

Vers une amélioration de la conservation des concentrés globulaires rouges

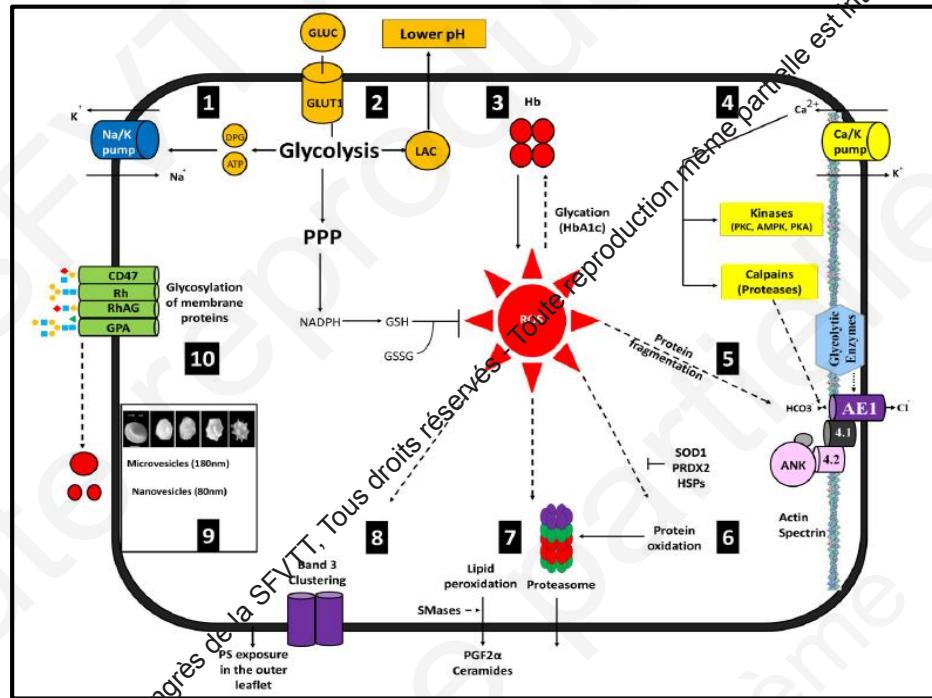
*Mieux comprendre les déterminants de l'élimination érythrocytaire
afin d'accompagner l'évolution des processus de conservation*

Pascal Amireault

Institut National de la Transfusion Sanguine

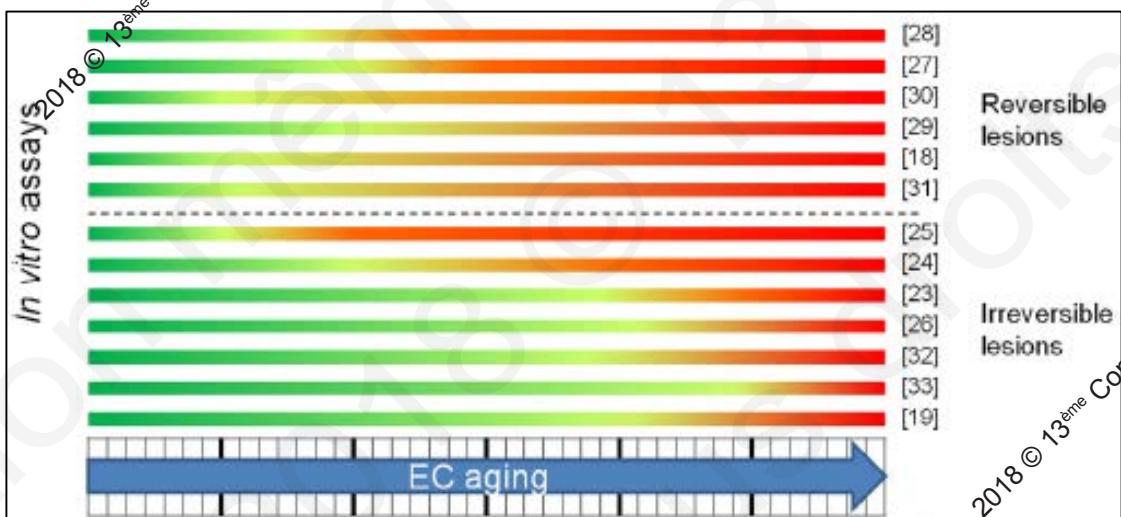


La lésion de stockage



An update on red blood cell storage lesions, as gleaned through biochemistry and omics technologies

D'Alessandro et al., 2015



In vitro assays and clinical trials in red blood cell aging:
Lost in translation

Prudent et al., 2015

Critères de qualité du stockage des globules rouges

Critères de la FDA à la fin du stockage

(42 jours) :

< 1% hémolyse

+

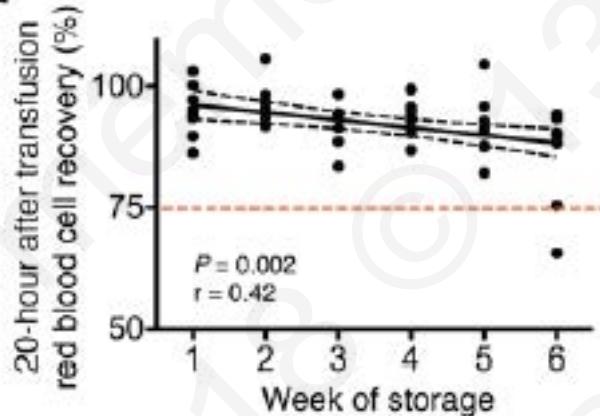
>75% des GR transfusés restent en circulation à 24h après transfusion de volontaires sains (marquage Cr51)

↔ Elimination de jusqu'à 25% des GR transfusés

→ Pas de marqueurs *in vitro* prédictifs de l'efficacité transfusionnelle (capacité de circulation en post-transfusion)

Prolonged red cell storage before transfusion increases extravascular hemolysis

Rapido *et al.*, 2016



Capacité de circulation post-transfusionnelle diminue avec la durée de stockage

Evaluation of proposed FDA criteria for the evaluation of radiolabeled red cell recovery trials

Dumont *et al.*, 2008

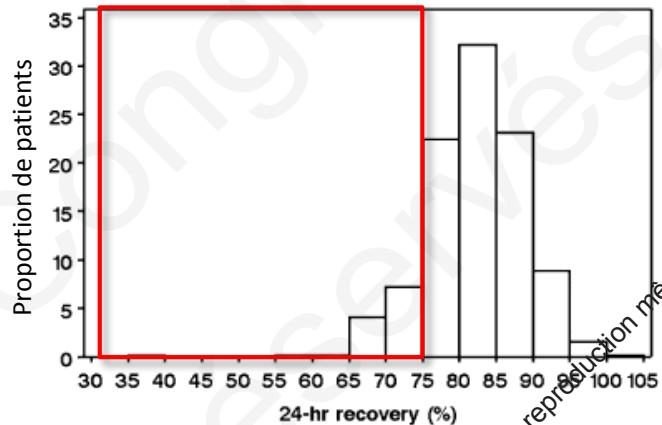


Fig. 1. Frequency distribution of 24-hour RBC recovery for RBCs stored for 42 days in AS. n = 641.

Certains CGR montrent un rendement transfusionnel inférieur à 75%

Etudes cliniques de morbi-mortalité (sécurité)

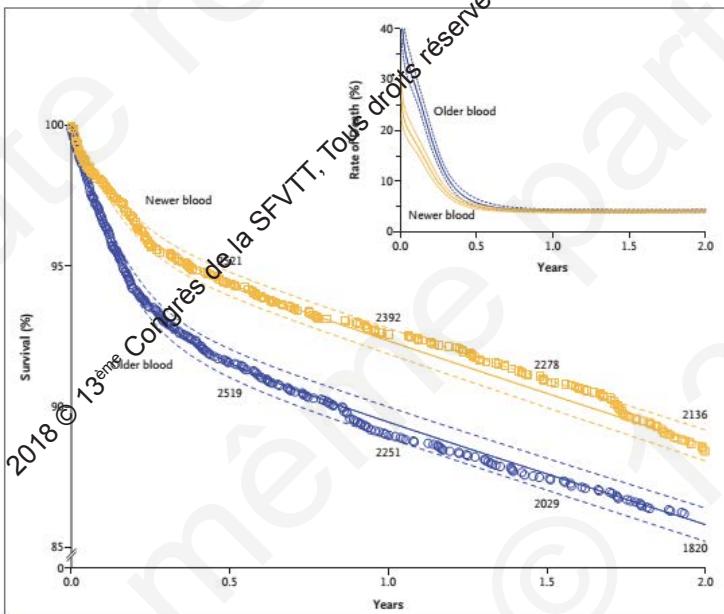
The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Duration of Red-Cell Storage and Complications after Cardiac Surgery

Koch et al., 2008



CGR jeune = 11 jours / CGR « standard » = 20 jours

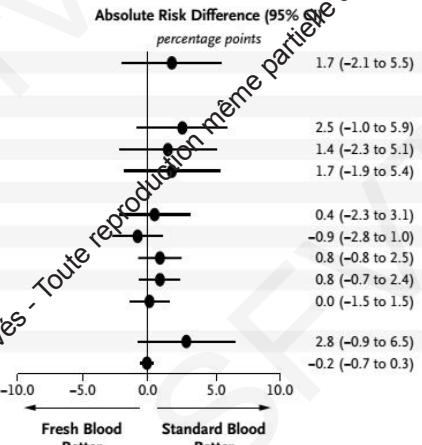
ORIGINAL ARTICLE

Age of Transfused Blood in Critically Ill Adults

Lacroix et al., 2015

A Primary Outcome and Secondary Outcomes Related to Death and Major Illnesses

Outcome	Fresh Blood no. of patients/total no. (%)	Standard Blood no. of patients/total no. (%)
Primary outcome: death by day 90	448/1211 (37.0)	430/1219 (35.3)
Secondary outcomes		
Death		
In ICU	324/1211 (26.7)	295/1217 (24.2)
In hospital	403/1212 (33.3)	386/1211 (31.9)
By day 28	371/1214 (30.6)	353/1225 (28.8)
Major Illnesses		
Multiple organ dysfunction syndrome	162/1206 (13.4)	157/1207 (13.0)
Acute respiratory distress syndrome	69/1206 (5.7)	80/1207 (6.6)
Cardiovascular failure	61/1206 (5.1)	51/1207 (4.2)
Cardiac ischemia or infarction	54/1206 (4.5)	44/1207 (3.6)
Deep-vein thrombosis or pulmonary embolism	43/1206 (3.6)	43/1207 (3.6)
Nosocomial infection	411/1206 (34.1)	378/1207 (31.3)
Acute transfusion reaction	4/1206 (0.3)	6/1207 (0.5)



CGR jeune = 7 jours / CGR « standard » = 22 jours

Steiner et al., 2015

Heddle et al., 2016

Cook et al., 2017

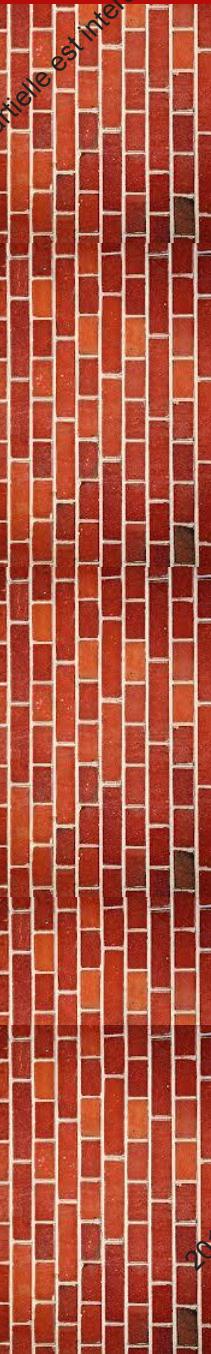
Cooper et al., 2017

Pas d'avantage « sécuritaire » à transfuser des CGR stockés moins de 1 semaine

Etudes cliniques de sécurité *versus* études *in vitro* et de rendement

Grands essais de sécurité

- Peu d'exploration de la dernière semaine de stockage
- Peu d'évaluation de l'impact positif clinique (rendement, perfusion)
- Variabilité inter donneurs?
- Certains patients fragiles?
Pathologies hématologiques?
Transfusion chronique?



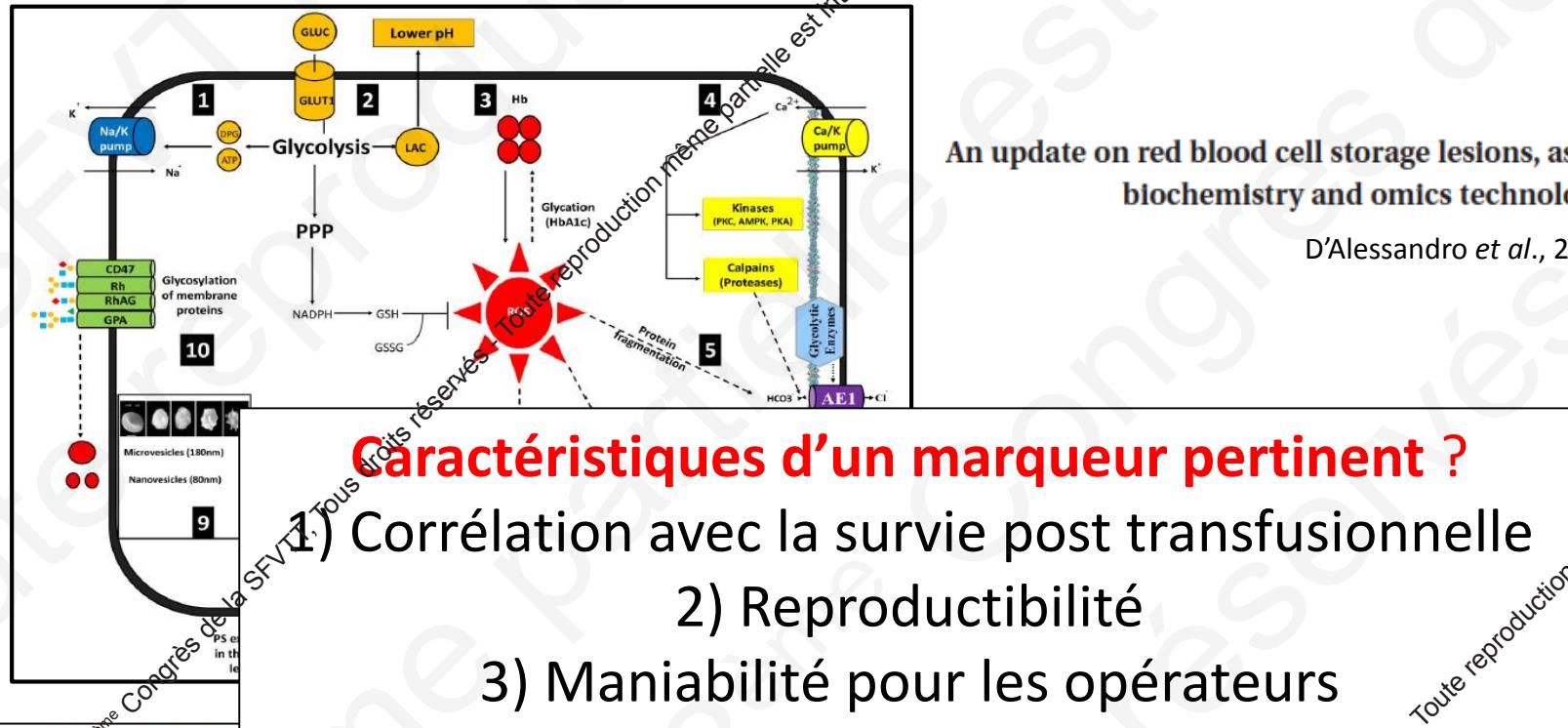
Lésion de stockage

Etudes de rendement transfusionnel

- Réalisées dans un contexte technique donné (pas de leucoréduction, absence DEHP)
- Ne reproduisent pas toutes les conditions transfusionnelles:
 - Etudes *in vitro*: n'explorant pas l'interaction sang donneur/sang receveur
 - Etude de survie au ^{51}Cr : 1) transfusion autologue, 2) d'un faible volume de GR, 3) manipulés avant la transfusion 4) chez un sujet sain et 5) non anémique

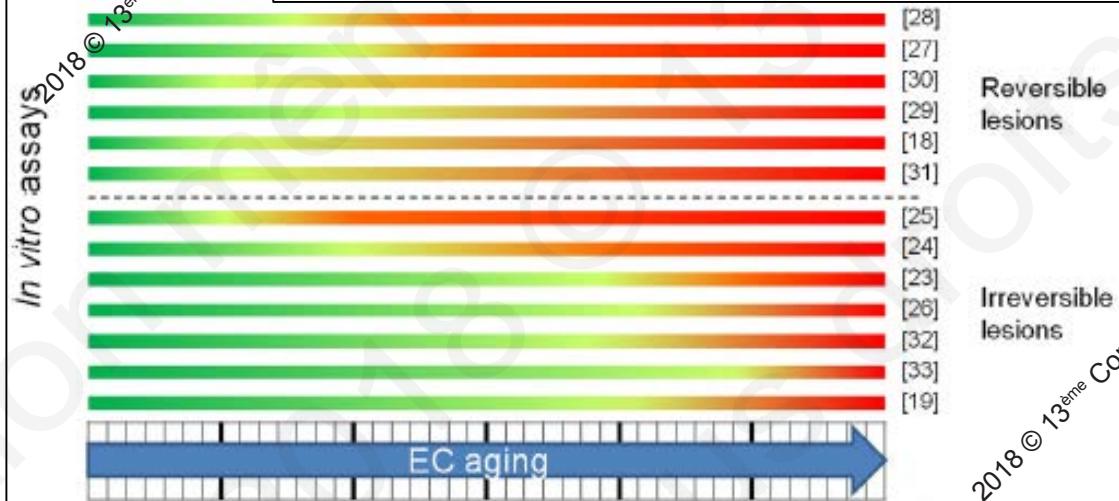
Peu ou pas de corrélation du *in vitro* avec *in vivo*

La lésion de stockage



An update on red blood cell storage lesions, as gleaned through biochemistry and omics technologies

D'Alessandro et al., 2015



In vitro assays and clinical trials in red blood cell aging: Lost in translation

Prudent et al., 2015

Recherche d'un marqueur *vitro* d'efficacité transfusionnelle:

Corrélations historiques entre « marqueurs de la lésion de stockage » et « rendement transfusionnel »

Marqueur de lésion de stockage

1. Niveau ATP intracellulaire

Alby *et al.*, 1919
Gabrio *et al.*, 1955
Szymanski *et al.*, 1968
Valeri *et al.*, 1985

Etudes de rendement transfusionnel

Corrélation inverse entre ATP et rendement

2. Déformabilité

Barshstein *et al.*, 2017

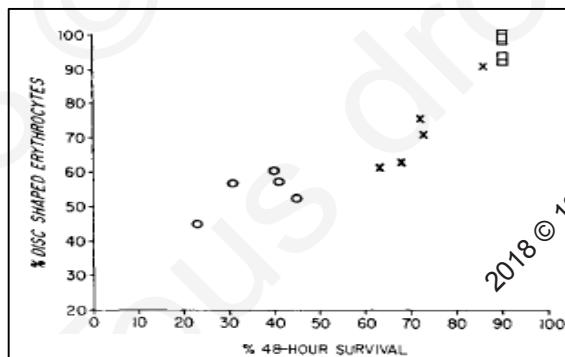
Corrélation entre la proportion de GR non déformables et augmentation hémoglobine

3. Morphologie

Högman *et al.*, 1985
Haradin *et al.*, 1969

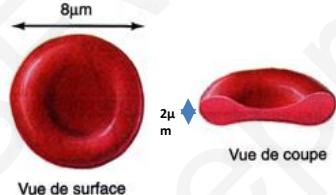
Corrélation entre « score morphologique » et rendement ou

Corrélation entre proportion de discocytes et rendement



Recherche d'un marqueur *vitro* d'efficacité transfusionnelle: Filtration splénique et morphologie du globule rouge

Discocytes



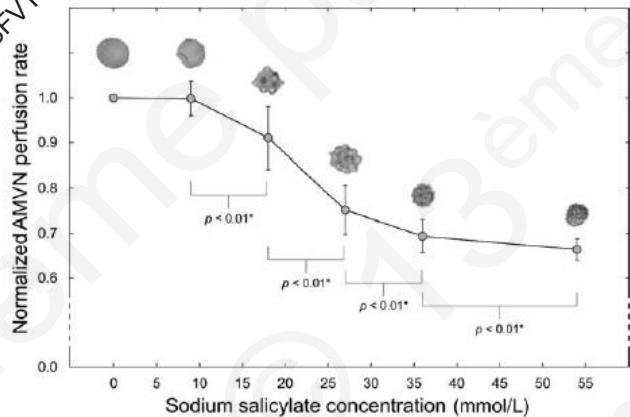
Circulation splénique



Surface/volume >> 1

Déformabilité

Microfluidique

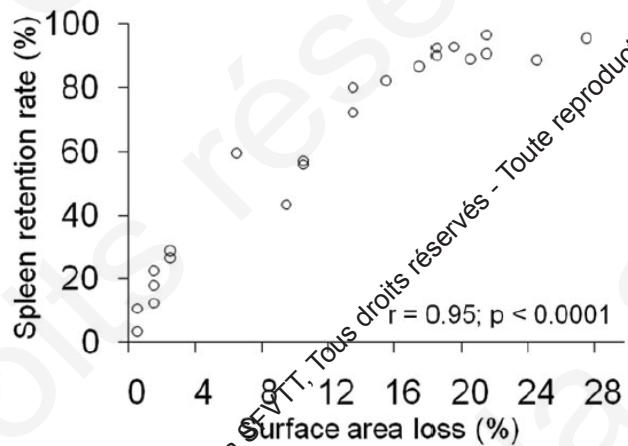


Piety et al., Transfusion 2015



Perte de membrane

Surface/VOLUME



Safeukui et al., Blood, 2008

Les données historiques des études de rendement
et

les données sur les mécanismes de filtration de la rate indiquent
que la morphologie est un critère important de la capacité de circuler du GR

Caractérisation morphologique des globules rouges lors du stockage par cytométrie d'images (ImageStream)

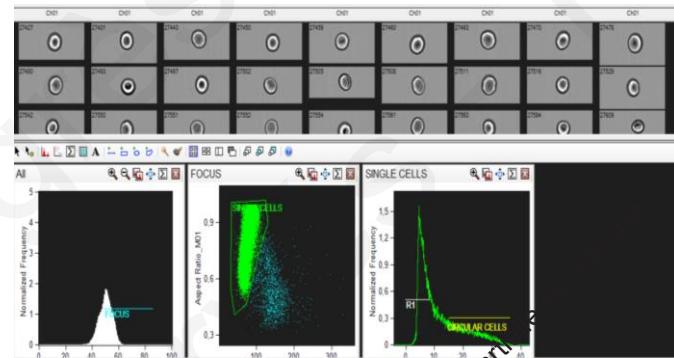
Imagestream: acquisition



Cytomètre en flux

+

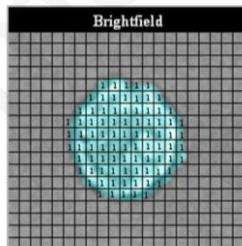
Microscopie à fluorescence



CIRCULAR CELLS

Logiciel IDEAS pour analyse d'images « nombreuses » (> 10 000/condition)

Image « brightfield »



Histogramme de fréquence CIRCULAR CELLS

Projected surface area Population

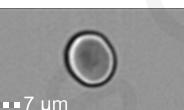
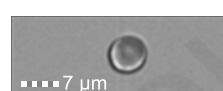
CIRCULAR CELLS & SINGLE CE...

Surface projetée

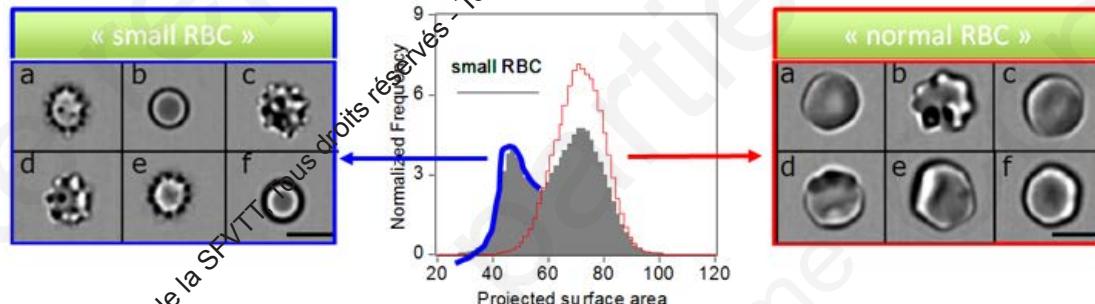
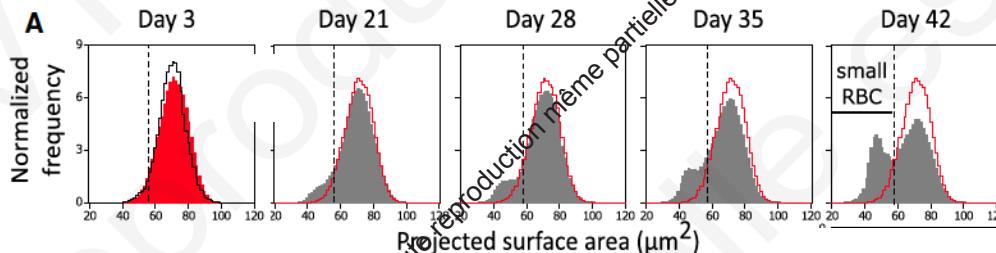
Projected surface

Statistiques

Count	%Gated	Mean	Median
7954	100	71,22	71,44



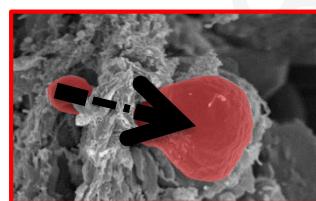
Shift sphérocytaire : un marqueur prédictif du rendement transfusionnel ?



2018 © 13^{ème} Congrès de la SFVTT Tous droits réservés



HYPOTHÈSE

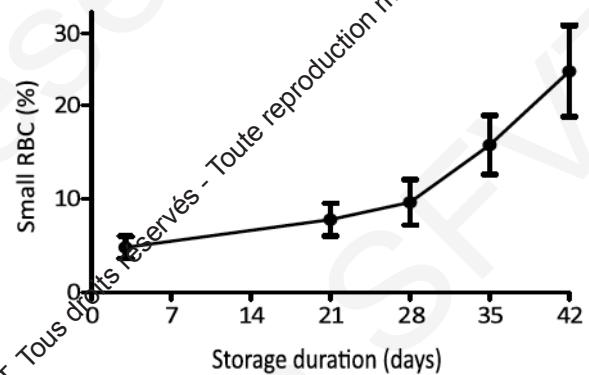


Filtration splénique

ImageStream



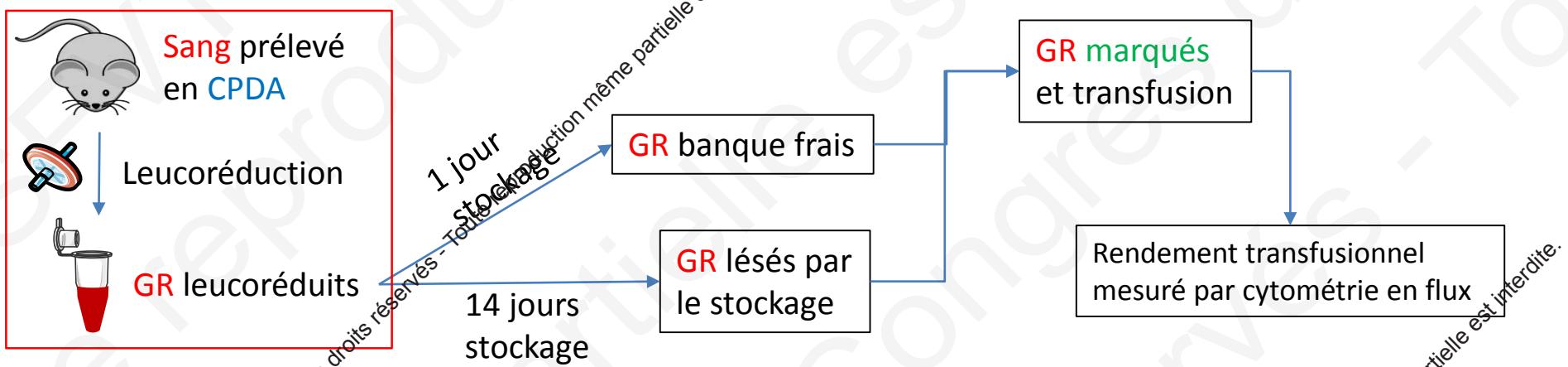
Roussel, Dussiot *et al.*,
Transfusion, 2017



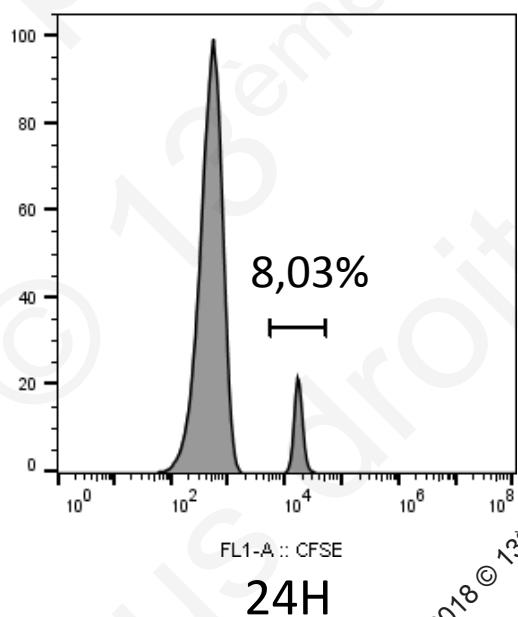
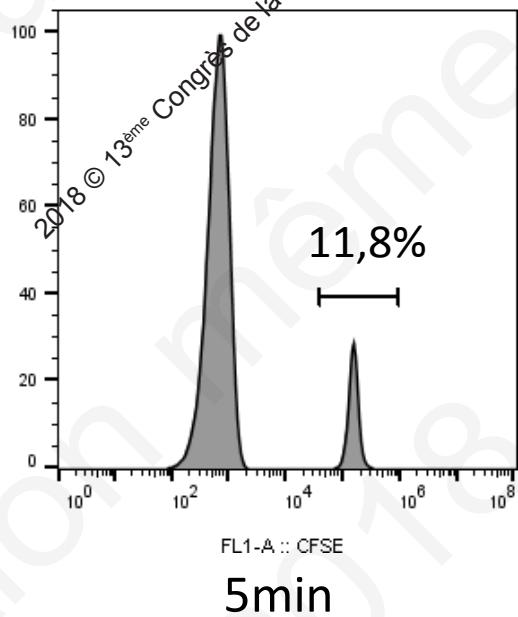
Devenir post-transfusionnel de cette sous-population après transfusion au receveur?

→ Modèle animal de stockage et transfusion des GR (souris)

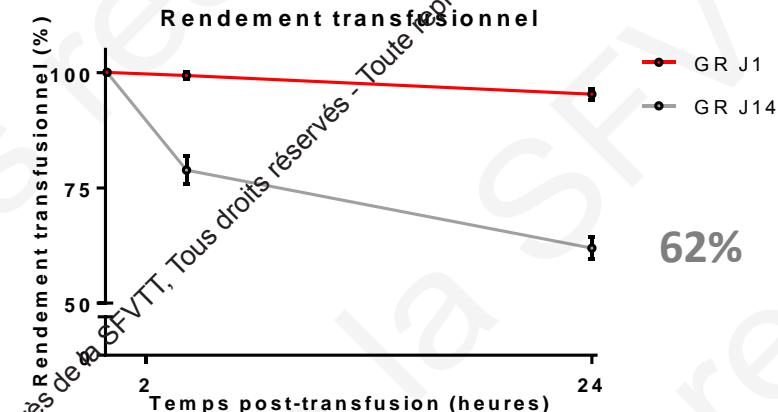
Modèle murin de stockage et transfusion: Rendement transfusionnel



Décroissance relative d'une proportion de GR marqués



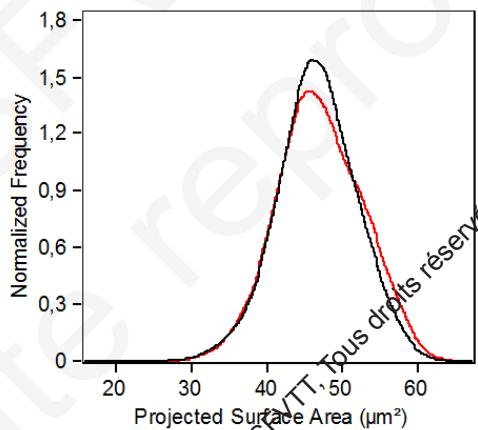
$$\text{Rendement transfusionnel} = 8,03 / 11,8 = 68\%$$



Modèle murin de stockage et transfusion: Morphologie pré-transfusionnelle par ImageStream

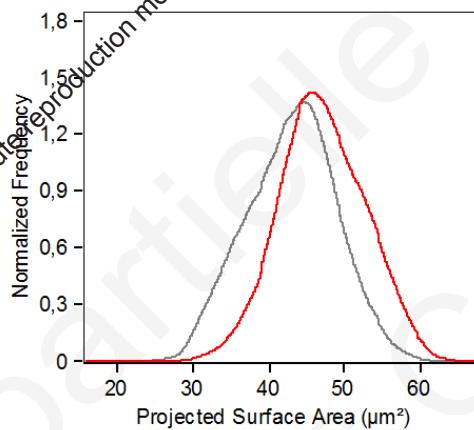
GR frais

GR stockés 1J

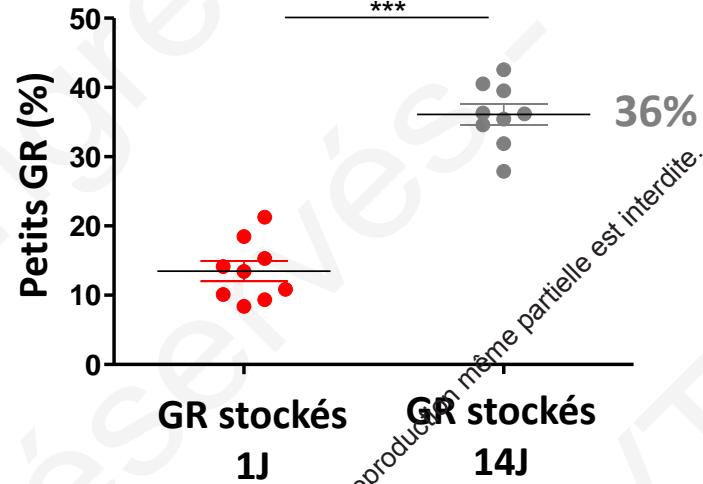


GR stockés 1J

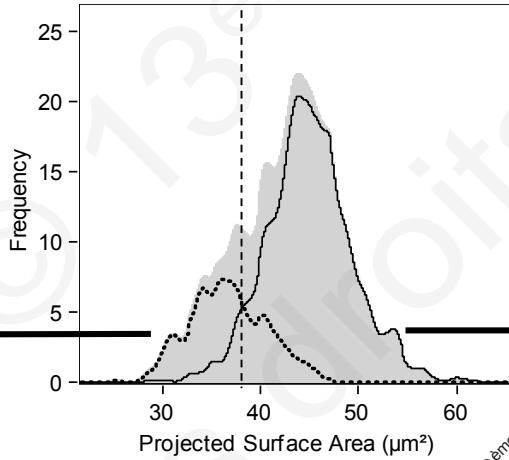
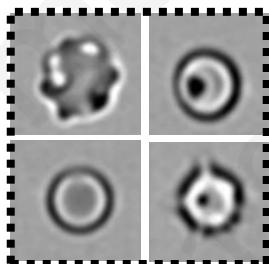
GR stockés 14J



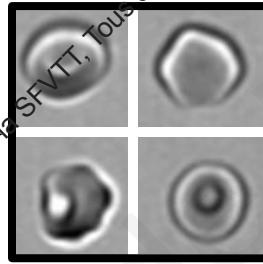
Morel, Dussiot *et al.*, en préparation



Petits GR



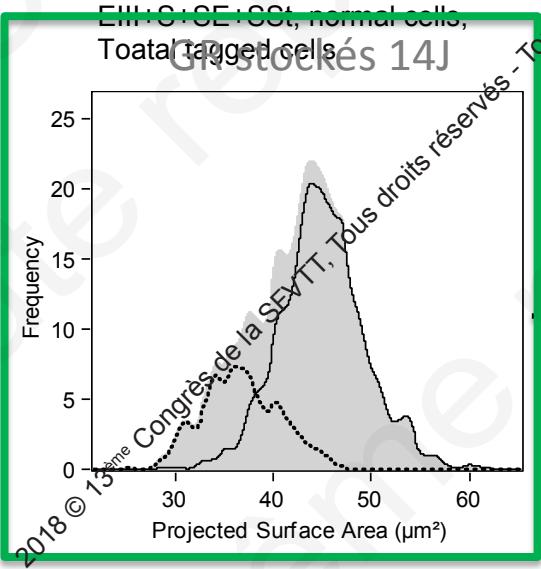
GR normaux



Une sous-population de petits GR de morphologie anormale apparaît lors du stockage chez la souris

Morphologie des GR en circulation après la transfusion

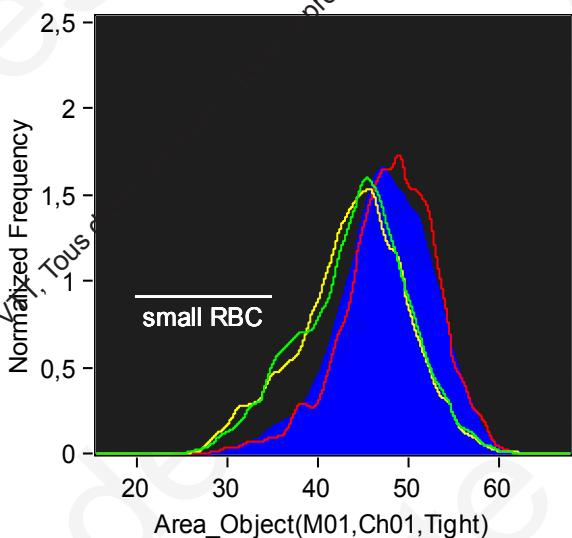
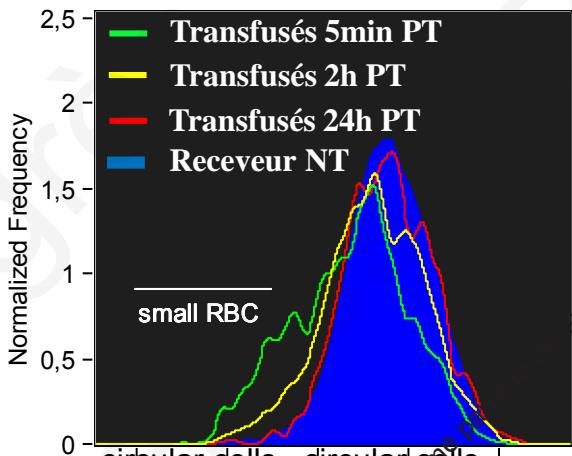
Morel, Dussiot *et al.*, en préparation



oute reproduction même partielle est interdite

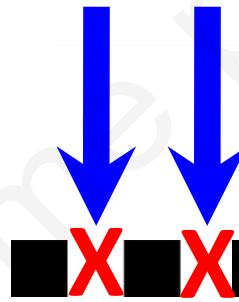
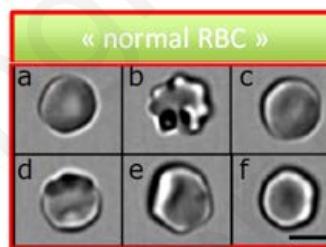
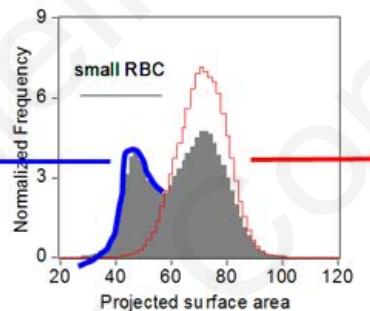
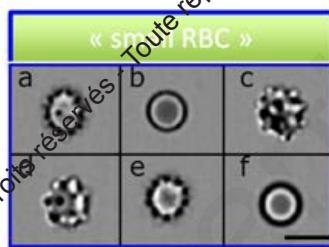
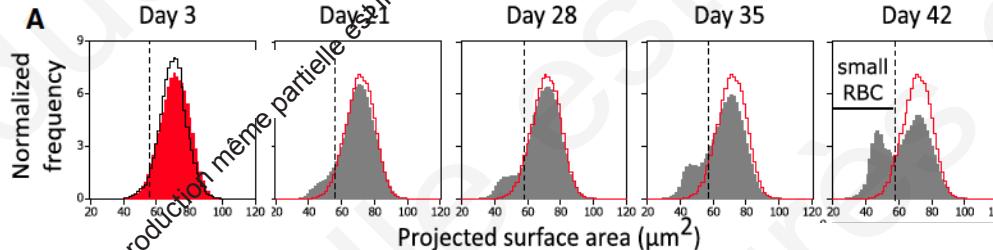
Receveur Contrôle

The logo consists of a light gray silhouette of a mouse's head facing right, with its long tail extending upwards and to the left. Below the mouse is the text "Recepteur" in a large serif font, and underneath it, "Déplété en macrophages" in a larger, bold sans-serif font.

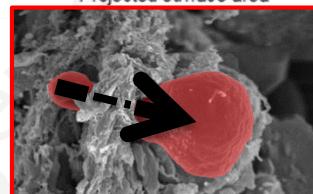


Disparition macrophage-dépendante des petits GR de la circulation en post-transfusion

Hypothèse de travail



Filtration splénique



Devenir post-transfusionnel de cette sous-population après transfusion au receveur?

- Modèle animal de stockage et transfusion des GR (souris)
- Modèle de rate humaine isolée-perfusée (ex vivo)
- Corrélation avec une étude de rendement au Cr51 chez volontaire sain
- Etude clinique chez des patients de réanimations



Conclusion et perspectives

Vers une amélioration de la conservation des CGR

- Explorer des hypothèses visant à améliorer la qualité du stockage et accompagner l'évolution des processus de conservation
 1. Stabilisation métabolique et ralentissement du stress oxydatif
 2. Identification de marqueurs pertinents
 3. Trouver équilibre entre sécurité et efficacité (et documenter)
- Documenter, par des études cliniques, les points inexplorés des études d'efficacité transfusionnelle
 1. Minimiser la manipulation des GR avant l'expérience
 2. Transfuser un volume de CGR équivalent à un contexte clinique
 3. Etudier des receveurs non autologues, anémiés
 4. Etudier des états patho-physiologiques rencontrés en clinique (thalassémie, drépanocytose)
- Développement d'une médecine personnalisée semble envisageable en transfusion

*Le bon CGR
(sécuritaire, efficace)*

transfusé

*au bon patient
(selon son contexte physio-pathologique)*

Remerciements



**Département d'étude du
globule rouge**
INSERM UMR-S1134

Camille Roussel

Mickaël Marin
Caroline Le Van Kim
Yves Colin
Alioune NDour
Pierre Buffet

imagine
INSTITUT DES MALADIES GÉNÉTIQUES

Laboratoire d'hématologie
INSERM U1163/CNRS ERL 8254

Alexandre Morel
Michael Dussiot
Martin Colard
Anaïs Martinez
Olivier Hermine

cochin
institut CENTRE DE RECHERCHE

**Hypoxie et Homéostasie
du fer**

Sylvain Cuvellier
Sabine Louis
Carole Peyssonaux

**Hématopoïèse normale
et pathologique**

Patrick Mayeux

Service de réanimation
Frédéric Pène



Inserm

imagine
INSTITUT DES MALADIES GÉNÉTIQUES



université
PARIS
DIDEROT

