

# Nouveaux mécanismes de dysfonction endothéliale dans la phase précoce de l'hémolyse intravasculaire

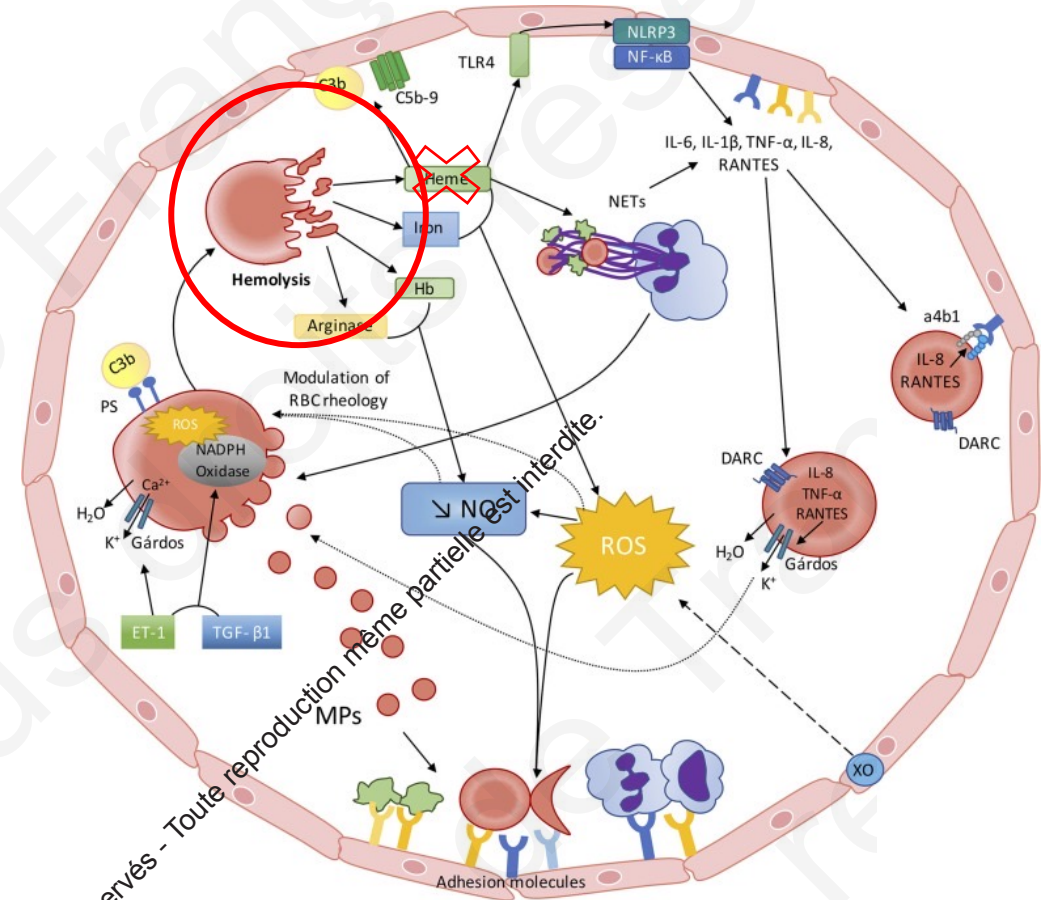
**Kim-Anh NGUYEN-PEYRE**

*Equipe Pirene EFS/INSERM U955 IMRB Créteil Mondor*

2021 © Société Française de Transfusion Sanguine. Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

# Hémolyse intravasculaire (HI) et dysfonction endothéliale

- ↗ **Hémoglobine (Hb) « libre »** : > 0,1 g/L
- Libération de l'Hème libre après oxydation
- Héritaire ou acquise : Hémolyse post transfusionnel retardé (HPTR)

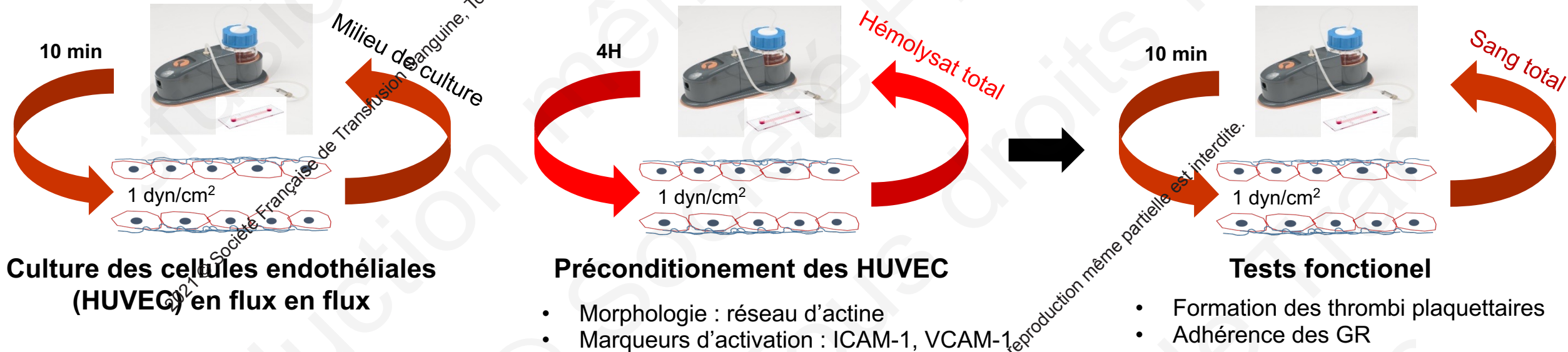


Mécanismes impliqués dans dysfonction endothéliale au cours de l'HI

(Nader Front Immunol 2020)

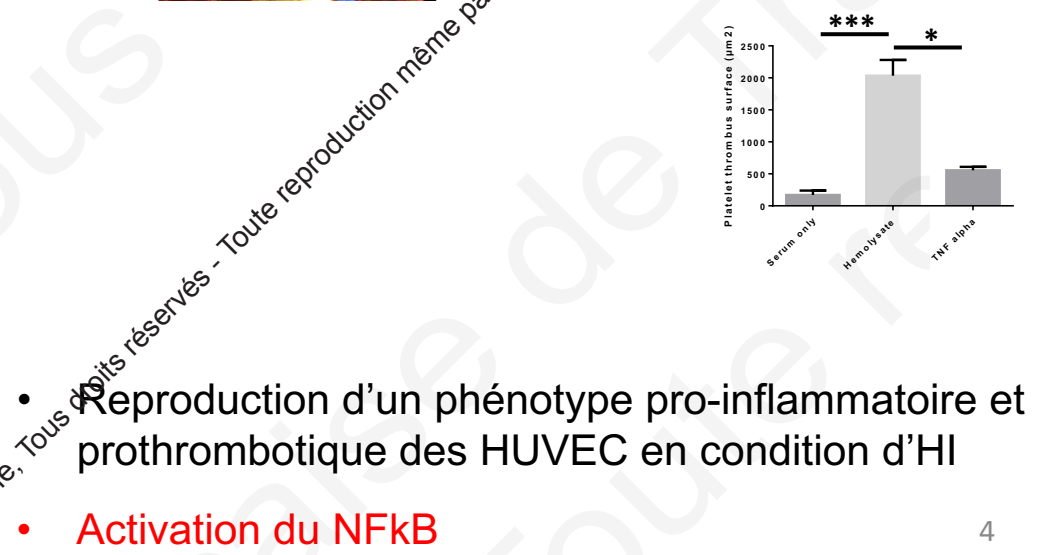
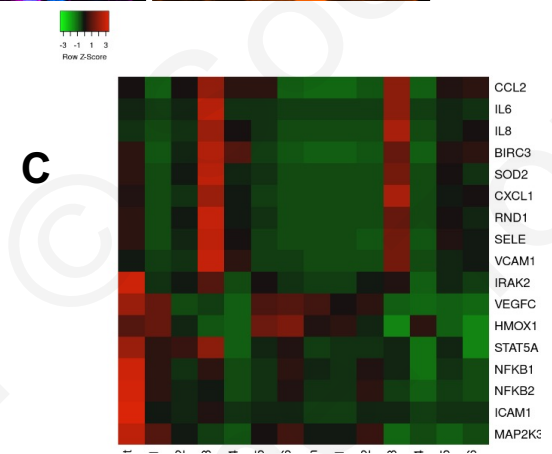
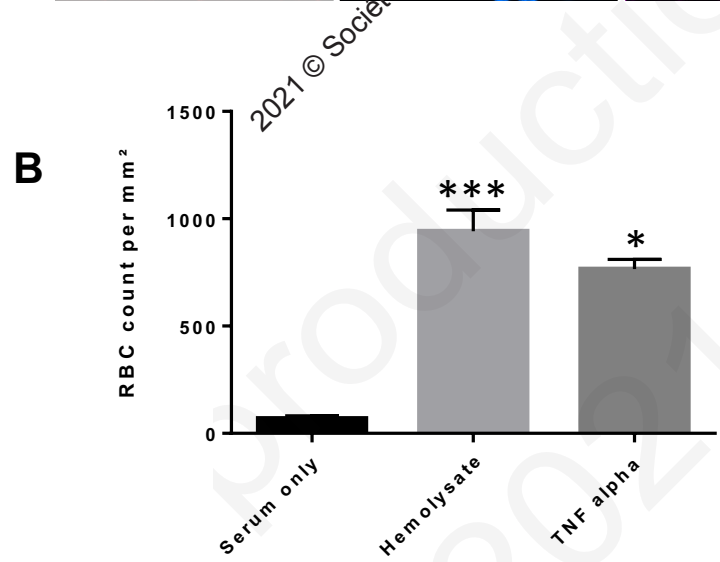
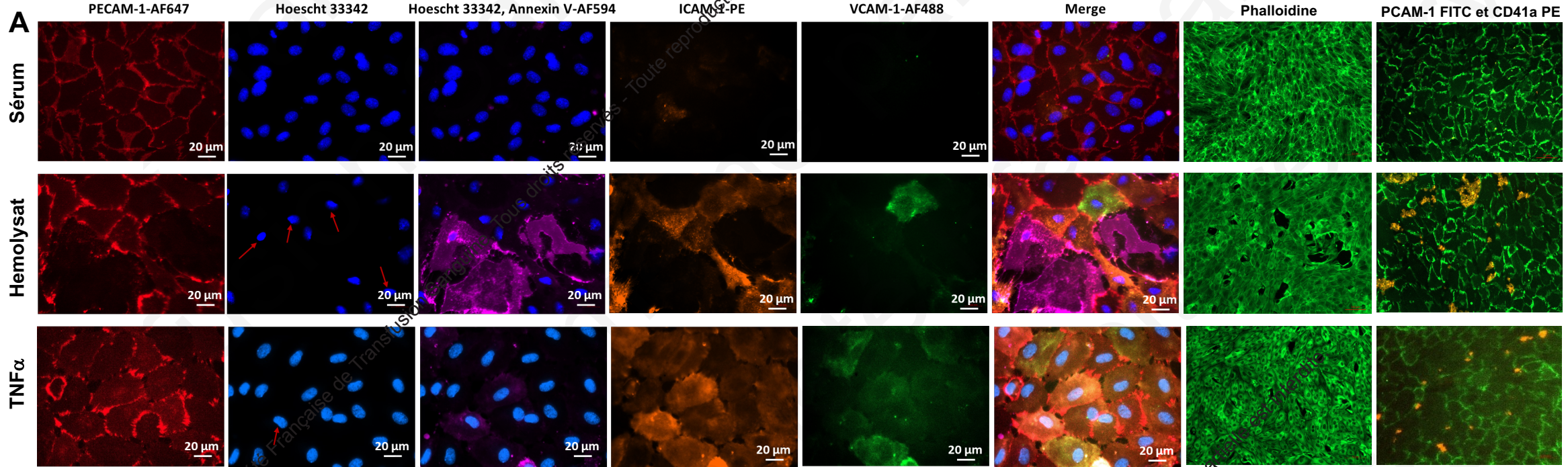
# Modèle fluide reproduisant l'hémolyse intravasculaire

- Phase précoce
- Lyse de 10% de globules rouges (GR) (Ht 25%) → **Hémolysat total** reconstitué en sérum compatible (Hb libre 450  $\mu$ M, débris érythrocytaires, PAS d'Heme,)

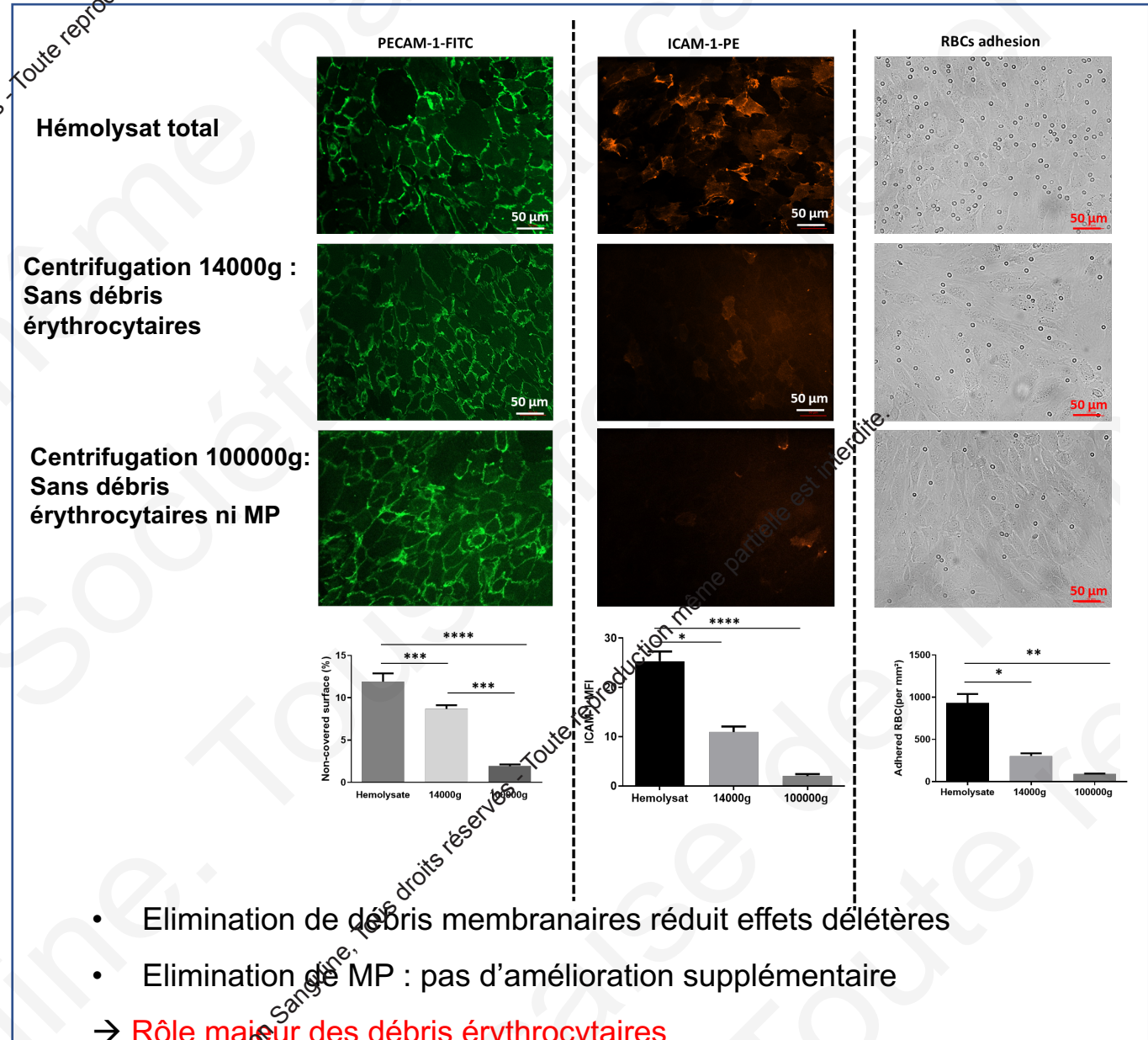
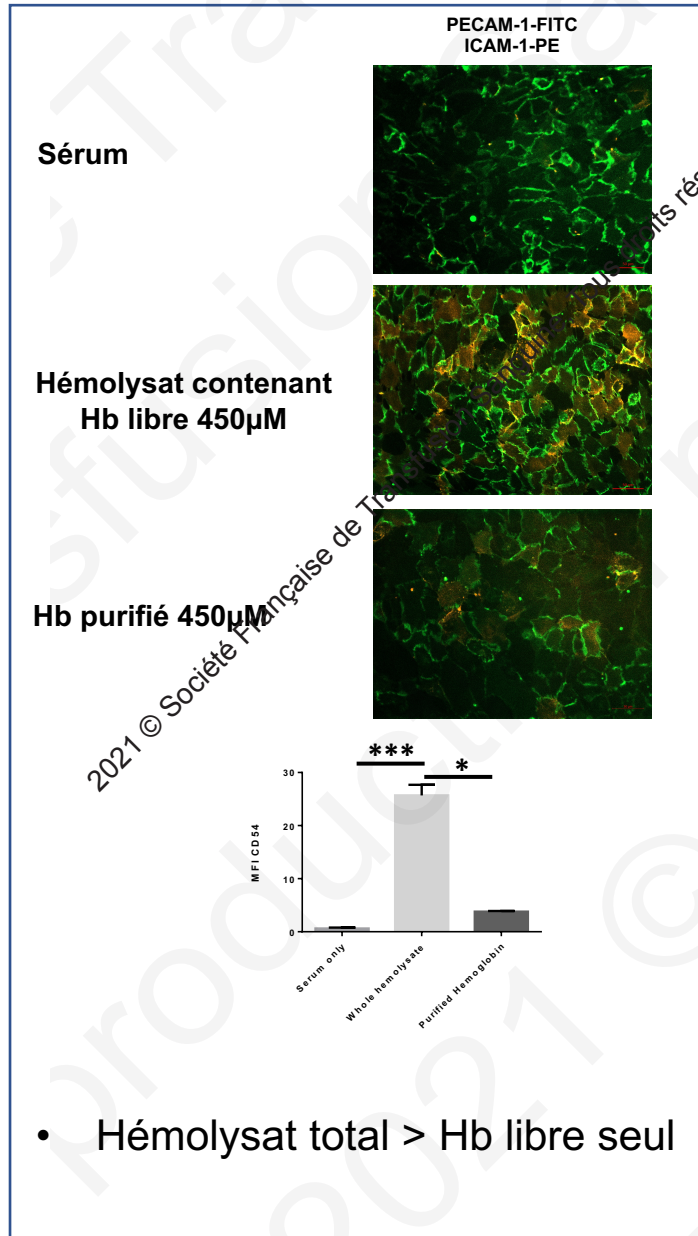


Modèle fluide reproduisant l'hémolyse intravasculaire

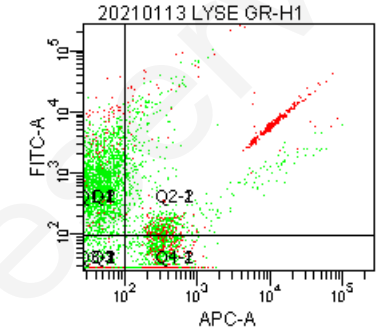
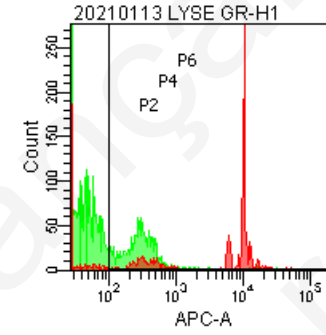
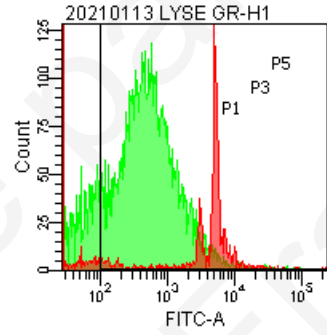
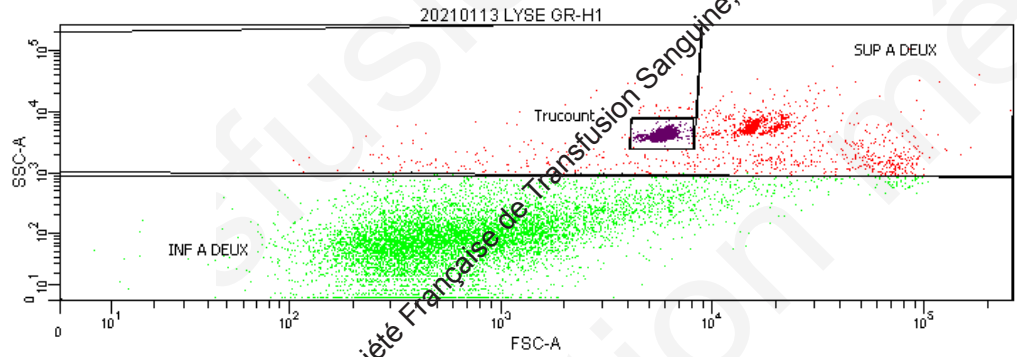
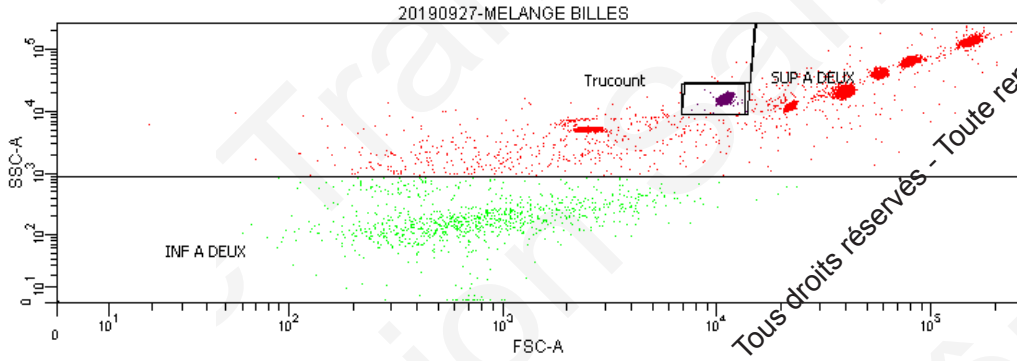
# Lésions endothéliales induites par l'hémolyse intravasculaire



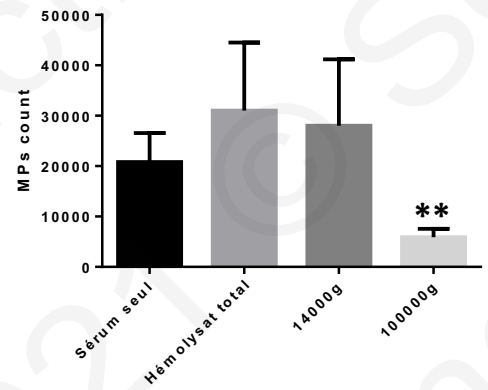
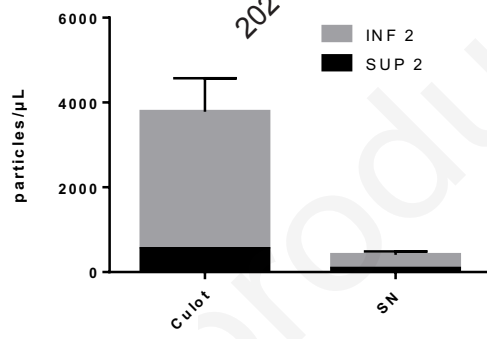
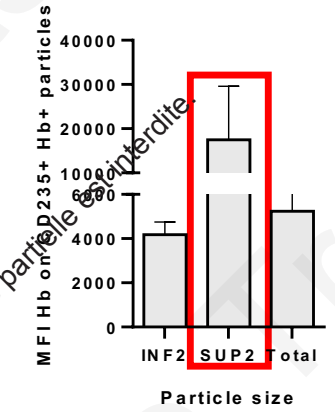
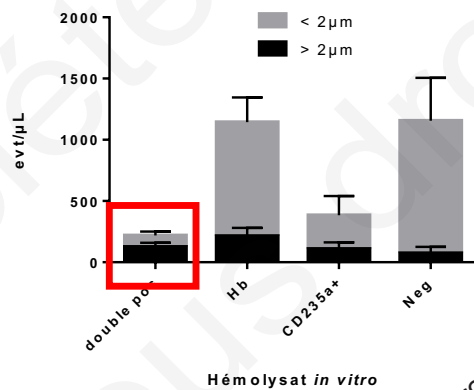
# Impact des composants d'hémolysat sur la dysfonction endothéliale



# Caractérisation des débris érythrocytaires



FITC : Hb  
APC : CD235a



➤ Hypothèse 1: Rôle de l'Hb chargé sur la surface des débris érythrocytaires dans leur effets délétères?

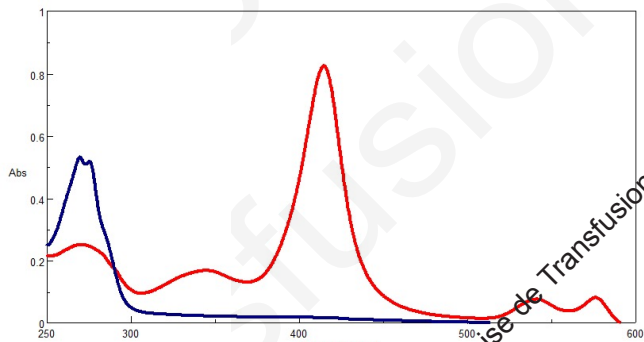
Centrifugation 14000 g

Quantification de microparticules (Billes MegaMix-Plus SSC)

# Hémolysat total vs ghost

Débris érythrocytaires sans (réduit) Hb à la surface : Ghost (GR vidé en Hb)

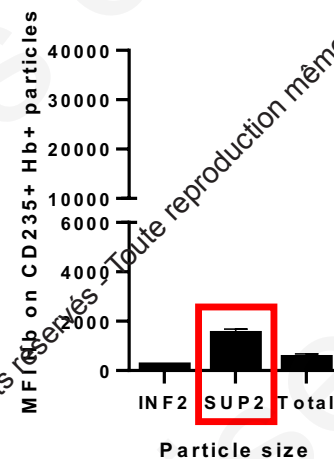
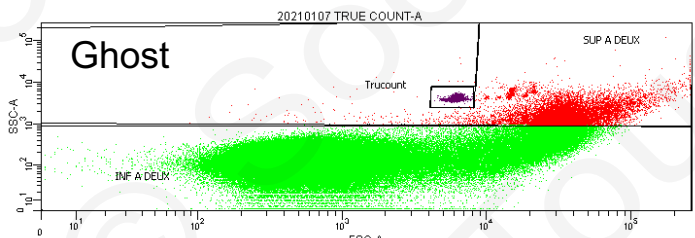
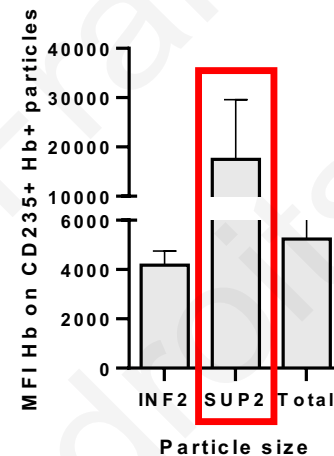
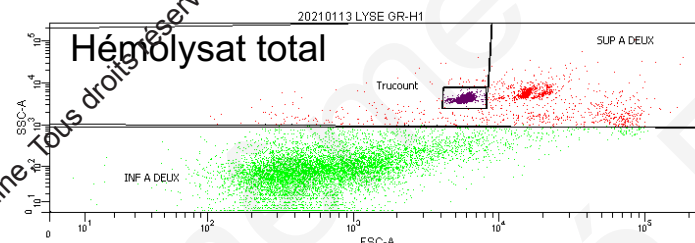
## Mesure de l'Hb (Spectrophotométrie)



— Hémolysat

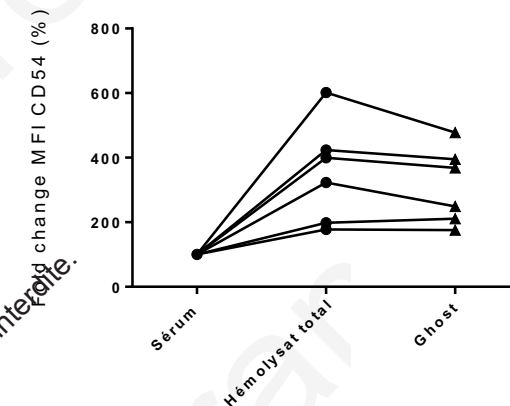
— Suspension Ghost (sérum)

## Détection de l'Hb sur la surface des particules (FACS)



Réduction 10 fois de charge en Hb sur les particules érythrocytaires

## Impact sur l'activation endothéliale

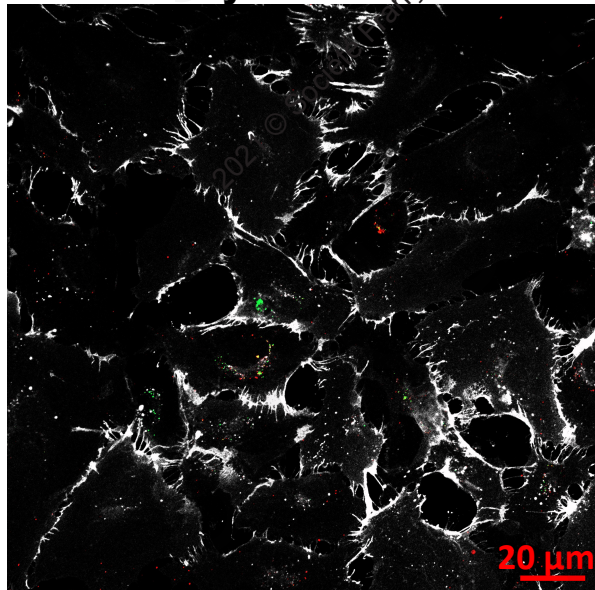


Impact similaire sur l'activation endothéliale

→ Hb chargé sur les particules érythrocytaire : pas d'impact sur les effets délétères

# Impact des particules érythrocytaires sur l'activation des cellules endothéliales

Hémolysat total



Suspension ghost

Hémolysat 14000 g

Hémolysat 100 000g

Hb purifié

**Hypothèse 2 : GPA aurait faciliter l'endocytose de Hb → Activation des HUVEC ?**

- Hb intracellulaire était similaire dans toutes conditions contenant Hb libre
- Hb et GPA intracellulaire : Pas d'impact sur l'activation endothéliale



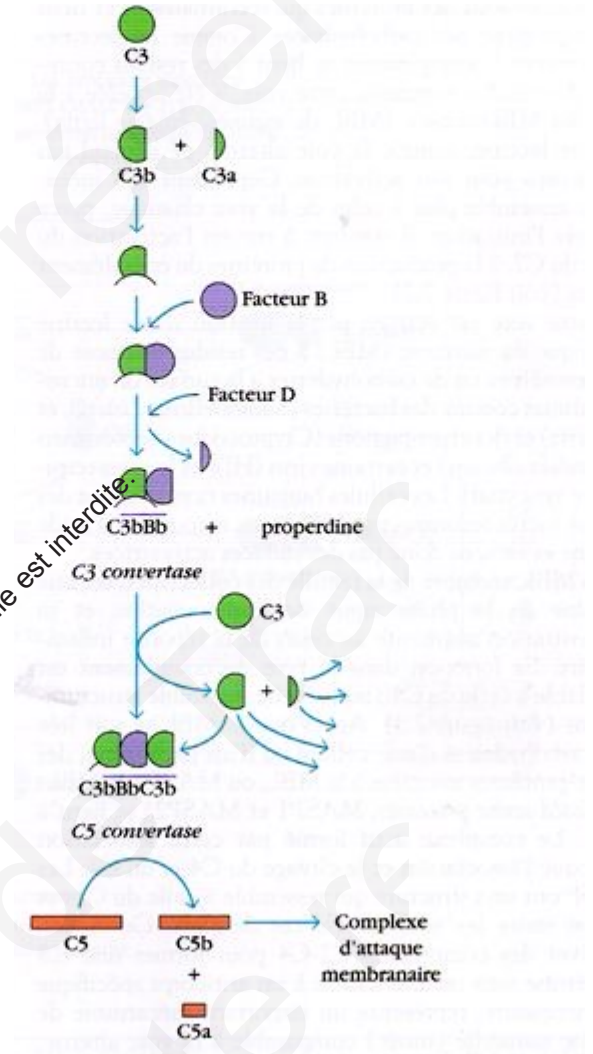
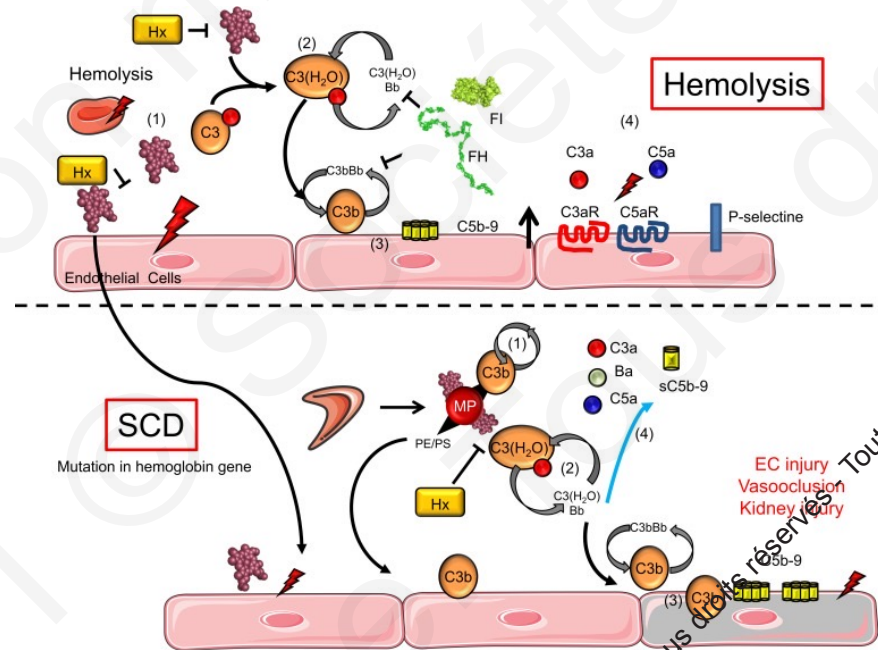
# Conclusions

- **Phase précoce de l'HI** (Absence de l'hème) : Reproduction des lésions endothéliales via NFκB par le modèle fluidique
- **Hb libre** :
  - ✓ Activation endothéliale modéré < hémolysat total
  - ✓ Endocytose (\*), similaire dans toutes conditions d'hémolysat
- **Rôle majeur de débris érythrocytaires (particules de grand taille)**

## Et perspectives...

Autre hypothèses :

- 1, Activation de la voie alterne du complément dans le sérum autologue par les particules PS(+) (Wang et al JCI 1993)
- 2, Activation et dépôt du complément sur les cellules endothéliale (amplifié par Hb)



# REMERCIEMENTS

## INSERM U955 IMRB

### Équipe 2, EFS Recherche Créteil

Pr Pablo Bartolucci

Pr France Pirenne

Laurent Kiger

Gwellaouen Bodivit

Benoit Vingert

Véronique Baudin-Creuz

Christian Kassassaya

Laura Bencheikh

Nicolas Hébert

Alicia Jouard

Philippe Chadebech

Sadaf Pakdaman

### Plateforme imagerie

Xavier Decrouy

### Équipe Lelièvre

Hakim Hocini

Cécile Lefèbvre

## **Centre de référence des syndromes drépanocytaires majeures Hôpital Henri-Mondor**

Pr Frédéric Galactéros

Dr Anoosha Habibi

## **Les patients et les donneurs de sang**