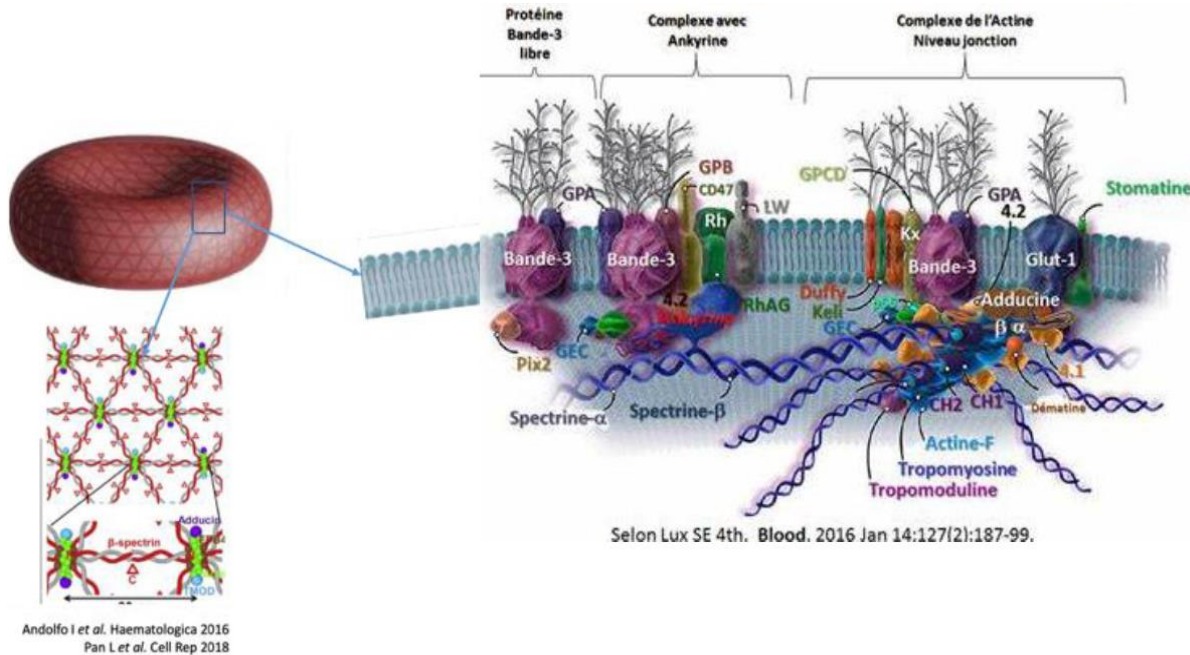


Étude du rôle de la rate et de la pertinence d'un outil splénomimétique dans la sphérocytose héréditaire.

Alexis Lavergne
U1134 – Equipe 4 BioTiGR - Groupe Dr
Camille Roussel

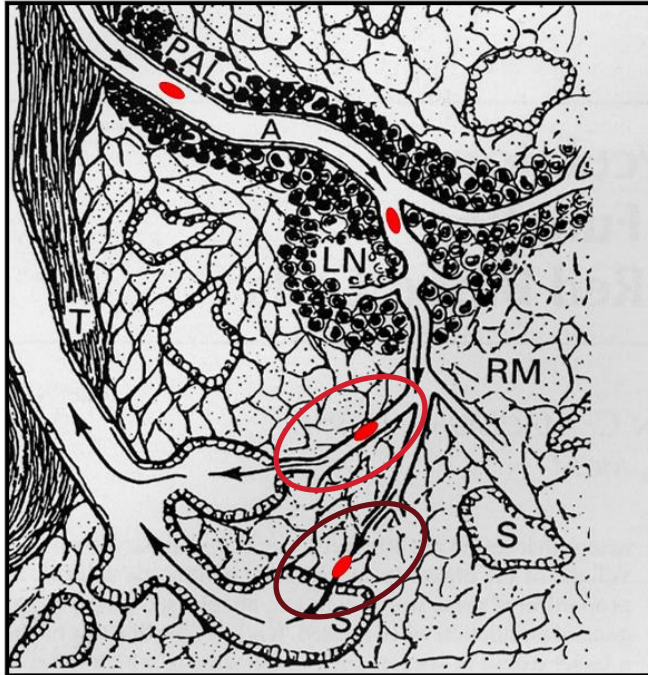
17e Journée de la filière MCGRE

Membrane du globule rouge (GR)



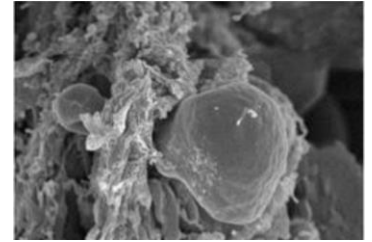
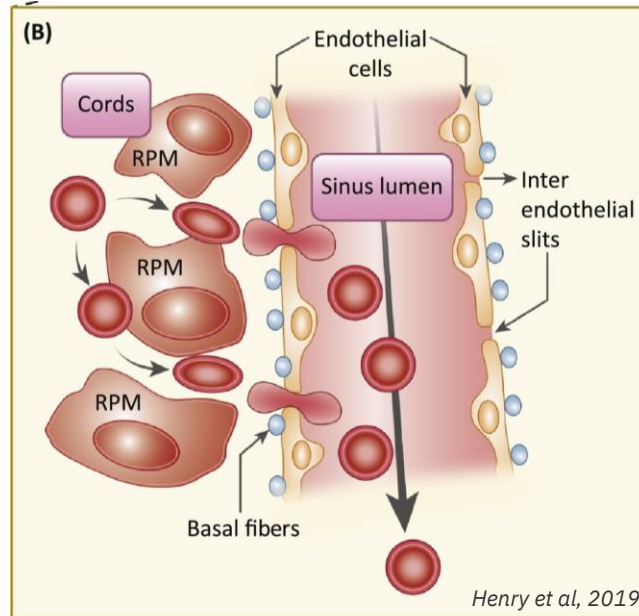
Interactions horizontales et verticales entre membrane plasmique et cytosquelette
+ rapport $S/V \gg 1$ de l'érythrocyte
→ La circulation dans les capillaires étroits de la microcirculation où il va subir d'importantes déformations

Contrôle qualité des globules rouges par filtration dans la rate



Groom et al. 1970 - 1991

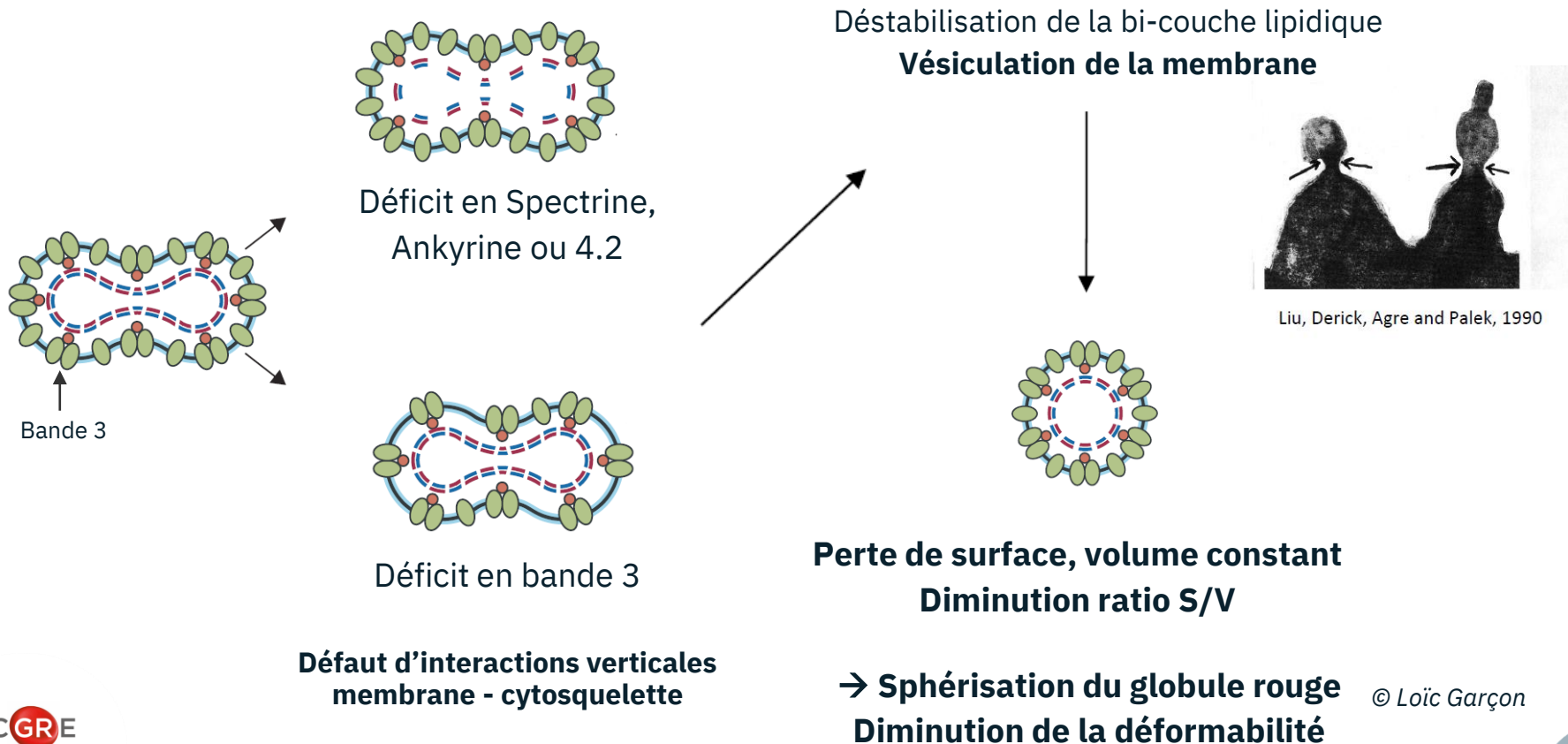
Circulation rapide et fermée
Circulation lente et ouverte



Buffet et al. Blood. 2011

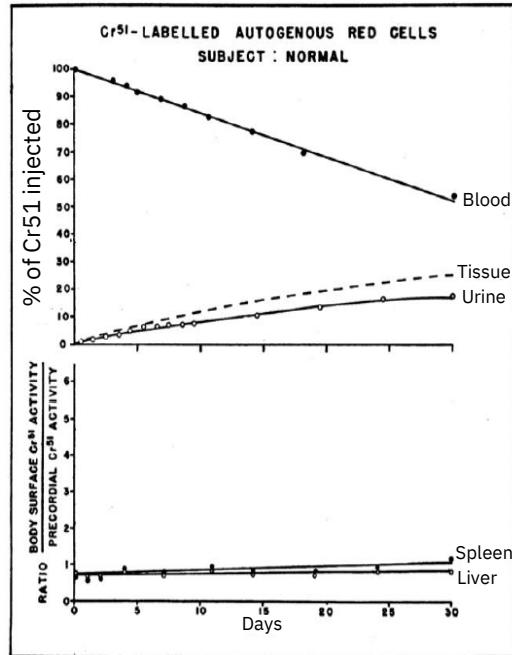
L'une des principales fonctions de la rate est l'élimination des globules rouges vieillissants ou pathologiques, par un procédé de filtration dépendant de la déformabilité du globule rouge.

Physiopathologie de la sphérocytose héréditaire

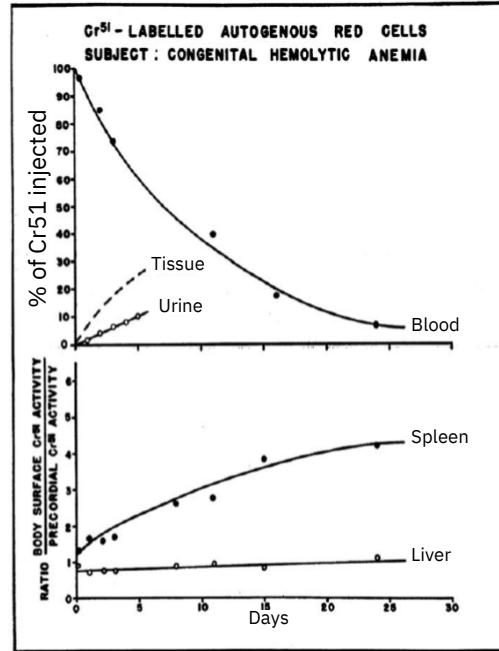


Site d'élimination des sphérocytes dans la sphérocytose héréditaire (SH)

Sujet Sain :



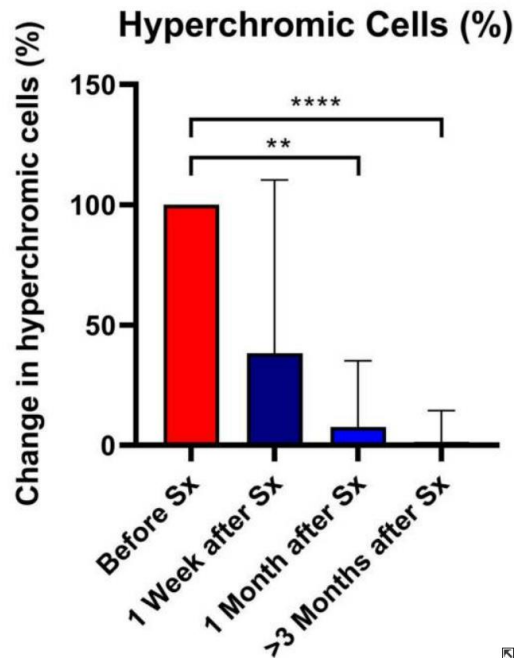
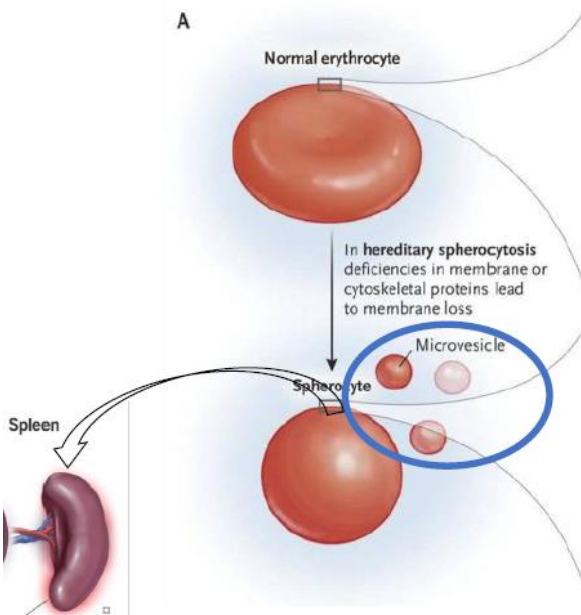
Patient SH :



Jandl JH et al. J Clin Invest. 1956

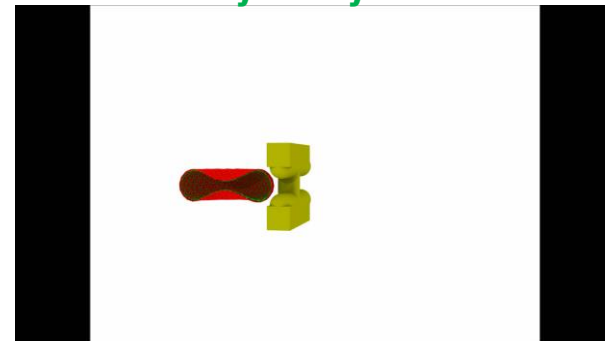
- Les sphérocytes vont être éliminés dans la rate
- ➔ La splénectomie est le traitement de référence dans les formes sévères

La rate, un potentiel site de formation des sphérocytes

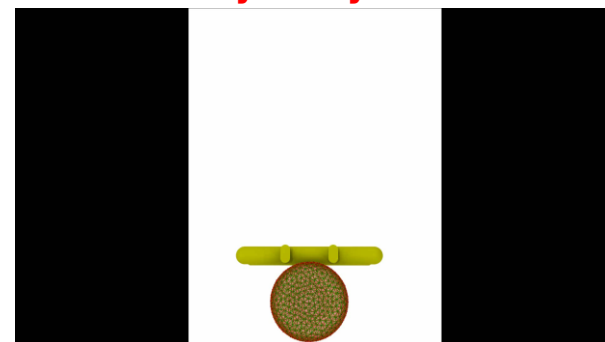


Berrepoets MC et al. *Front Physiol.* 2021

Érythrocyte Sain :



Érythrocyte SH :



Li H et al. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018

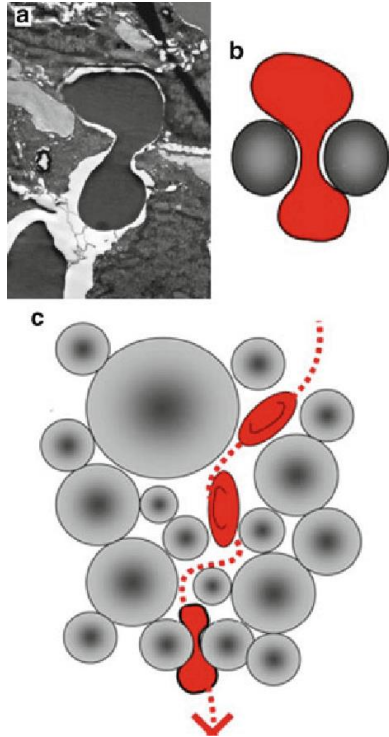
- Vésiculation entraînant une perte de surface lors du passage dans la fente inter-endothéliale

Objectifs du projet Sphérospleen :

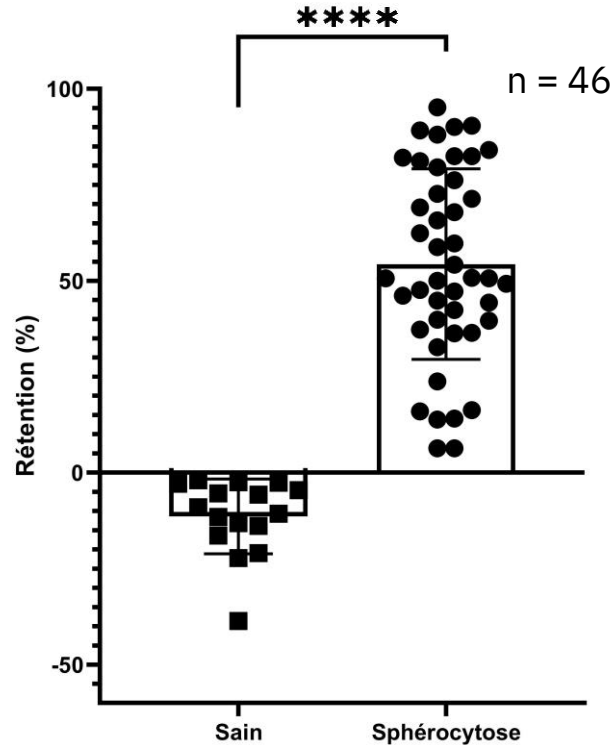
- **Étudier la pertinence des outils splénomimétiques (microsphiltration) dans l'évaluation de la sévérité de la sphérocytose héréditaire et orienter l'indication de splénectomie**
- Développer les connaissances sur le rôle de la rate dans la physiopathologie de la SH – Formation de sphérocytes - Élimination des sphérocytes

Outils splénomimétiques : La microsphiltration

Résultats non-publiés



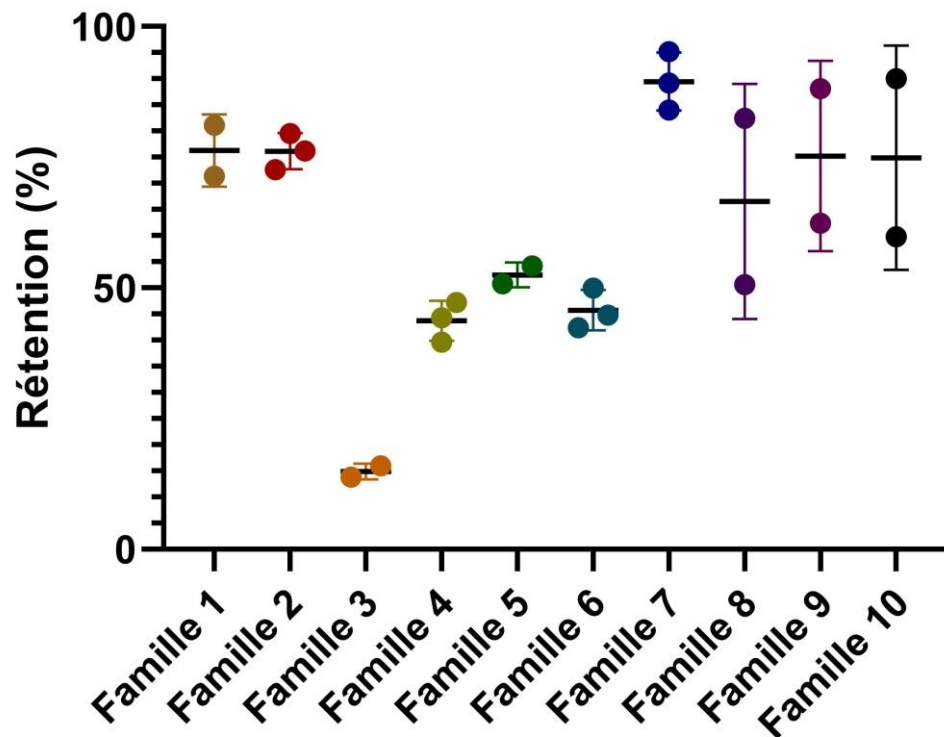
G. Deplaine et al. Blood. 2011



➤ Variabilité des valeurs de rétention dans la sphérocytose héréditaire
→ Sévérité de la maladie ?

La rétention des globules rouges est similaire au sein d'une famille sphérocytaire

Résultats non-publiés



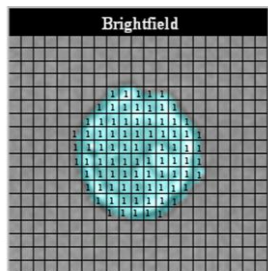
Plus le globule rouge est petit, plus il est retenu

Résultats non-publiés

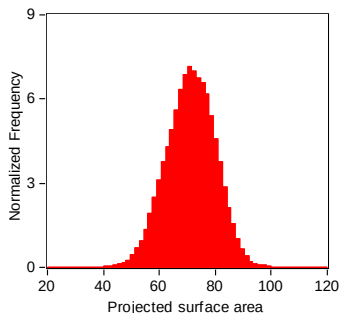
Imagerie en flux: imagestream



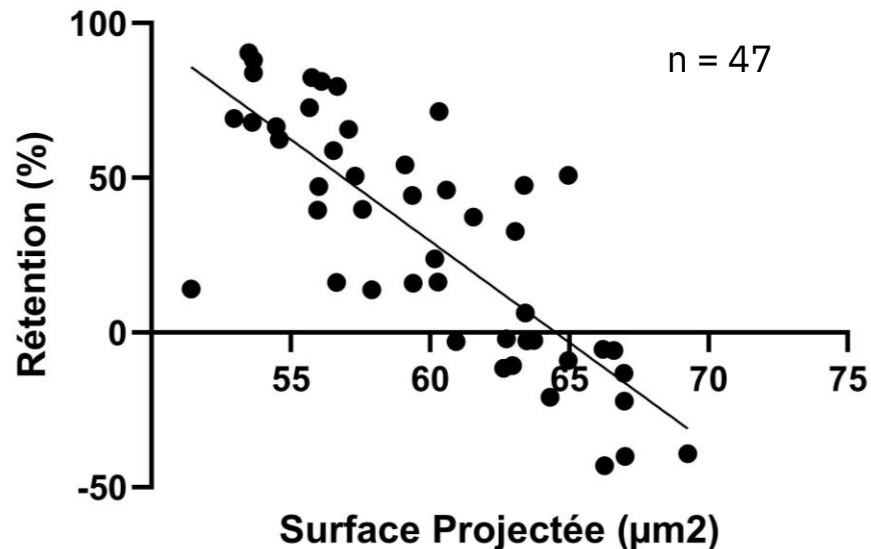
Image brightfield



Histogramme de fréquence



Corrélation : Rétention/surface



Corrélation (Spearman r) :

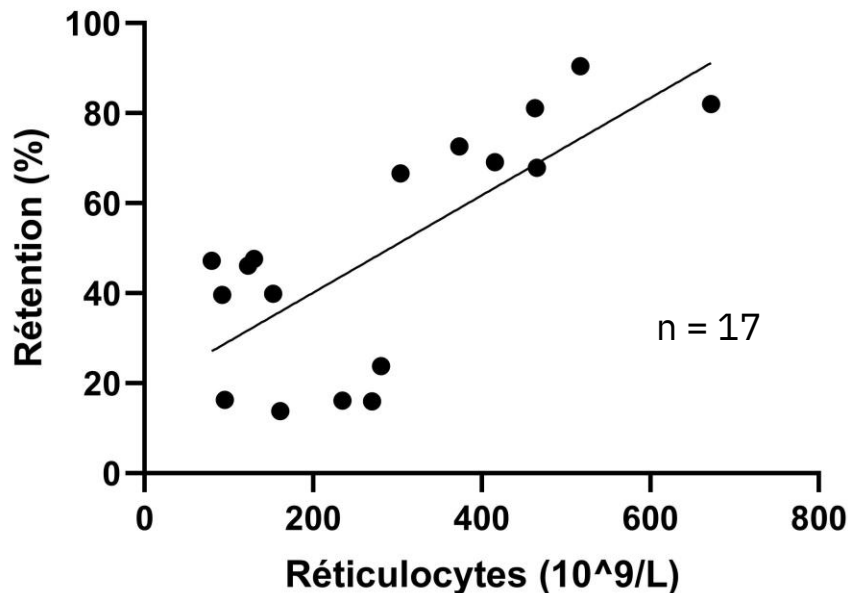
$r = -0,8014$

P value < 0,0001

La microfiltration corrélée à la sévérité de la SH

Résultats non-publiés

Corrélation : Données cliniques

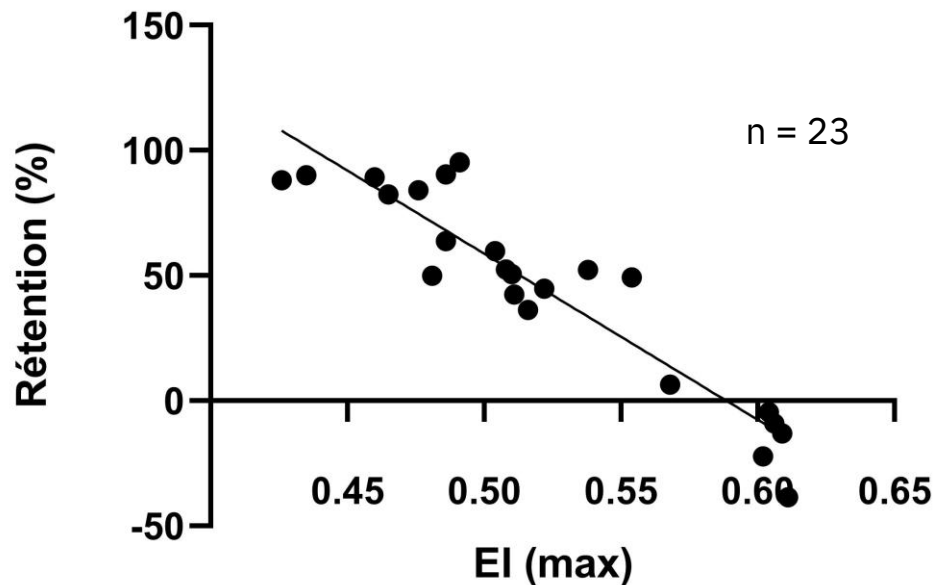


Corrélation (Spearman r) :

$r = 0,7329$

P value < 0,0008

Corrélation : Technique de référence (ektacytometry)



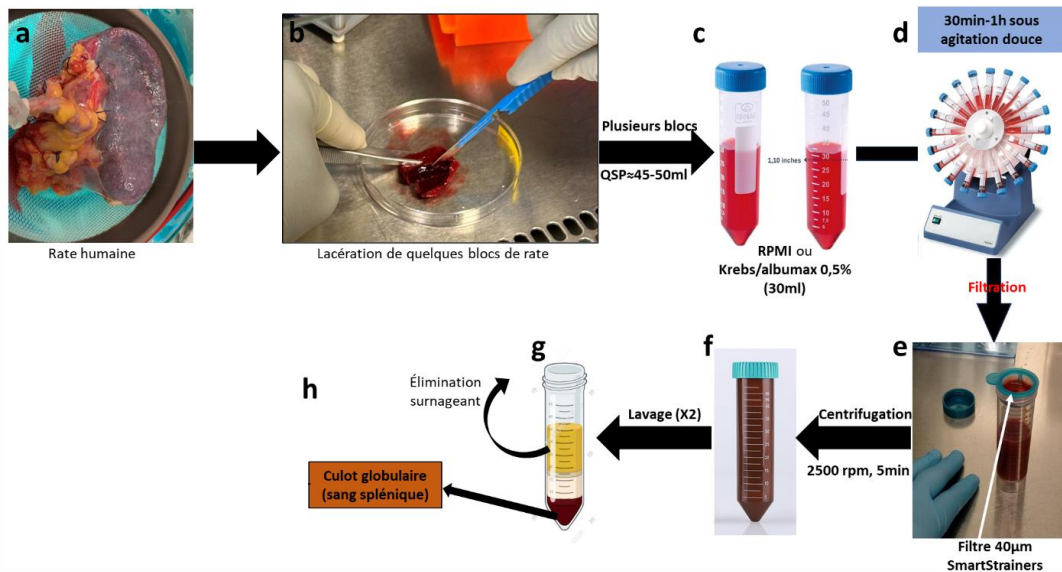
Corrélation (Spearman r) :

$r = - 0,8826$

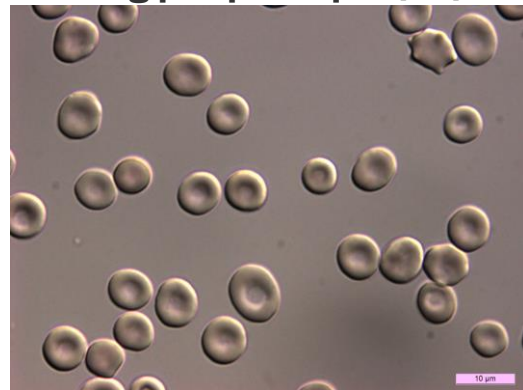
P value < 0,0001

Protocole : Réception fragment de rate

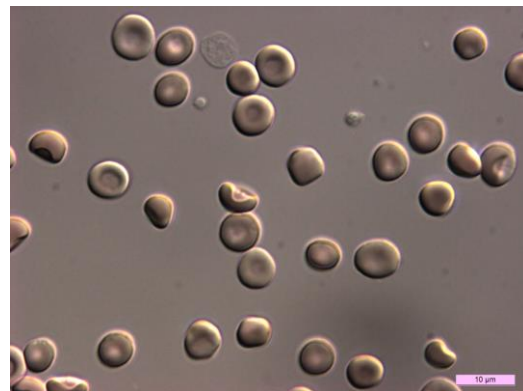
Sang splénique, Sliced blood (SB) :



Sang périphérique (SP) :



Sliced blood (SB) :



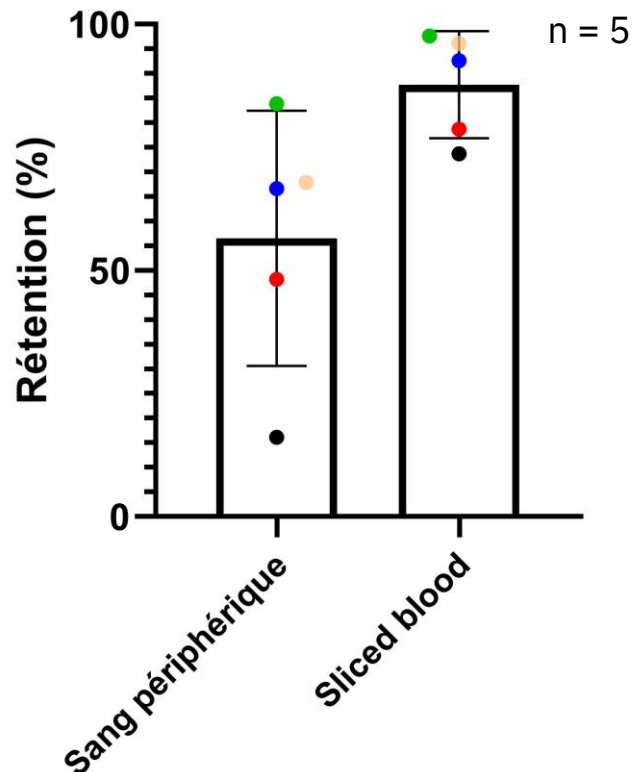
Zang et al. Zhongguo Yao Li Xue Bao. 1990
Kho S et al. PLoS Med. 2021

© Abdoulaye Sissoko

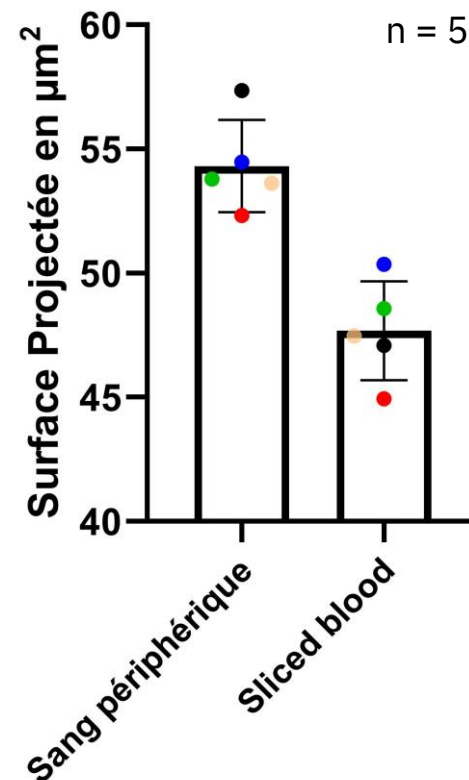
Les globules rouges présents dans la rate sont plus retenus

Résultats non-publiés

Rétention des globules rouges

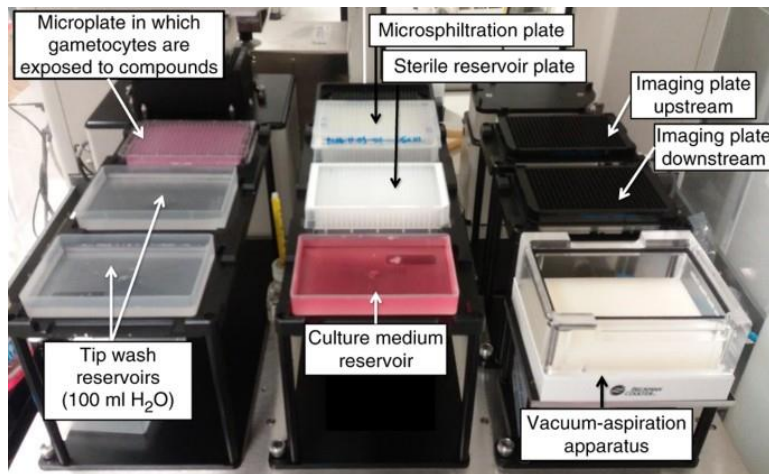


Surface des globules rouges



La microfiltration, potentiel criblage médicamenteux dans la SH

Photo du plateau avant le démarrage d'une séquence automatisée de microfiltration :



Duez J et al. Nat Protoc. 2018

Carucci M et al. Nat Commun. 2023

- **Aucun traitement médicamenteux à ce jour**
- **Risque lors de la splénectomie**
- **Risque post-splénectomie (infectieux et thromboembolique)**
- **Traitement stabilisation des interactions entre la membrane et le cytosquelette → Eviter la splénectomie**

- **Plaque 384 puits**
- **Automatisation de la technique**



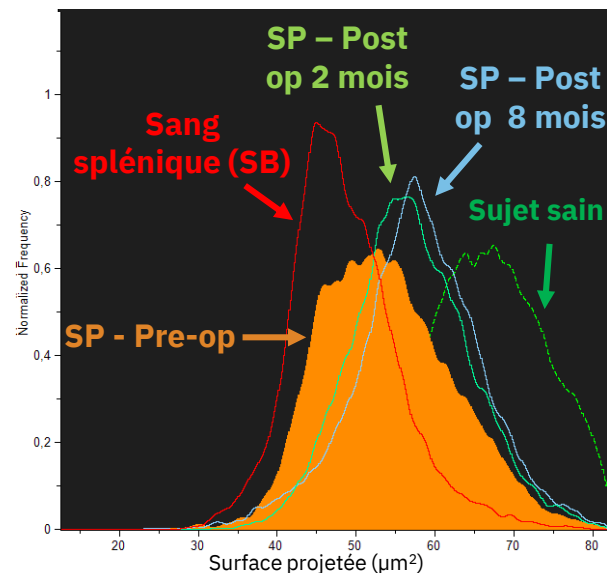
Objectifs du projet Sphérospleen :

- Étudier la pertinence des outils splénomimétiques (microsphiltration) dans l'évaluation de la sévérité de la sphérocytose héréditaire et orienter l'indication de splénectomie
- **Développer les connaissances sur le rôle de la rate dans la physiopathologie de la SH - Formation de sphérocytes - Élimination des sphérocytes**

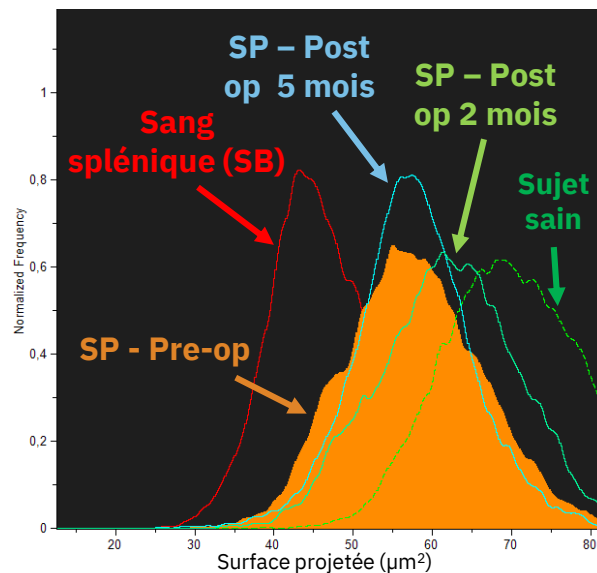
La rate, potentiel site de formation des sphérocytes

Résultats non-publiés

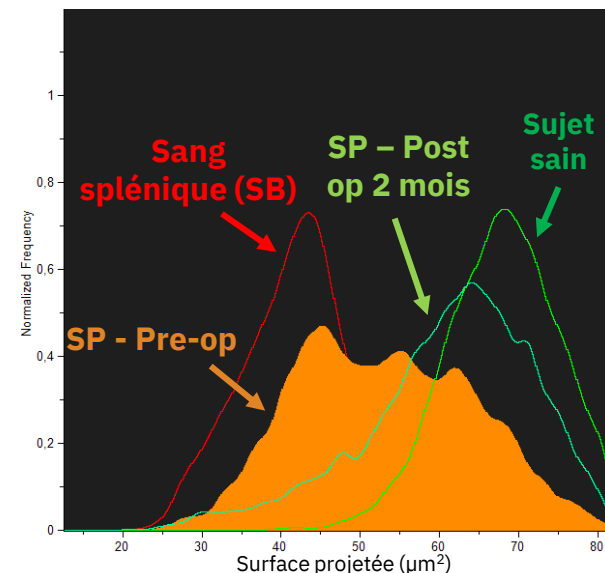
SH n°1 :



SH n°2 :



EH n°1 :



	Surface projetée (µm²)				
	Sang splénique	SP - Pre op	SP - Post op 2 mois	SP - Post op 5-8 mois	Sujet sain
SH n°1	48,57	53,8	56,73	57,34	68,09
SH n°2	47,09	57,35	61,92	57,3	70,05
EH n°1	44,94	52,33	62,75		68,6

Apparition d'une rate accessoire et 5% de pocked cells

Perspectives

- ✓ La microsphiltration comme nouveau marqueur de sévérité haut débit dans les pathologies de membrane du globule rouge
- ✓ Rétention similaire au sein d'une famille → Corrélation Mutation(s) ?
- ✓ Potentiel criblage médicamenteux dans la sphérocytose héréditaire
- ✓ Analyse microscopie électronique de rate sphérocytaire

Remerciements



Biologie intégrée du globule rouge - INSERM UMRS-1134

- **Camille Roussel**
- **Zeynep Cacan**
- Aurélie Fricot
- Raphaël Gauthier
- Sandy Peltier
- Valentine Carret
- Lucie Dumas
- Abdoulaye Sissoko
- **Pierre Buffet**
- Tous les membres de l'équipe 4



- **Corinne Guitton**
- **Sandra Manceau**
- **Loïc Garçon**
- Véronique Picard
- Slimane Allali
- Marianne De Montalembert
- Joséphine Brice
- Laure Joseph
- Jean Benoit Arlet
- Emilia Ragot



- Michaël Dussiot



- Yohann Demont

Financement du projet :

- Filière MCGRE
- DMU BioPhyGen APHP.centre
- CGRF

