / RH c : soit CC, Cc, cc
- + RH E / RH e : soit EE, Ee, ee
- Exemple de phénotype : DCE/dcE -> D+C+c+E+e-

### Phénotype

Phénotype	Génotype le + probable	
D+ C+ E- c+ e+	DCe/dce	
D+ C+ E- c+ e+	DCe/Dce	
D+ C+ E+ c+ e+	DCE/DcE	
D+ C- E+ c+ e+	DcE/dce	
Autres D+	-	<b>Rhésus positifs ~ 85%</b>
D- C- E- c+ e+	dce/dce	
Autres D-	-	<b>Rhésus négatifs ~ 15%</b>

### Les anticorps

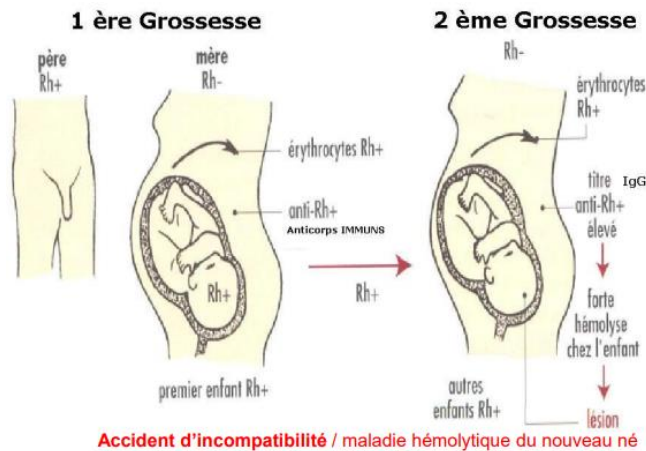
- Ne sont pas normalement présents
- Sont formés chez un sujet Rh- lors d'un contact avec une substance RH+ (Transfusion, Grossesse mère Rh- et fœtus Rh+)
- Sont dits : **Immuns** et **irréguliers (acquis)**
- Sont de type **IgG**
- **Passent la barrière placentaire**



## SYSTÈME RHÉSUS

### Transfusion

- D- → D+
- D+ → D+
- D+ → D-**
- + 1<sup>ère</sup> transfusion : pas de problème
- + Csq : Immunisation anti-D du receveur
- + Transfusions suivantes :
  - D- : pas de problème
  - D+ : Risque d'accident hémolytique



## Prévention

- La mère RH négatif (D-)
- L'enfant RH positif (D+)
- 1. Hématies fœtales allant dans le sang de la mère lors de l'accouchement.
- 2. Injection de Gamme globulines **Anti D** à la mère (le plus tôt possible : avant 72h de la naissance enfant)
- 3. Détruit les globules rouges de l'enfant présents dans le sang de la mère.
- 4. La réponse immunitaire de la mère est bloquée. Pas de formation d'anticorps anti D.

## Groupage

### Règles du groupage

- Identification parfaite : vérifier identité (CIN)
- Ne prélever **qu'un seul malade à la fois** (éviter croisement de tube)
- Etiqueter les tubes **au lit du patient**.
- Contrôle particulièrement vigilant chez les sujets comateux et nouveau-nés.
- Faire obligatoirement deux groupages sur deux prélèvements espacés de plus de 24 heures.
- Utilisation de deux réactifs provenant de lots différents.
- Réalisation par deux techniciens.
- Actuellement, techniques automatisées.

### Système ABO

- Mise en évidence des **Ag** érythrocytaires
- => **Réaction de Beth-Vincent**
- **et des Ac** sériques
- => **Réaction de Simonin**
- Principe : Mise en évidence d'une agglutination des GR en présence des Ac.
- Le groupage dans le système ABO est donné après la réalisation des 2 techniques.

### Système Rhésus

- Recherche d'agglutination en présence d'Ac dirigés contre les Ag du groupe.

### Phénotypage érythrocytaire

- Patients polytransfusés

## AUTRES SYSTÈMES

- Le système KELL (KEL1, KEL2...)
- Le système DUFFY (FY1, FY2...)
- Le système KIDD (JK1, JK2...)
- Le système MNSs (MNS1, MNS2...)

### Epreuve de Beth-Vincent

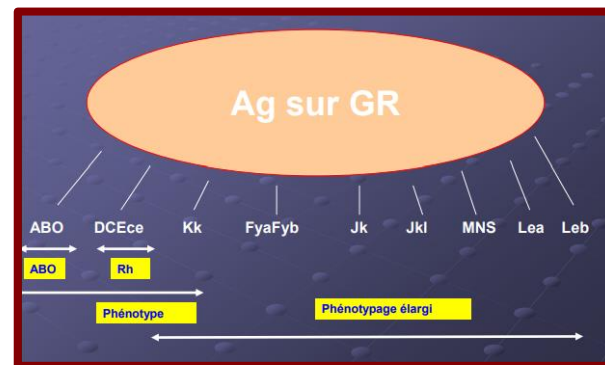
GR du Patient + Sérum tests

Sérum anti-A	Sérum anti-B	Groupe
Agglutination	Aucune	A
Aucune	Agglutination	B
Agglutination	Agglutination	AB
Aucune	Aucune	O

### Epreuve de Simonin

Sérum du patient + GR tests

Hématies test A	Hématies test B	Groupe
Agglutination	Aucune	B
Aucune	Agglutination	A
Agglutination	Agglutination	O
Aucune	Aucune	AB



## Phénotypage érythrocytaire



# Applications

## I/ Transfusion sanguine

### Système ABO

- Transfusion de culot globulaire

Principe :

+ Transfuser en iso groupe.

+ Urgence : **Eviter le contact des Ac du receveur avec Ag correspondant sur les GR transfusés +++**

- Précautions systématiques au moment de la transfusion sanguine de culot globulaire

+ Identité du receveur et de son groupe

+ Groupe de la poche à transfuser, sa date de péremption et son aspect.

+ **Contrôle ultime** de la compatibilité au lit du malade : **Carte de contrôle pré-transfusionnel +++**

### Système Rhésus

Principe :

+ Sujet Rh- doit être transfusé en CG Rh-

+ Sujet Rh+ peut être transfusé en Rh+ ou Rh-

- Le respect des règles transfusionnelles est primordial, sinon risque d'accident d'incompatibilité.

=> Accidents pouvant être mortel

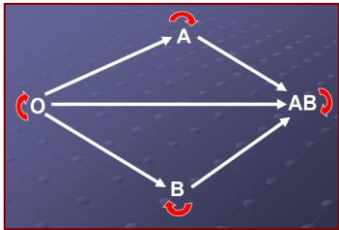
=> Responsabilité médico-légale de l'équipe soignante.

## II/ Maladie hémolytique du nouveau né

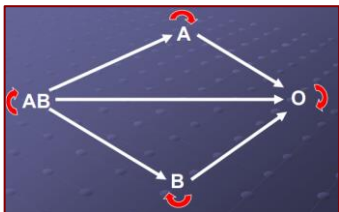
## III/ Médecine légale

Exclusion de paternité (parfois)

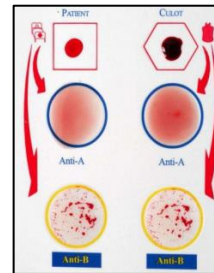
- Parfois impossible (deux parents O)



**Règles de compatibilité en transfusion de culots globulaires**

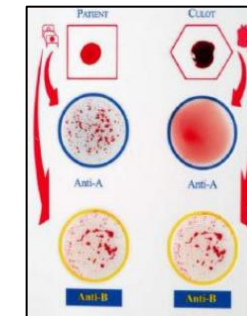


**Règles de compatibilité en transfusion de plasma**



Globules sont porteurs de l'Ag B  
-> Agglutination avec l'anti B et pas avec l'anti A  
=> Patient est B, pareil pour le culot.

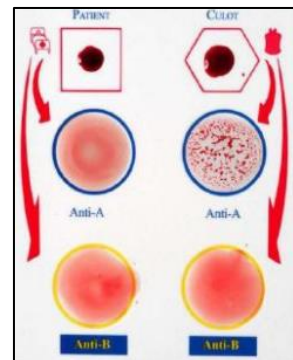
Aucun souci pour la transfusion qui est isogroupe compatible.



Agglutination pour l'anti A et l'anti B  
=> Patient AB

Donneur/Culot  
-> Agglutination uniquement pour l'anti B  
=> Donneur B

Transfusion non isogroupe compatible possible.



Receveur : Groupe O  
-> Agglutine pas

Sang de la poche : Groupe A  
-> Agglutine avec les anti A

Transfusion incompatible (risque d'hémolyse intravasculaire par rencontre des Ac anti A et Ag A)

# II. Produits sanguins

## DÉFINITION

- Produits à usage thérapeutique
  - Dérivés de la séparation du sang
- 2 types :**
- Produits sanguins labiles
  - Produits sanguins stables ou médicaments dérivés du sang.

## LE DON DE SANG

- C'est un geste citoyen
- Principe du don de sang :
  - + Anonymat, bénévolat, volontariat, sans engagement.
- Devise des donateurs de sang :
  - + Ni race, ni religion, ni frontières

- Circuit du donneur :  
Accueil -> Entretien médical -> Prélèvement -> Collation

### ENTRETIEN MEDICAL

- Sécurité du donneur
- Sécurité du receveur

### - Obligation de l'entretien médical avant le don

Le prélèvement ne peut être effectué que par un docteur en médecine ou sous sa responsabilité et dans les seuls services relevant de l'état.

### Sécurité du donneur

#### Contre-indications au don

- Poids au minimum 50 kg
- Grande fatigue
- Anémie
- Diabète
- Epilepsie
- Les femmes enceintes ne doivent pas non plus donner et ce, jusqu'à six mois après l'accouchement.
- Allaitement en cours
- Traitements en cours
- Intervention chirurgicale datant de moins de 3 mois
- Age inférieur à 18 ans ou supérieur à 60 ans.
- Plus de 5 dons par an pour les hommes et plus de 3 dons par an pour les femmes.
- Maladies chroniques (néphropathies chroniques, maladies des glandes endocrines, diabète, cirrhose, ulcère récent, asthme, maladies chroniques de sang, cancer, maladies cardiaques, angor, infarctus)

## PRODUITS SANGUINS LABILES

- Obtenus par séparation primaire du don de sang
- **Caractéristiques :**
  - + Issus d'un don de sang
  - + Durée de conservation courte (quelques jours à 1 an)
  - + Règles strictes de conservation, de transport et d'utilisation (Hémovigilance +++)
- **Types de PSL :**
  - Concentré de globules **rouges** CGR
  - Concentré plaquettaire : CP
  - Plasma frais congelé

### Sécurité du receveur

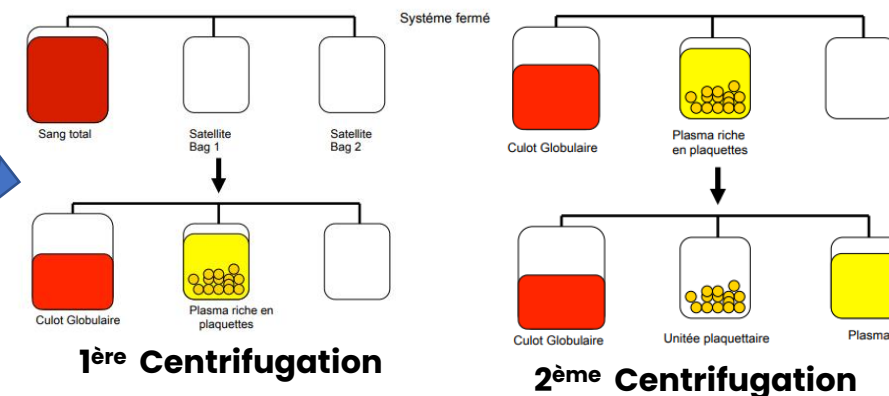
#### Contre-indications au don

#### - Comportements à risque du donneur :

- + Homo et/ou bisexualité masculine
- + Toute relation sexuelle, même occasionnelle avec un nouveau partenaire, sans protection dans les 6 derniers mois.
- + Tout rapport sexuel, même unique, depuis 6 mois avec un partenaire séropositif ou étant lui-même dans une situation à risque.
- + Toute relation sexuelle avec des personnes prostituées.
- + Tatouage ou « piercings », acupuncture, blessure avec du matériel souillé au cours des 6 derniers mois.
- + Sujets originaires (ou ayant séjourné depuis moins de 6 mois) en zone d'endémie du SIDA ou dans un pays où les maladies transmissibles par le sang sont fréquentes.
- + Soins dentaires depuis moins de 3 jours (extraction, abcès)
- + Les toxicomanes (par voie intraveineuse)

### Tests réalisés

- Groupage ABO, Phénotype Rhésus, Kell
- Tests sérologiques Syphilis, Hépatites virales B et C, HIV, Transaminases



# PRODUITS SANGUINS LABILES (3)

## CONCENTRÉS ÉRYTHROCYTAIRES (Culot globulaire)

### Indications

- Anémie sévère ou mal tolérée - Hypoxie tissulaire
- Traduction clinique : dyspnée...

Origine : à partir d'un seul donneur

Durée de la transfusion 45mn à 1h30 / CG dans les anémies chroniques (3 à 5 ml/mn les 10 première minutes puis 5 à 10 ml/mn)

Volume 150 à 200 ml (Poche pédiatrique : 50ml) Hte : 80 %

Au moins 40g d'hémoglobine

**150 à 200 mg de fer**

Conservation 41 jours à 4°C (chaîne du froid +++)

Utilisation moins de 6 heures qui suivent la distribution

- 1 CG augmente l'Hb de 0,7 à 1 g/dl et l'Ht de 2 à 3%

Nombre de Culot Globulaire à transfuser

**(Hb idéale - Hb du malade) x 3 x Poids du patient**

**= Quantité en cc / 200 = Nombre de CG**



## CONCENTRÉS PLAQUETTAIRES

2 techniques :

**1- Concentré plaquettaire « poolé » ou standard (CPS) :**

**Double centrifugation du sang**

=> plasma PRP => 1 unité de concentré pq

=> mélange de 5 à 8 unités plaquettaires (plusieurs donneurs ++)

**2- Concentré plaquettaire d'aphérèse (CPA) :**

Plaquettes provenant d'un seul donneur

Collectées par **cytaphérèse**

Meilleure efficacité transfusionnelle

**Conservation** : 5 jours en agitation +++ à +22°C (+20° à +24°C)

**Posologie** : 1 à 2 unités / 10 Kg (Taux de plaquettes par unité :  $6.10^{10}$ )

**Indications** : **Thrombopénie sévère** d'origine centrale

## PLASMA FRAIS CONGELÉ

**Origine** : Double centrifugation de sang total

**Conservation** : 1 an à moins 30°C

**Volume** : 200 à 250 cc

**Posologie** : 10 à 20 cc/Kg

**Contient** :

- 10 à 13g de protéines
- 600 mg de Fibrinogène
- 150 à 250 U de facteurs de coagulation

**Indications** :

- Déficit héréditaire en facteur de coagulation
- CIVD avec effondrement des facteurs de coagulation
- Echanges plasmatiques

## PRODUITS SANGUINS STABLES

ou Médicaments dérivés du sang

- Dérivés de pools de plasma qui subissent un fractionnement physico-chimiques

**Caractéristiques** :

- Conservation longue : 1 an à 3 ans - Inactivation virale

=> Considérés comme médicaments : pharmacovigilance ++

### ALBUMINE

- Extraction à partir du plasma - Concentration : 4% ou 20%

- Indications : hypoalbuminémies (nutritionnelles, insuffisance hépatique), fuite urinaire (Sd néphrotique) ou tissulaire (brûlures)

### IMMUNOGLOBULINES

- **Polyvalentes** : Extraction à partir du plasma, indications (déficit de l'immunité humorale congénitale ou acquis, pathologie dysimmunitaire)

- **Spécifiques** : Extraction du plasma de donneurs possédant des titres élevés d'anticorps spécifiques (Anti-D, Anti-tétanique, Anti-Rabique, Anti-hépatite B)

### FACTEURS DE COAGULATION

Extraction plasmatique de facteurs par chromatographie et inactivation virale (Solvant-détergent...) :

- Facteurs anti hémophiliques A et B - Fibrinogène - PPSB - Facteur VII - Facteur XIII - Willebrand

Actuellement possibilité de production de f. coagulation par génie génétique.

### Concentré de GR (CG) standard

- Respect de la compatibilité ABO et Rhésus (D)

### Culot érythrocytaire phénotypé

- Sélection du phénotype du donneur identique au phénotype du receveur.

- 5 antigènes des groupes Rhésus (D, C, E, c, e) et Kell (K)

**Indications** :

- Prévention de l'alloimmunisation chez le polytransfusé
- Femmes jeunes : prévenir incompatibilité foeto-maternelle
- Adulte jeune en général

### Culot érythrocytaire compatibilisé

ou « cross-matché » au centre de transfusion

- Epreuve de compatibilité entre le sang du donneur et le sérum du receveur.

**Indications** :

- Prévention du conflit immunologique Ag-Ac si présence d'anticorps irréguliers (RAI +)

### Culot érythrocytaire déleucocyté

- Appauvrissement en leucocyte par filtration.

**Intérêt** : Prévention de l'alloimmunisation HLA, la réaction frisson-hyperthermie, la réduction du risque infectieux (CMV intra leucocytaire)

### Culot érythrocytaire irradié

But : **Destruction des lymphocytes** afin de prévenir la GVH post-transfusionnelle

- Irradiation à dose variable entre 25 et 45 grays

**Indications** : Immunodéprimés sévères (SIDA, Greffés, Traitements lymphopénisants)