

Une étoile est née (en direct) : la plaquette de culture

La formation et la libération des plaquettes par le mégacaryocyte est un processus complexe et encore mal documenté ; ce processus n'a été observé *in vivo* chez l'homme qu'exceptionnellement lors de maladies et jamais à l'état normal. En effet, le site de la production plaquettaire, moelle osseuse, lumière des sinus médullaires ou circulation sanguine intrapulmonaire, reste l'objet de débats animés, voire de vives controverses. Il est certain que, malgré une longue expérience de l'observation de moelles humaines en microscopie électronique, on n'y retrouve pratiquement jamais de noyaux nus de mégacaryocytes (J. Breton-Gorius, communication personnelle). Pendant longtemps, la culture cellulaire semblait une alternative idéale pour analyser les mécanismes subcellulaires concourant à la formation des plaquettes. Hélas, les mégacaryocytes obtenus en culture avortaient avant de libérer le fruit de leurs entrailles. Cependant, amorcées par les travaux de l'équipe de Wendling et Vainchenker [1], la découverte de la thrombopoïétine et l'obtention de sa forme recombinante ont marqué une avancée déterminante puisqu'elles ont permis son utilisation *in vitro*. La maturation des mégacaryocytes obtenus en culture en a été considérablement améliorée et ils peuvent désormais atteindre le stade plaquettaire *in vitro* et libérer des plaquettes identiques aux plaquettes sanguines [2]. Dans la version *online* de leur article du *Journal of Cell Biology**, Italiano *et al.* présentent un petit film de vidéo-microscopie

qu'il est possible de télécharger et de visionner inlassablement, montrant le passage du mégacaryocyte de sa forme mature à sa forme plaquettaire [3]. La production plaquettaire commence par l'extension de longs pseudopodes appelés proplaquettes, sous-tendus par un faisceau longitudinal de microtubules, et qui se terminent par une extrémité arrondie d'aspect bulbaire : cette dernière se recourbe en boucle pour former une structure en forme de larme (*figure 1*). Les proplaquettes s'avèrent être des structures très dynamiques et fluides, qui se tendent et se rétractent de façon réversible. Une spirale de microtubules, identique à celle qui entoure la plaquette sanguine, est retrouvée seulement à l'extrémité des proplaquettes, mais jamais dans leur longueur pourtant parcourue de renflements de taille équivalente à celle de territoires plaquettaires. La croissance et l'extension de la proplaquette sont jalonnées de coudes et

de bifurcations qui augmentent ainsi le nombre d'extrémités libres susceptibles de former une nouvelle plaquette. Ce phénomène étant inhibé par la cytochalasine, est donc sous la dépendance de l'actine. De même, le taxol, agent stabilisateur des microtubules, empêche la proplaquette de se recourber et de former de nouvelles extrémités, démontrant la responsabilité des microtubules dans ce processus d'embranchement. Les images de microscopie électronique présentées, du cytosquelette des mégacaryocytes perméabilisés et des extrémités des proplaquettes, sont d'une grande qualité et de toute beauté. Les auteurs tirent de leurs observations la conclusion que les plaquettes sont formées de façon définitive, puis libérées, uniquement à l'extrémité libre des proplaquettes, et que ce processus est considérablement accru par les bifurcations et embranchements qui remodelent la proplaquette initiale. La seule frustration susceptible

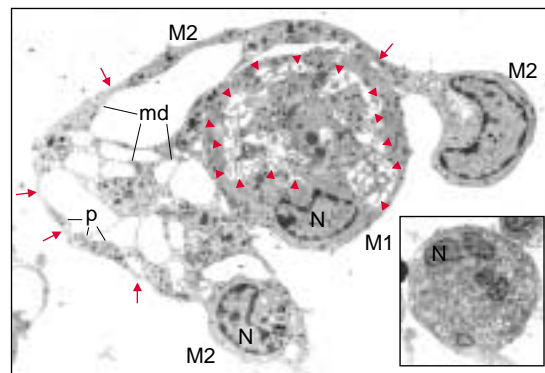


Figure 1. **Production de plaquettes *in vitro*.** Vue en microscopie électronique de deux mégacaryocytes humains ayant atteint le stade plaquettaire en culture : dans la cellule du centre (M1), les membranes de démarcation (têtes de flèche) s'alignent et dessinent une spirale qui découpe une bande de cytoplasme prête à s'étendre. L'autre mégacaryocyte (M2) plus avancé

dans sa maturation émet, suite à la dilatation du système des membranes de démarcation (md), de longues expansions cytoplasmiques, ou proplaquettes, entrecoupées d'étranglements suivis de renflements de la taille des futures plaquettes (p). N : lobe nucléaire.

* <http://www.jcb.org/>

d'être engendrée par ce très bel article est l'absence d'image de libération de plaquettes authentiques, tant en vidéo-microscopie qu'en microscopie électronique.

Outre l'aspect nouveau de la connaissance des mécanismes de biologie cellulaire sous-tendant la métamorphose du mégacaryocyte en phase de maturation à sa phase de libération plaquettaire, le système de culture est désormais utilisé pour étudier les effets des cytokines et le rôle de la polyploïdisation sur la production et la fonction plaquettaire [4]. Il a de plus permis d'étudier la maturation mégacaryocytaire jusqu'à son stade ultime plaquettogène, ainsi que la nature et la fonction des plaquettes produites au cours de la pathologie humaine [4]. Le système est si performant qu'il permet d'obtenir de bonnes quantités de mégacaryocytes à partir du sang périphérique

d'enfants atteints de pathologies congénitales de la lignée mégacaryocyto-plaquettaire, permettant ainsi de faire avancer la connaissance de certaines maladies rares tout en évitant la douloureuse et impressionnante ponction de moelle osseuse [5, 6]. Enfin, il est permis de rêver au meilleur des mondes où des plaquettes faites maison seront à vendre à l'étal des marchés bio... technologiques.

1. Wendling F, Maraskovsky E, Debili N, *et al.* cMpl ligand is a humoral regulator of megakaryocytopoiesis. *Nature* 1994; 369: 571-4.
2. Cramer EM, Norol F, Guichard J, *et al.* Ultrastructure of platelet formation by human megakaryocytes cultured with the Mpl ligand. *Blood* 1997; 89: 2336-46.
3. Italiano JE, Lecine P, Shivdasani RA, Hatwig JH. Blood platelets are assembled principally at the ends of proplatelet processes produced by differentiated megakaryocytes. *J Cell Biol* 1999; 147: 1299-312.

4. Norol F, Vitrat N, Cramer E, *et al.* Effects of cytokines on platelet production from blood and marrow CD34+ cells. *Blood* 1999; 91: 830-43.
5. Haddad E, Cramer EM, Riviere C, *et al.* The thrombocytopenia of Wiskott Aldrich Syndrome is not related to a defect in proplatelet formation. *Blood* 1999; 94: 509-18.
6. Cramer EM, Debili N, Massé J-M, Pocard MA, Favier R. Newly recognized cellular abnormalities in the gray platelet syndrome. *Blood* 1998; 90: 751.

Remerciements

L'auteur remercie vivement Josette Guichard pour sa participation à l'élaboration de ce manuscrit.

Élisabeth Cramer

Inserm U. 474, Maternité 5^e étage, Hôpital Port-Royal, 123, boulevard de Port-Royal, 75014 Paris, France.

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **Plaidoyer pour un angioblaste médullaire.** On compte dans l'organisme humain adulte environ 10^{13} cellules endothéliales qui tapissent 7 m^2 de lumière vasculaire. Un tout petit nombre de cellules endothéliales (en moyenne 2,6/ml de sang) circulent librement. Elles sont quiescentes à l'état d'équilibre mais leur nombre augmente dans certaines maladies vasculaires, drépanocytose ou infarctus du myocarde entre autres. Par ailleurs, la culture *in vitro* de progéniteurs hématopoïétiques CD34⁺ circulants engendre des cellules endothéliales fonctionnelles et capables d'induire la revascularisation de tissus ischémiés [1]. Dans une élégante étude publiée dans le *Journal of Clinical Investigation* [2], les auteurs ont cherché à déterminer l'origine, d'une part, des cellules endothéliales circulantes et d'autre part, des précurseurs circulants produisant en culture des cellules endothéliales. Pour ce faire, ils ont étudié

sept patients ayant subi une greffe de moelle à partir de cellules d'un donneur du sexe opposé. Le phénotype des cellules endothéliales circulantes a été analysé, et leur génotype déterminé par la technique de FISH (hybridation *in situ* en fluorescence) (recherche du chromosome X ou Y) ; de plus, une culture de cellules endothéliales a été effectuée à partir du sang périphérique des patients greffés. Entre 5 et 20 mois après la greffe, laps de temps nécessaire au total renouvellement des cellules endothéliales circulantes, le génotype des cellules endothéliales détectées dans la circulation était toujours identique à celui du receveur. En revanche, le génotype de celles qui étaient produites après 4 semaines de culture était identique à celui du donneur. On peut donc en conclure que les cellules endothéliales circulantes proviennent de la paroi des vaisseaux sanguins et ont une capacité de croissance limitée, mais qu'il

existe dans le sang circulant des précurseurs de cellules endothéliales provenant, eux, de cellules transplantables, correspondant probablement à une population d'angioblastes circulants dérivés de la moelle osseuse. Il convient également de rappeler la parenté ontogénique des cellules endothéliales et hématopoïétiques, toutes dérivées des îlots sanguins embryonnaires du sac vitellin. L'obtention récente d'une lignée hématopoïétique dérivée d'un syndrome myéloprolifératif suraigu et possédant des marqueurs endothéliaux [3] va dans ce sens, confirmant l'observation initiale du groupe d'Isner [1].

- [1. Asaharat T, *et al.* *Science* 1997; 275: 964-7.]
- [2. Lin Y, *et al.* *J Clin Invest* 2000; 105: 71-7.]
- [3. Fiedler W, *et al.* *Cancer* 2000; 88: 344-51.]