

MÉTHODES INNOVANTES POUR L'EXPLORATION BIOLOGIQUE DES HÉMOLYSES : APPLICATION À L'ANÉMIE SPATIALE

Nicolas HEBERT, PhD

EFS IDF – Hôpital Henri Mondor, Créteil

IMRB, UPEC, EFS, INSERM U955, équipe France Pirene – laboratoire : Transfusion et maladies du globule rouge

A red wavy line starts from the left edge of the slide, curves upwards and to the right, then downwards and to the right, ending near the top right corner.

01

**QU'EST-CE QUE
L'HÉMOLYSE ?**

Définition

Hémolyse :

Destruction des hématies.



- Le **phénomène physiologique**, assuré par les macrophages de la moelle hématopoïétique, de la rate et du foie, survient à l'issue de 100 à 120 jours.
- Le **raccourcissement de la durée de vie des hématies** correspond soit à une anomalie constitutionnelle, soit à une agression extérieure.
- Les **anomalies** de la membrane érythrocytaire, de l'hémoglobine ou de l'équipement enzymatique des hématies sont à l'origine des anémies hémolytiques constitutionnelles.
- Les **formes acquises** répondent à des processus variés : immunologique, toxique, infectieux, parasitaire, mécanique.

Définition

Hémolyse :

Déséquilibre entre la production et la destruction des globules rouges.

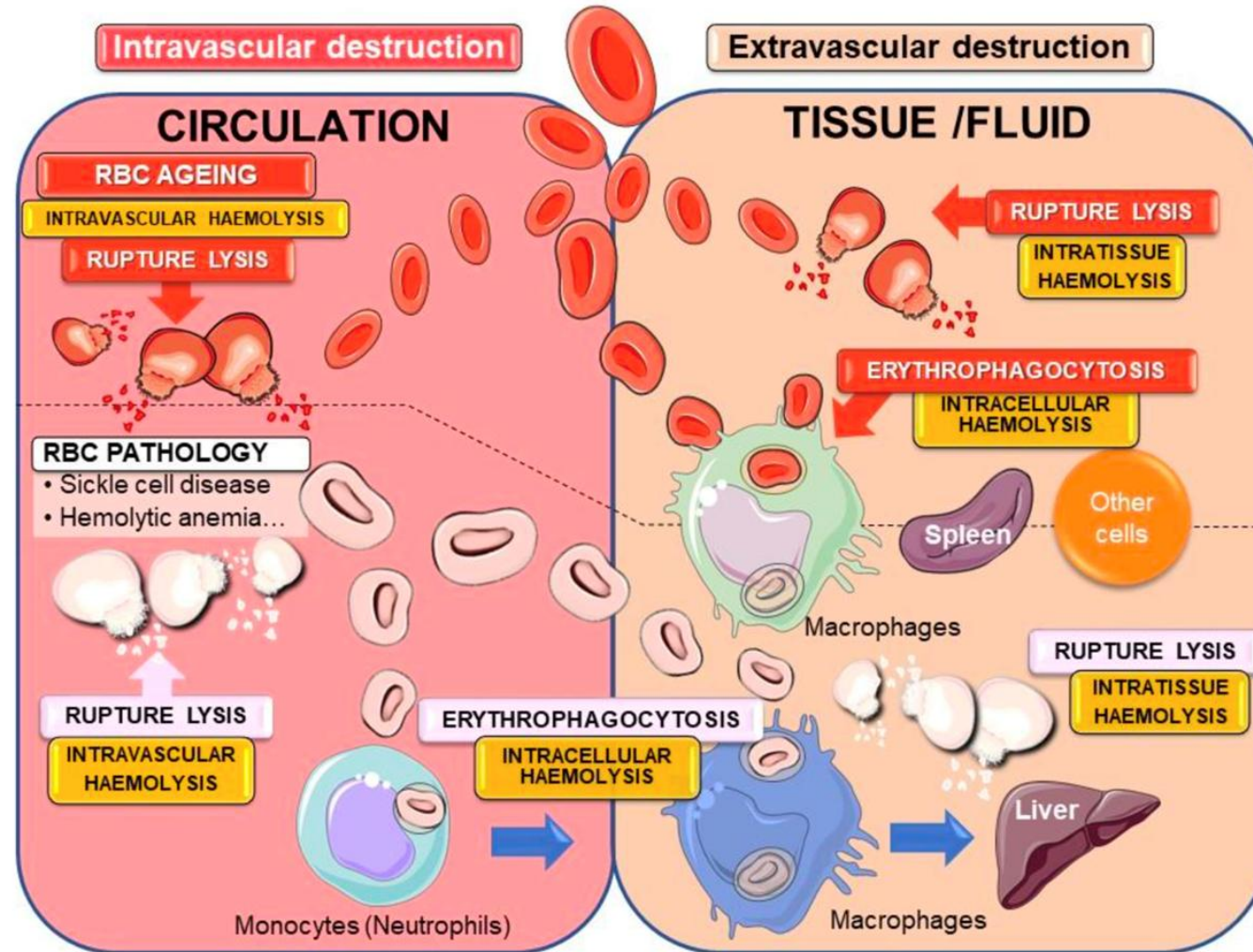


Destruction > production

Entraîne dans la plupart des cas une réduction globale de la durée de vie des globules rouges, éliminés prématurément de la circulation.

Définition

Hémolyse : 2 grands types



Définition

Hémolyse : nombreuses causes et nombreux acteurs

Causes

Anomalies
génétiques

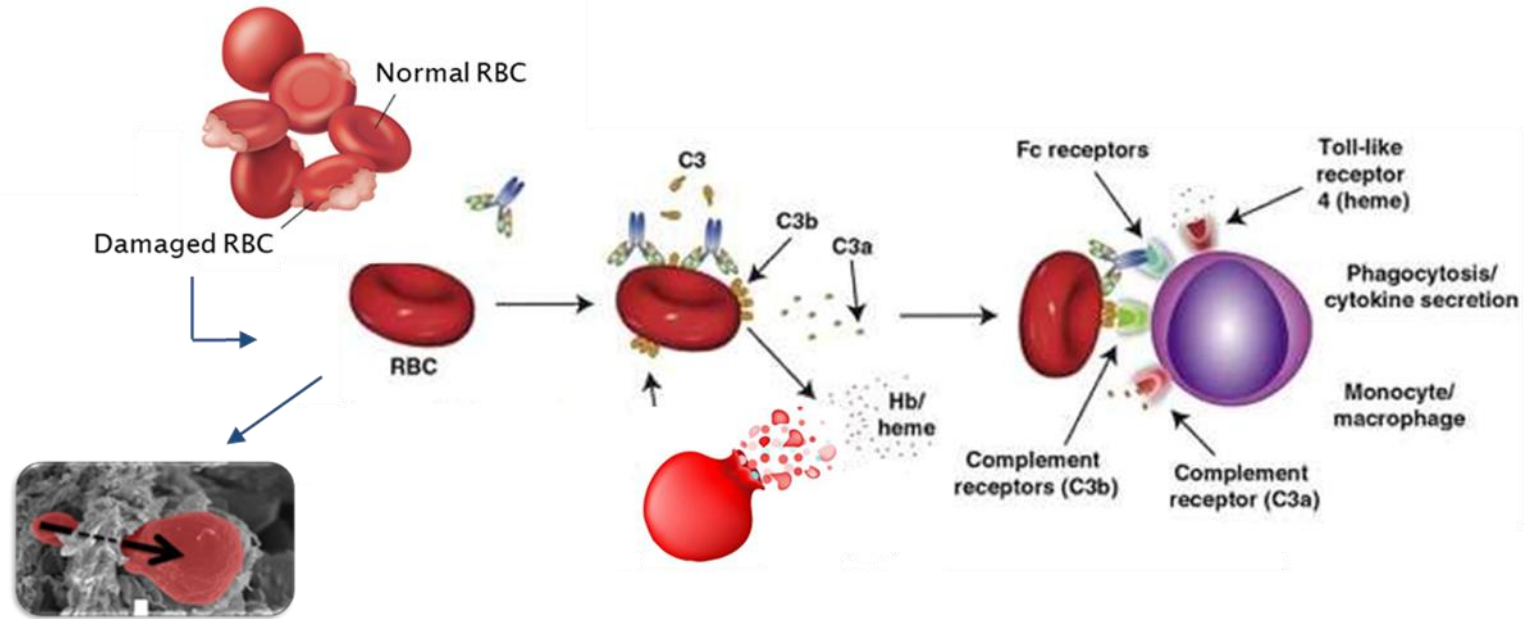
Anomalies
induites

Infections

Intoxications ☠

Filtration
splénique

Acteurs



Anticorps · Complément · Erythrophagocytose

Implication du système immunitaire

Définition

Hémolyse : nombreuses causes et nombreux acteurs

Facteurs
environnementaux

J Appl Physiol 94: 38–42, 2003.
First published August 9, 2002; 10.1152/jappphysiol.00631.2001.

Footstrike is the major cause of
hemolysis during running


R. D. TELFORD,¹ G. J. SLY,² A. G. HAHN,³ R. B. CUNNINGHAM,⁴
C. BRYANT,² AND J. A. SMITH³



**nature
medicine**







BRIEF COMMUNICATION

<https://doi.org/10.1038/s41591-021-01637-7>

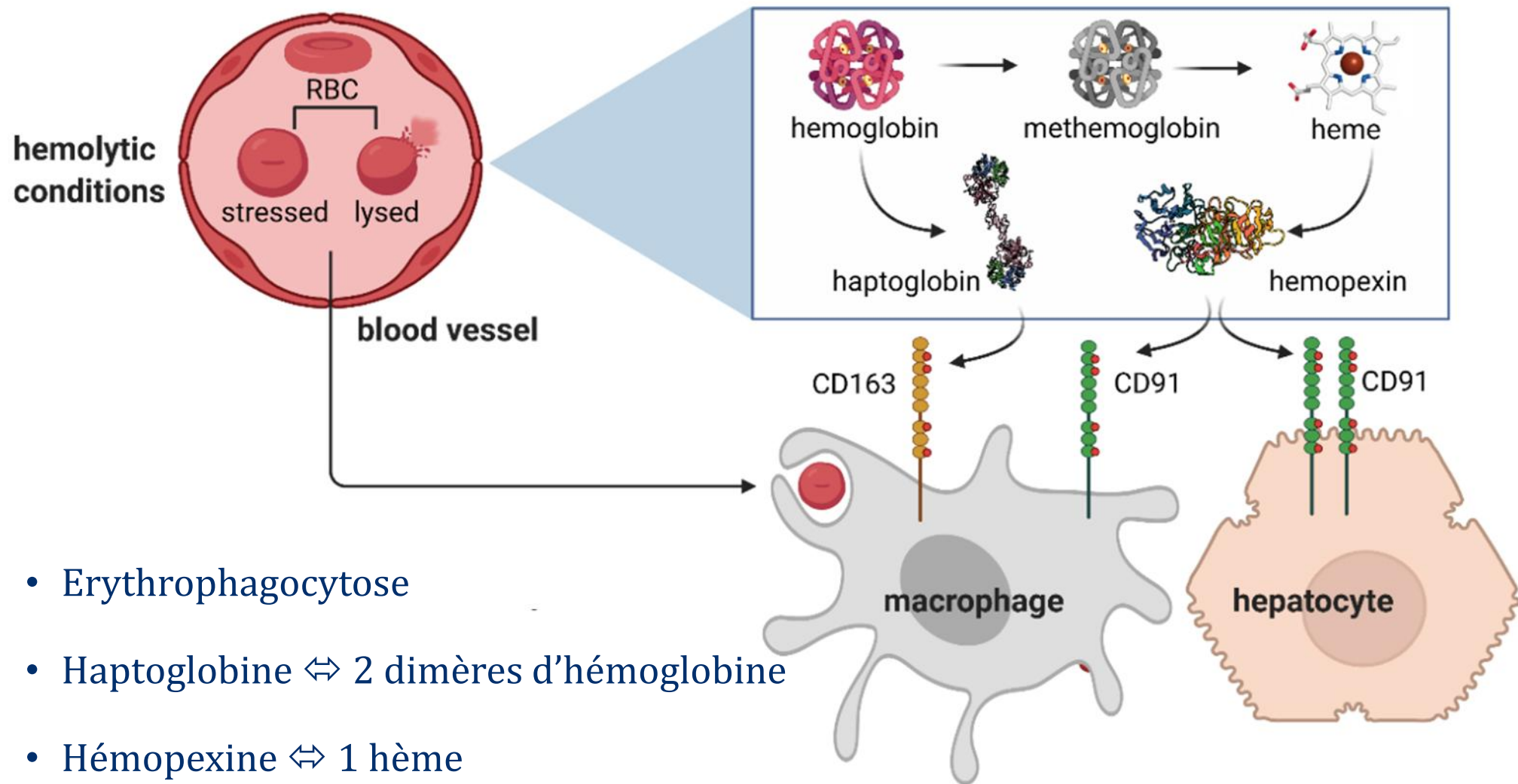
 Check for updates

OPEN

Hemolysis contributes to anemia during
long-duration space flight

Guy Trudel ^{1,2} , Nibras Shahin ¹, Timothy Ramsay ³, Odette Laneuville ⁴ and Hakim Louati ¹

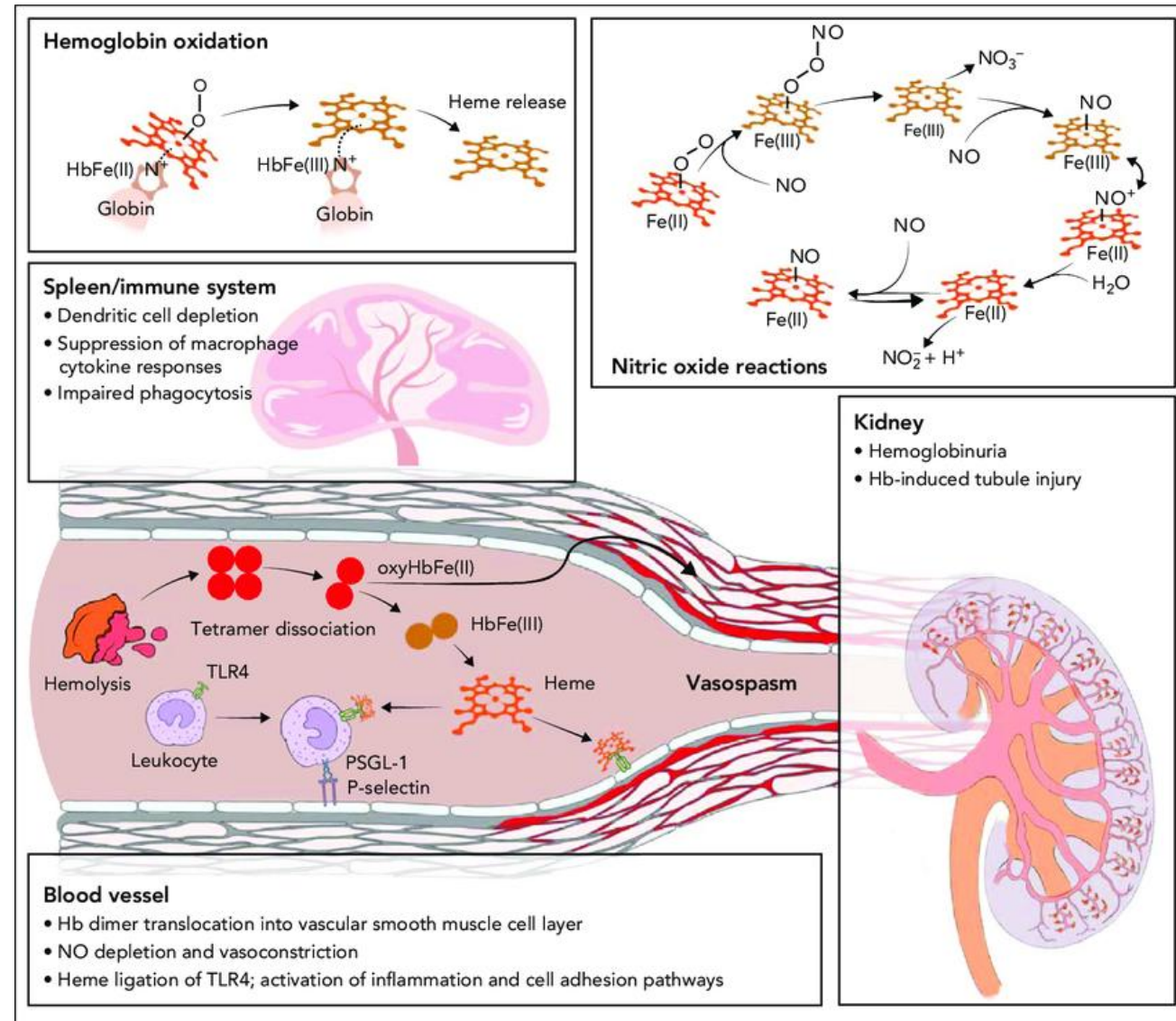
Hémolyse : mécanismes protecteurs physiologiques



Hémolyse : toxicité

→ Toxicité à plusieurs niveaux

- Vasoconstriction (déplétion en NO)
- Inflammation (hème se lie à TLR4)
- Lésions rénales (hémoglobinurie)
- Dysfonctionnement splénique



A thick red line starts from the left edge, curves upwards and to the right, then loops back down and to the left, ending near the top center.

02

ANÉMIE DE L'ESPACE



HOW DOES SPACE AFFECT THE HUMAN BODY?

Space has tremendous effects on the human body! As we prepare for journeys to more distant destinations like Mars, humankind must tackle these risks to ensure safe travel for our modern explorers.

The impacts of microgravity mirror aging and the complications of a sedentary lifestyle. By studying astronauts' health, we also help people on Earth.

BLOOD

Blood cell production in the bone marrow is affected. Reduced red blood cells can cause anemia. Low white blood cell count leaves the body vulnerable to infection and is also linked with increased sensitivity to radiation.

RADIATION

Radiation doses are much higher. Overexposure can cause cataracts in the eyes, damage DNA, and increase the risk of cancer.



BRAIN

Astronauts' sense of perception and orientation can become confused. They sometimes misinterpret the direction and speed of their movements. Some even experience "space sickness."



HEART & BLOOD VESSELS

Blood vessels stiffen and age faster, and astronauts can develop insulin resistance, which may lead to Type 2 diabetes. These factors increase the risk of cardiovascular disease.



MUSCLES & NERVOUS SYSTEM

Muscles lose mass and strength. Reflexes slow down and exercise tends to be less effective in space.

BONES



When they don't bear weight, bones lose density and strength. While adults past age 50 typically lose about 1% each year, astronauts in space can lose up to 1.5% of their bone mass each month.



Anémie de l'espace

Table 1. Major Events in the History of the Space Program and the American Flights Providing Hematologic Data

| | |
|--------------------------------------|--------------|
| Sputnik 1 | October 1957 |
| Formation of NASA | October 1958 |
| Vostok I (first manned mission) | April 1961 |
| Kennedy speech | May 1961 |
| Mercury missions begin (2-9) | 1961-1963 |
| Gemini missions (3-6, 6A, 9-12, 9A)* | 1965-1966 |
| Apollo program (1, 7-15)* | 1968-1972 |
| Skylab program (2, 3, 4)* | 1973-1974 |
| Shuttle program | 1980s |

*
Flights providing hematologic data.

Table 3. Major Physiologic Alterations During Space Flights

| |
|---|
| Loss of body weight (mostly during the first day) |
| Orthostatic intolerance (dizziness on standing due to alterations in cardiovascular reflexes regulating blood flow) |
| Hemodynamic changes |
| Loss of red cell mass and plasma volume |
| Fluid shift (from lower extremities to upper parts of the body) |
| Loss of exercise capacity |
| Loss of bone (calcium loss) |
| Loss of muscle nitrogen |
| Vestibular disturbances |
| Anthropomorphic changes (increase in height due to straightening of thoracolumbar spine) |

Anémie de l'espace

Table 4. Red Cell Mass Losses During 3 Gemini, 7 Apollo, and 3 Skylab Missions*

| Flight | Percent Change | Range | No. Subjects | Duration of Flight |
|-----------|----------------|-----------|--------------|--------------------|
| Gemini 4 | -13 | -12-13 | 2 | 4 |
| Gemini 5 | -21 | -20-22 | 2 | 8 |
| Gemini 7 | -14 | -8-19 | 2 | 14 |
| Apollo 7 | -3 | -2--9 | 3 | 11 |
| Apollo 8 | -2 | +3-4 | 3 | 7 |
| Apollo 9 | -7 | -4-10 | 3 | 10 |
| Apollo 14 | -4.7 | -1.7-9.1 | 3 | 10 |
| Apollo 15 | -10.1 | -7-13.7 | 3 | 12 |
| Apollo 16 | -14.2 | -11.9-17 | 3 | 12 |
| Apollo 17 | -11.2 | -8.4-14.9 | 3 | 13 |
| Skylab 2 | -14 | -12-16 | 3 | 28 |
| Skylab 3 | -12 | -6-20 | 3 | 59 |
| Skylab 4 | -7 | -6-9 | 3 | 84 |

*

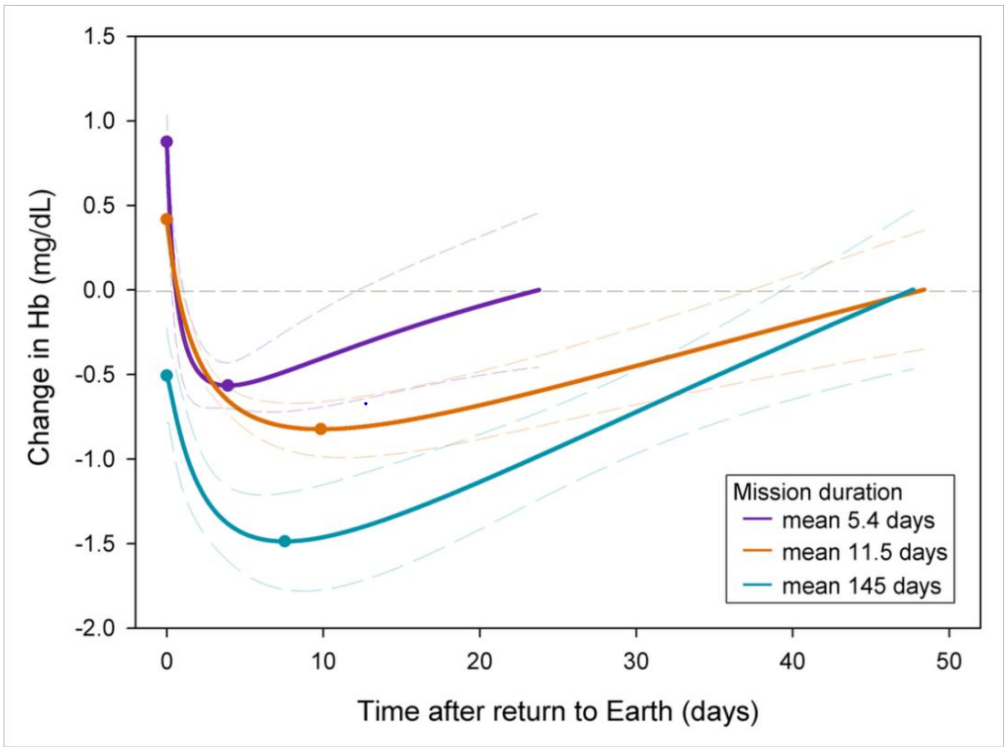
All data obtained directly by ⁵¹Cr labeling, except those from Gemini 4 where the data were calculated from plasma volume and hematocrit.

| Nombre de missions | Nombre de participants | Durée (jours) (médiane) | % de change (médiane) |
|--------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|
| 13 | 36 | 12 | - 11,2 |

Pourcentage de perte masse de GR lors de 13 missions dans l'espace.

→ Perte médiane de 11,2% de masse totale des globules rouge lors d'un voyage dans l'espace

Anémie de l'espace



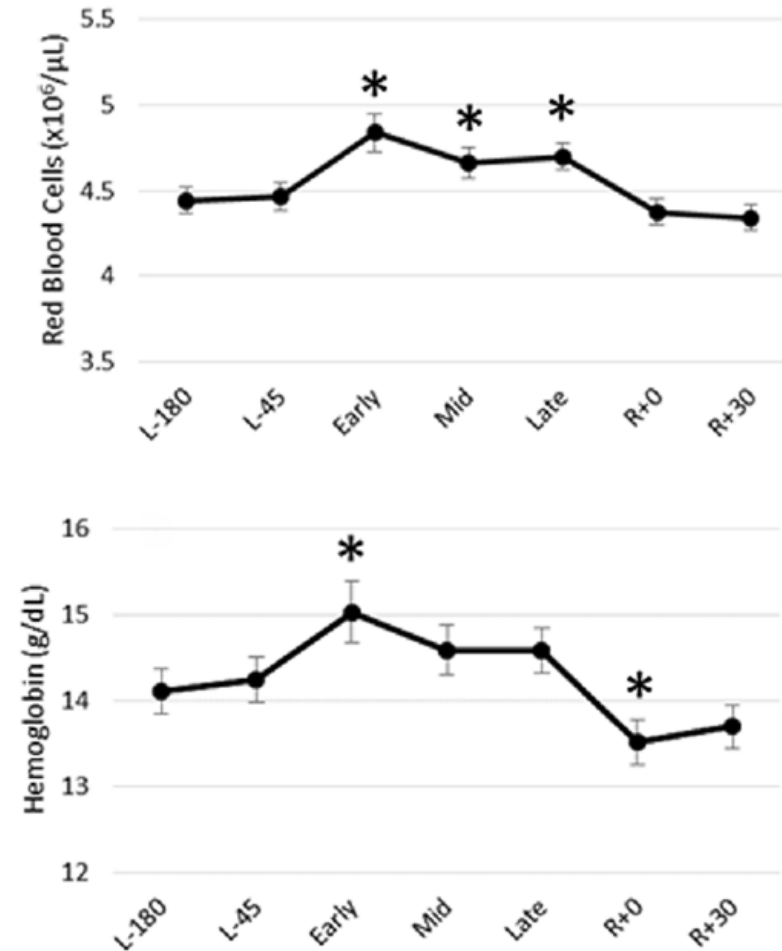
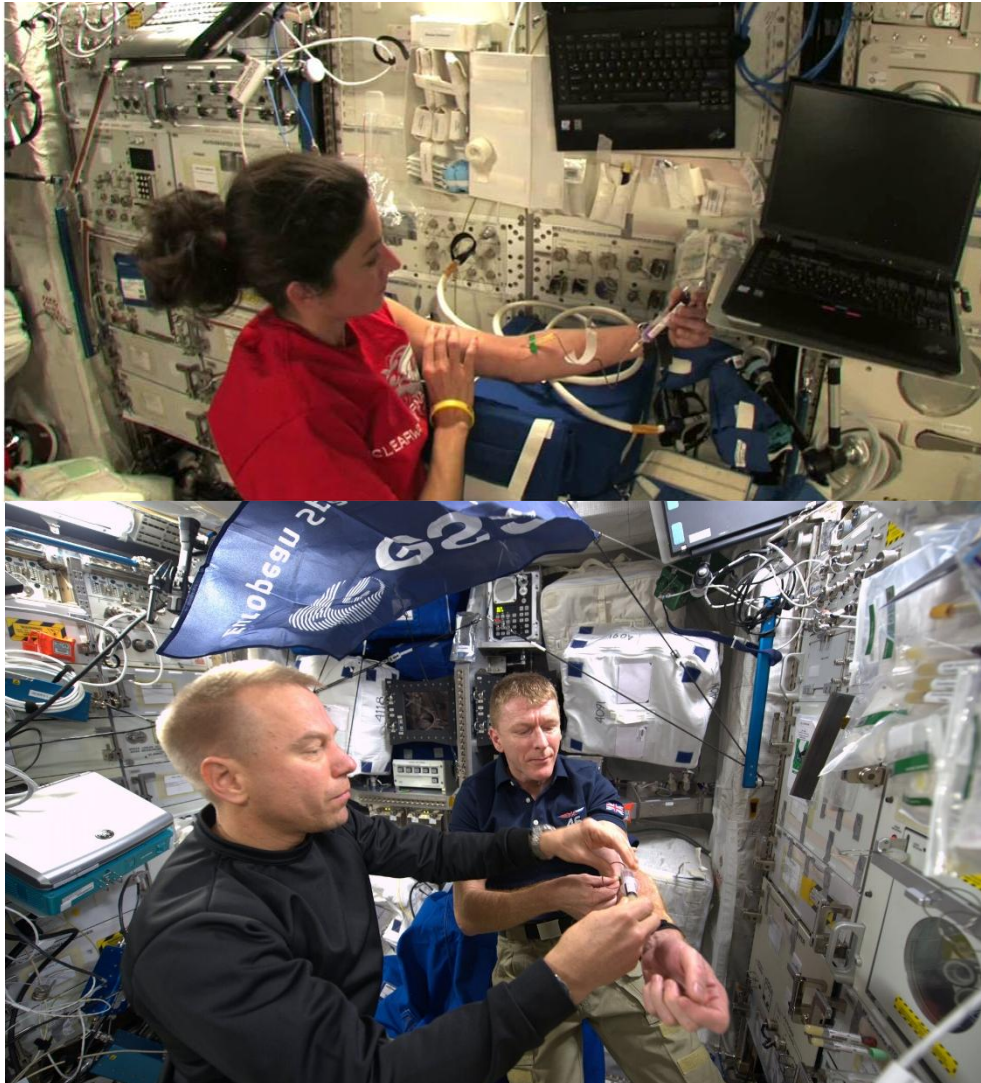
| Temps passé dans l'espace | Tous les astronautes (hommes et femmes) |
|---------------------------|---|
| Moyenne de 5,4 jours | 12/161 (7,4%) |
| Moyenne de 11,5 jours | 50/492 (10,1%) |
| Moyenne de 145 jours | 28/58 (48,2%) |
| Total | 90/711 (12,7%) |

Prévalence d'anémie après un voyage dans l'espace.

→ La prévalence de l'anémie est d'autant + importante que la durée du vol

Exploration biologique des hémolyses

Analyses sanguines de « routine » :



A red abstract line graphic on the left side of the slide, consisting of two curved lines that start near the top left and extend towards the center, with one line curving more sharply than the other.

03

EXPLORATION BIOLOGIQUE DES HÉMOLYSES

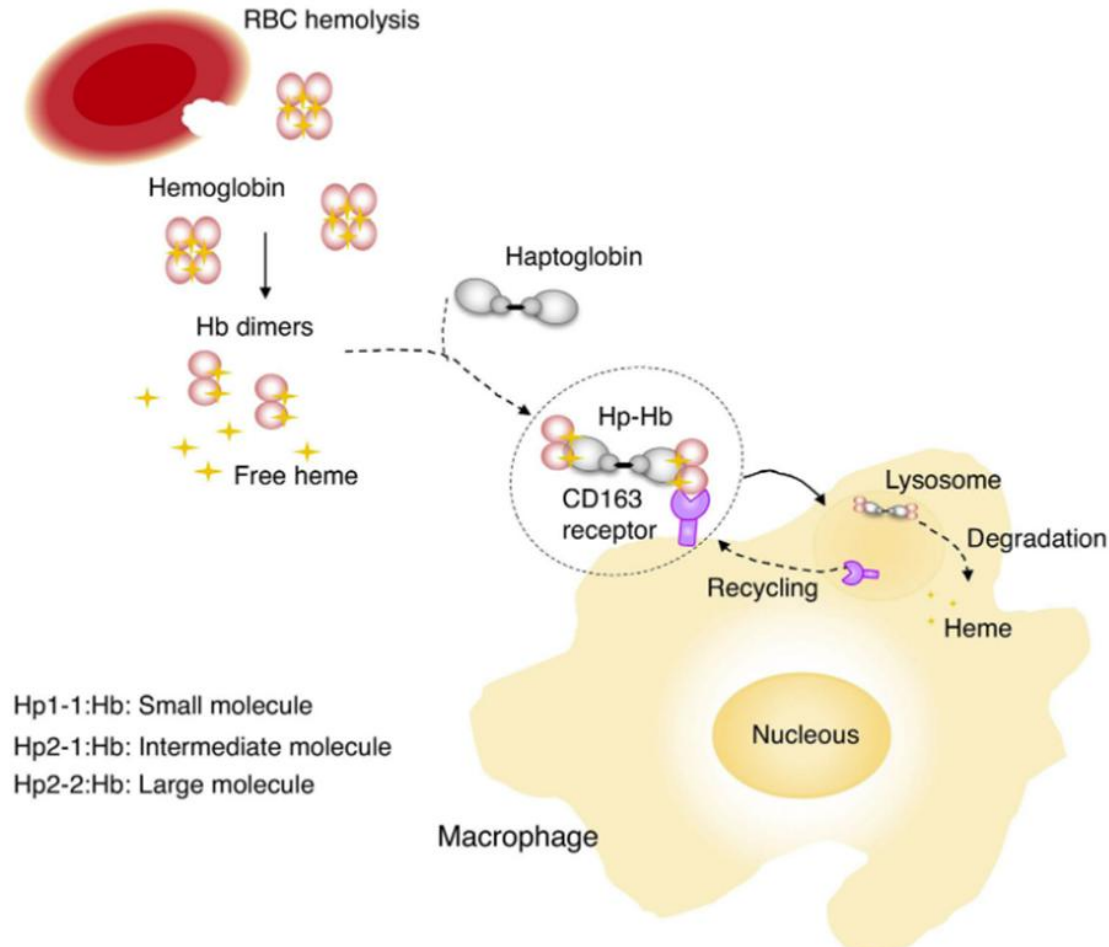
Exploration biologique des hémolyses

Analyses sanguines de « routine » :

- Anémie : baisse concentration en globules rouges et/ou en hémoglobine
- Baisse concentration en haptoglobine.
- Augmentation activité de la Lactate Déshydrogénase (LDH).
- Augmentation concentration en bilirubine.
- Augmentation nombre/taux des réticulocytes.

Haptoglobine

Protéine plasmatique se liant à l'hémoglobine libre

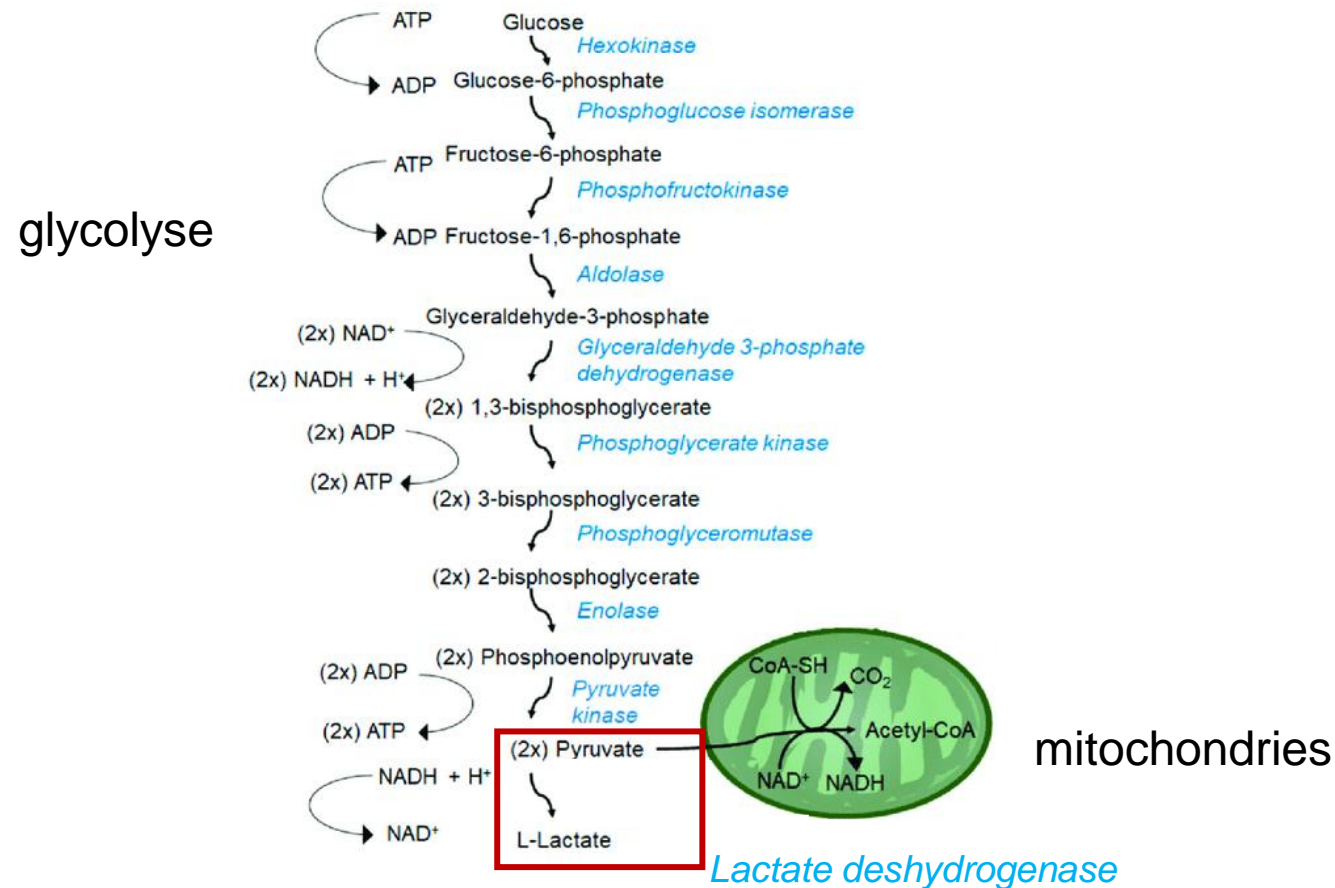


- Prévenir le stress oxydatif
- Production stimulée par cytokines inflammatoire comme Il-1, Il-6 et TNF
- Valeurs faibles associées à :
 - Anémie hémolytique
 - Maladie du foie / des reins
 - Déficit

=> Nombreuses causes d'augmentation

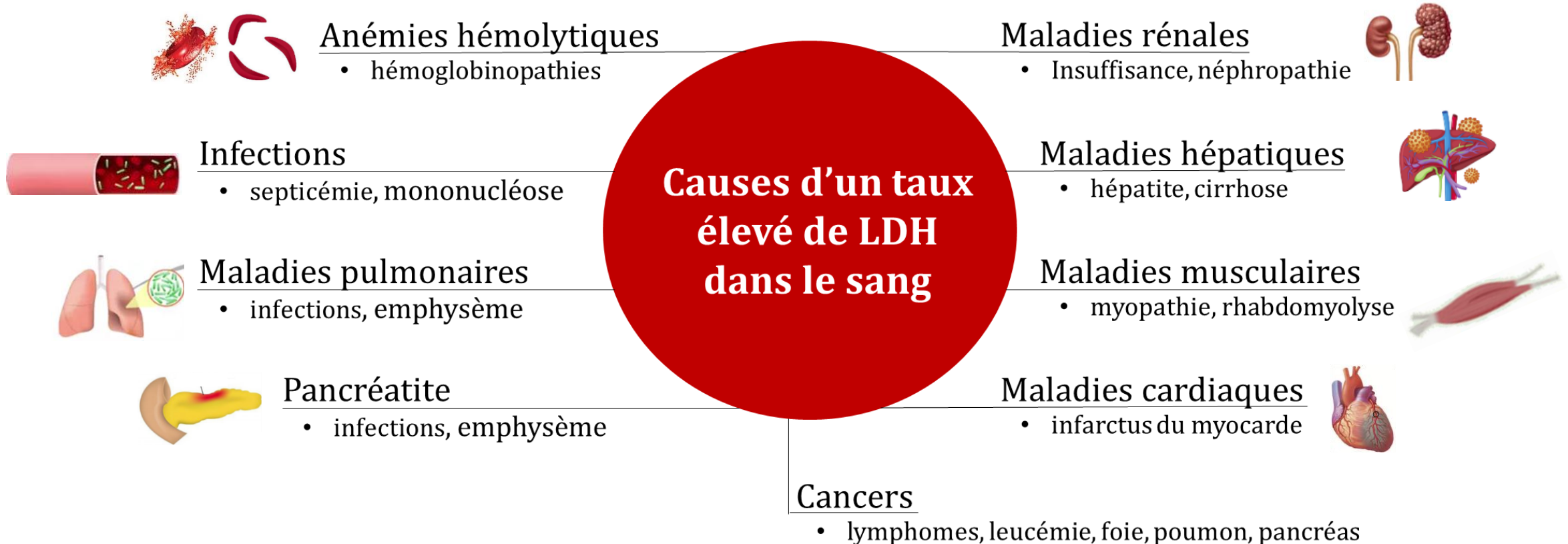
Lactate déshydrogénase (LDH)

Enzyme de la respiration anaérobie



Lactate déshydrogénase (LDH)

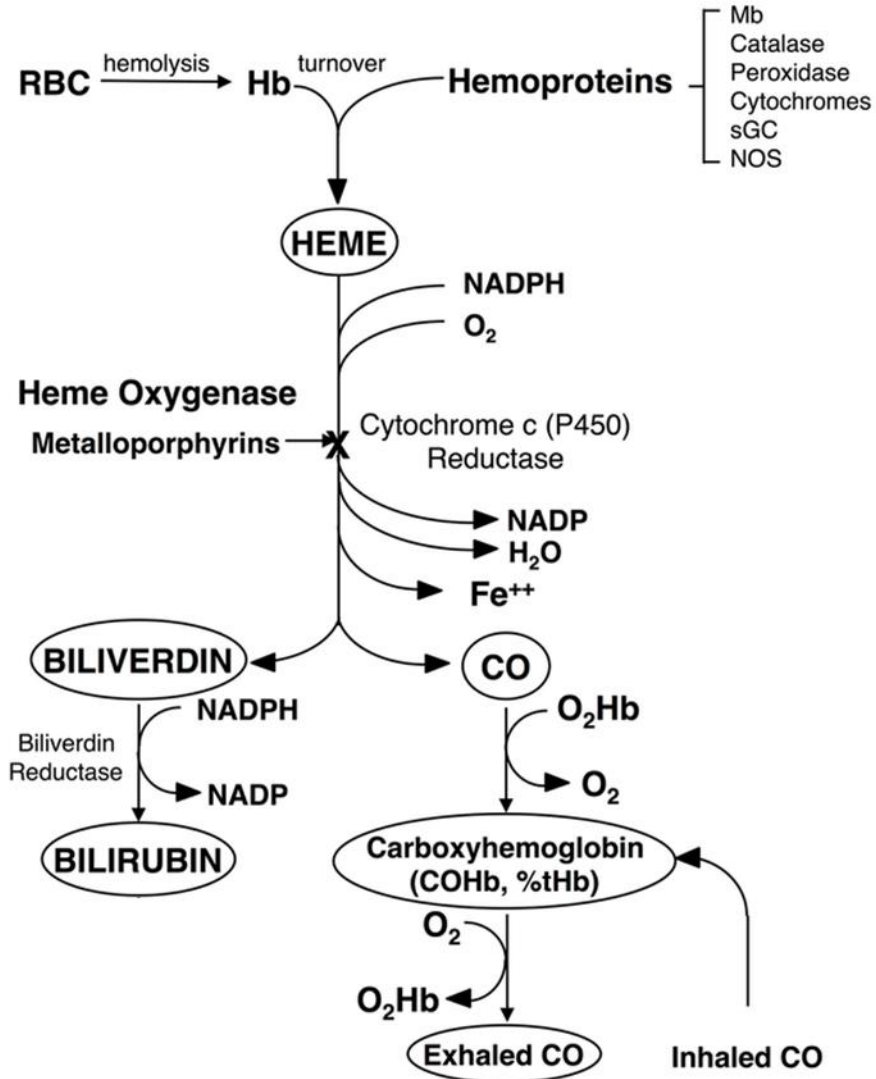
Ubiquitaire : cœur, muscles, foie, reins, poumons, érythrocytes



=> Indicateur de lyse cellulaire

Bilirubine

Sous produit de dégradation de l'hème



- Hème oxygénase (HO-1):



Macrophages, hépatocytes, cellules endothéliales,
neurones, cellules rénales

- Biliverdine réductase



Macrophages, hépatocytes

=> Marqueur secondaire

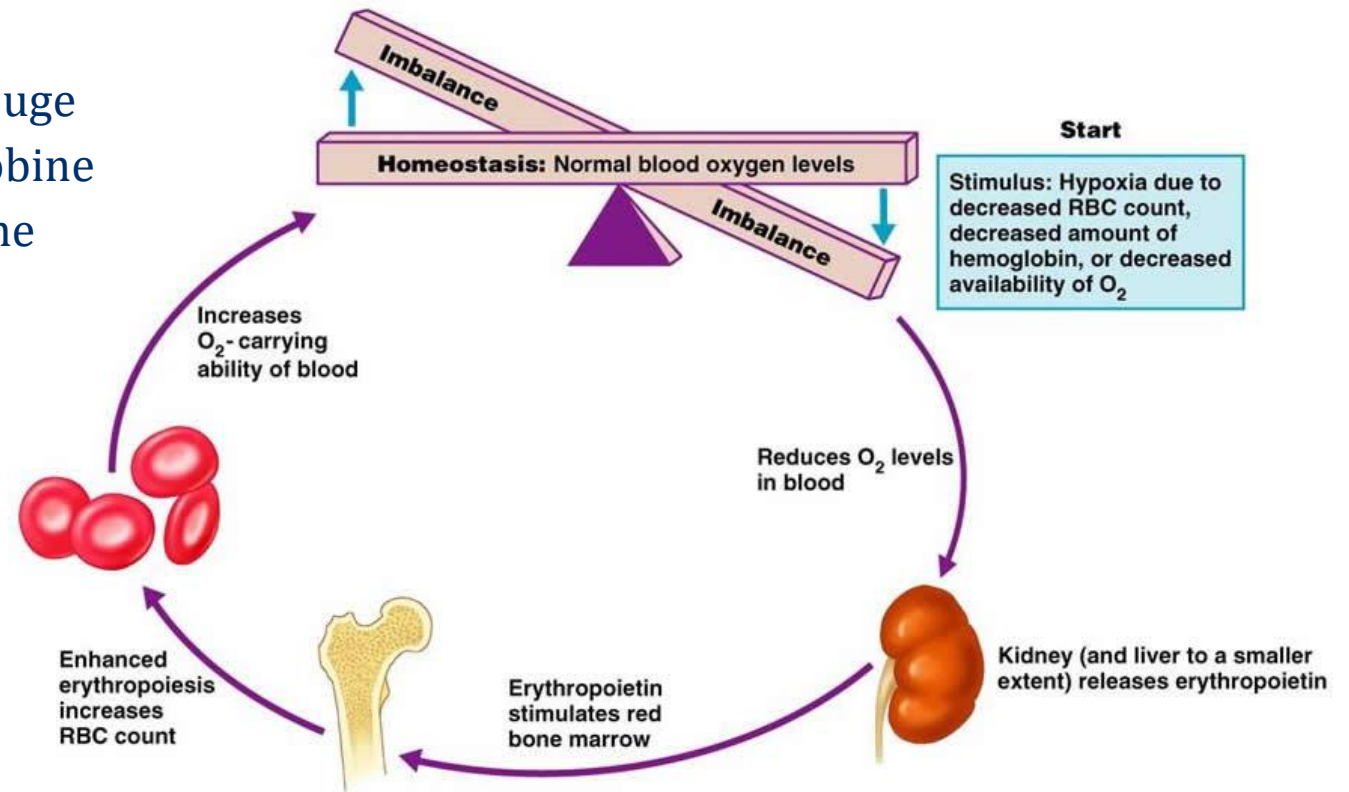
Réticulocytes

- Augmentation du nombre/taux de réticulocytes :

- Stimulus : hypoxie
 - Réduction du nombre de globule rouge
 - Réduction de la quantité d'hémoglobine
 - Réduction de disponibilité d'oxygène

- Réponse : Production d'érythropoïétine (EPO)

- Augmentation de l'érythropoïèse (quid dyséthropoïèse ?)



=> Indicateur de l'hypoxie / anémie

Exploration biologique des hémolyses

Marqueurs traditionnels :

Inconvénients :

- **Haptoglobine** => pas uniquement spécifique de l'hémolyse, stimulée par inflammation
- **Lactate Déshydrogénase (LDH)** => lyse cellulaire globale
- **Bilirubine** => sous produit de dégradation
- **Réticulocytes** => indicateur d'hypoxie / anémie

=> Marqueurs **indirects**



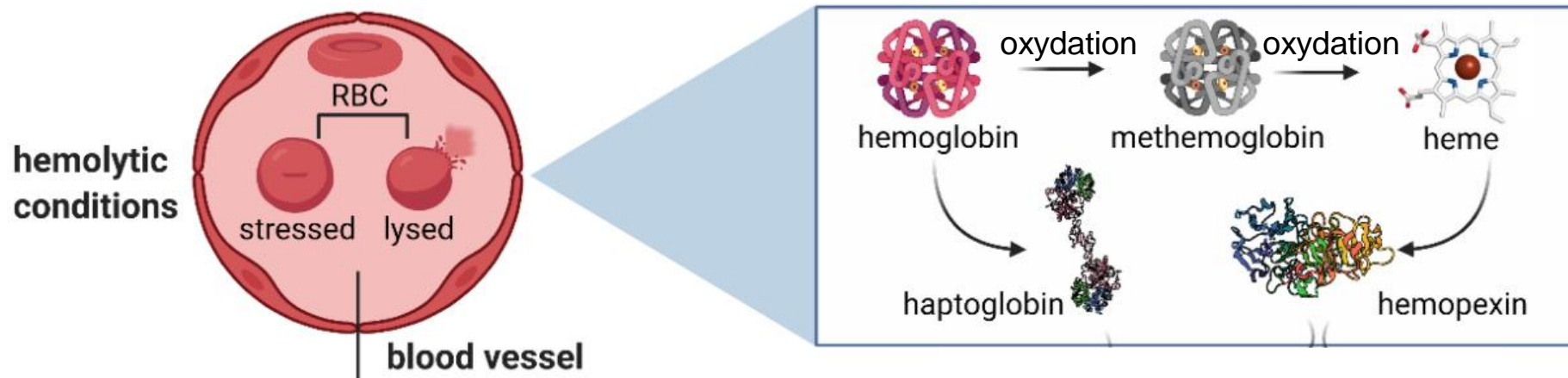
04

MÉTHODES INNOVANTES POUR L'EXPLORATION BIOLOGIQUE DES HÉMOLYSES

a. Mesure de marqueurs directs

Méthodes innovantes pour l'exploration biologique des hémolyses

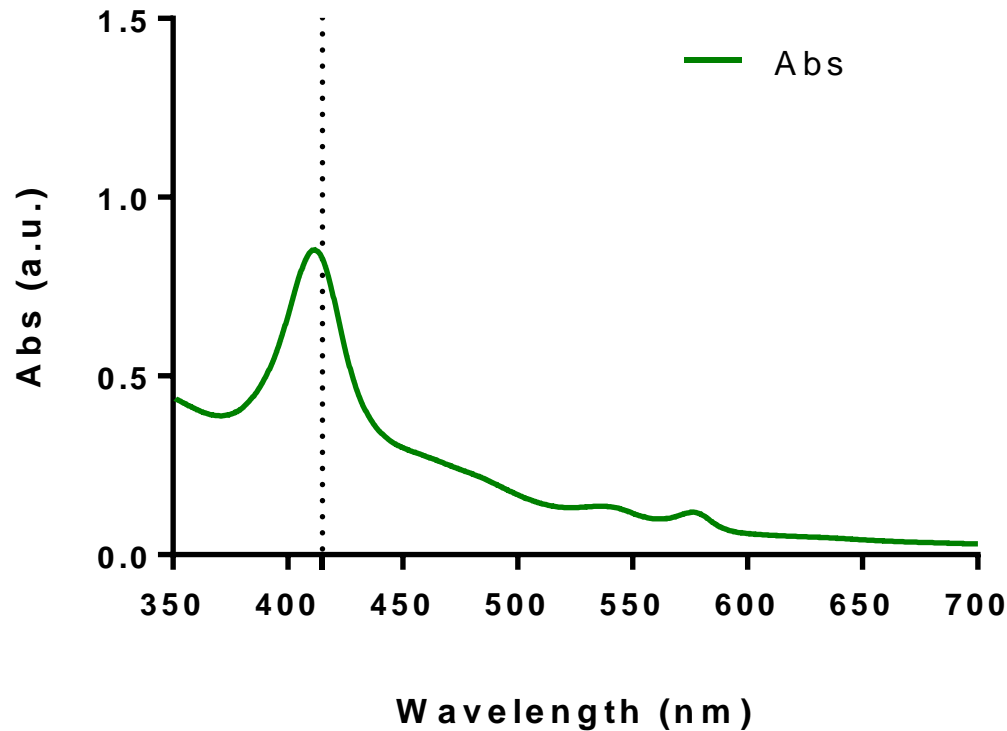
- Dosage des marqueurs **directs** de l'hémolyse :



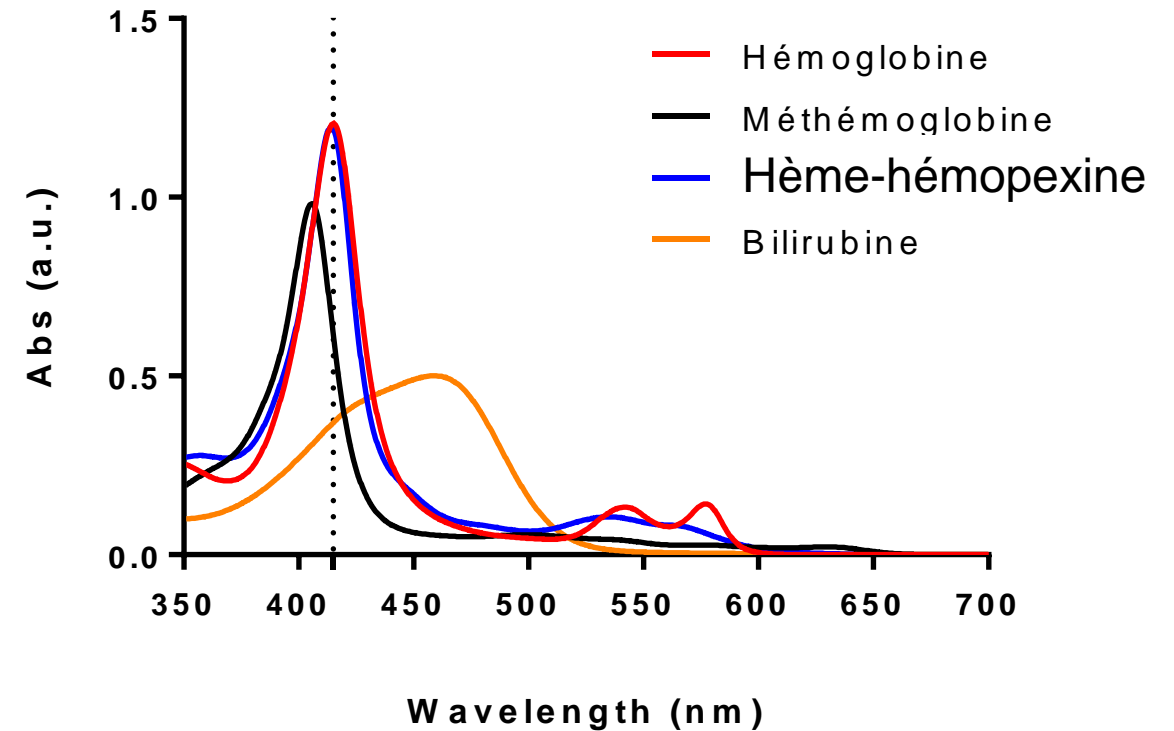
- hémoglobine / méthémoglobine
- hème
- hémopexine

Méthodes innovantes pour l'exploration biologique des hémolyses

- Méthodes spectrophotométriques :



Spectre d'absorbance d'un plasma

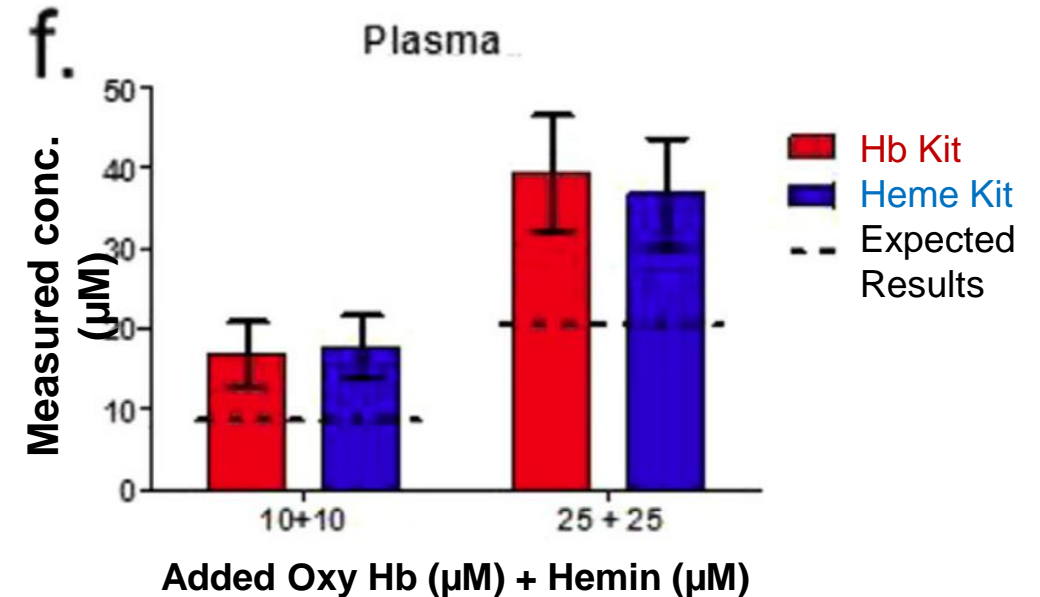
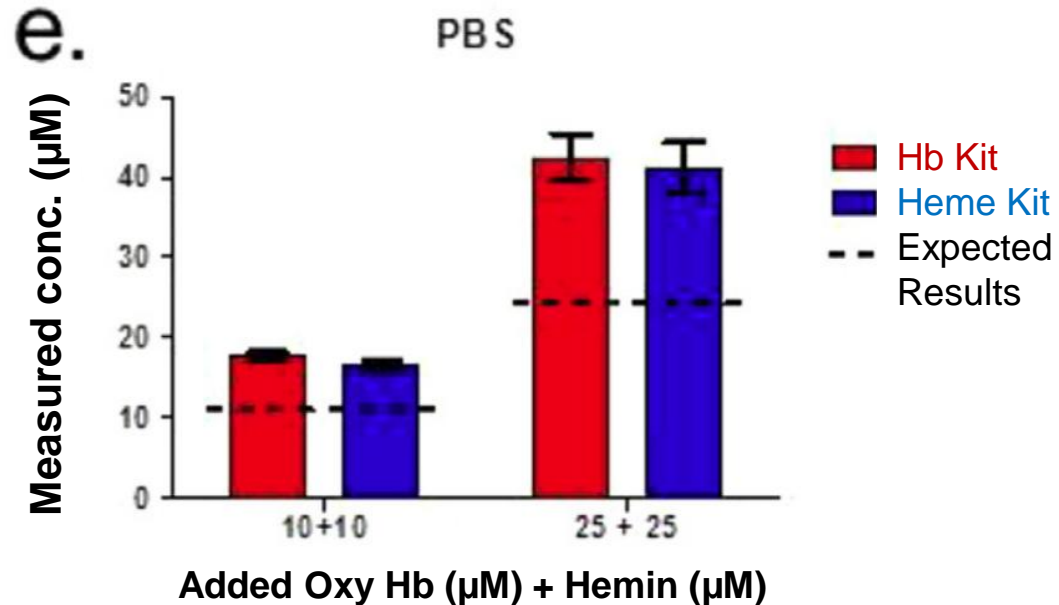


Spectres d'absorbance des différentes espèces liées à l'hème et de la bilirubine

=> Interférences possibles de différentes espèces plasmatiques

Méthodes innovantes pour l'exploration biologique des hémolyses

- Méthodes spectrophotométriques :

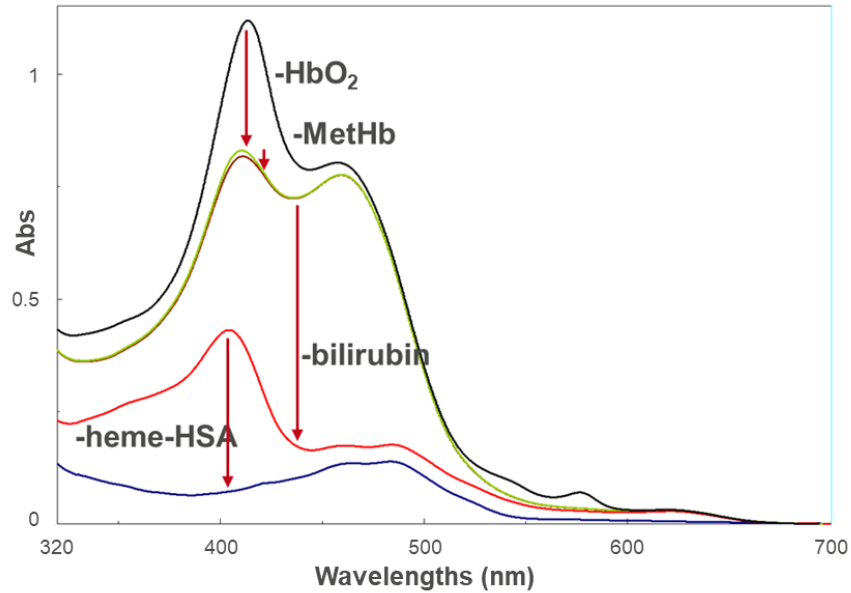


Concentrations surestimées et identiques avec kit de dosage d'hémoglobine et kit de dosage d'hème

Identique dans du tampon ou du plasma

Méthodes innovantes pour l'exploration biologique des hémolyses

- Invention d'une méthode de dosage spectrophotométrique :



Chaque espèce est déterminée séquentiellement et sa contribution spectrale est soustraite de la mesure précédente

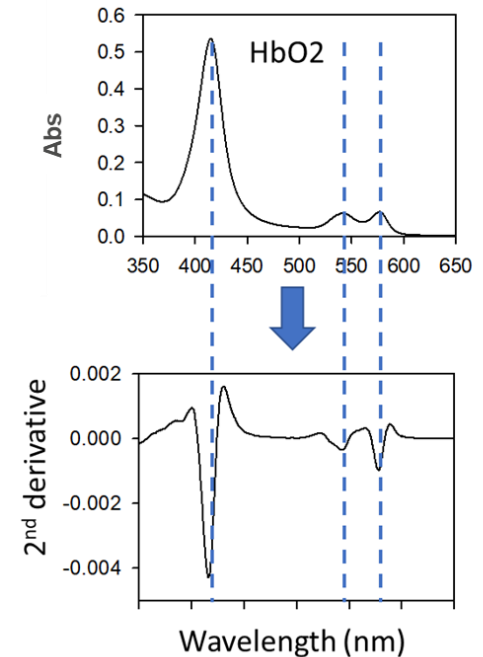
methemoglobin (metHb)
 $\text{Hb-(Fe}^{3+}\text{)}$

+ potassium
cyanide
(KCN)



cyanmethemoglobin

Pour séparer les formes ambiguës des produits chimiques sont ajoutés

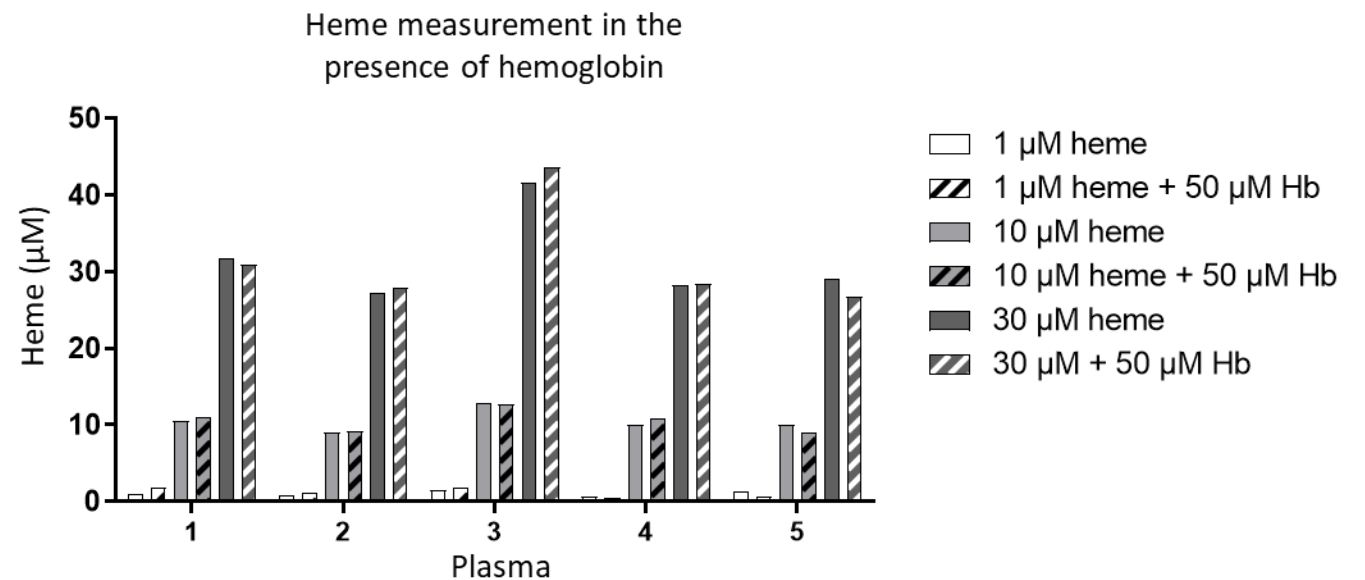
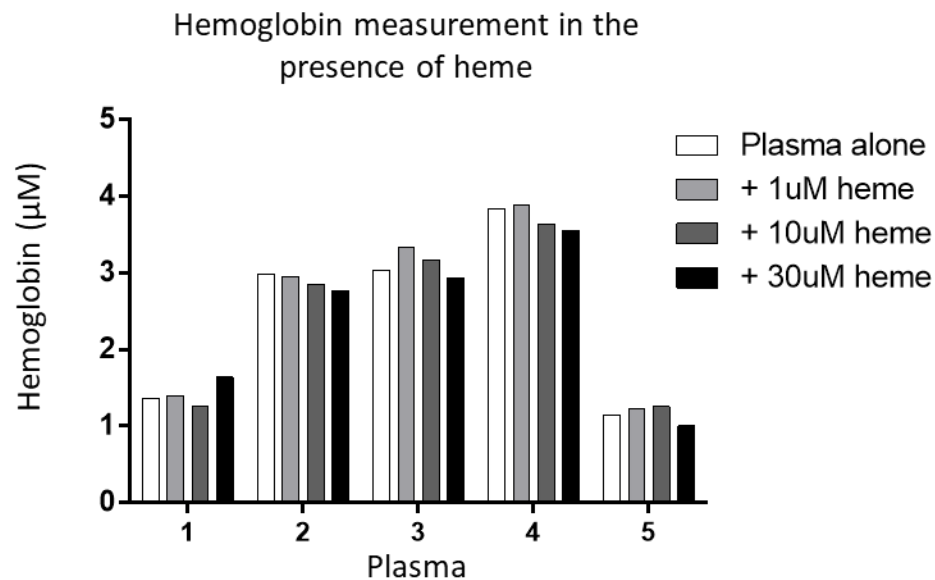


Précision par le calcul de la dérivée seconde, permet d'obtenir une plus grande amplitude du signal.

Mesure directe dans le plasma de : Oxy-Hb ; CO-Hb ; metHb (somme = Hb plasmatique totale) ; hème ; hxp et bilirubine.

Méthodes innovantes pour l'exploration biologique des hémolyses

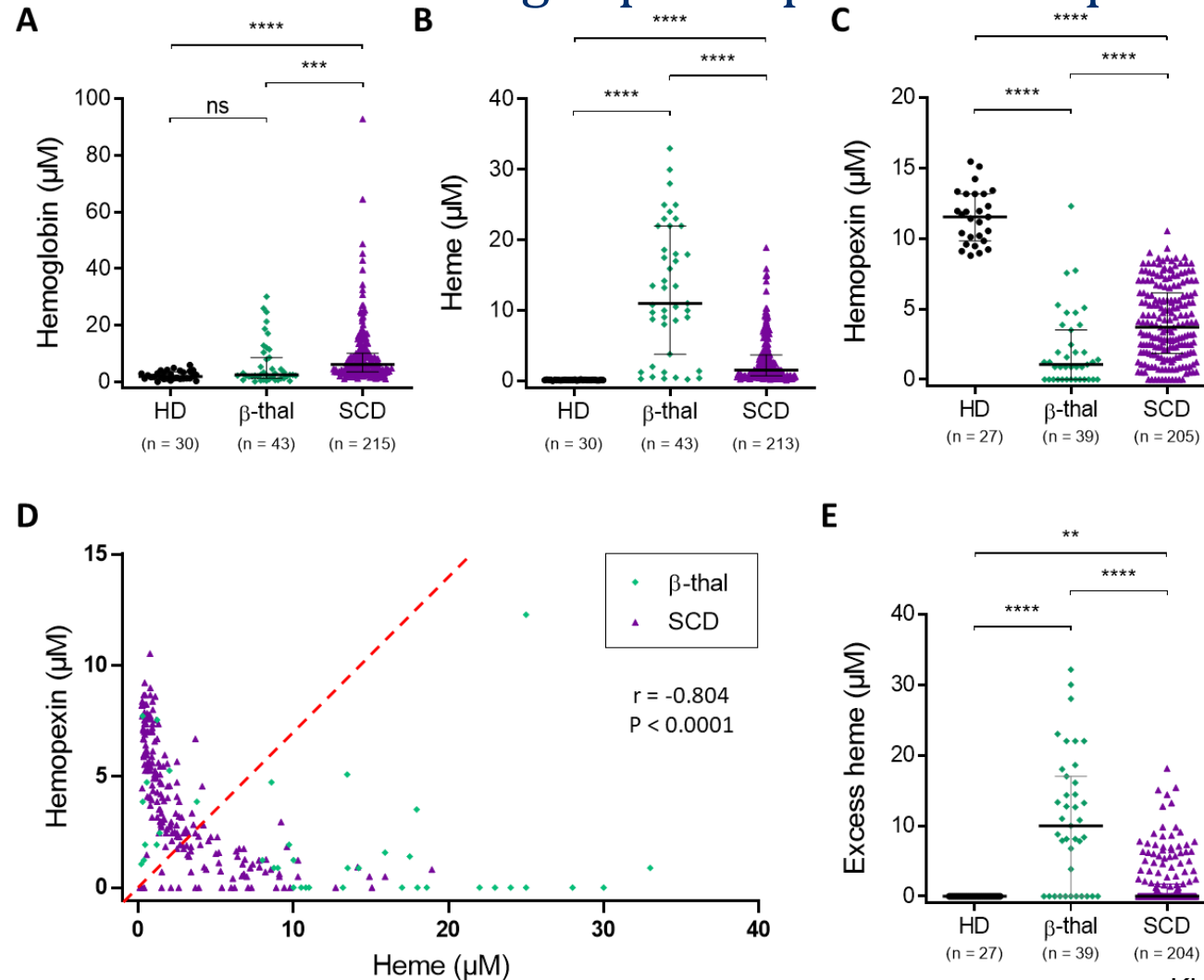
- Invention d'une méthode de dosage spectrophotométrique :



Pas d'interférence de dosage d'une espèce à une autre

Méthodes innovantes pour l'exploration biologique des hémolyses

- Invention d'une méthode de dosage spectrophotométrique :



HD : donneur sain ; β -thal : β -thalassémie ; SCD : drépanocytose

Kiger, Hebert *et al*, article in preparation, 2025



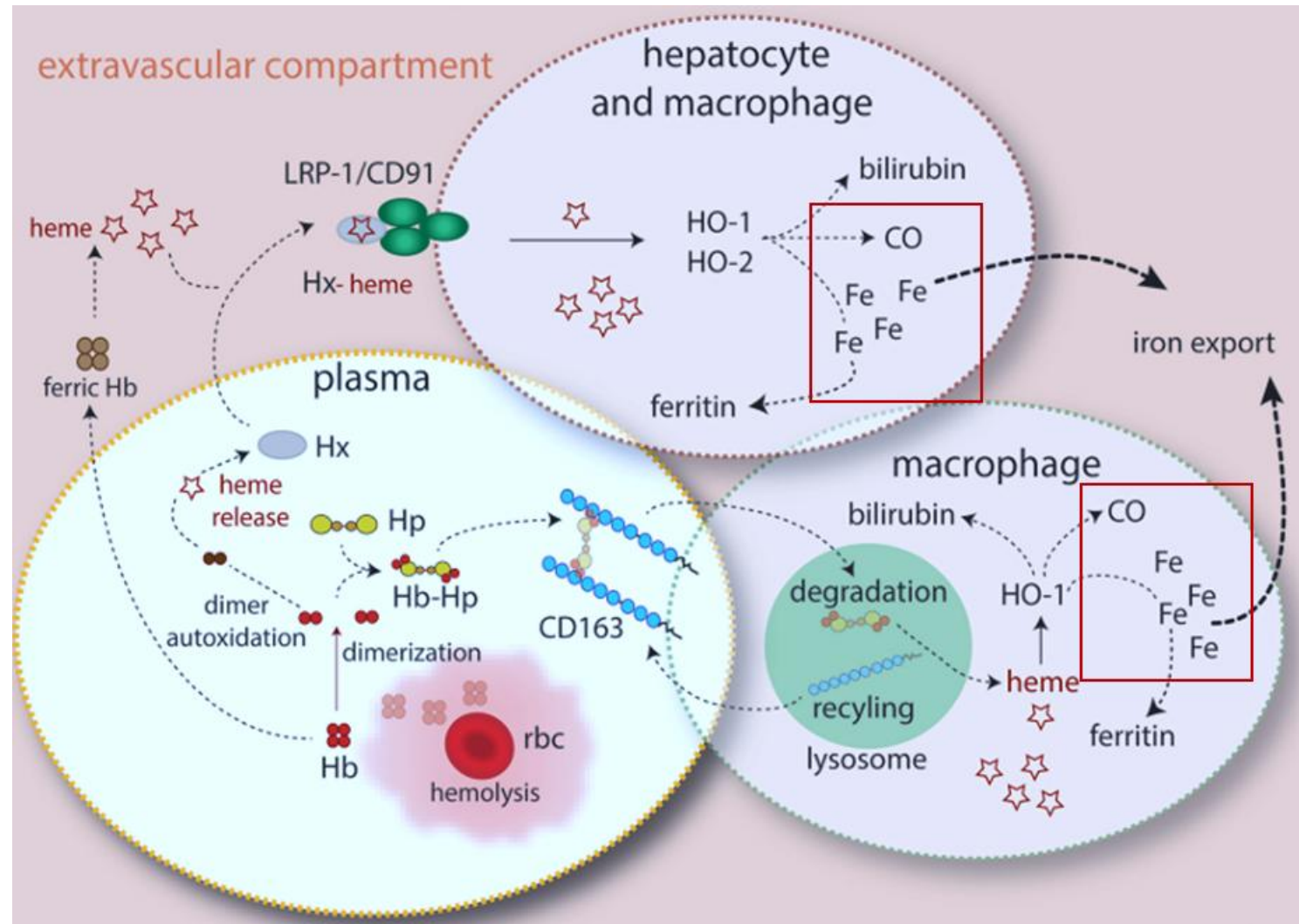
04

MÉTHODES INNOVANTES POUR L'EXPLORATION BIOLOGIQUE DES HÉMOLYSES

b. Évaluation de l'activité hème
oxygénase : CO éliminé

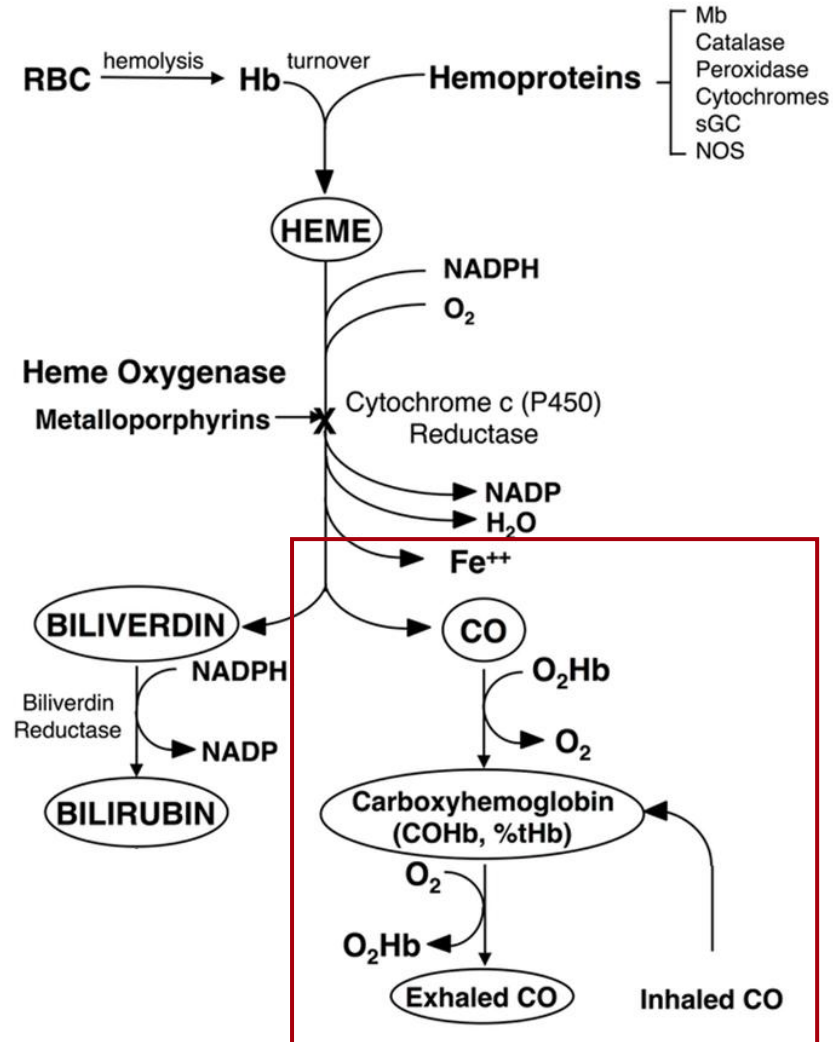
Méthodes innovantes pour l'exploration biologique des hémolyses

- Évaluation de l'activité hème oxygénase :



Méthodes innovantes pour l'exploration biologique des hémolyses

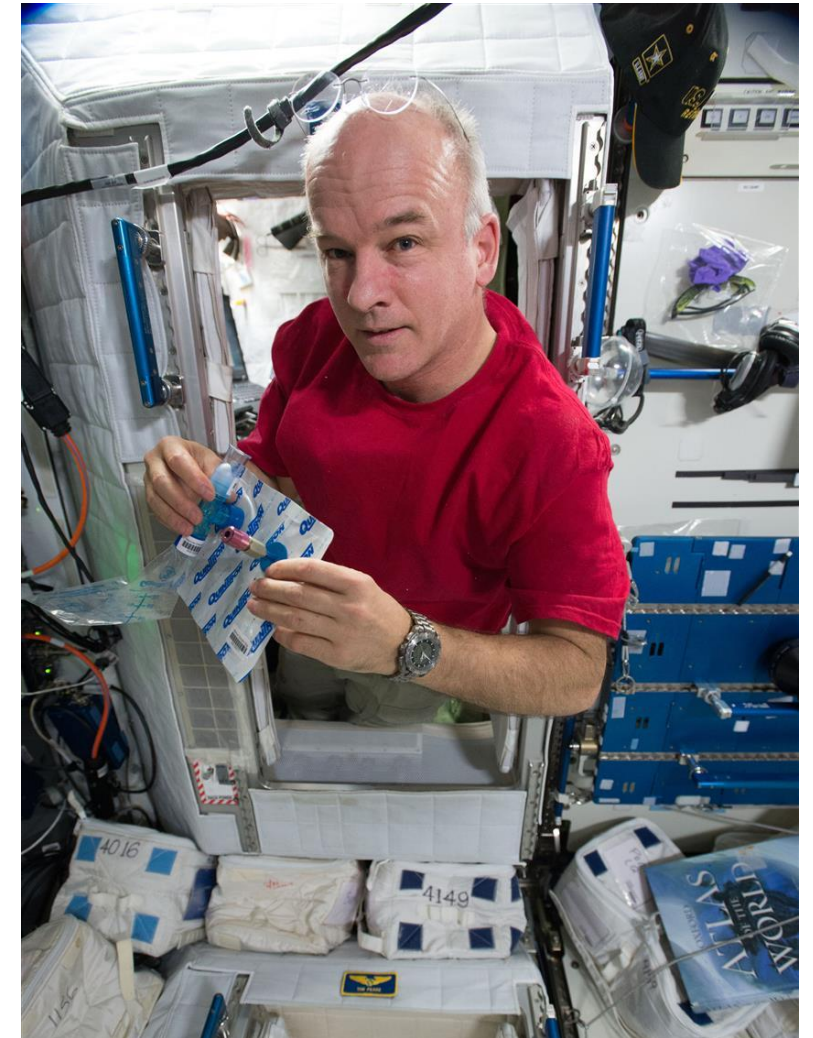
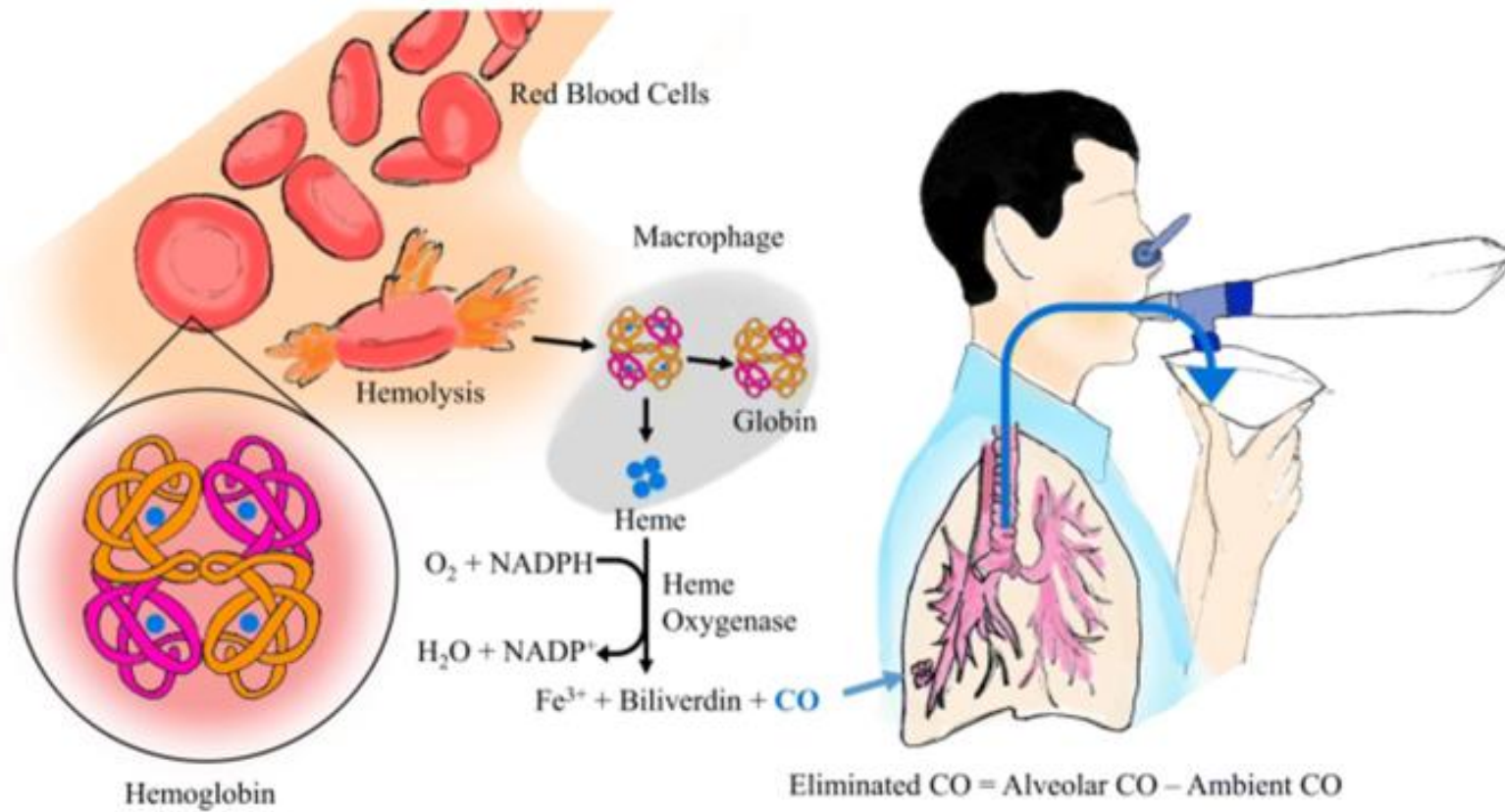
- Évaluation de l'activité hème oxygénase :



- Hème oxygénase (HO-1):
 - Hème + NADPH + O₂ --> Biliverdine + **Fe²⁺** + **CO** + NADP⁺ + H₂O

Méthodes innovantes pour l'exploration biologique des hémolyses

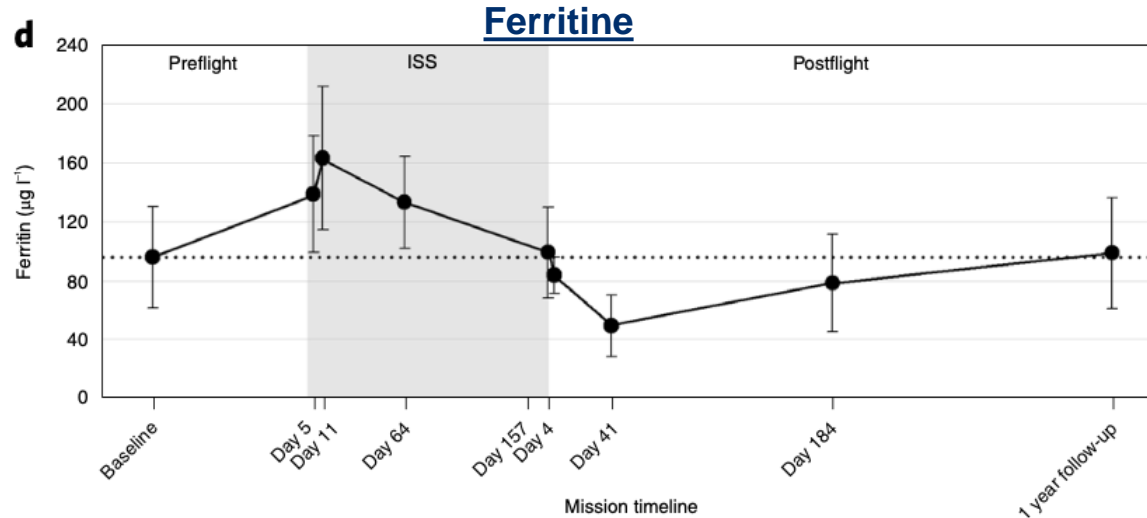
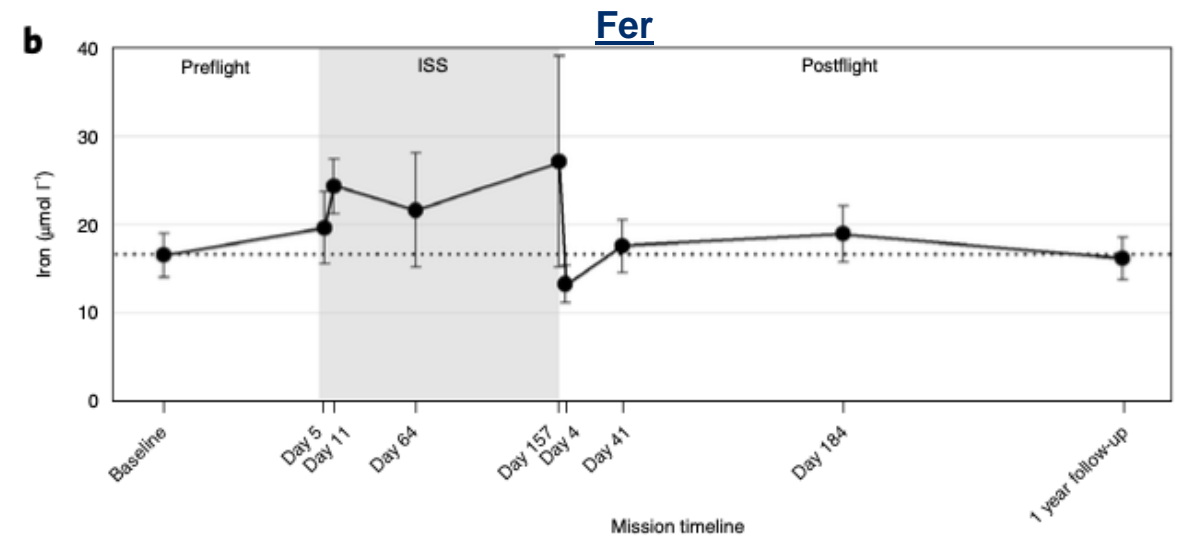
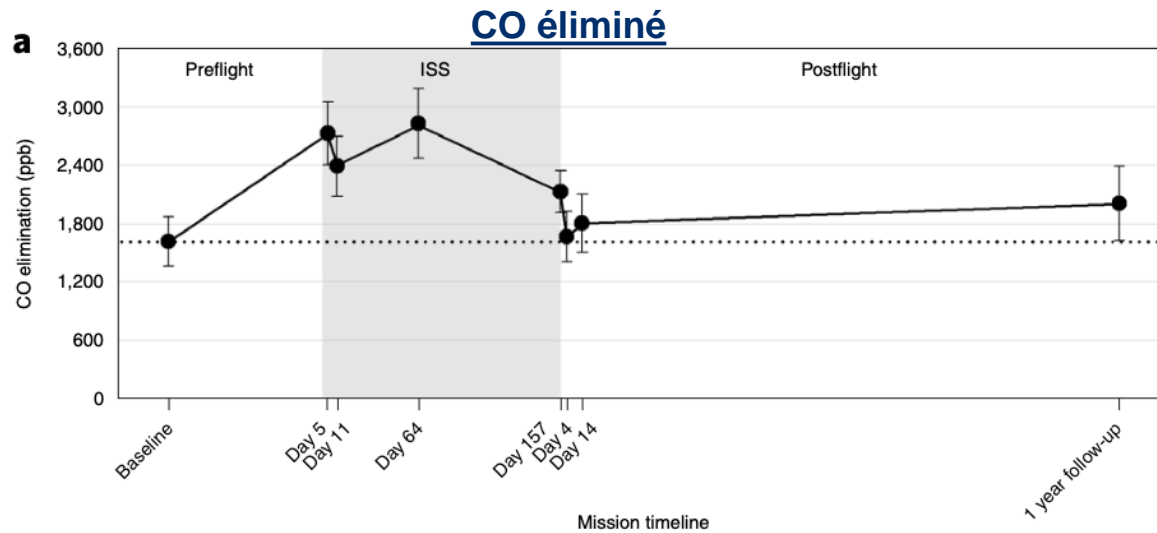
- Évaluation de l'activité hème oxygénase :



2016-05-23 - NASA astronaut Jeff Williams

Méthodes innovantes pour l'exploration biologique des hémolyses

- Évaluation de l'activité hème oxygénase :



« Les vols spatiaux sont associés à une **augmentation persistante** des niveaux de produits de dégradation de l'hémoglobine, de **monoxyde de carbone** dans l'air alvéolaire et de **fer** dans le **sérum** chez 14 astronautes au cours de leurs missions de six mois à bord de la station spatiale internationale. »



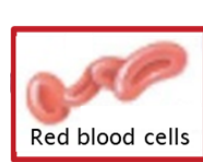
04

MÉTHODES INNOVANTES POUR L'EXPLORATION BIOLOGIQUE DES HÉMOLYSES

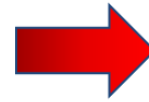
c. Mesure de la durée de vie des
globules rouges

Méthodes innovantes pour l'exploration biologique des hémolyses

- Mesure de la durée de vie des globules rouges



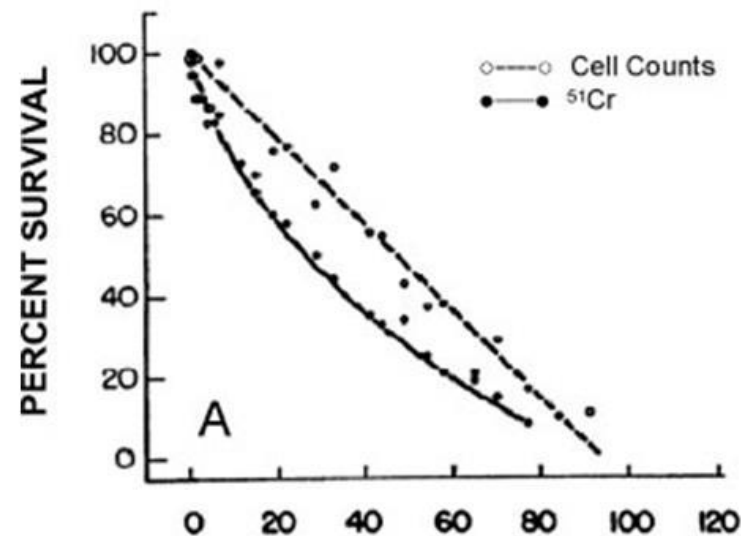
Durée de vie normale : 120 jours



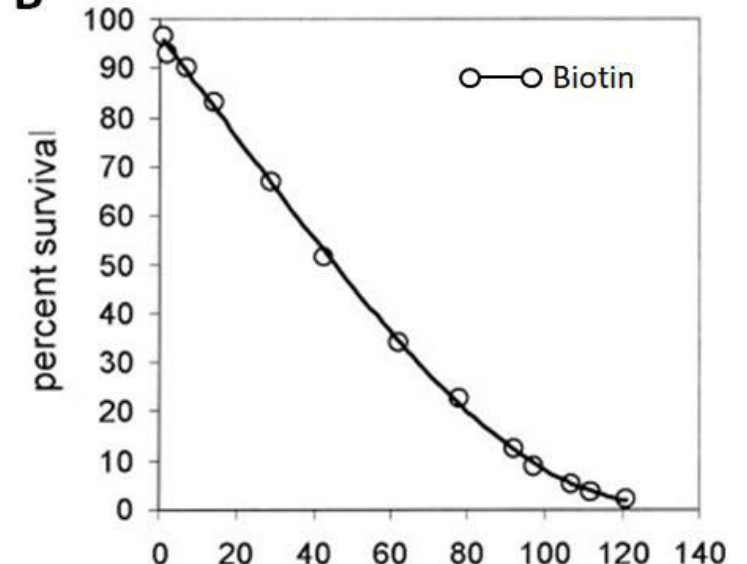
Durée de vie réduite (ex. : drépanocytose)

- **Prise de sang**
- **Marquage des globules rouges**
=> isotope 51 du chrome / biotine
- **Réinjection**
=> transfusion autologue
- **Suivi longitudinal**
=> plusieurs prélèvements sur 4 mois

A



B

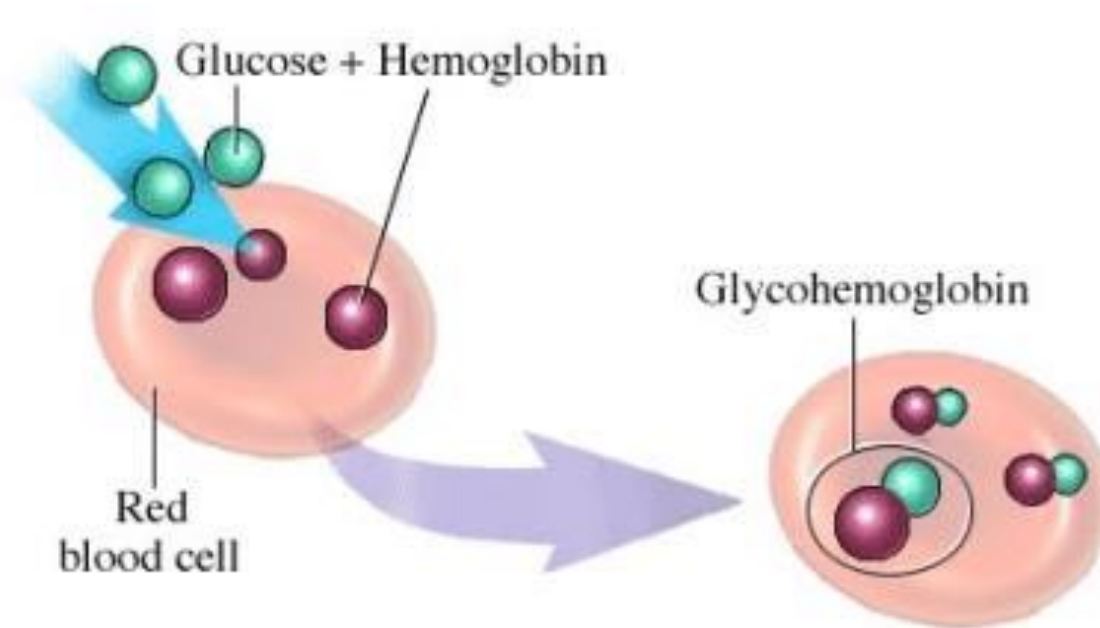


Red blood cell lifespan measurements. (A) Percent of survival according to days after transfusion of RBCs labeled with ^{51}Cr and (B) RBCs labeled with biotin. Figure adapted from Franco

=> Méthode invasive et chronophage

Méthodes innovantes pour l'exploration biologique des hémolyses

- Mesure de la durée de vie des globules rouges

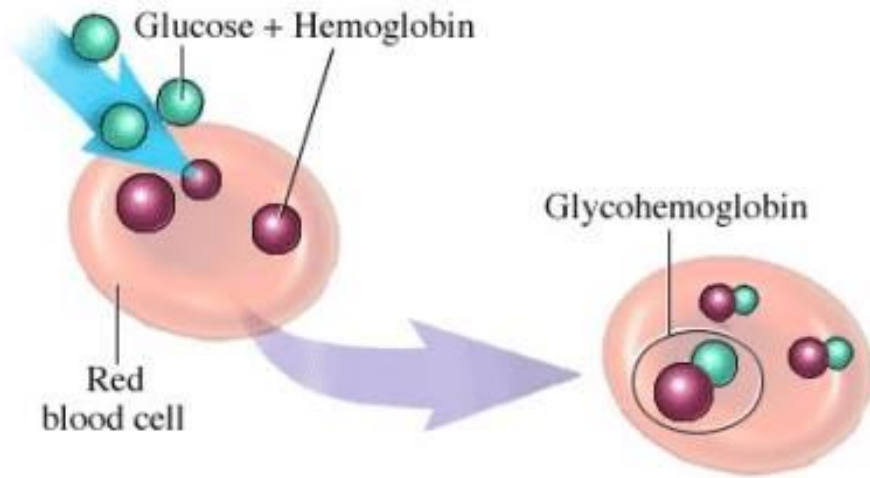


Glycation de l'hémoglobine processus **non enzymatique** dépend :

- De la glycémie
- Du temps

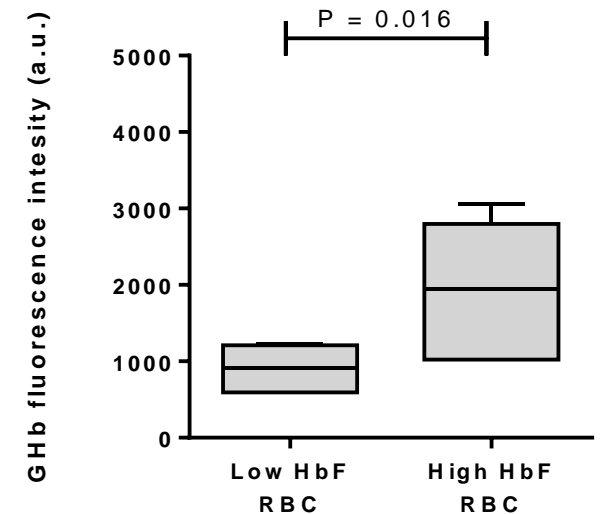
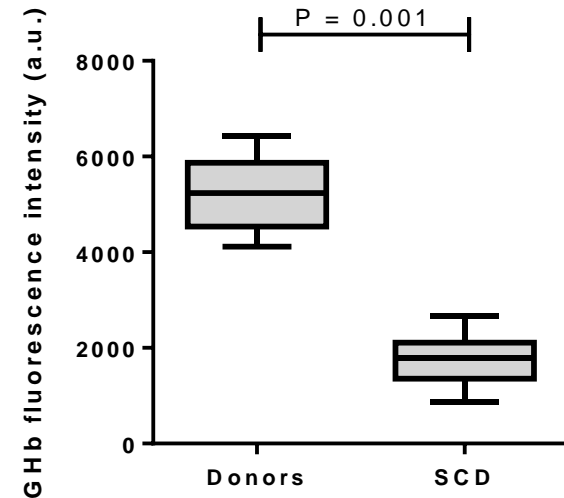
Méthodes innovantes pour l'exploration biologique des hémolyses

- Mesure de la durée de vie des globules rouges



- Marquage intracellulaire de l'hémoglobine glyquée
- Globules rouges fixés et perméabilisés
- Anticorps monoclonal fluorescent spécifique
- Analyse par cytométrie en flux

• => Intensité de fluorescence \Leftrightarrow durée de vie



Djouder et al., ASH congress 2022

Avantage : un seul prélèvement sanguin
Désavantage : ne fonctionne pas en cas de diabète

L'hypothèse de la néocytolyse

| Nombre de missions | Nombre de participants | Durée (jours) (médiane) | % de change (médiane) |
|--------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|
| 13 | 36 | 12 | - 11,2 |

Pourcentage de perte masse de GR lors de 13 missions dans l'espace.

→ Perte médiane de 11,2% de masse totale des globules rouge lors d'un voyage dans l'espace

Néocytolyse, un mécanisme homéostatique qui entraîne l'élimination sélective des globules rouges âgés de seulement 10 ou 11 jours, contribue à la réduction rapide du nombre de cellules.

THE LANCET

HYPOTHESIS · Volume 349, Issue 9062, P1389-1390, May 10, 1997

[Download Full Issue](#)

Neocytolysis: physiological down-regulator of red-cell mass

[Clarence P Alfrey](#) · [Lawrence Rice](#) · [Mark M Udden](#) · [Theda B Driscoll](#)



MINI REVIEW article

Front. Physiol., 05 April 2018

Sec. Membrane Physiology and Membrane Biophysics

Volume 9 - 2018 | <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00345>

Frontiers in Physiology

Neocytolysis: How to Get Rid of the Extra Erythrocytes Formed by Stress Erythropoiesis Upon Descent From High Altitude



Heimo Mairbäurl*

A red abstract line graphic that starts from the left edge, curves upwards and to the right, then loops back down and to the left, ending near the top center.

05

TRAVAUX ACTUELS

POLARIS DAWN

MISSION OBJECTIVES

HIGH ALTITUDE

FIRST COMMERCIAL SPACEWALK

IN-SPACE COMMUNICATIONS

HEALTH IMPACT RESEARCH



Ottawa Hospital Research Institute (OHRI) • with Université Paris-Est Créteil Val de Marne

ANEMIA

All astronauts return from space with anemia. Recent data revealed that red blood cells death was increased in space. This collaborative study will implement novel, cutting-edge technologies to uncover key mechanisms of spaceflight-related anemia. *In partnership with Université Paris-Est Créteil Val de Marne.*



ANEMIA

(PI : Pr. Guy TRUDEL)

➤ Prélèvements sanguins :

- AVANT
- PENDANT
- APRES



CREW
x4



CONTROLS
x4



&



Ottawa Hospital Research Institute (OHRI)

• with Université Paris-Est Créteil Val de Marne

ANEMIA

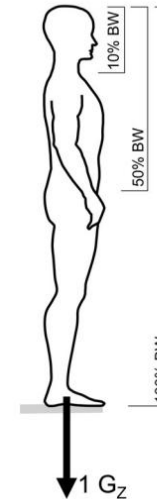
All astronauts return from space with anemia. Recent data revealed that red blood cells death was increased in space. This collaborative study will implement novel, cutting-edge technologies to uncover key mechanisms of spaceflight-related anemia. *In partnership with Université Paris-Est Créteil Val de Marne.*

Les études d'alitement prolongé tête en bas



Bed Rest with Artificial gravity Vibration and Exercise
BRAVE

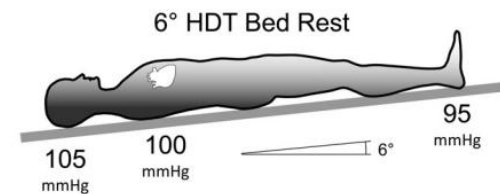
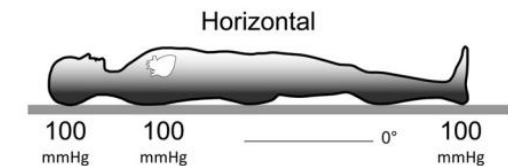
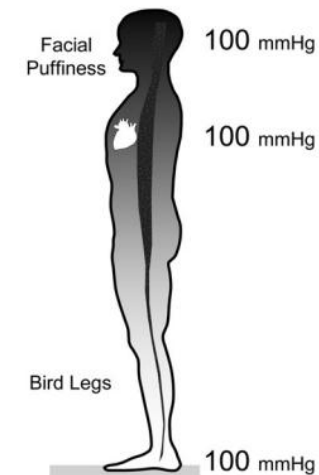
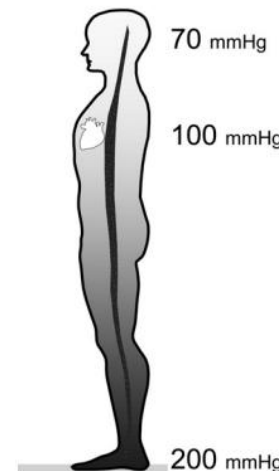
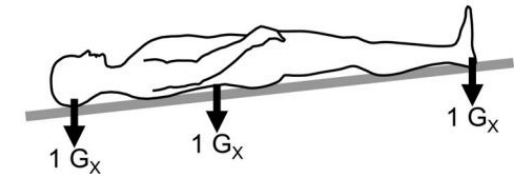
DEBOUT



MICROGRAVITE

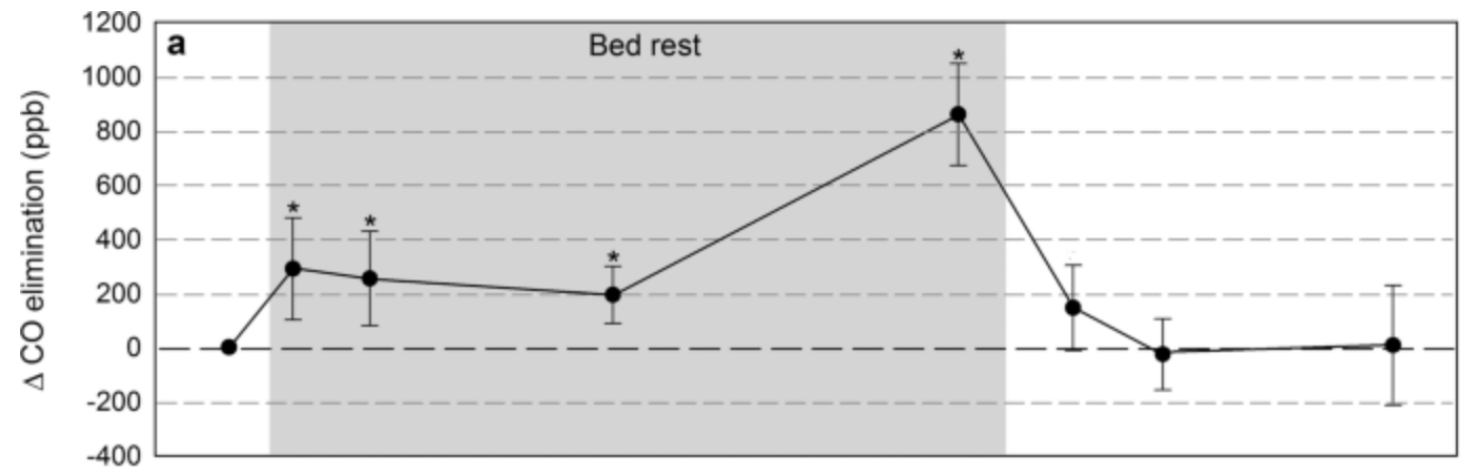
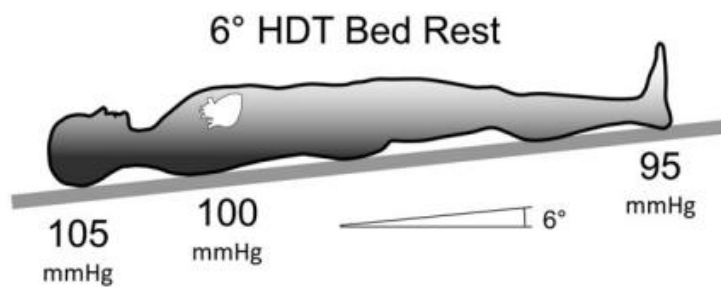


ALITEMENT



Les études d'alitement prolongé tête en bas

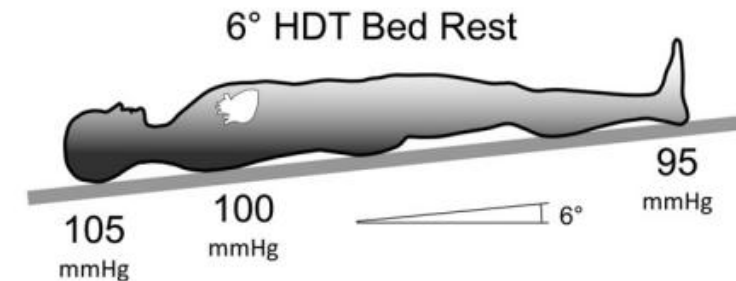
- Six degrees head-down tilt bed rest – hémolyse ?



Les études d'alitement prolongé tête en bas



Gravité artificielle →



Bed Rest with Artificial gravity Vibration and Exercise
BRAVE



ESA, CNES, MEDES

Remerciements



Pr. Pablo BARTOLUCCI



Pr. France PIRENNE

Dr. Laurent KIGER

Dr. Stéphane MOUTEREAU

Dr. Anne-Laure PHAM HUNG

Pr. Sylvain LE JEUNE

Dr. Kim-Anh NGUYEN-PEYRE

Dr. Sevde Nur KARATAS

Elisa DOMINGUES – HAMDİ

Emmanuel ADU

Contact :
nicolas.hebert@efs.sante.fr

Polaris Dawn – sept 2024

Collaborateurs

Pr. Guy TRUDEL

Tammy LIU



Dr. Amber PAUL

EMBRY-RIDDLE
Aeronautical University

