

## **1. Introduction**

### **1.1 Les cellules souches**

#### **1.1.1 Bref historique des cellules souches**

Il est reconnu par la communauté scientifique, qu'Ernest McCulloch et James Till ont démontré avec les preuves scientifiques les plus solides, l'existence des cellules souches. En effet, leurs travaux sur les souris dans les années soixante ont permis de définir les fonctions et les propriétés des cellules souches hématopoïétiques [1, 2]. Parmi les travaux les plus importants à ce jour on retrouve ceux menés par Martin Evans et Matt Kauffman en 1981, qui ont permis d'identifier, d'isoler et de cultiver des cellules souches embryonnaires provenant de blastocystes de souris [1, 3]. Puis, en 1998, James Thomson, a réussi à isoler des cellules souches embryonnaires humaines et de les cultiver en laboratoire. Ces nouvelles connaissances permettent désormais en théorie de pouvoir produire en laboratoire tout type de cellule humaine [1, 3]. C'est pourquoi, depuis ces découvertes majeures, les travaux sur les cellules souches ne continuent d'évoluer et de se multiplier dans divers domaines de recherche.

#### **1.1.2 Définition des cellules souches**

Les cellules souches sont des cellules d'un grand intérêt scientifique et médical. Ce sont des cellules autant retrouvées au stade embryonnaire qu'au stade adulte, dont peuvent découler plusieurs types de cellules spécialisées. Elles sont donc jeunes et immatures. Les cellules souches sont définies par deux caractéristiques : la capacité d'auto-renouvellement et le potentiel de différenciation [1, 4, 5]. Il est connu que plus une cellule est différenciée, plus elle perd sa capacité d'auto-renouvellement. La capacité d'auto-renouvellement consiste en une division cellulaire dont la cellule mère donne naissance à deux cellules filles totalement identiques. Cela permet de conserver un réservoir de cellules souches tout au long de la vie de l'organisme [5]. Le potentiel de différenciation consiste en une transformation de la cellule souche vers une cellule dite différenciée, donc spécialisée et ayant une fonction unique. Cela est possible selon l'environnement auquel est exposé la cellule, c'est-à-dire les stimuli qu'elle va percevoir et qui vont modifier ses voies de signalisation grâce à la présence

entre autres de cytokines, de facteurs de croissance et de facteurs de transcription, ainsi qu'à l'expression de ses gènes [5]. Ce ne sont donc pas toutes les cellules souches qui possèdent le même potentiel de différenciation. Il existe d'ailleurs différents types de cellules souches selon leur capacité d'auto-renouvellement et de différenciation. Les cellules souches les plus primitives sont les cellules souches dites totipotentes. Ces cellules ont la capacité de donner naissance à tout type de cellules pouvant constituer un organisme viable. Ces cellules ne sont présentes qu'au stade embryonnaire, c'est-à-dire du zygote au blastocyste, puisqu'elles constituent les annexes embryonnaires [1]. Par la suite, il y a les cellules souches dites pluripotentes. Ces cellules ont la capacité de se différencier en presque tous les types cellulaires. Elles sont dérivées des trois feuillets germinaux et sont donc présentes dans l'organisme seulement au stade embryonnaire, soit lors de la formation initiale de l'embryon [4]. Ensuite, il y a les cellules souches multipotentes qui peuvent quant à elles se différencier en divers types cellulaires [1], mais sont déjà engagées dans une voie de différenciation, comme par exemple les cellules souches hématopoïétiques. Enfin, il y a les cellules souches unipotentes. Ce type de cellule souche n'est présent qu'après la naissance et est localisé dans le tissu d'intérêt. Ce type de cellule souche ne peut se différencier qu'en un seul type cellulaire de même nature possédant une seule fonction tout en s'auto-renouvelant, tel que les cellules souches musculaires qui se différencient uniquement en cellules musculaires [1].

### **1.1.3 Cellules souches hématopoïétiques**

Les cellules souches hématopoïétiques (CSH) ont la propriété d'être multipotentes [1], elles ont donc la capacité d'auto-renouvellement et de différenciation. Les CSH peuvent donc proliférer et se différencier et sont à l'origine de tous les types de cellules hématopoïétiques matures, tels que les érythrocytes, les plaquettes ou les lymphocytes, qui constituent le système sanguin [6]. Le processus de formation et de renouvellement de ces différentes cellules se nomme hématopoïèse. Suivant le stade de cellule souche, l'hématopoïèse donne lieu à la production de progéniteurs. Les progéniteurs sont des cellules engagées dans une lignée de différenciation, soit myéloïde ou lymphoïde et se différencient ultimement en précurseurs. Les précurseurs vont ensuite permettre la production de cellules hématopoïétiques matures [6]. Les sources de CSH chez l'humain sont multiples. La moelle

osseuse constitue la source principale de cellules souches hématopoïétiques. On retrouve aussi des cellules souches hématopoïétiques dans le sang périphérique. [6]. Enfin, le sang de cordon est une source de cellules souches de plus en plus utilisée de nos jours à des fins médicales.

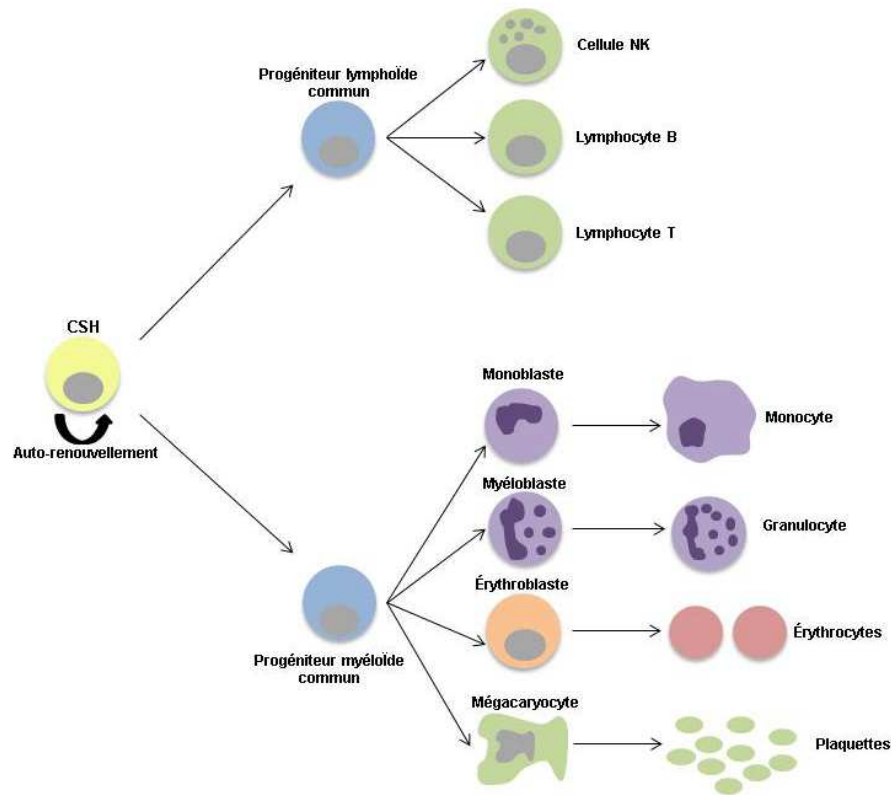
#### **1.1.3.1 Cellules souches de sang de cordon ombilical**

Plus récemment, les cellules souches collectées à partir du sang de cordon ombilical sont devenues une source intéressante de CSH à des fins thérapeutiques. Normalement traité comme un déchet biologique, le sang de cordon est désormais reconnu comme étant une source riche en CSH [7]. Cette source de CSH est principalement utilisée pour traiter des personnes dont les cellules de la moelle osseuse sont affectées, dans le cas d'une aplasie ou d'un cancer par exemple et qui sont en attente d'une greffe de cellules souches [6, 7]. Elles peuvent donc être utilisées autant pour la greffe autologue qu'allogénique [6]. Par contre, cette source très intéressante de cellules souches possède aussi ces limitations. En effet, une unité de sang de cordon, c'est-à-dire qui provient d'un seul cordon ombilical, possède un nombre de cellules souches assez limité. Ainsi, dû à une faible présence de cellules souches, il est difficile de greffer un patient adulte avec succès. Le sang de cordon est donc une option envisagée pour le traitement de patients pesant moins de 50 kg, majoritairement des enfants [7]. Par leur potentiel d'auto-renouvellement et de différenciation, ainsi que leur accessibilité, les CSH issues du sang de cordon représentent d'ailleurs une source intéressante de CSH à des fins de recherche.

#### **1.1.3.2 Hématopoïèse**

Le processus de production et de renouvellement des diverses cellules sanguines se nomme hématopoïèse. Ce processus inclut la différenciation des CSH en des cellules sanguines plus matures ayant une seule fonction spécialisée (Figure 1.1) [8, 9]. La majorité des cellules souches hématopoïétiques humaines possèdent le marqueur phénotypique CD34+ à leur surface [6]. L'expression de ce marqueur sera par la suite perdue en cours de différenciation. L'hématopoïèse se déroule à différents endroits selon le stade de développement [9]. Lors du développement embryonnaire, les CSH sont produites dans la région de l'aorte-gonade-

mésonephros [9]. Elles vont par la suite migrer vers le placenta et le foie entre 5 et 12 semaines suivant la conception pour compléter leur maturation [9]. Entre 12 semaines suivant la conception et la naissance, les CSH vont plutôt migrer vers la rate pour leur maturation [9]. Enfin, près de la naissance, les CSH vont se diriger vers la moelle osseuse pour compléter leur maturation [8, 9]. Suivant la naissance, la moelle osseuse devient l'unique site de l'hématopoïèse [8, 9]. Durant ce processus, les cytokines et les facteurs de croissances présents dans l'environnement extracellulaire et l'expression génique propre aux cellules déterminent la voie dans laquelle elles vont poursuivre leur différenciation [6]. Les CSH les plus primitives peuvent ainsi engager leur différenciation vers deux grandes lignées, la lignée myéloïde ou la lignée lymphoïde. À partir du progéniteur lymphoïde commun, la différenciation dans la voie lymphoïde mène à la formation des lymphocytes B, des lymphocytes T, ainsi que des cellules Natural Killer (NK) [6]. Les cellules souches engagées dans la voie myéloïde peuvent quant à elles s'engager, à partir du progéniteur myéloïde commun, vers la voie menant à la production d'érythrocytes ou de mégacaryocytes responsables de la production de plaquettes ou celle menant à la production des granulocytes et des monocytes [6]. Ainsi, les cellules en différenciation passent par plusieurs stades intermédiaires. Chacun de ces stades donne lieu à un répertoire de cellules de plus en plus différenciées, engagées de plus en plus définitivement dans leur lignée. L'ultime stade de différenciation donne lieu à un seul type cellulaire, ayant une seule fonction spécialisée [8]. Ces cellules adoptent d'ailleurs des phénotypes et des caractéristiques en évolution durant la différenciation, jusqu'à ce qu'elles deviennent matures. Ce sont ces phénotypes, plus précisément les marqueurs phénotypiques retrouvés à la surface des cellules, qui permettent de suivre l'évolution de l'hématopoïèse. Ces différentes cellules progénitrices ou précurseurs possèdent ainsi un potentiel de prolifération et de différenciation qui diffèrent entre ces stades de maturation. [6] À maturité, les cellules quittent la moelle osseuse pour se diriger vers le système sanguin, où elles pourront exercer leurs fonctions. L'hématopoïèse est un processus qui se déroule tout au long de la vie d'un être humain, ce qui permet le renouvellement constant des cellules sanguines [8].



**Figure 1.1 L'hématopoïèse**

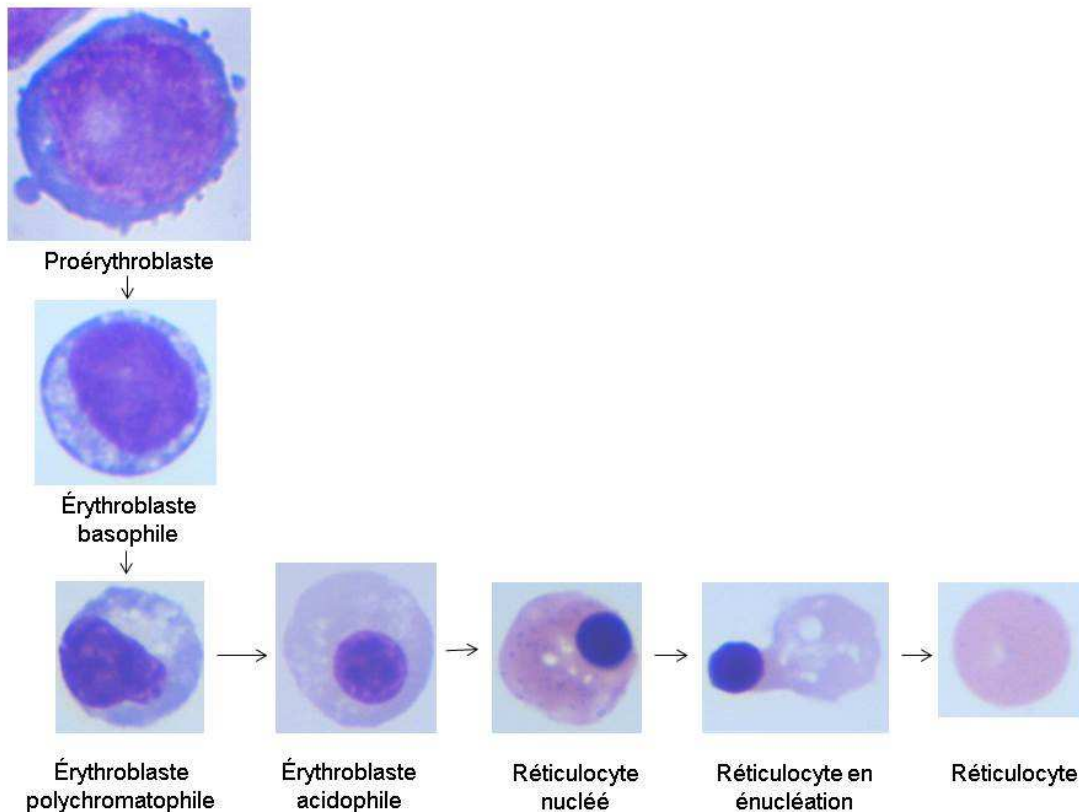
L'hématopoïèse débute avec les CSH ayant les propriétés d'auto-renouvellement et de différenciation. Lors de leur différenciation, les cellules perdent leur potentiel d'auto-renouvellement et peuvent s'engager dans l'une ou l'autre des voies de différenciation : la voie lymphoïde ou la voie myéloïde.

### 1.1.3.3 Érythropoïèse

L'érythropoïèse est le processus de l'hématopoïèse qui permet la production des globules rouges, aussi connus sous le nom d'érythrocytes [10]. Elle se déroule donc dans la moelle osseuse. L'érythropoïèse débute via les cellules souches hématopoïétiques qui produisent les progéniteurs érythroïdes. Les progéniteurs les plus primitifs sont les *burst forming unit-erythroid* (BFU-e) [6]. Les BFU-e produisent ensuite les *colony forming unit-erythroid* (CFU-e) [6]. Les CFU-e sont donc les progéniteurs les plus tardifs et produisent les précurseurs érythroïdes, qui eux, passent par de multiples étapes de différenciation érythroïde pour former les réticulocytes [6, 10]. L'érythropoïèse est largement régulée par l'érythropoïétine (EPO) [11]. En fait, l'EPO stimule l'érythropoïèse en liant et activant le

récepteur EPO à la surface des progéniteurs érythroïdes [11, 12]. Lors de l'apparition de ce récepteur, les cellules sont définitivement engagées dans la voie de différenciation érythroïde. Plus spécifiquement, l'EPO favorise la prolifération, la différenciation et la survie de ces progéniteurs, via diverses voies de signalisation [11, 12]. De plus, l'effet combiné de l'EPO et du facteur de croissance *stem cell factor* (SCF), favorise l'expansion des progéniteurs érythroïdes [11]. Au cours de ce processus de différenciation, des changements phénotypiques apparaissent à la surface des cellules. Cela se traduit par l'apparition ou la disparition de certains récepteurs de surface [13]. Tout d'abord, l'expression du marqueur CD34 est rapidement perdue chez les progéniteurs érythroïdes [14]. L'expression du marqueur CD71 (récepteur de la transferrine) se fait plus primitivement chez les cellules impliquées dans l'érythropoïèse. Effectivement, l'expression du marqueur CD71 est plus élevée chez les progéniteurs érythroïdes plus primitifs, soit les BFU-e [14]. Son expression décroît au cours de la différenciation érythroïde et il y a perte de ce marqueur lors de la maturation finale des précurseurs érythroïdes en réticulocytes [8, 14]. Au contraire, l'expression du marqueur CD235a (glycophorine A) se fait plus tardivement au cours de la différenciation érythroïde [13]. Ainsi, CD235a est absent au stade de progéniteur érythroïde et son apparition est remarquée au stade de précurseur érythroïde [13]. L'apparition de CD235a se fait donc chez les cellules érythroïdes plus matures et ce phénomène est accompagné d'une hémoglobinisée des cellules [13]. Ces deux marqueurs permettent donc de suivre l'évolution de la différenciation des cellules impliquées dans l'érythropoïèse. De plus, les cellules engagées dans l'érythropoïèse subissent de nombreux changements morphologiques tout au long des étapes de différenciation érythroïde (Figure 1.2). Les CSH impliquées dans l'érythropoïèse sont majoritairement retrouvées sous forme de progéniteurs érythroïdes produisant par la suite les précurseurs érythroïdes : les érythroblastes. On les retrouve initialement au stade de proérythroblaste. À ce stade, les cellules sont très grosses et plus ou moins rondes. La chromatine prend beaucoup de place dans la cellule et le pH du cytoplasme est acide étant donné sa richesse en ARN [15]. Par la suite, on retrouve le stade érythroblaste basophile, où les cellules ont diminué en taille et où le cytoplasme est toujours acide [15]. Ensuite, lors du stade érythroblaste polychromatophile, les cellules ont encore un peu diminué en taille et la chromatine commence à se condenser vers la paroi cellulaire [10, 15]. C'est à ce moment que le cytoplasme commence à devenir basique, étant donné la

synthèse d'hémoglobine [10]. Suivant cela, les cellules passent au stade d'érythroblaste acidophile, qui est le dernier stade avant l'énucléation. Ainsi, les cellules ont encore diminué en taille, la chromatine est très condensée à la paroi cellulaire et le cytoplasme est plutôt basique et constitue la majorité de la cellule. C'est à ce stade que la cellule va expulser son noyau, phénomène appelé énucléation [10, 15]. Enfin, les cellules atteignent le stade de réticulocyte. Les réticulocytes ainsi formés dans la moelle osseuse, ont diminué en taille et contiennent toujours leurs organelles, soit les mitochondries et les ribosomes [10]. Les réticulocytes vont par la suite quitter la moelle osseuse pour rejoindre la circulation sanguine, afin de procéder à la maturation finale en érythrocytes [10]. Les cellules vont ainsi acquérir une forme circulaire et biconcave facilement identifiable. C'est cette transformation morphologique qui va engendrer la perte des organelles, la diminution de taille et la stabilité membranaire et qui va faire en sorte que les réticulocytes mûrissent en érythrocytes pouvant désormais exercer leurs fonctions [10].



**Figure 1.2 L'érythropoïèse**

L'érythropoïèse débute avec une cellule au stade de proérythroblaste. Elle passe ensuite par les stades d'érythroblaste basophile, polychromatophile et acidophile. Enfin, il y a le stade de réticulocyte nucléé, où le noyau est expulsé en fin de maturation pour former le réticulocyte. Photos obtenues par Catherine Giroux à travers l'expérimentation.

### 1.1.4 Applications thérapeutiques des cellules souches

Les cellules souches, particulièrement les cellules souches hématopoïétiques, lorsque greffées chez le patient, ont le potentiel de reconstituer le système hématopoïétique [6]. Il est donc possible, suivant un traitement de chimiothérapie à forte dose affectant le système hématopoïétique, de reconstituer ce système grâce à une greffe de cellules souches. La greffe peut-être autologue, c'est-à-dire que les cellules souches proviennent du patient lui-même. La greffe peut aussi être allogénique, donc les cellules proviennent d'un donneur apparenté à l'égard du système *Human Leucocyte Antigen* (HLA) [6]. Les greffes autologues et

allogéniques ont ainsi des portées thérapeutiques et potentiellement curatives dans les cas de leucémie ou de différents types de myélomes par exemple [6].

## **1.2 L'hémoglobine, l'hème et molécules reliées**

### **1.2.1 L'hémoglobine**

L'hémoglobine est une hémoprotéine présente dans les érythrocytes. Elle est globalement composée d'une association symétrique de deux dimères identiques de globine, formant au final un tétramère. Chaque molécule de globine contient une molécule d'hème liant un atome de fer [16]. L'hémoglobine est responsable de transporter l'oxygène à travers le corps humain, via une liaison réversible de l'atome de fer à l'oxygène [16]. Plus spécifiquement, la nature des sous-unités de globines varie selon l'état des cellules. Lors du stade de développement fœtal, les dimères de globine sont composés de globine alpha et de globine gamma, donnant l'hémoglobine fœtale ( $\alpha_2\gamma_2$ ) [16]. À l'âge adulte les dimères de globine sont composés de globine alpha et de globine beta, donnant l'hémoglobine adulte ( $\alpha_2\beta_2$ ) [16]. Le gène de l'alpha globine est situé sur le chromosome 16, tandis que les gènes de la beta globine et de la gamma globine sont situés sur le chromosome 11 [16]. Ainsi, la régulation de ces gènes se fait selon l'état de développement de l'organisme. À la naissance, le gène de la gamma globine qui était préalablement exprimé est régulé à la baisse et le gène de la beta globine commence à être exprimé. Le gène de l'alpha globine reste quant à lui constitutivement exprimé. On remarque donc le changement d'un phénotype d'hémoglobine fœtale vers un phénotype d'hémoglobine adulte suivant la naissance [16]. Au cœur de chaque sous-unité de globine du tétramère se situe une cavité qui permet de lier par des forces non covalentes la molécule d'hème. L'hème est constitué d'un anneau porphyrine qui contient en son centre un atome de fer [16]. C'est cet atome de fer qui permet la liaison de l'oxygène à la molécule d'hémoglobine, ce qui permet ainsi son transport des poumons vers le reste de l'organisme [16]. Une molécule d'hémoglobine peut donc transporter quatre molécules d'oxygène. Par contre, l'affinité pour l'oxygène varie selon la nature des sous-unités qui compose l'hémoglobine. Effectivement, l'hémoglobine fœtale a une affinité pour l'oxygène légèrement supérieure à l'hémoglobine adulte [16].

### 1.2.2 L'hème

Tel que décrit précédemment, les érythrocytes sont des cellules sanguines produites dans la moelle osseuse. Normalement, ils ont une durée de vie d'environ 120 jours [17]. Lors de l'hémolyse, soit la lyse normale des érythrocytes en fin de vie, l'hème est libéré de la molécule d'hémoglobine. L'hème peut aussi être relâché des cellules dans des situations anormales, tels que lors d'une hémorragie interne ou de tout autre dommage causé aux érythrocytes [18]. Certaines maladies, comme les hémoglobinopathies, la malaria et les maladies auto-immunes, peuvent aussi être responsables d'une hémolyse précoce [17]. L'hème libre et en excès dans le milieu extracellulaire est très toxique pour le corps humain étant donné ses effets oxydatifs et pro-inflammatoires [18]. Afin d'assurer l'homéostasie, sa toxicité est donc médiée par l'action d'une enzyme intracellulaire nommée hème oxygénase-1 (HO-1), qui vient dégrader l'hème [17, 19]. Ce procédé de dégradation se déroule dans le cytosol de cellules telles que les hépatocytes et les macrophages [19-22].

#### 1.2.2.1 L'hémopexine

L'hème libre en circulation est lié par une molécule de transport nommée hémopexine, qui est une protéine plasmatique de 60kDa [18, 20, 21]. L'hémopexine lie l'hème avec une très haute affinité et le séquestre sous une forme qui permet son transport sous une forme inerte, ce qui permet d'atténuer sa toxicité pour l'organisme [17, 20, 21]. En fait, l'hémopexine, en liant l'hème, permet de prévenir les dommages oxydatifs et inflammatoires qu'engendre normalement l'hème libre [18, 20, 23]. Le complexe hème-hémopexine ainsi formé se lie au récepteur de l'hémopexine, le *low-density-lipoprotein receptor-related protein/CD91* (LRP/CD91) à la surface de diverses cellules. Ainsi, le complexe est pris en charge par les macrophages du foie, de la rate, de la moelle osseuse, ainsi que par les hépatocytes [17, 18, 20, 21]. La liaison du complexe hème-hémopexine au récepteur LRP/CD91 permet son internalisation dans la cellule par le phénomène d'endocytose [17, 18, 22]. L'hème est ensuite relâché par l'hémopexine et c'est à ce moment que s'enclenche le processus de dégradation de l'hème par HO-1 (Figure 1.3). L'hémopexine quant à elle reste à l'intérieur de la vésicule d'endocytose et est relâchée à l'extérieur de la cellule vers la circulation sanguine [17, 19, 21, 22].

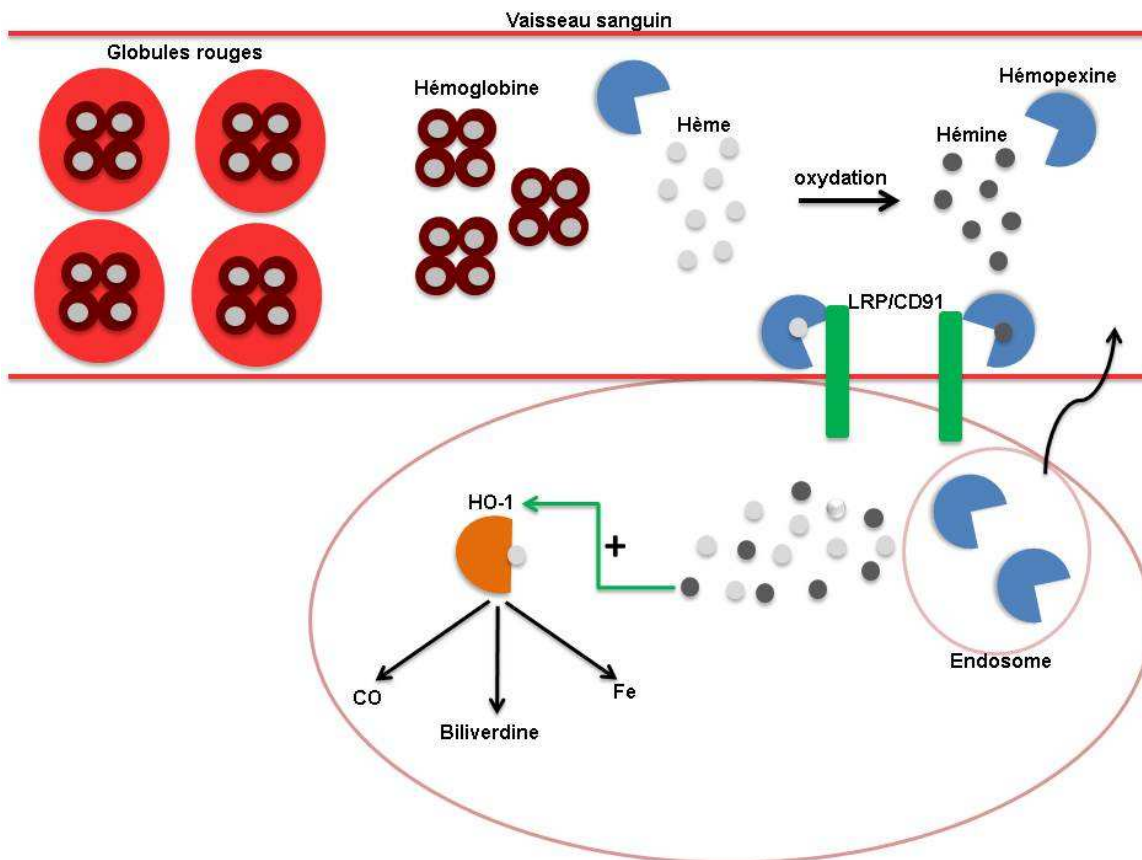
### 1.2.2.2 Catabolisme de l'hème

L'hème oxygénase -1 (HO-1) est une protéine de 33kDa exprimée dans plusieurs cellules et inductible par un large éventail de molécules [17]. Il existe deux autres isoformes de l'hème oxygénase : l'hème oxygénase-2 (HO-2) et l'hème oxygénase-3 (HO-3) qui ont des fonctions moins bien décrites que HO-1 [17]. Le catabolisme de l'hème par HO-1 engendre la formation de trois métabolites, soit le fer libre (Fe), la biliverdine, convertie en bilirubine par la biliverdine réductase et le monoxyde de carbone (CO) [17, 19, 21, 24-26], ce qui permet d'atténuer les effets toxiques de l'hème intracellulaire en excès [17-19]. Le monoxyde de carbone (CO) est normalement connu pour être toxique pour l'organisme. Par contre, lorsque formé lors de la dégradation de l'hème par HO-1, sa concentration est trop faible dans la cellule pour avoir des effets toxiques. Le monoxyde de carbone ainsi formé a plutôt des effets physiologiques bénéfiques assez larges, qui comprennent entre autres des effets anti-inflammatoires et des fonctions de signalisation [17]. Par la suite, le fer (Fe) libéré par le catabolisme de l'hème est lié par la ferritine et permet de reconstituer le pool de fer intracellulaire nécessaire pour divers procédés physiologiques [17]. Enfin, la bilirubine est transportée dans le plasma et se lie à l'albumine. Elle est plus tard dégradée par le foie et excrétée dans la bile [17]. Le catabolisme de l'hème par HO-1 se déroule expressément dans le cytosol des cellules concernées telles que les cellules érythroïdes, les hépatocytes et les macrophages [19, 22]. L'expression d'HO-1 est régulée en partie par la présence d'hème intracellulaire [17, 19, 25, 27]. Les petites protéines Maf agissent à titre de facteurs de transcription ayant une double fonction. Ils peuvent former un hétérodimère avec le facteur *nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2* (Nrf2) pour activer l'expression d'HO-1, comme elles peuvent aussi bien lier et former un hétérodimère avec Bach-1 pour réprimer l'expression d'HO-1 [25]. Alors, Bach-1 agit à titre de régulateur négatif de l'expression de HO-1. En présence d'hème en excès, il y a modification de la conformation de Bach-1, ce qui diminue l'affinité de liaison à l'ADN du complexe Bach-1-Maf, dans la région du promoteur. Cela permet ainsi au complexe Nrf2-Maf de se former et lier le promoteur pour activer la transcription de HO-1 [19, 25, 27]. Par contre, l'activité de répression de Bach-1 domine largement celle de Nrf2, ce qui fait en sorte que l'expression d'HO-1 est constitutivement réprimée [25]. Ainsi, selon l'état intracellulaire, Nrf2 et Bach-1 sont en

compétition entre eux pour former un complexe avec les protéines Maf pour leur liaison dans la région du promoteur d'HO-1 [25].

### **1.2.3 L'hémine**

Tel que mentionné précédemment, lors de l'hémolyse, l'hème libéré dans le milieu extracellulaire est toxique pour l'organisme. Outre sa prise en charge rapide par l'hémopexine, l'hème dû à sa forte toxicité, peut aussi être oxydé en une molécule nommée hémine. L'hémine est donc la forme oxydée de l'hème puisqu'elle gagne un électron sur son atome de fer lors du processus d'oxydoréduction [27]. L'hème, constituant essentiel de la molécule d'hémoglobine est donc composé d'un fer ferreux en son centre, tandis que l'hémine est composée d'un fer ferrique en son centre [27]. L'hémine est une molécule hautement oxydante, qui induit la production des espèces réactives d'oxygène (ROS) et déclenche un stress oxydatif (SOx) [21]. Tout comme l'hème, l'hémine peut être liée par l'hémopexine avec une très haute affinité (Figure 1.3) [20]. La prise en charge de l'hémine par l'hémopexine permet son transport sous une forme neutralisée, ce qui atténue sa toxicité pour l'organisme [20]. L'hémine, liée à l'hémopexine, est transportée à l'intérieur d'une multitude de cellules, tels que les hépatocytes et les cellules érythroïdes [27], de la même façon que l'hème, c'est-à-dire par le processus d'endocytose via la liaison du complexe au récepteur LRP/CD91 [20]. Il a été démontré que l'hémine régule positivement l'activation de HO-1, ce qui accentuerait la dégradation de l'hème [20, 26]. Plus particulièrement, l'hémine lie le répresseur transcriptionnel Bach-1 [20], ce qui modifie sa conformation et diminue son affinité pour l'ADN dans la région du promoteur du gène HO-1. Ainsi, l'activation de HO-1 en présence d'hémine contribuerait donc à engendrer la dégradation de l'hème et ainsi diminuer le stress oxydatif et les dommages intracellulaires causés par la présence de l'hème. De plus, de la même façon que l'hème, l'hémine est dégradée par HO-1 dans les hépatocytes [20].



**Figure 1.3 Prise en charge de l'hème et de l'hémine par l'hémopexine**

Lors du relâchement de l'hème dans les vaisseaux sanguins, l'hème peut être oxydé en hémine. L'hème et l'hémine libres sont pris en charge par l'hémopexine, qui les transporte à l'intérieur des cellules par endocytose via la liaison du récepteur LRP/CD91.

### 1.2.3.1 Mécanisme d'action et fonction de l'hémine

Au niveau moléculaire, il est connu que l'hémine possède diverses fonctions de signalisation [20]. Plus spécifiquement, il a été démontré chez les cellules érythroleucémiques K562, que l'hémine peut induire la liaison de facteurs de transcription, tels que le *FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog B* (FosB) et le Nrf2 à l'antioxydant responsive element (ARE) situé en amont de gènes, tel que celui de la ferritine H, résultant en une activation de la transcription du gène. Cela a pour conséquence d'augmenter le niveau d'ARN messager codant pour la ferritine H et enfin de la ferritine elle-même. La ferritine est une protéine qui permet la prise en charge et le stockage du fer, ce qui permet ultimement l'utilisation du fer pour des procédés intracellulaires, tel que la différenciation érythroïde

ainsi que l'hémoglobiniisation. Une telle augmentation de la ferritine en présence d'hémine permet donc d'augmenter la capacité cellulaire en stockage de fer [28]. Il est aussi connu que l'hémine induit l'expression de la thioredoxine dans les cellules K562. La thioredoxine est une protéine ayant plusieurs rôles dans la protection physiologique de la cellule contre des conditions de stress oxydatif. Ainsi, l'hémine induit la liaison du complexe Nrf2-Maf sur l'ARE situé dans le promoteur de la thioredoxine, ce qui régule positivement l'expression du gène. Plus particulièrement, la région -452 à -420 serait fortement impliquée dans la réponse à l'hémine. La liaison de facteurs de transcription à l'ARE est donc importante pour l'activation de la thioredoxine en réponse à l'hémine [29]. La façon dont l'hémine permet la liaison de facteurs de transcription à certaines régions promotrices est peu décrite dans la littérature. Il est tout de même connu que l'hémine lie le répresseur transcriptionnel Bach-1 et modifie sa conformation [22]. Cela permettrait donc au complexe Bach-1-Maf de se dissocier et ainsi permettre au complexe activateur Nrf2-Maf de se former afin de lier et activer le promoteur [28]. De plus, il a été démontré que l'hémine induit la transcription de la *Heat shock protein 70* (HSP70) chez les cellules K562, particulièrement lors de leur différenciation érythroïde [30]. En effet, en présence d'hémine, il y a accumulation du niveau d'ARNm codant pour HSP70, protéine du choc thermique. Il a été suggéré que le promoteur contient des séquences qui répondent positivement à l'hémine, permettant ainsi une régulation directe de la transcription [30]. En résumé, l'hémine engendrerait la modification de la conformation de diverses protéines, tels que des facteurs de transcription, favorisant leur liaison à une séquence spécifique, nommé *antioxydant responsive element* (ARE), dans la région promotrice de certains gènes. Ainsi, l'hémine permet l'activation de ces gènes via leur ARE. Ces facteurs de transcription ciblent, la plupart du temps, une séquence ou un motif spécifique sur cet ARE. Cette liaison spécifique entraîne donc une augmentation de l'expression du gène ciblé, ce qui résulte en un effet sur le comportement cellulaire. L'hémine module donc l'expression génique via son effet régulateur au niveau transcriptionnel [27-29]. Ainsi, le spectre d'action de l'hémine peut être varié selon la nature des gènes ciblés. Plus précisément, il est connu que l'hémine est un régulateur de l'expression génique chez les cellules de leucémie myéloïde chronique K562, ainsi que chez les cellules souches hématopoïétiques [27-29, 31]. De plus, l'hémine régule l'homéostasie cellulaire, ainsi que la différenciation cellulaire, particulièrement la différenciation érythroïde, chez les cellules

K562 [27, 28]. De plus, elle active l'hème oxygénase, en réponse au stress oxydatif [27]. Enfin, il est connu que l'hémine régule l'activation de l'expression du gène de la globine fœtale et embryonnaire chez les cellules K562 [27, 32], mais aussi chez les CSH impliquées dans un processus de différenciation érythroïde [27, 31].

### **1.2.3.2 L'hémine comme agent thérapeutique**

L'hémine humaine est utilisée en clinique et connue commercialement sous l'appellation Normosang® en Europe [33] et Panhematin® aux États-Unis [34]. Présentement, l'hémine humaine est approuvée comme traitement pour les attaques aiguës de porphyrie, une maladie héréditaire rare liée à un déficit en enzymes de biosynthèse de l'hème. Il existe différents types de porphyrie selon l'enzyme déficitaire. Ce déficit enzymatique cause une accumulation des différents précurseurs retrouvés dans le cycle de biosynthèse de l'hème. L'accumulation de ces précurseurs peut se faire dans le foie, résultant en une porphyrie hépatique ou dans la moelle, résultant en une porphyrie érythropoïétique. C'est l'accumulation de ces précurseurs toxiques qui cause les attaques de porphyrie. La maladie se manifeste par des douleurs abdominales et lombaires intenses, vomissement et constipation, hypertension, tachycardie et pouvant aller jusqu'à des troubles neuropsychiatriques pouvant augmenter les risques de décès. Le traitement du patient avec l'hémine humaine vient alors rétablir la déficience en hème, en incorporant diverses hémoprotéines et active la boucle de rétroaction négative, ce qui empêche l'activation du cycle de biosynthèse de l'hème et empêche ainsi l'accumulation des précurseurs toxiques. Le traitement à l'hémine humaine vient donc cibler directement la cause moléculaire de la maladie [35, 36]. Au Canada, l'hémine humaine a comme seule application clinique le traitement des attaques aiguës chez les patients atteints de porphyrie. Au Québec, ce produit est distribué par Héma-Québec et est encadré par le programme d'accès spécial de Santé Canada.