

10-12  
MAI  
2023



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

Brigitte Tardy

# 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*

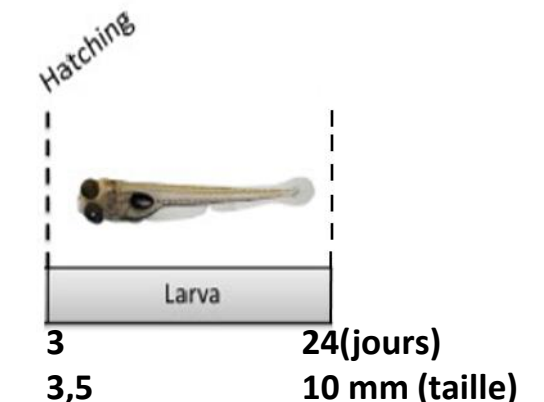
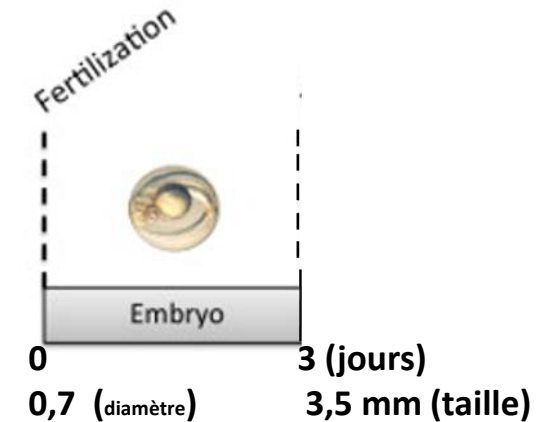
- **Morpholinos (MO)** (oligonucléotides antisens ciblant l'ARNm):  
**Inactivation** de l'expression des gènes fII, fVIII et fIX **réversible**  
**Disparition progressive** des morpholinos dans le temps

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

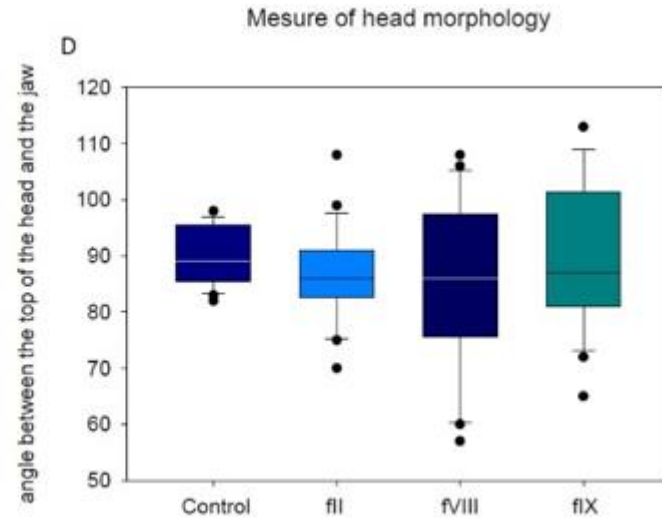
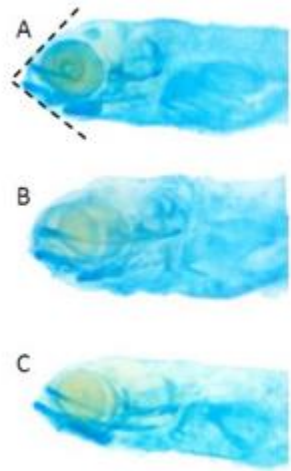
- **Coloration et observation des larves MO (morphants)**
- à 6, 10 et 20 jours post fécondation (jpf):

**Cartilage coloré au bleu alcian**

**Os coloré au rouge alizarine**



# Résultats: Dysmorphie faciale à 6jpf



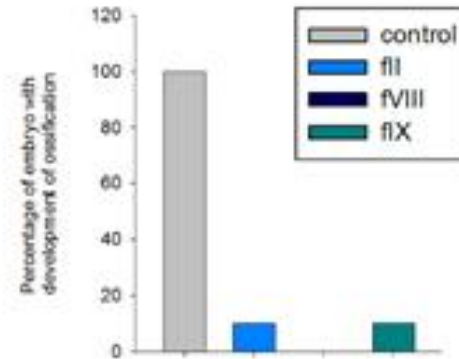
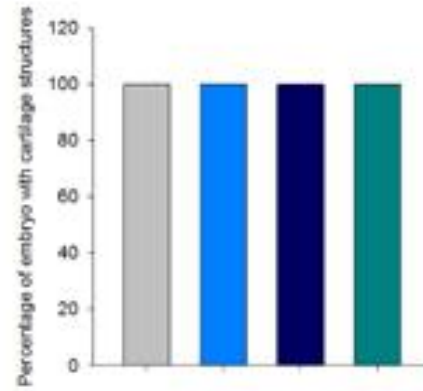
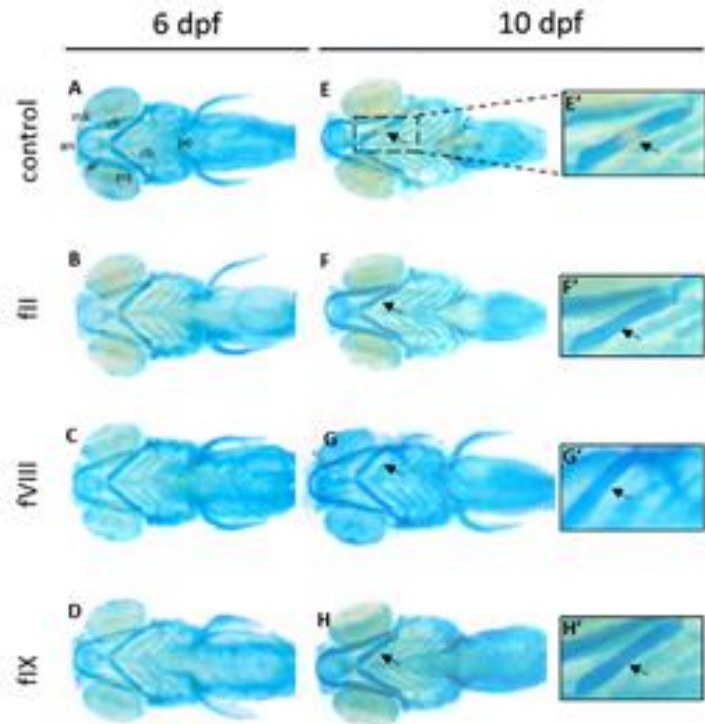
n=21 dans chaque groupe	Moyenne	ET	Min-Max
Contrôles	90	5.2	82-98
fII	86	8.2	70-108
fVIII	84	15.2	57-108
fIX	89	13.1	65-113

# Résultats: Structure cartilagineuse à 6 et 10 jpf

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

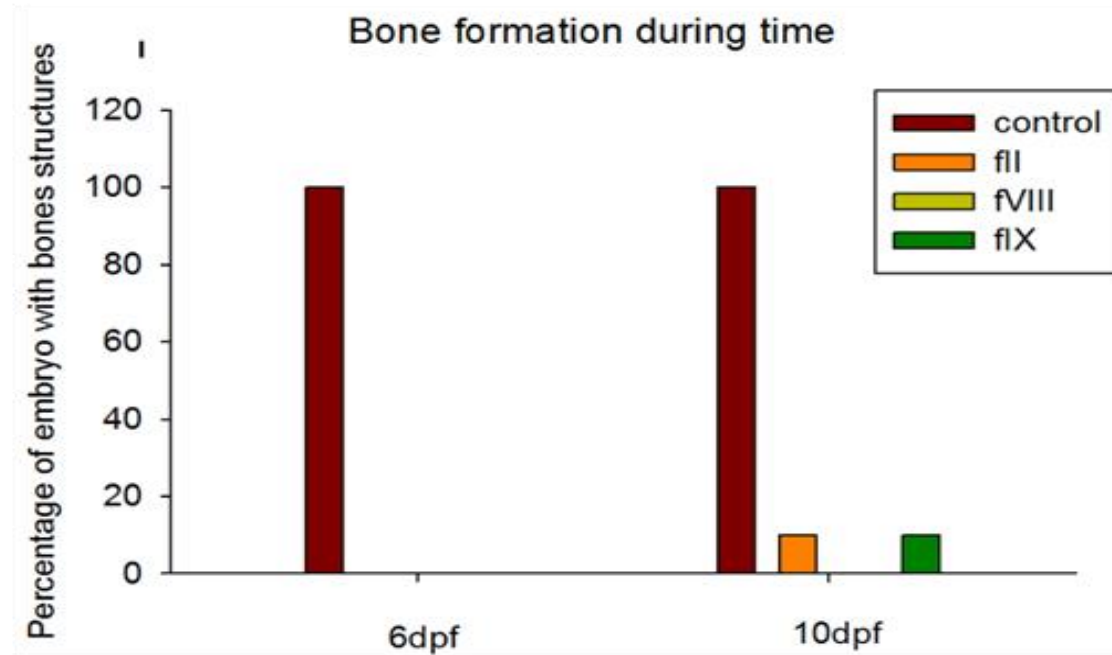
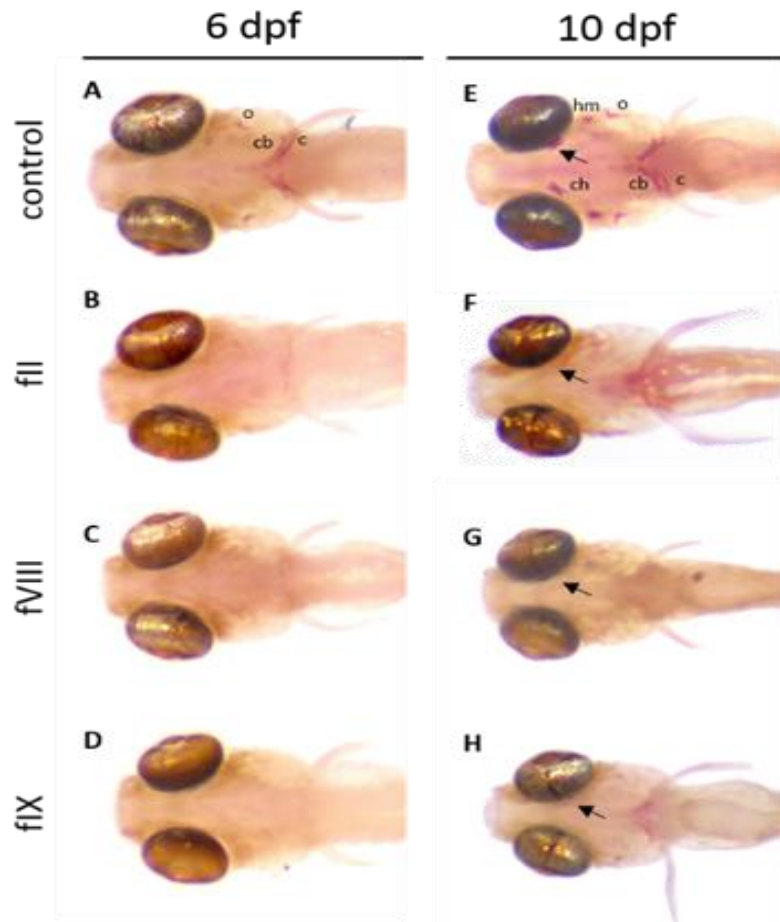
Cartilage formation  
 à 6 jpf

Cartilage ossification  
 à 10 jpf



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

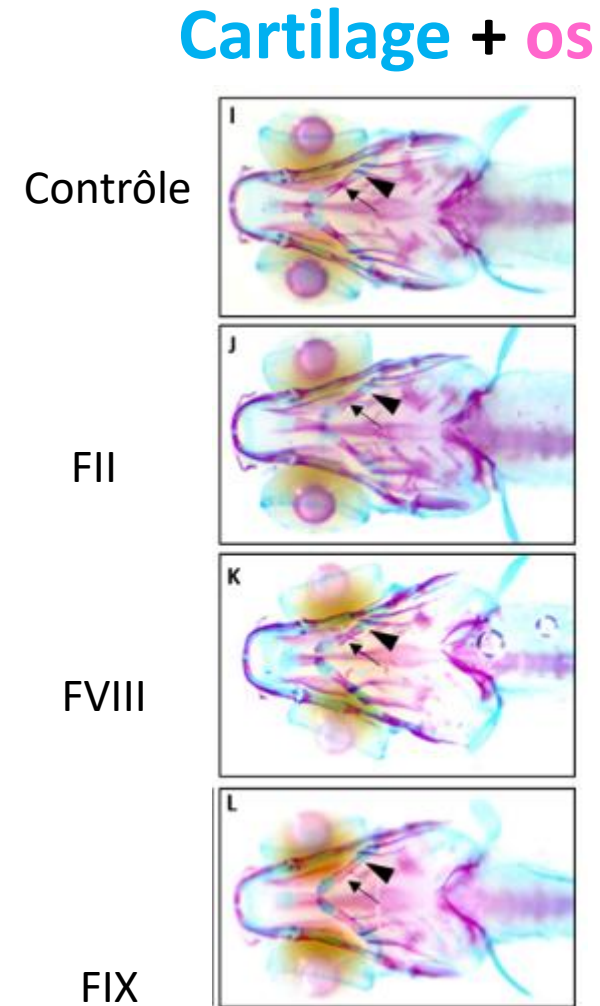
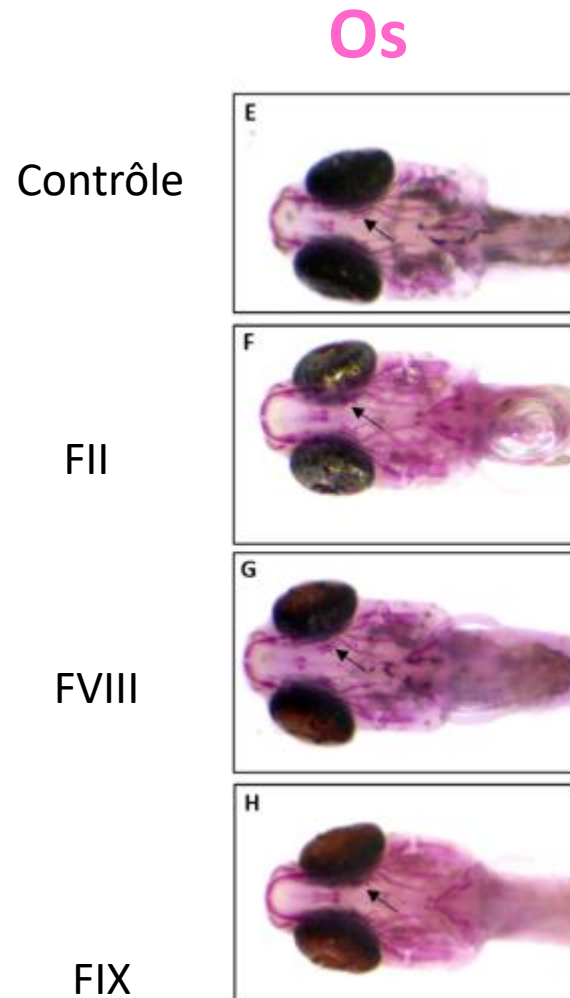
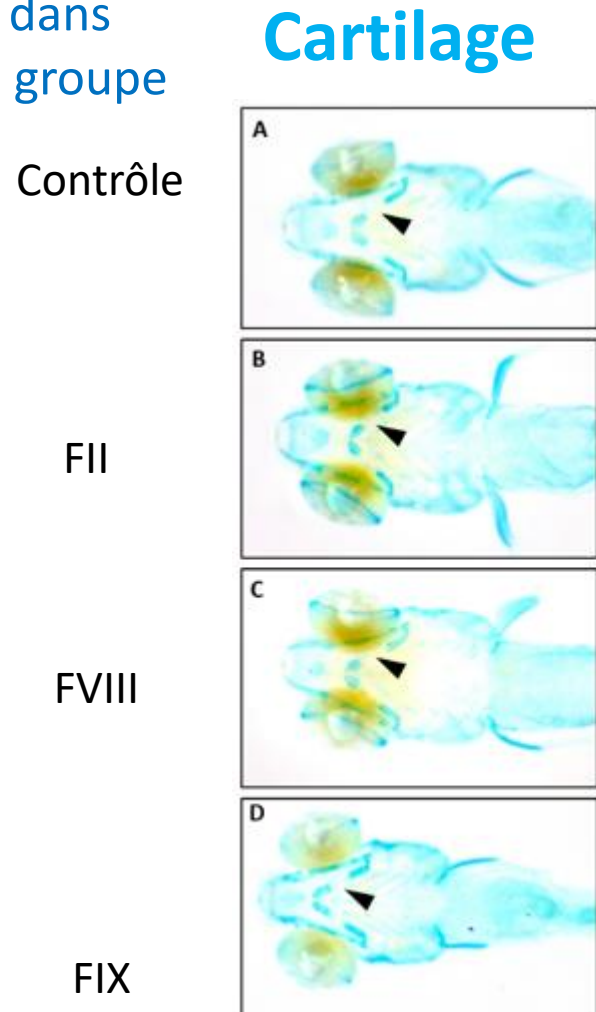
# Résultats: Matrice osseuse observée à 6 et 10 jpf





# Résultats: Structure cartilagineuse et Ossification à 20 jpf

n=10 dans chaque groupe





# Conclusion

- **Inactivation des genes 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