



Université Claude Bernard



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : 20 novembre 2019

Prénom et nom de famille de l'auteur : **Elie NADER**

Titre de la thèse : « *Modulateurs de la rhéologie érythrocytaire et de l'éryptose dans la drépanocytose : pierre angulaire entre microparticules érythrocytaires et dysfonction vasculaire ?* »



Résumé

La drépanocytose est la première maladie génétique en France et dans le monde. Cette hémoglobinopathie mène à la production d'une hémoglobine mutée, appelée hémoglobine S (HbS), qui a la particularité de polymériser en condition désoxygénée, ce qui mène à la falciformation des globules rouges (GRs). Les GRs des patients drépanocytaires (SS) sont plus fragiles et moins déformables que des globules rouges d'individus non malades. Les patients souffrent ainsi d'une anémie hémolytique chronique, de crises vaso-occlusives douloureuses répétées et de nombreuses autres complications aiguës et chroniques. Cependant, ce mécanisme physiopathologique ne permet pas d'expliquer le caractère extrêmement polymorphe de l'expression clinique de la maladie. D'une maladie considérée à l'origine comme uniquement érythrocytaire, la drépanocytose est ainsi aujourd'hui également étudiée sous le prisme d'une pathologie vasculaire, où anomalies du globule rouge et dysfonction vasculaire seraient étroitement liées. Le stress oxydant et les facteurs pro-inflammatoires majorés ainsi que la biodisponibilité du monoxyde d'azote abaissée participeraient fortement à la physiopathologie de la maladie et notamment à la survenue d'une dysfonction vasculaire chronique.

Nous avons montré au cours de cette thèse que le plasma des patients SS ainsi que des molécules plasmatiques inflammatoires augmentées dans la maladie exerçaient un effet délétère sur la rhéologie de leurs GRs, rhéologie qui participe à la survenue des complications cliniques. Nous avons également identifié que le stress oxydant majoré et la biodisponibilité du NO abaissée chez les malades altéraient la rhéologie des GRs. Ces résultats pourraient donc expliquer le bénéfice clinique de l'utilisation de la plasmaphérèse dans des rares cas de complications sévères résistantes à l'érythraphérèse. Nous avons également mis en évidence que le stress oxydant et le NO modulaient le phénomène d'éryptose ou mort du globule rouge chez les patients. Ce mécanisme s'accompagnerait de l'émission de microparticules de GRs (GR-MPs), qui se trouvent en concentration majorée chez les patients et de façon plus importante lors des crises. Nos études ont permis de mettre en évidence un lien entre ces GRs-MPs et la dysfonction macrovasculaire des patients. Nous avons également montré que des GR-MPs directement isolées chez les patients exerçaient un rôle délétère *in vitro* sur des cellules endothéliales de la macrocirculation. Celles-ci favorisaient l'expression de molécules d'adhérence et la production de cytokines pro-inflammatoires impliquées dans la dysfonction vasculaire et dans les complications de la maladie. Nos résultats ont révélé que ces propriétés toxiques des GR-MPs pourraient être due à l'activation du récepteur TLR4 sur l'endothélium. Des thérapies ciblées sur le stress oxydant, le NO ou encore TLR4 pourraient permettre ainsi de limiter ces phénomènes et donc la survenue de complications. Le traitement de référence est actuellement l'hydroxyurée. Le mécanisme d'action principal de cette molécule repose sur l'augmentation de la production d'hémoglobine fœtale et donc la diminution de la concentration en HbS. Cette thèse a permis de mettre en évidence que l'hydroxyurée augmentait également la

biodisponibilité du NO chez les patients, en lien probable avec un effet donneur de NO. Cet effet permettrait d'améliorer la déformabilité des GRs au travers d'une s-nitrosylation de la β -spectrine mais également d'abaisser le stress oxydant érythrocytaire. Ce traitement pourrait donc potentiellement réduire les phénomènes d'éryptose et d'émission de GR-MPs par ses propriétés sur le métabolisme du NO. Enfin, l'hydroxyurée menait également à inhiber la voie de production du NO intra-érythrocytaire. Les mécanismes à l'origine de cette inhibition ainsi que ses conséquences sur la production endogène de NO par les GRs restent cependant à être explorés.