

# THROMBOPOIESE & PLAQUETTES

- I. Introduction
- II. Etude statique
- III. Etude dynamique
- IV. Régulation de la thrombopoïèse
- V. Marqueurs de la lignée mégacaryocytaire
- VI. Fonctions plaquettaires
- VII. Désordres plaquettaires
- VIII. Exploration.

## I. INTRODUCTION :

Les plaquettes sont issues des mégacaryocytes dont l'origine est exclusivement médullaire chez le sujet normal. Leur production se fait par Thrombopoïèse ou Mégacaryopoïèse, phénomène aboutissant au remplacement continu et régulier des cellules de la lignée thrombocytaire par des plaquettes nouvelles fonctionnelles qui disparaissent de la circulation par sénescence ou consommation au niveau des brèches vasculaires.

Les plaquettes sanguines sont des cellules anucléées qui ont un rôle essentiel dans l'hémostase. Elles vivent 7 à 10 j dans le sang. Leur nombre reste stable toute la vie chez un même individu (N = 150 – 400 G/L ; Algérie : 120 – 380 G/L).

## II. ETUDE STATIQUE :

Sur frottis médullaire on distingue les précurseurs des plaquettes à différents stades de maturation. A l'inverse des autres cellules, les mégacaryocytes accumulent des divisions nucléaires non suivies de divisions cytoplasmiques aboutissant à des cellules géantes.

### 1. Mégacaryoblaste : 20 % de la lignée

Cellule de grande taille (25 à 30 µm de diamètre) ; Rapport N/C élevé ; Noyau volumineux, violacé avec chromatine grossière et nucléole visible ; cytoplasme abondant très basophile, Absence de granulations.

Le mégacaryoblaste est la seule cellule de la lignée capable de synthèse d'ADN.

### 2. Mégacaryocyte basophile : 25 % de la lignée. Les divisions cessent.

Taille 40 – 60 µm, Rapport N/C moins ↑ ; noyau commence à se lobuler ; Cytoplasme plus abondant et moins basophile, avec fines granulations azurophiles ; contour irrégulier.

### 3. Mégacaryocyte granuleux : 55 % de la lignée.

Cellule de 60 – 80 µm de diamètre avec contour irrégulier ; Rapport N/C faible ; Noyau excentré, condensé, polylobé ; Cytoplasme légèrement acidophile, nombreuses granulations azurophiles rouge-foncées.

### 4. Mégacaryocyte thrombocyto-gène : 05 % de la lignée.

40 à 60 µm de diamètre ; Noyau polylobé, dense, picnotique ; Cytoplasme variablement abondant, très acidophile avec émission des pseudopodes ; Granulations azurophiles groupées en amas.

### 5. Plaquettes : Eléments circulants.

**Au MO** : fragments de cytoplasme, anucléés, arrondis/ovales, de 2- 3  $\mu\text{m}$  de diamètre, de 7-10 fl de volume avec un cytoplasme clair (hyalomère), et des granulations centrales (granulomère ou chromomère) ;

**En contraste de phase** : sphériques après activation, émettant des pseudopodes, et les granules se centralisent.

**Au ME** : apparaissent discoïdes ; Les différents composants peuvent être distingués :

- **Cytosquelette** : comprenant de **microtubules** (maintien de la forme), **des micro-filaments d'actine** (interviennent dans la contraction et la dégranulation et l'émission de pseudopodes).

- **Membrane** : épaisseur de 70 à 90  $\text{\AA}$ , entourée d'un **glycocalyx** de 500  $\text{\AA}$  riche en protéines plasmiques et récepteurs ; Structure tri laminaire classique, avec **2 feuillets lipidiques** de composition différente et de répartition asymétrique maintenant une **couche riche en GP**.

Les protéines membranaires sont nombreuses (plus de 50 molécules). Elles ont un rôle dans la structure, un rôle fonctionnel de récepteurs de certaines molécules et un rôle de répulsion.

**Tableau I.** Principales protéines de la membrane plaquettaire, classées en fonction de leur ligand.

| GP   | Ligand            | GP                    | Ligand         |
|--|-------------------|-----------------------|----------------|
| GP Ib-IX-V (CD42a, b, c)   | VWF (thrombine)   | P2Y1 P2Y12            | ADP            |
| GP IIb-IIIa (CD41b) ou Intégrine $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ | Fibrinogène (VWF) | P2X1 (Canal calcique) | ATP            |
| GP Ia-IIa (CD49b) Intégrine $\alpha\text{2}\beta\text{1}$        | Collagène         | TP $\alpha$           | Thromboxane A2 |
| Intégrine $\alpha\text{5}\beta\text{1}$                          | Fibronectine      | Fcy RIIA              | IgG            |
| GP VI  | Collagène         | CLEC-2                | Podoplanine    |
| GP IV  | Thrombospondine   | PECAM                 | PECAM          |
| PAR-1, PAR-4   | Thrombine         | G6Bb                  |                |

- Les systèmes membranaires sont complexes :

**Système canaliculaire ouvert (SCO)** : réseau de profondes invaginations de la membrane fournissant un plus grand nombre de GP accessibles en surface lors de l'activation des PLT.

**Système tubulaire dense (STD)** : site majeur de stockage du  $\text{Ca}^{++}$ , contient des enzymes (synthèse des prostaglandines), sans communication avec la membrane plasmique ou celle des granules.

- **Granules** : lieu de processus métabolique et de stockage.

Plusieurs populations distinctes :  
alpha, denses, lysosomes.

**Tableau II.** Les granules plaquettaires et leurs contenus.

| Granules denses ( $\delta$ ) | Granules alpha ( $\alpha$ )   | Lysosomes ( $\lambda$ )                                   |
|------------------------------|---|---|
| ADP (653 mM)                 | Protéines plaquettaires spécifiques<br>FP4-protéoglycane<br>$\beta$ -thromboglobuline   | Hydrolases acides   |
| ATP (436 mM)                 | Multimérine   | Cathepsine  |
| Calcium (2181 mM)            | Glycoprotéines adhésives<br>Fibrinogène<br>Facteur de Willebrand<br>Fibronectine<br>Thrombospondine<br>Vitronectine   | Elastase<br>Collagénase<br>Héparitinase<br>LAMP-1, LAMP-2 |
| Sérotonine (65 mM)           | Facteurs de la coagulation<br>F V, F XI, F XIII<br>Kininogène de haut poids moléculaire<br>Protéine S   |   |
| Pyrophosphate (326 mM)       | Facteurs de croissance<br>PDGF, TGF- $\beta$ , ECGF, EGF, VPF/VEGF<br>Inhibiteurs de la fibrinolyse<br>$\alpha\text{2}$ -antiplasmine<br>PAI-1<br>Albumine<br>Immunoglobulines<br>P-sélectine (CD 62) |   |

### III. ETUDE DYNAMIQUE :

La thrombopoïèse s'effectue dans la MO et dure 8 à 10j ;

comprend plusieurs étapes mettant en jeu des divisions et des différenciations cellulaires.

La maturation des MGC se fait par « **endomitose** », aussi une **lobulation** et une **condensation** progresse du noyau. Parallèlement à la ploïdie, se fait la maturation du cytoplasme du MGC : -Augmentation de la **taille** ;

-Passe à l'*acidophilie* ; -Formation des *granules* denses, alpha, lysosomes et STD ; -Apparition des *GP* membranaires ; - Synthèse de la *peroxydase plaquettaire (PPO)*, à partir du stade de mégacaryocyte.

### 1. Compartiments cellulaires :

- CSH pluripotente (CFU-S) ;
- Progéniteurs mégacaryocytaires : BFU-MGC (Burst forming unit Megakaryocyte) (précoces),  
CFU-MGC (Colony forming unit Megakaryocyte) (tardifs);
- Précurseurs mégacaryocytaires :
  - *Promégacaryoblaste* : non reconnu morphologiquement sur le myélogramme, 2 à 8N.
  - Cellules reconnaissables morphologiquement : 4 stades de maturation nucléo-cytoplasmique sans division, 0,5 % des éléments médullaires :
    - . MGC stade I ou *Mégacaryoblaste* : 2 à 16N ;
    - . MGC stade II ou *Mégacaryocyte basophile* ou *Promégacaryocyte*, 4N à 32N ;
    - . MGC stade III ou *Mégacaryocyte granuleux*, 8N à 32N ;
    - . MGC stade IV ou *Mégacaryocyte mature* ou *Mégacaryocyte plaquetto-gène*, 16N à 64N.

### 2. Formation des plaquettes & Répartition :

Arrivant au MGC thrombocytogène, le noyau comporte jusqu'à 128 fois la quantité normale d'ADN qui se condense avant d'être éliminé par caryopinocytose.

La cellule émet des prolongements cytoplasmiques à travers les sinus capillaires sanguins (Pro-plaquettes). Ces protubérances vont s'engager dans la lumière vasculaire et libérer des chapelés de plaquettes par étranglement de la membrane. Le noyau du MGC va être détruit par les cellules réticulaires de la MO.

Après un séjour vasculaire de 8 - 10 jours, les plaquettes sénescents vont être éliminées par les macrophages du SRH (MO, rate, foie et poumons) ;

Chez l'homme, les  $\frac{2}{3}$  des plaquettes sanguines constituent le pool vasculaire, et un  $\frac{1}{3}$  constitue le pool splénique qui s'échange librement avec la circulation.

## IV. REGULATION DE LA THROMBOPOIESE :

La thrombopoïèse est régulée :

### 1. Régulation positive :

a) **Thrombopoïétine (TPO)** : Facteur de croissance le plus important.

GP de 80-90 KDa dont le domaine actif N terminal présente une homologie forte (25%) avec l'EPO. Son gène est situé sur chromosome 3q26-3q27.

*Synthèse* : Foie +++, Cellules stromales, rein, muscles, testicules et cerveau.

*Le récepteur de la TPO (c-mpl)* : Présent sur les progéniteurs MGC CD34+, les précurseurs MGC et les plaquettes : 30 à 200 récepteurs / plaquette.

*Action* à tous les niveaux de la mégacaryopoïèse : Prolifération des progéniteurs (BFU-MGC, CFU- MGC) ; Croissance et différenciation des MGC ; Augmentation de la production des plaquettes.

Rq/ la TPO fait partie des protéines de la phase aiguë de l'inflammation.

b) **Cytokines stimulantes** : d'action précoce (IL3, SCF, PDGF, GM-CSF) et tardive (EPO, IL11, IL6, LIF [leukemia inhibitory factors]) ;

## 2. Régulation négative :

a) **Inhibiteurs spécifiques libérés par les plaquettes elles-mêmes** : PDGF, TGF  $\beta$  (Transforming growth factor),  $\beta$ -TG (thromboglobuline), PF 4.

b) **Inhibiteurs non spécifiques** : INF  $\alpha$  et  $\gamma$ , TNF, Thrombine.

## V. MARQUEURS DE LA LIGNEE MEGACARYOCYTAIRE :

### Antigènes plaquettaires :

Ag communs avec les autres cellules : Ag HLA-I ;

Ag spécifiquement plaquettaires : HPA, portés sur les GP membranaires.

| cellules           | Ag d'immatrité                 | Apparition progressive d'Ag plaquettaires                  |
|--------------------|--------------------------------|--|
| BFU-MK             | CD 34+, CD38-, HLA DR- CD 117+ |  |
| CFU-MK             | CD34+, CD38±, HLA DR+, CD 33+  | facteur Willebrand (granules a précoces)<br>Gp IIb (CD41a) |
| Promégacaryoblaste | CD34±, CD33+<br>PPO+ en ME     | Gp IIb-IIIa (CD41)   |
| Mégacaryocytes     |                                | Gp Ib (CD42)<br>Gp IV (CD36)                               |

## VI. FONCTIONS PLAQUETTAIRES :

### 1. Fonctions hémostatiques :

Les plaquettes sanguines ont un rôle majeur dans le maintien de l'intégrité du système vasculaire et constituent la 1<sup>ère</sup> ligne de défense contre les hémorragies.

- Rôle majeur dans l'hémostase primaire : par les propriétés d'adhésion, de sécrétion et d'agrégation.
- Rôle important dans la coagulation plasmatique (F3P).
- Rôle dans la fibrinolyse (contenu de leurs granules).

2. Autres fonctions : Infections, Inflammation, activation de CI, Dissémination métastatiques....

## VII. DESORDRES PLAQUETTAIRES :

1. Quantitatifs : Valeurs normales : 150 - 400 G /L.

\* *Les thrombopénies* : sont très fréquentes avec un taux de plaquettes < à VN, accompagnées d'hémorragies seulement si les plaquettes sont au-dessous de 50 G/L ;

\* *Les thrombocytoses* : plaquettes > 400 G/L, voire 1000 G/L, avec hémorragies et thromboses.

2. Qualitatifs : *Thrombopathies*. Rares, accompagnées d'hémorragies cutanéomuqueuses.

## VIII. EXPLORATION :

1) **Numération des PLT** : manuelle ou sur un automate :

2) **Frottis sanguin (MGG)** : apprécier la morphologie et contrôler les fausses thrombopénies.

3) **Myélogramme** : apprécier la richesse de la MO en MK et étudier leur qualité (maturation).

4) **Biopsie de la moelle osseuse (BOM)** : donne une estimation plus précise sur la présence de MK.

5) **Etude des fonctions plaquettaires in vitro** (agrégométrie),

6) **Cytométrie en flux**, étude des fonctions plaquettaires, étude des GP plaquettaires, ...

7) **Ultra-structure en ME** : -PPO, - Granules, - Membranes, - Cytoplasme.

8) **Autres examens** : Culture des progéniteurs, ...

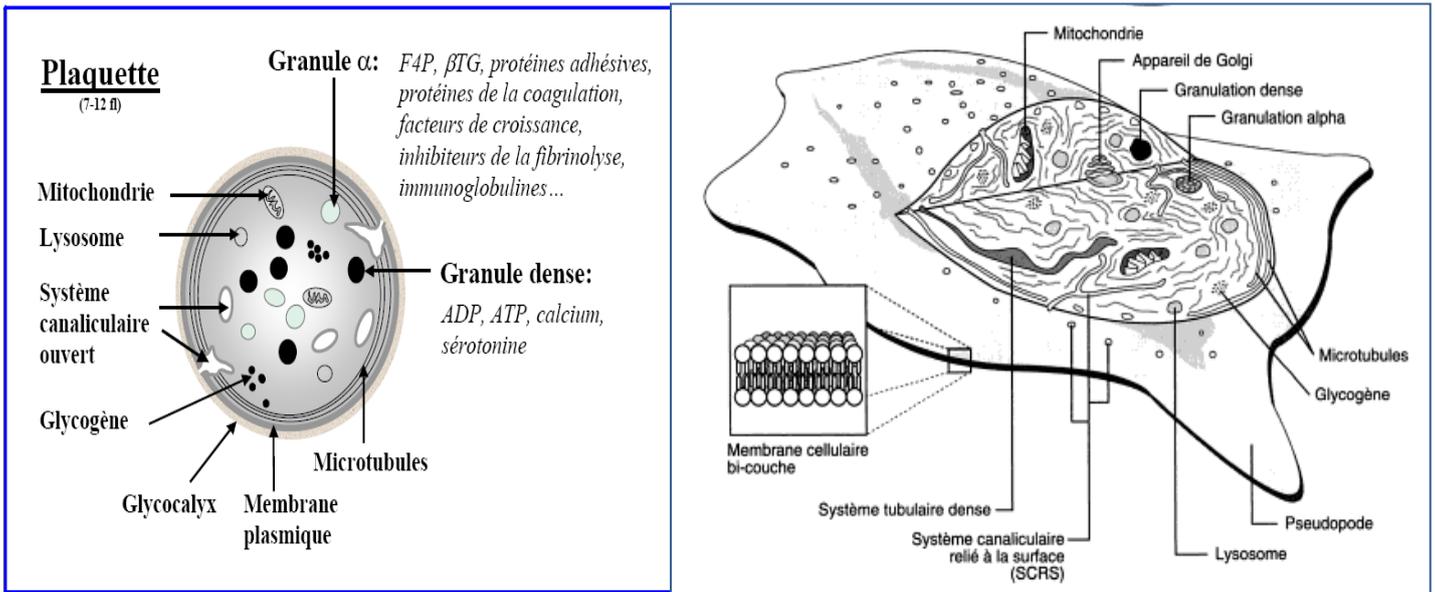


Figure1: Plaquette sanguine

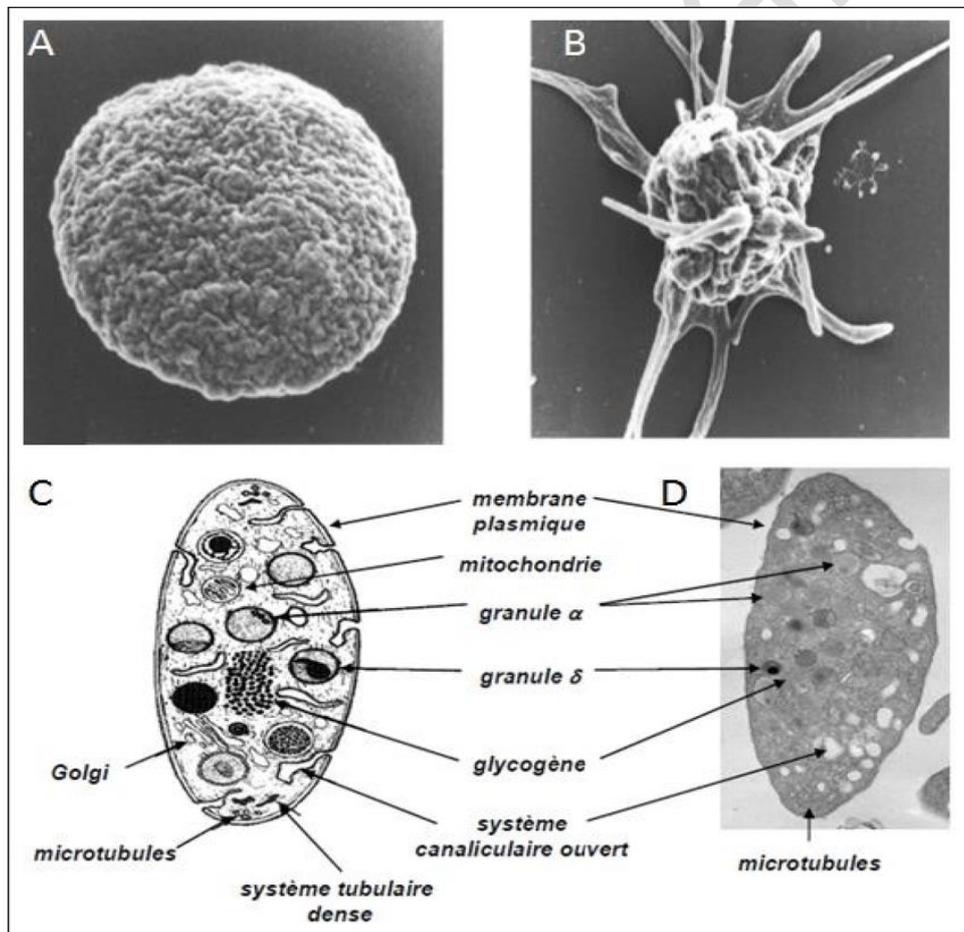


Figure 2 : Ultra structure d'une plaquette

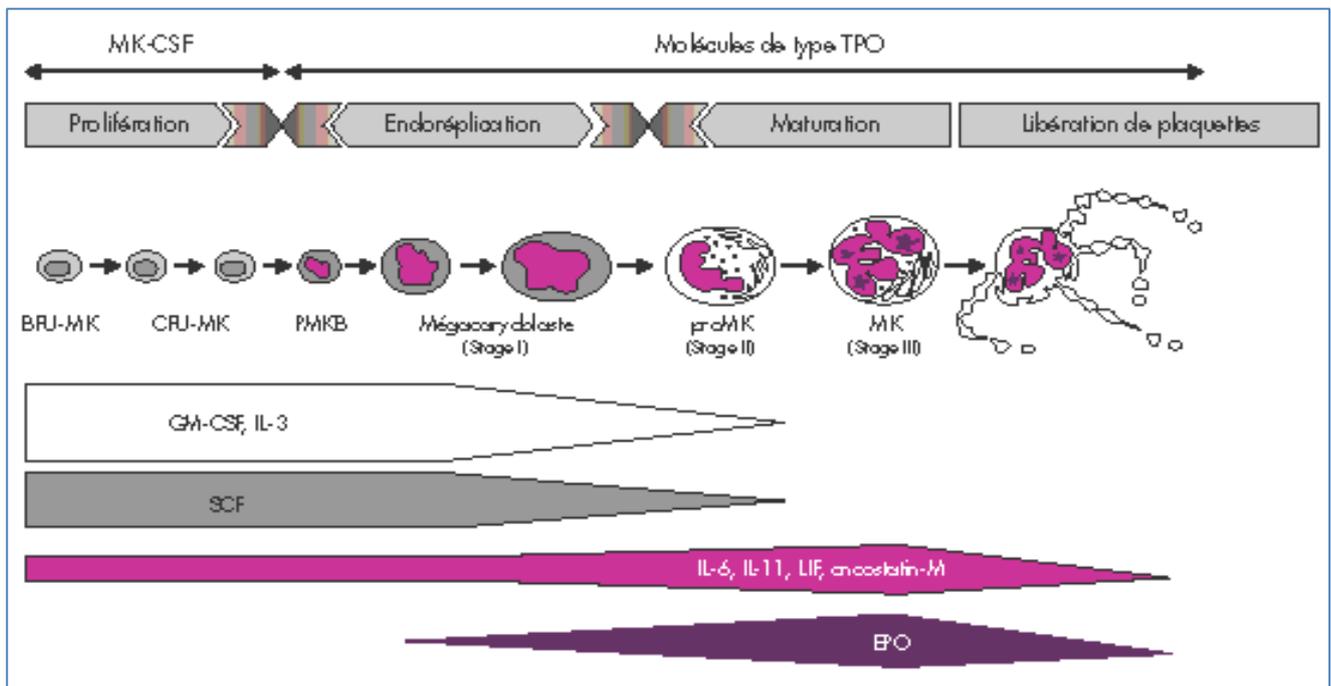
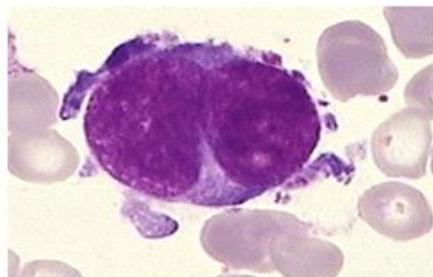
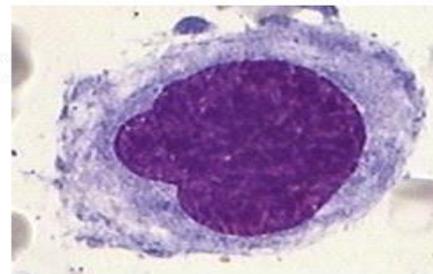


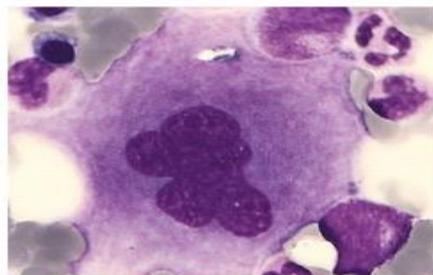
Figure 3 : Régulation de la Thrombopoïèse.



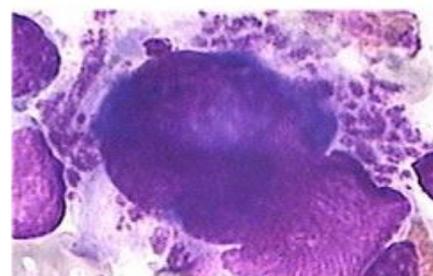
**Mégacaryoblaste** : ou MK stade I.  
La ploïdie augmente (4 – 8 N) et la maturation cytoplasmique débute également. Sur étalement et coloration au MGG : cellules de 20 à 30 µm de diamètre avec un rapport N/C élevé. Poursuite des endomitoses.



**Mégacaryocyte basophile** : ou MK stade II ou promégacaryocyte. A ce stade la ploïdie atteint son apogée et la synthèse d'ADN cesse (la majorité des MK ont une ploïdie = 16N) ; quelques granulations apparaissent. Diamètre des cellules : 40 – 80 µm



**Mégacaryocyte granuleux** : ou MK stade III. Les organelles plaquettaires et le système de membranes de démarcation délimitant des territoires plaquettaires commencent à s'organiser.



**Mégacaryocyte mature** : ou MK stade IV ou plaquettogène ou thrombocytogène. Les granulations se regroupent en petits paquets dans le cytoplasme, ébauches des futures plaquettes : ce stade produit les plaquettes.

Figure 4 : Précurseurs mégacaryocytaires.