

10 - 12
MAI
2023



Impact du déficit en FII, FVIII ou FIX sur la minéralisation osseuse dans un modèle animal (Zebrafish)

Brigitte Tardy

Palais des Congrès
SAINT-MALO
Le Grand Large

Liens d'intérêt

Généraux: Sobi, Roche, Novo, Pfizer, CSL, Takeda, Octapharma

Pour ce travail: aucun

Physiopathologie de la Perte osseuse chez le patient hémophile

Chez le patient hémophile, la perte osseuse est multifactorielle

Paschou et al, Osteoporos Int, 2014

On sait que cette perte osseuse est liée à:

- * Diminution de l'activité physique, arthropathie, déficit en Vit D, infection HIV ...
- * Déficit en FVIII ou FIX (souris knockout)

Liel MS et al, Br J Haematol, 2012

Larson EA, Calcif Tissue Int, 2021

Ce que l'on ne sait pas:

- Effet du déficit VIII ou IX sur la perte osseuse est **direct ou indirect** par le biais d'une diminution de la génération de thrombine ?
- **Réversibilité** de la perte osseuse après correction du déficit en FVIII ou FIX ?

Materiels et méthode

- **Zebrafish:** Plateforme Azelead (Montpellier)
 Système hémostatique (incluant FVIII, FIX et FII)
 hautement conservé (génome et activité des protéines)
 Modèle animal déjà utilisé pour évaluer l'ostéoporose



Adulte (120 jours)
 Taille de 18 à 40 mm

Raghunath A et al, Res Pract Thromb Haemost, 2022

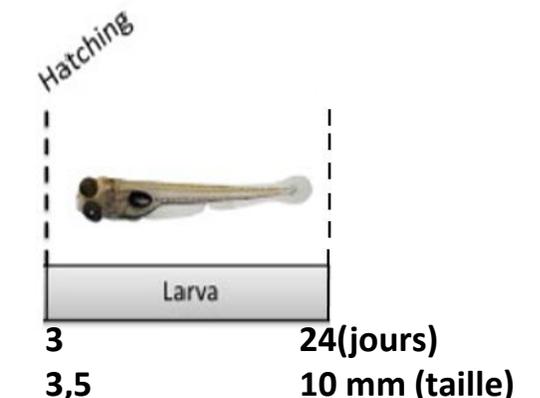
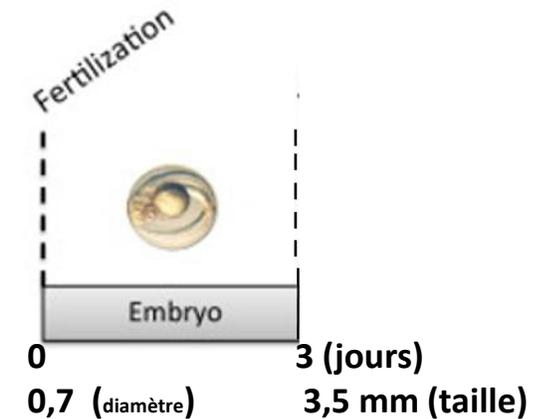
- **Morpholinos (MO)** (oligonucléotides antisens ciblant l'ARNm):
Inactivation de l'expression des gènes fII, fVIII et fIX **réversible**
Disparition progressive des morpholinos dans le temps

Day K, Blood Cells, Molecules, and Diseases, 2004

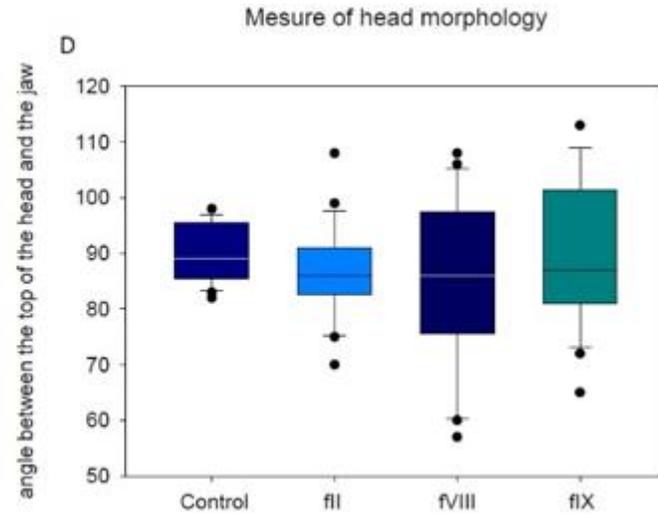
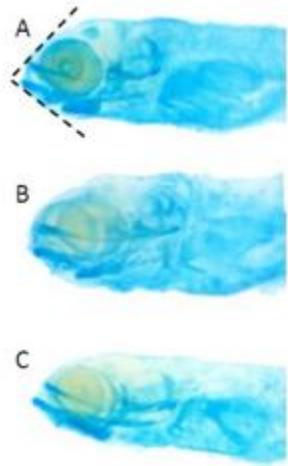
- **Coloration et observation des larves MO (morphants)**
- à 6, 10 et 20 jours post fécondation (jpf):

Cartilage coloré au bleu alcian

Os coloré au rouge alizarine



Résultats: Dysmorphie faciale à 6jpf



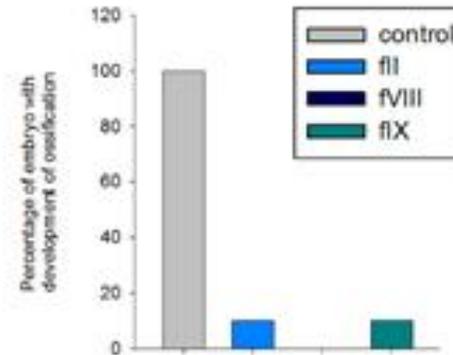
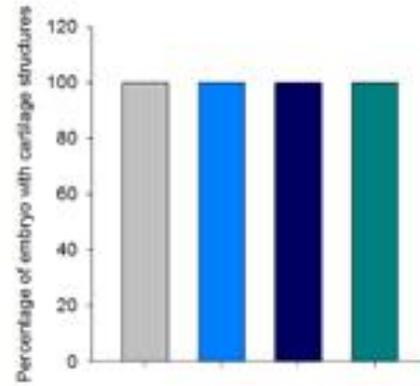
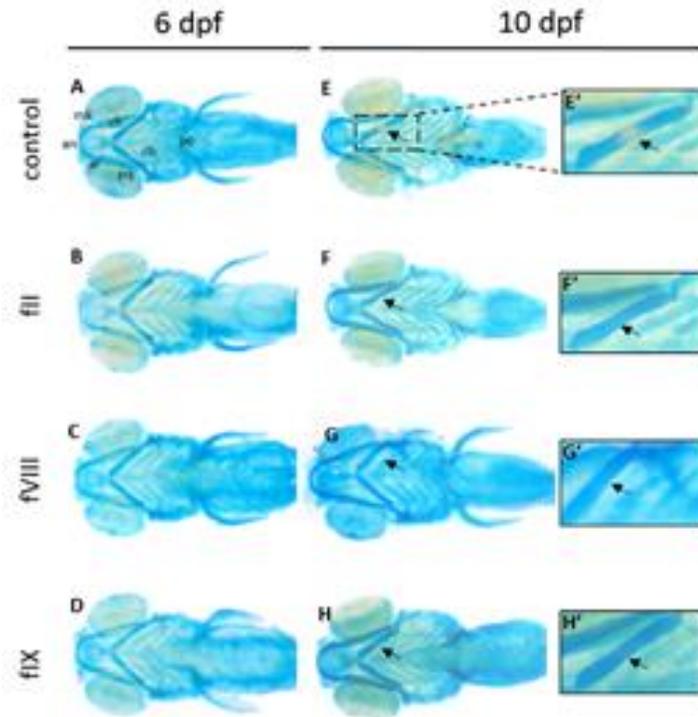
n=21 dans chaque groupe	Moyenne	ET	Min-Max
Contrôles	90	5.2	82-98
fII	86	8.2	70-108
fVIII	84	15.2	57-108
fIX	89	13.1	65-113

Résultats: Structure cartilagineuse à 6 et 10 jpf

Coloration au bleu alcian
 (n=10 dans chaque groupe)

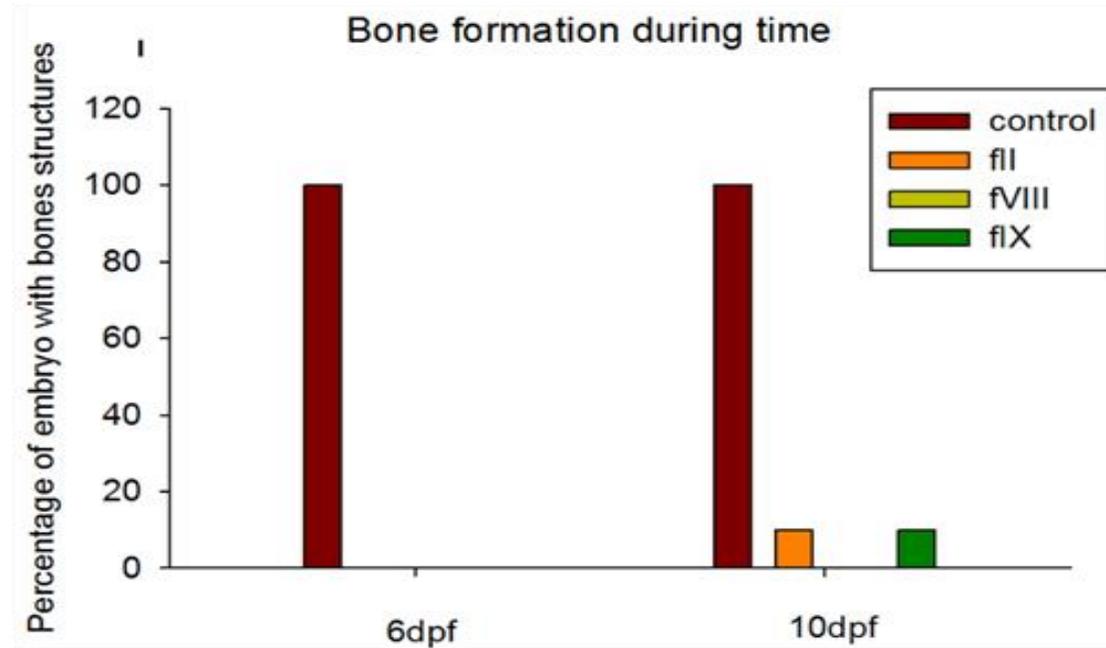
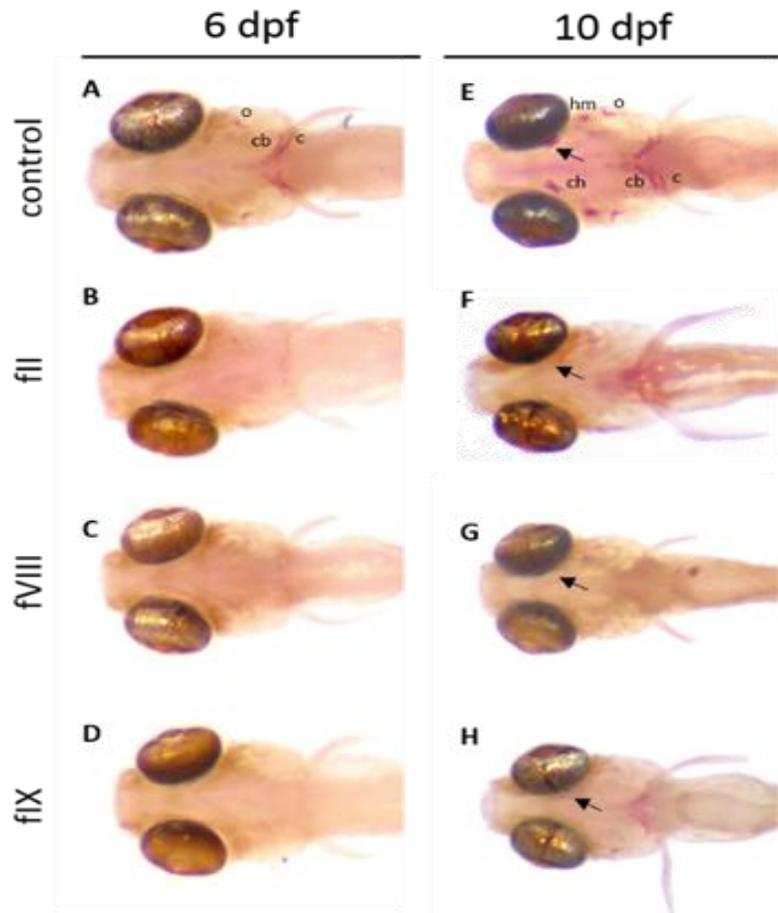
Cartilage formation
 à 6 jpf

Cartilage ossification
 à 10 jpf



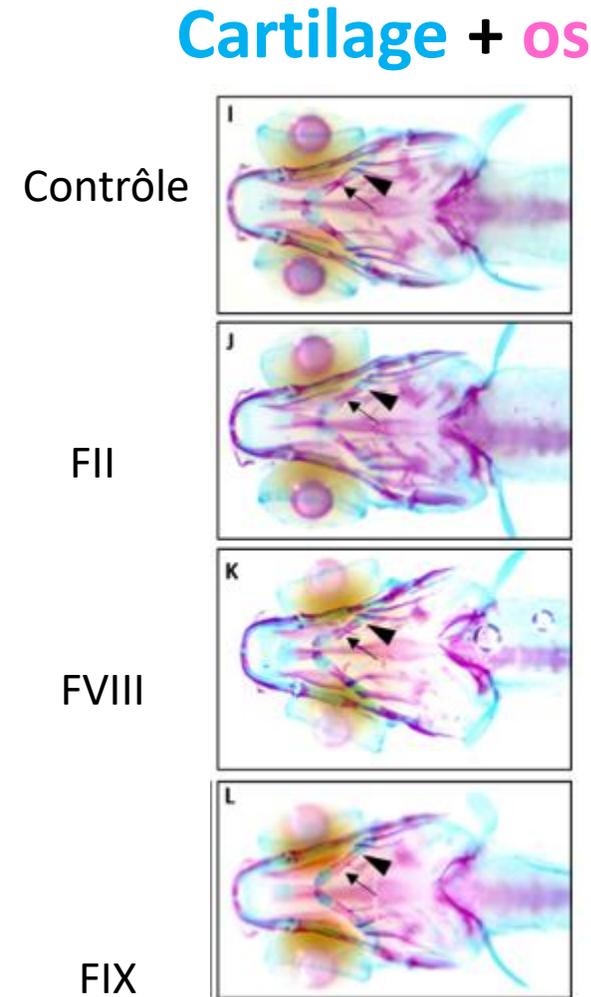
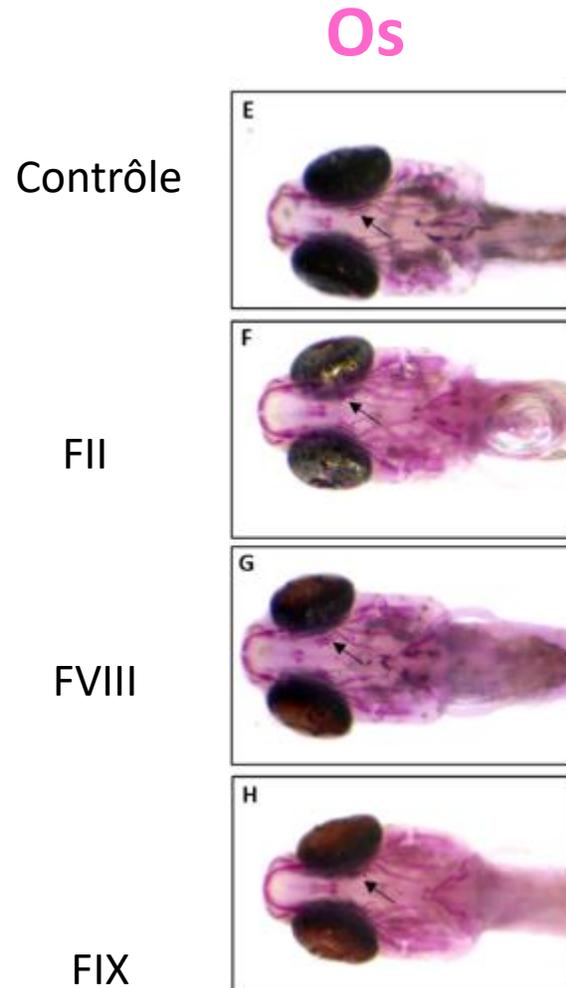
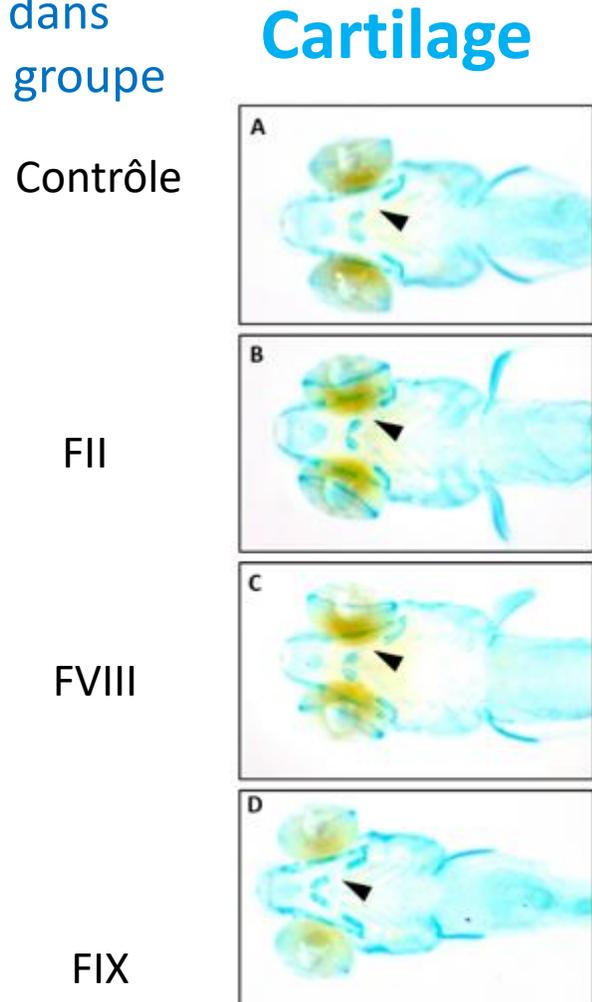
branchiostegal (br), cleithrum (c)
ceratobranchial (cb)
ceratohyal (ch), dentary (d)
hyomandibular (hm)

Résultats: Matrice osseuse observée à 6 et 10 jpf



Résultats: Structure cartilagineuse et Ossification à 20 jpf

n=10 dans chaque groupe



Conclusion

- **Inactivation des gènes des facteurs II, VIII et IX chez le zebrafish est responsable:**
 - **d'une dysmorphie au niveau de la face**
 - **d'une nette diminution de la minéralisation osseuse**

Rôle du II sur la minéralisation osseuse est en faveur d'un rôle du défaut de génération de thrombine sur la diminution de la densité osseuse du patient hémophile

- **Effet du VIII : indirect (via la génération IIa)
direct (via fixation du VIII-W sur RANKL) (inhibition osteoclastogénèse)**
- **Effet du IX: indirect (via la génération de IIa)**

Capacité de tous les traitements anti hémophiliques de restaurer la minéralisation osseuse ?

- **Ce défaut de minéralisation est réversible (disparaît lorsque l'inhibition des gènes disparaît)**
- **La prophylaxie chez le patient hémophile prévient la perte osseuse**

La capacité de la prophylaxie à prévenir (ou restaurer ?) la perte osseuse dépend t-elle de l'âge auquel elle a été instaurée ? (Philéos)

Remerciements

- Pauline Damien et Aurélie Montmartin: Sainbiose INSERM U1059, Saint-Etienne
- Laura Fontenille, Nam Do Khoa et Karima Kissa: Plateforme Azelead, Montpellier
- Christine Fetro : Fondation Maladies Rares