

# TABLE DES MATIERES

<b>Liste des abréviations .....</b>	<b>7</b>
<b>Liste des figures.....</b>	<b>9</b>
<b>Liste des tableaux.....</b>	<b>11</b>
<b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>12</b>
<b>REVUE DE LA LITTERATURE.....</b>	<b>14</b>
<b>A. LA DREPANOCYTOSE.....</b>	<b>15</b>
I.    Historique.....	15
II.   Définition et épidémiologie.....	17
III.  Génétique.....	20
IV.  L'hémoglobine et ses variantes.....	23
IV.1. Structure protéique de l'hémoglobine.....	23
IV.2. Les hémoglobinopathies.....	24
IV.3. Les syndromes drépanocytaires majeurs.....	25
V.   Polymérisation de l'HbS et falcification des globules rouges....	26
VI.  Bases hémorhéologiques et caractéristiques dans la drépanocytose.....	33
VI.1. Notions de base.....	33
VI.2. La viscosité sanguine.....	36
VI.3. Les facteurs modulants la viscosité sanguine.....	37
VI.4. Viscosité sanguine et résistances vasculaires.....	44
VI.5. Hémorhéologie et drépanocytose.....	47
VII. Circulation vasculaire et HbS.....	49
VII.1. Le globule rouge drépanocytaire.....	49
VII.2. L'adhésion vasculaire.....	50
VII.3. L'altération du tonus vasculaire.....	51

VII.4. Hyperplasie vasculaire de l'intima .....	52
VIII. Présentation clinique.....	53
VIII.1. Sujet drépanocytaire homozygote.....	53
VIII.2. Sujet porteur du trait drépanocytaire.....	56
<b>B. RIGIDITE ARTERIELLE.....</b>	<b>59</b>
I. Implications cliniques de la rigidité artérielle.....	59
II. La rigidité artérielle en tant que facteur de risque.....	61
III. Etiologies de la rigidité artérielle.....	62
III.1. Rigidité artérielle et changements structuraux.....	62
III.2. Rigidité artérielle et calcification de la média.....	62
III.3. Rigidité artérielle et changement de la réponse cellulaire.....	63
III.4. Rigidité artérielle et produits avancés de la glycation.....	64
III.5. Rigidité artérielle et conditions associées.....	64
IV. Méthode de mesure non invasive de la rigidité artérielle.....	65
V. Activité physique et rigidité artérielle.....	66
V.1. Activité physique d'endurance.....	66
V.2. Entrainement musculaire.....	67
<b>CONTRIBUTION PERSONNELLE.....</b>	<b>68</b>
<b>I. MATERIELS ET METHODES.....</b>	<b>69</b>
I.1. Aspect éthique et financier.....	69
I.2. Population d'étude.....	69
I.3. Protocole.....	72
I.4. Variables mesurées.....	72
I.5. Analyses statistiques.....	75
<b>II. PRESENTATION DES RESULTATS</b>	
II.1. Etude 1.....	76
II.2. Etude 2.....	95
II.3. Etude 3.....	102

III. DISCUSSION GENERALE.....	120
IV. CONCLUSION.....	123
V. PERPECTIVES.....	124
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>125</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>138</b>

*Rapport-gratuit.com*   
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**HB** : hémoglobine

**SS** : drépanocytose homozygote

**AS** : drépanocytose hétérozygote ou trait drépanocytaire

**PTD** : porteurs du trait drépanocytaire

**SCT** : sickle cell trait

**SCA** : sickle cell anemia

**CON**: sujets contrôles

**O<sub>2</sub>**: oxygène

**CO<sub>2</sub>**: gaz carbonique

**SC** : double hétérozygotie

**SD** : syndrome drépanocytaire

**CCMH** : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

**HbO<sub>2</sub>** : oxyhémoglobine

**P<sub>50</sub>** : Pression partielle d'oxygène nécessaire pour saturer l'hémoglobine à 50% en oxygène

**CDO** : courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine

**τ** : contrainte de cisaillement

**γ** : vitesse de cisaillement

**ηb** : viscosité sanguine

**Hct** : hématocrite

**NO** : monoxyde d'azote

**α2β2** : deux chaines polypeptidiques α et deux chaines β

**GR** : globule rouge

**VCAM-1** : vascular cell adhesion molecule 1

**ICAM-1** : intercellular cell adhesion molecule 1

**ET** : endothéline

**NOS** : monoxyde d'azote synthétase

**XO** : xanthine oxydase

**AVC** : accidents vasculaires cérébraux

**HTAP** : hypertension artérielle pulmonaire

**HVG** : hypertrophie ventriculaire gauche

**VOP** : vitesse de l'onde de pouls

**MCV** : maladies cardio-vasculaires

**CML** : cellule musculaire lisse

**AGE** : produits avancés de glycation

**IRC** : insuffisance rénale chronique

**POP** : profil de l'onde de pouls

**VOP<sub>c-f</sub>** : vitesse de l'onde pouls carotido-fémorale

**VOP<sub>c-r</sub>** : vitesse de l'onde de pouls carotido-radiale

**VOPdo** : vitesse de l'onde de pouls doigt-orteil

**CNTS** : centre national de transfusion sanguine

**INSEPS** : institut national supérieur de l'éducation populaire et du sport

**PTD\_hhb** : porteur du trait drépanocytaire à viscosité sanguine élevée

**PTD\_lhb** : porteur du trait drépanocytaire à viscosité sanguine basse

**MDA** : malondialdéhyde

**SOD** : super oxyde dismutase

**IL-6** : interleukine 6

**TNF $\alpha$**  : facteur nécrosant tumoral alpha

## **LISTE DES FIGURES**

<b>Figure 1</b> : Superposition des répartitions géographiques de l'allèle $\beta^S$ et du <i>Plasmodium falciparum</i> .....	18
<b>Figure 2</b> : Répartition de l'allèle $\beta^S$ dans le monde .....	19
<b>Figure 3</b> : Electrophorèse de la migration de l'HbA et de l'HbS.....	20
<b>Figure 4</b> : Séquence d'acides aminés codant pour l'HbA.....	21
<b>Figure 5</b> : Mode de transmission de la drépanocytose.....	22
<b>Figure 6</b> : Schéma de la molécule d'hémoglobine.....	24
<b>Figure 7</b> : Formation réversible d'un polymère d'HbS composé de 7 double brins hélicoïdaux d'Hb S sous l'effet de la désoxygénéation.....	28
<b>Figure 8</b> : Polymérisation de la désoxyhémoglobine S aboutissant à la falcification du globule rouge.....	29
<b>Figure 9</b> : Représentation de globules rouges falciformés .....	30
<b>Figure 10</b> : Mécanisme physiopathologique de base de la drépanocytose.....	31
<b>Figure 11</b> : Courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine .....	32
<b>Figure 12</b> : Exemple de rhéogramme montrant le caractère rhéofluidiant du sang.....	37
<b>Figure 13</b> : Influence de l'Hct sur la viscosité sanguine .....	39
<b>Figure 14</b> : Effet de la déformabilité et de l'agrégation érythrocytaire sur la viscosité sanguine .....	40
<b>Figure 15</b> : Relation entre la pression artérielle moyenne et la viscosité sanguine chez des hommes en bonne santé.....	45

<b>Figure 16</b> : Relation entre la pression artérielle moyenne (MAP) et la viscosité sanguine dans une population contrôle (à gauche) et des porteurs du trait drépanocytaires (à droite).....	46
<b>Figure 17</b> : Microcirculation des globules rouges.....	50
<b>Figure 18:</b> Mécanismes explicatifs des accidents observés au cours de l'exercice physique chez les PTD.....	58
<b>Figure 19:</b> Conséquences de la rigidité artérielle.....	61
<b>Figure 20:</b> Viscosimètre cône-plan Brookfield, modèle LVDV-II+PRO.....	73
<b>Figure 21 :</b> pOpmètre <sup>®</sup> (Axelife sas - France).....	74

## **LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableau I : Classification des syndromes drépanocytaires.....</b>	<b>26</b>
<b>Tableau II : Les différents types d'hémoglobines chez l'adulte sain.....</b>	<b>27</b>
<b>Tableau III : population de l'étude 1.....</b>	<b>71</b>
<b>Tableau IV : population de l'étude 2.....</b>	<b>71</b>
<b>Tableau V : population de l'étude 3.....</b>	<b>71</b>

## **INTRODUCTION GENERALE**

Plusieurs décennies après la première description médicale de la maladie faite en 1910, la drépanocytose demeure toujours un problème majeur de santé publique surtout en Afrique Sub-saharienne. C'est l'hémoglobinopathie la plus répandue au monde. L'hémoglobine S (HbS) anormale provient de la mutation du gène de la chaîne  $\beta$  de l'hémoglobine A (HbA) normale. L'HbS est caractérisée par sa capacité à polymériser dans sa forme désoxygénée. La polymérisation de l'HbS est l'élément déclencheur de la falcification du globule rouge et conduit à de nombreuses altérations hématologiques, hémorhéologiques et métaboliques. La forme homozygote (SS) et le trait drépanocytaire (AS) sont les plus grandes formes de la maladie. Le trait drépanocytaire, la forme bénigne de la maladie, est caractérisé par des perturbations hémorhéologiques à type d'hyperviscosité sanguine. Bien que les sujets porteurs du trait drépanocytaire (PTD) soient le plus souvent asymptomatiques, de rares complications ont été rencontrées au cours d'exercices physiques réalisés dans certaines conditions (chaleur, déshydratation et altitude). Ainsi plusieurs auteurs ont proposé de reclasser le trait drépanocytaire comme cofacteur de morbidité et de mortalité. Aussi, des auteurs se sont intéressés à l'association pression artérielle et viscosité sanguine ; il n'y avait aucune relation chez les sujets sains (HbA) alors qu'il existait une association positive chez les sujets PTD (1). Ces résultats suggèrent aussi qu'il existe une légère altération de la fonction vasculaire chez les sujets PTD.

Notre travail de thèse se propose d'évaluer la fonction vasculaire chez les sujets PTD par la mesure de la rigidité artérielle et de rechercher les mécanismes physiopathologiques qui pourraient être impliqués dans cette dysfonction vasculaire. Aussi, nous rechercherons l'impact de la pratique régulière d'activités physiques modérées sur la fonction vasculaire des sujets PTD. Nous avons réalisé des expérimentations sur trois populations : les sujets

drépanocytaires homozygotes, les sujets porteurs du trait drépanocytaire et les sujets contrôles.

Afin de dresser le cadre théorique des études expérimentales, une revue de la littérature composée de deux chapitres présentera 1) une description détaillée de la maladie drépanocytaire avec ses origines, ses mécanismes physiopathologiques, ses bases hémorhéologiques et ses formes cliniques ; 2) une description de la rigidité artérielle avec ses implications cliniques, ses étiologies, ses moyens de mesure non invasive et sa relation avec l'activité physique.

La présentation des résultats expérimentaux de ce travail de thèse se fera ensuite au travers de trois articles scientifiques et nous terminerons par une discussion et conclusion générales et des perspectives.

## REVUE DE LA LITTERATURE

---

## **A) LA DREPANOCYTOSE**

### **I. Historique**

La drépanocytose semble être une maladie connue depuis des générations par des peuples d'Afrique de l'Ouest. Des descriptions informelles convergent toutes vers une maladie, dont les symptômes seraient exacerbés au moment de la saison des pluies, d'où l'appellation de « rhumatisme de la saison froide ». Une description des symptômes similaires à la maladie que nous connaissons aujourd'hui a été faite par le Dr James Africanus Horton en 1874 en Afrique. Plusieurs cas similaires de cette maladie ont été décrits dans de nombreuses tribus sous des appellations et des dialectes différents. D'autre part, sur le continent nord-américain de nombreux cas de jeunes afro-américains présentant des symptômes similaires à ceux de la maladie ont été rapportés (2, 3). Tous les auteurs décrivent une maladie, qui provoque une crise de douleurs généralisées. Les symptômes de la maladie sont : des fièvres, des douleurs articulaires aléatoires, des ulcères de jambes, des anomalies de la rate et de nombreux autres symptômes qui sont aujourd'hui acceptés comme faisant partie de l'histoire naturelle de la maladie (4).

L'histoire médicale de cette maladie trouve son origine au début du siècle dernier par la première « étude de cas » publiée dans « Archives of Internal Medecine » datant de novembre 1910, signé par le Dr James Herrick de Chicago (5). Il y décrit un jeune étudiant afro-caribéen, originaire de l'île de Grenade, admis à l'hôpital presbytérien pour une forme sévère d'anémie, probablement la forme homozygote de la drépanocytose, dont le frottis sanguin présente des globules rouges en forme de faucille ou en feuille d'acanthe. Cette publication est le point de départ de la série d'études qui viendront au fil des années enrichir les connaissances de cette maladie. Trois mois après la première publication, un second article rapportait le cas d'une jeune femme de 25 ans admise à Charlottesville (Hôpital universitaire de Virginie) pour de multiples symptômes chroniques (6). Un troisième cas (7) rapporte celui d'une autre jeune femme de

21 ans à Saint Louis (Hôpital universitaire de Washington), et un quatrième cas, celui d'un jeune homme de 21 ans admis à l'hôpital John Hopkins (8).

La revue qui a été faite par Mason à cette même époque (8) sera la première à proposer la terminologie de « Sickle cell anemia » pour anémie falciforme. Cette appellation restera la référence anglophone pour désigner l'affection touchant les individus majoritairement d'origine africaine, provoquée par une anomalie des cellules érythrocytaires et provocant de nombreuses complications. La plus fréquente et la plus significative est la crise vaso-occlusive douloureuse qui peut toucher n'importe quelle zone du corps.

L'origine génétique de cette maladie est suggérée pour la première fois par Emmel (9) après avoir rapproché le phénomène de falcification chez le troisième cas rapporté (7) au même phénomène observé chez le père. De nombreux travaux d'analyses de transmission de caractères se sont succédés au cours des 10 ans qui suivront et ils permettront d'émettre l'hypothèse d'un mode de transmission autosomal récessif (10, 11).

Cependant de nombreux doutes subsisteront jusqu'à ce que les études de Neel (10, 12) confirment ce mode de transmission, en étudiant les traits phénotypiques de nombreux parents et de leurs descendances et en appuyant ses travaux de tests de falcification.

Le caractère déterminant de la falcification dans la maladie a mobilisé l'attention de nombreux scientifiques dans le domaine (13, 14). Deux observations majeures ont orienté les hypothèses vers la molécule d'hémoglobine. D'une part les propriétés biréfringentes des globules rouges désoxygénés (13) et le fait que les globules rouges des jeunes enfants soient moins sujets à la falcification (propriété conférée par le caractère protecteur de l'hémoglobine fœtale) (15).

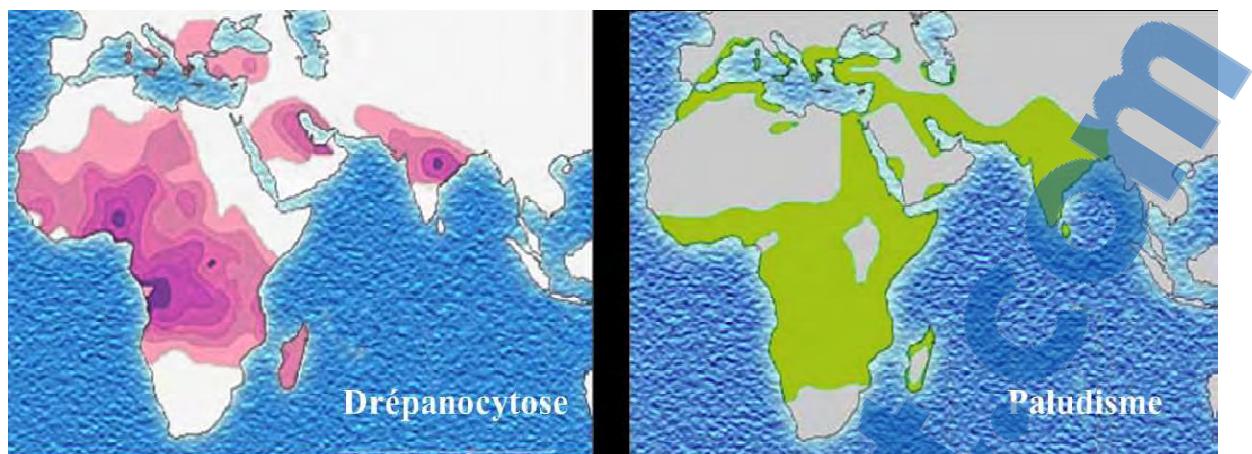
Une rencontre fortuite de Castle (mentor de Sherman encore étudiant) et Pauling conforte ces hypothèses et les travaux de ce dernier seront définitivement tournés vers cette piste. Ce n'est qu'en 1949 que les travaux de Pauling, Singer

et Itano permettent la mise en évidence de la synthèse par les sujets malades d'une hémoglobine anomale (l'hémoglobine S) supposée responsable de l'anémie falciforme (16). Cette molécule présente des propriétés électrophorétiques différentes de celles de l'hémoglobine normale. La mise au point de méthodes plus sensibles permettra bien plus tard, de mettre en évidence par Ingram en 1956 que la principale différence entre l'hémoglobine normale A (HbA) et l'hémoglobine S (HbS) réside dans le fait que la seconde possède une charge positive plus élevée que celle de l'HbA. Cette différence de charge a ensuite été attribuée à une différence de nature peptidique. En effet, l'analyse de la séquence primaire de peptides des chaînes  $\beta^A$  et  $\beta^S$  révèlent le remplacement d'un acide glutamine par une valine (17, 18). Enfin les conclusions de ces travaux orientent cette substitution d'amino-acide vers une altération du code génétique lui-même et donc d'une modification dans la séquence nucléotidique. La mutation à l'origine de cette hémoglobine anormale est une transversion d'une adénine en une thymine au niveau du 6<sup>e</sup> codon du gène  $\beta$ -globine localisé sur le chromosome 11. Ces travaux ont permis de mettre en évidence le caractère moléculaire de la maladie : la première du genre à être identifiée (16).

## II. Définition et épidémiologie

La drépanocytose, ou anémie falciforme, est une hémoglobinopathie génétique. Elle concerne plus de cinquante millions de personnes à travers le monde, ce qui en fait la maladie génétique la plus répandue (4).

Elle est majoritairement retrouvée en zone endémique où sévit le paludisme. On la retrouve dans les pays et les populations d'origine d'Afrique subsaharienne, du pourtour du bassin méditerranéen, d'Inde, du Moyen-Orient, et des Antilles (Figure 1). C'est probablement la résistance qu'elle engendre vis à vis du paludisme qui explique cette répartition géographique (19).



**Figure 1 :** Superposition des répartitions géographiques de l'allèle  $\beta^S$  et du *Plasmodium falciparum*.

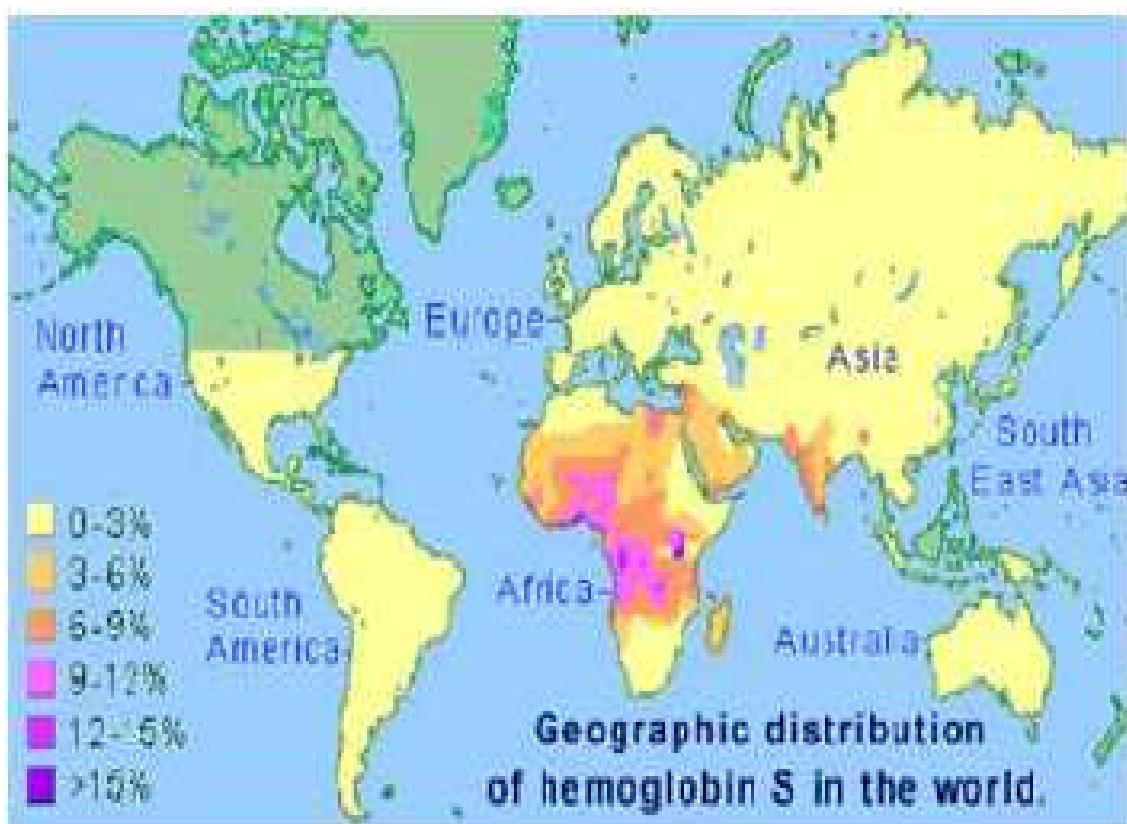
Les flux migratoires importants des siècles passés font que cette hémoglobinopathie se retrouve désormais répandue aux Etats-Unis et en Europe de l'Ouest, dont la France. En effet, 7 à 9 % de la population afro-américaine est porteuse du trait drépanocytaire et 100 000 américains sont homozygotes à la drépanocytose, soit 0,2% de la population afro-américaine (20). En France, on recense environ 15 000 à 20 000 patients drépanocytaires. Pour la seule France métropolitaine, on observe plus de 300 naissances de sujets drépanocytaires par an et on retrouve le trait drépanocytaire sur environ 12 000 naissances par an (21). Sur la seule région Ile-de-France, la prévalence est de 0,2 % de la population générale, le nombre de sujets drépanocytaires est d'environ 3 000 (22, 23).

Si cette hémoglobinopathie reste considérée comme une maladie rare, puisqu'elle concerne moins d'une personne sur 2 000 dans le monde (environ une naissance sur 3 500), la drépanocytose et le trait drépanocytaire sont tout de même très répandus dans certaines régions du globe. Dans certains pays, cette pathologie constitue une réelle préoccupation de santé publique.

En Afrique sub-saharienne, 10 à 40% des individus sont hétérozygotes pour la mutation  $\beta^S$  et 1 à 4 % des enfants naissent avec la drépanocytose selon les régions. Il est estimé que chaque année plus de 230 000 enfants drépanocytaires naissent en Afrique sub-saharienne, contre 2600 en Amérique du Nord et 1300

en Europe (4, 24). Au total, environ 20-25 millions d'individus souffrent de la maladie drépanocytaire dans le monde, dont 12 à 15 millions en Afrique subsaharienne (4, 24).

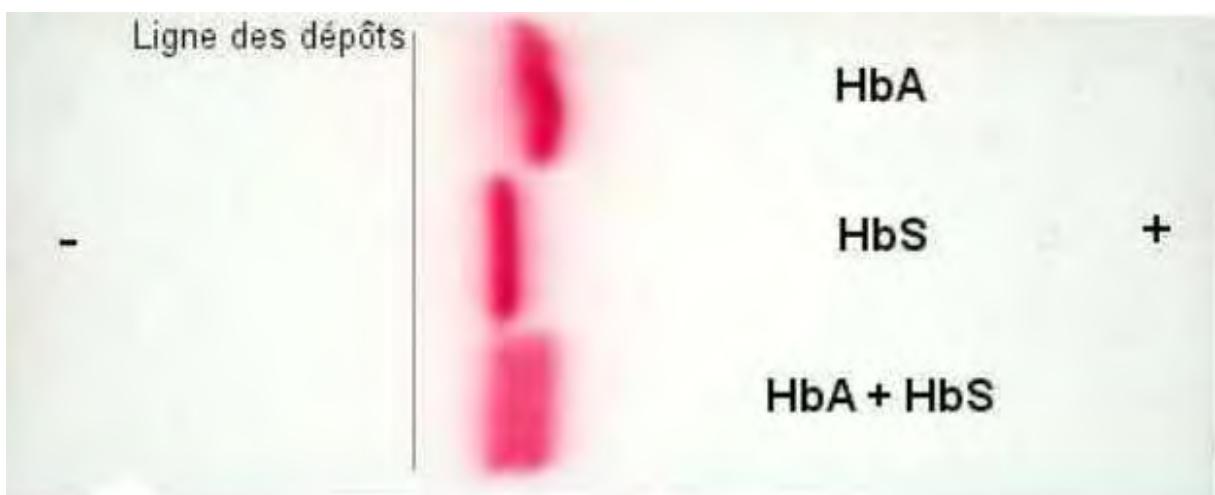
La prévalence des personnes porteuses de l'HbS atteint 10 à 40 % en Afrique équatoriale, alors qu'elle n'est que de 1 à 2 % sur la côte de l'Afrique du Nord et en dessous de 1 % en Afrique australe (Figure 2). La drépanocytose a une fréquence très élevée en Afrique subsaharienne, où il y'a des transmetteurs (24). Dans les pays comme le Nigéria, le Ghana, le Cameroun ou le Gabon, les taux de prévalence varient entre 20 et 30 % tandis que dans certaines régions de l'Ouganda, ils atteignent 45 %. Au Sénégal, la prévalence de l'allèle  $\beta^S$  est estimée à 10% (25).



**Figure 2 :** Répartition de l'allèle  $\beta^S$  dans le monde d'après Serjeant et coll. (4).

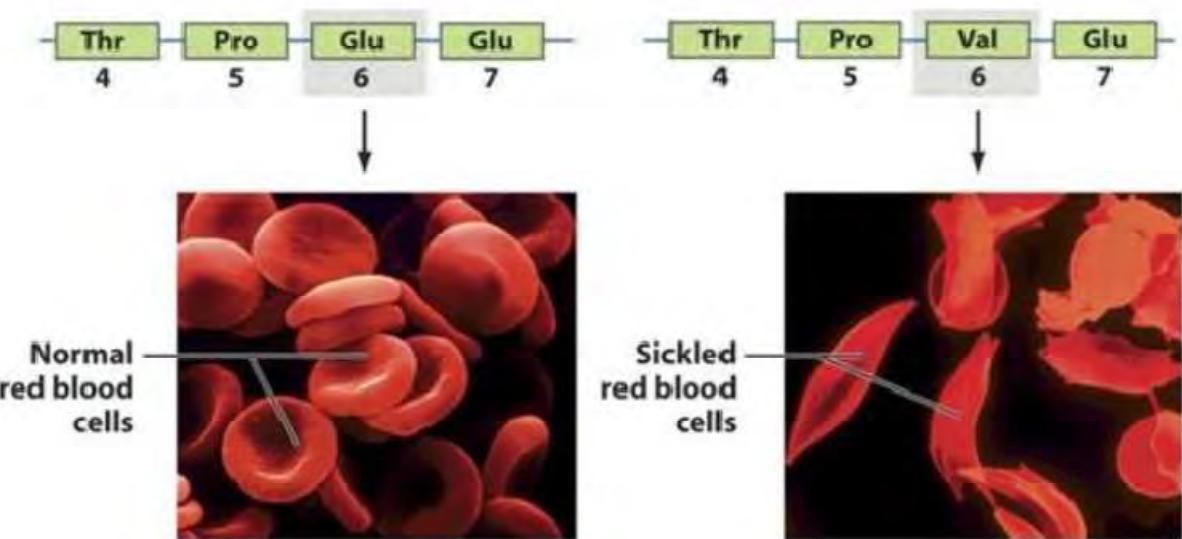
### III. Génétique

La drépanocytose a été largement étudiée par Pauling et collaborateurs (16) qui ont été les premiers à mettre en évidence une différence de migration électrophorétique de l'hémoglobine des hématies falciformes, caractéristiques de la maladie. Cette migration est plus lente, moins anodique que l'hémoglobine A (HbA) normale (Figure 3). Les auteurs ont donc ainsi qualifié la drépanocytose de « maladie moléculaire ».



**Figure 3 :** Mise en évidence par électrophorèse de la migration d'HbA et d'HbS.

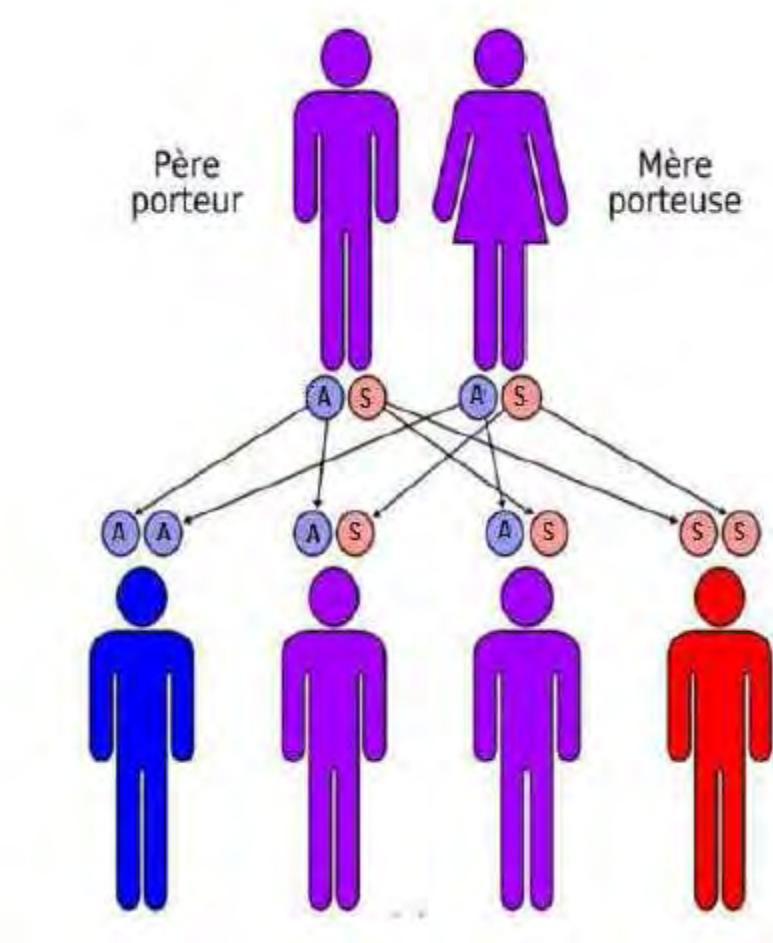
Ultérieurement, il a été montré que la drépanocytose est une maladie génétique causée par une mutation unique. Il s'agit d'une mutation ponctuelle d'au moins un des deux gènes codant pour la chaîne  $\beta$ -globine (22, 26). Une thymine se substitue à une adénine au niveau du sixième codon du gène  $\beta$ -globine du chromosome 11 (22, 26). Au niveau protéique, cela se traduit par la substitution de l'acide glutamique par une valine. Cette substitution entraîne la formation d'une hémoglobine anormale, appelée hémoglobine S (HbS), de l'anglais « *sickle* » (Figure 4).



**Figure 4 :** Séquence d'acides aminés codant pour l'Hb normale (à gauche) et l'HbS (à droite).

La drépanocytose se transmet selon un mode autosomique récessif de type mendélien (Figure 5). On distingue deux génotypes en rapport avec deux phénotypes cliniques distincts : les sujets hétérozygotes, appelés « porteurs du trait drépanocytaire » (SCT de l'anglais « *sickle cell trait* », HbAS) et les sujets homozygotes pour la maladie, appelés sujets drépanocytaires (SCA de l'anglais « *sickle cell anemia* », HbSS). Les abréviations retenues pour les sujets sains « contrôles » sont CON et HbAA. Les sujets SCT, hétérozygotes, possèdent un gène codant pour la chaîne  $\beta$ -globine normale et un gène codant pour l'isomorphe mutée (S), alors que les sujets drépanocytaires portent la mutation sur les deux gènes codant pour la chaîne  $\beta$ -globine. Les sujets porteurs du trait drépanocytaire présentent donc la particularité de synthétiser simultanément de l'hémoglobine A et de l'hémoglobine S, avec un taux d'hémoglobine S inférieur à 50 % de l'hémoglobine totale. En revanche, les sujets SCA ont un taux d'hémoglobine S systématiquement supérieur à 50 %, l'hémoglobine restante

(hors HbA et HbS) étant principalement l'hémoglobine fœtale (HbF) et de l'hémoglobine A2, habituellement présentes en quantité restreinte dans la population générale (<1 % et environ 2,5 %, respectivement).



**Figure 5 :** Représentation du mode de transmission autosomique récessif du gène  $\beta$ s à partir de deux parents hétérozygotes à la drépanocytose.

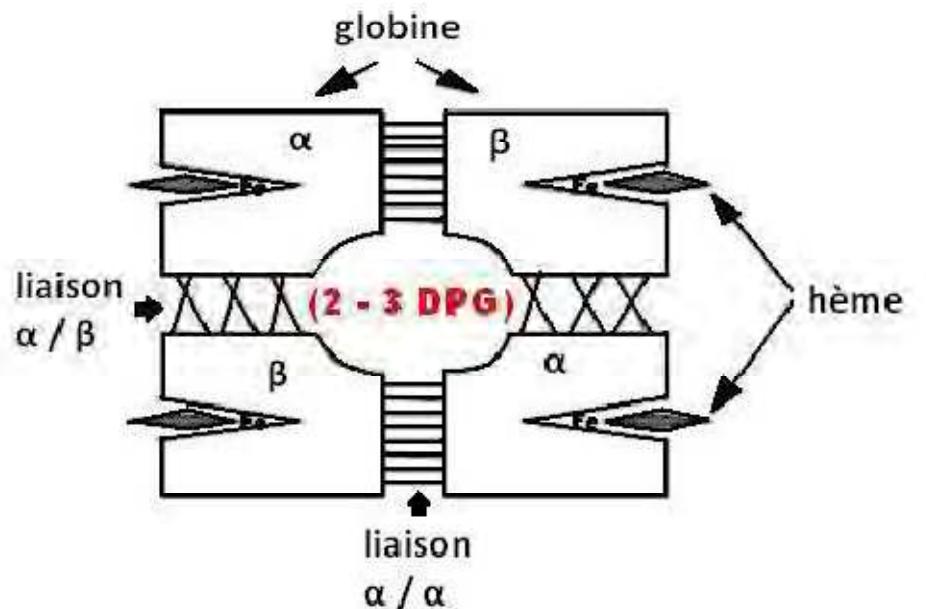
## **IV. L'hémoglobine et ses variantes**

### **1. Structure protéique de l'hémoglobine**

L'hémoglobine est une molécule de grande taille et de structure complexe. Sa fonction est de transporter l'oxygène ( $O_2$ ) des poumons jusqu'aux tissus et de véhiculer le dioxyde de carbone des organes vers les poumons. La molécule d'hémoglobine est un hétérodimère composé, de quatre chaînes polypeptidiques identiques deux à deux. Chez l'adulte sain, on distingue une forme prédominante, l'HbA, qui se compose de deux sous-unités  $\alpha$  globine et deux sous-unités  $\beta$  globine ; ainsi la molécule est notée  $\alpha_2\beta_2$ . La structure interne des deux chaînes est relativement proche, à la seule différence que la chaîne  $\beta$ -globine est plus longue. Les sous-unités  $\alpha$  sont composées de 141 acides aminés et les sous-unités  $\beta$  de 146 (Figure 6). La molécule d'hémoglobine a un poids moléculaire de 68 kilos Dalton.

Chacune des chaînes adopte une conformation spatiale lui donnant une forme globuleuse ; ce qui permet la création d'une « poche » superficielle dans laquelle se loge l'hème. Celui-ci se compose d'un cycle appelé porphyrine contenant un atome de fer à l'état ferreux. C'est cette structure qui confère à la molécule d'Hb la capacité de fixer le fer et l'oxygène. Ce sont les liaisons hydrophobes intercalées entre les acides aminés périphériques de chaque globine, qui permet à la molécule de conserver l'aspect globulaire de sa structure quaternaire.

La fixation de l'oxygène sur la molécule d'Hb au niveau de l'hème provoque un changement conformationnel. La molécule ainsi formée est appelée oxyhémoglobine. Quand cette dernière se retrouve dans des environnements où la concentration en  $CO_2$  est élevée, par conséquent un pH faible, l'affinité de l'hème pour la molécule d' $O_2$  diminue. Ce phénomène provoque la libération de l'oxygène et l'espace libéré sera rapidement occupé par une molécule de  $CO_2$ .



**Figure 6 :** Schéma de la molécule d'hémoglobine.

## 2. Les hémoglobinopathies

Les hémoglobinopathies sont des maladies génétiques provoquées par des mutations dans la séquence des gènes codant pour l'une des chaînes de l'hémoglobine. Il en résulte la production d'une chaîne polypeptidique anormale. Les hémoglobinopathies peuvent avoir pour conséquence, une diminution de la production de l'une des deux chaînes (thalassémies) ou, un défaut qualitatif (hémoglobines anormales).

Dans le cas des β-thalassémies, c'est le taux d'expression du gène β-globine de l'HbA qui est affecté. Ces altérations du code génétique se traduisent par un défaut de production (réduction ou absence de la protéine). À ce jour, plus de 200 mutations dans la chaîne de la β-globine ont été répertoriées (27) et la liste ne cesse de s'agrandir. Dans le cas d'une production anormale de la β-globine, on observe une accumulation de chaîne α-globine libre. Cette accumulation a pour effet de provoquer un stress oxydatif marqué au niveau de la membrane

érythrocytaire. Ces défauts ont pour conséquence, d'orienter la cellule vers une mort cellulaire programmée (28). La lyse cellulaire qui en résulte, en plus de l'anémie sévère qu'elle provoque, a des conséquences physiopathologiques graves, parmi lesquelles on citera un dysfonctionnement vasculaire de par les interférences avec le métabolisme du monoxyde d'azote (29).

### **3. Les syndromes drépanocytaires majeurs**

L'appellation de syndrome drépanocytaire majeur est réservée aux hémoglobinopathies résultant de la présence de deux allèles  $\beta^S$  ou associant la présence de l'allèle  $\beta^S$  à une deuxième altération du gène  $\beta$ -globine, produisant ainsi une hémoglobine anormale (30). Les principaux génotypes sont la forme homozygote SS (drépanocytose homozygote) et la forme double hétérozygote composite SC. Dans le cas de l'hémoglobine C, la mutation responsable de cette hémoglobine anormale est une transition d'une guanine en une adénine, entraînant au niveau du codon 6 le remplacement de l'acide glutamique par une Lysine. Un autre syndrome drépanocytaire majeur correspond à l'hétérozygotie SD Punjab, avec la mutation D Punjab liée au remplacement de l'acide glutamique par une glutamine à la position  $\beta^{121}$ . On notera aussi parmi ces syndromes drépanocytaires majeurs tous les génotypes associant à l'HbS les variantes  $\beta$ -thalassémiques. La  $S\beta^0$  thal correspond à la forme la plus sévère caractérisée par l'absence de production d'HbA. D'autre part, il existe plusieurs variantes moins sévères, se distinguant par leur capacité à produire de l'HbA en quantité réduite, notées  $S\beta^+$  thal ; elles vont du type I au type III classée en fonction du pourcentage d'HbA, produit soit de 3 à 5 % ; de 8 à 14 % et 18 à 25 %, respectivement (31). Enfin, on trouve l'HbO Arab lorsque ce même codon est remplacé par AAG donnant lieu à l'insertion d'une Lysine.

**Tableau I : Classification des syndromes drépanocytaires**

Classification des syndromes drépanocytaires	
1. Drépanocytose homozygote SS	SC
2. Hémoglobine S associé à un autre mutant de la chaîne $\beta$ -globine	<b>SD Punjab</b> <b>SO Arab</b>
3. HbS associée à une thalassémie	<b>S<math>\beta^0</math> thalassémie</b> <b>S<math>\beta^+</math> thalassémie</b> <b>S<math>\delta\beta</math> thalassémie</b>
4. HbS associée à une Hb thalassémique	<b>SE</b> <b>S Lepore</b>
5. HbS associée à une persistance héréditaire de l'Hb F	<b>Mutation deletionnelles</b> <b>Mutations non délétionnelles</b>
6. Cas des mutants « S-like »	<b>AS Antilles, SS antilles, CS Antilles, SC Harlem</b>

## V. Polymérisation de l'hémoglobine S et falcification des globules rouges

A l'origine, le globule rouge mature, présenté comme une cellule discoïde biconcave, est dépourvu de noyau et a une extrême souplesse. L'hématocrite, qui correspond au pourcentage de globules rouges dans lesquels se trouve l'hémoglobine a des valeurs normales se situant entre 37 et 47 % chez la femme adulte et entre 40 et 52 % chez l'homme adulte. La déformabilité des globules rouges dépend principalement de trois facteurs : l'élasticité membranaire, le volume globulaire moyen et la viscosité interne de la cellule dont le type et la concentration d'hémoglobine sont des facteurs majeurs.

L'hémoglobine est formée de l'association de la globine et d'un hème. La globine est une protéine hétéro-tétramérique formée de quatre chaînes polypeptidiques identiques deux à deux, ces sous-unités étant de type  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  et  $\gamma$ , permettant de classer les différents types d'hémoglobine (32). Chez un adulte sain, trois types d'hémoglobines sont présents en quantité plus ou moins

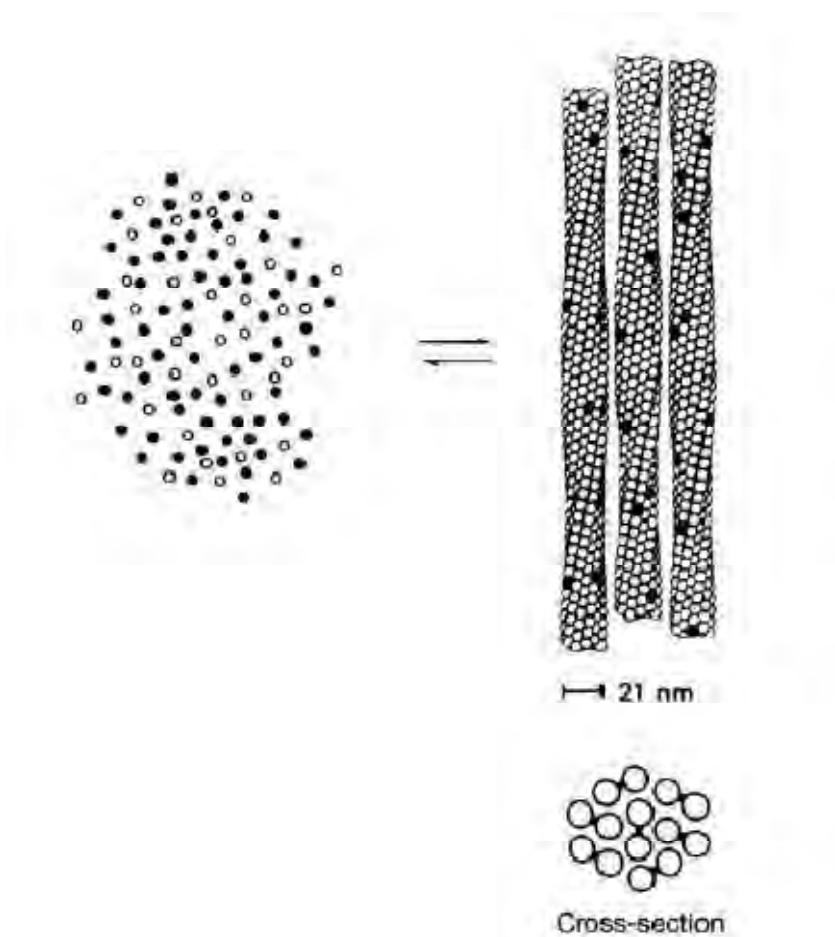
importante (Tableau 2). Les valeurs normales du taux d'hémoglobine se situent entre 12 et 16 g/dL chez la femme adulte et 14 et 18 g/dL chez l'homme adulte. Quant à la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH), qui correspond à la quantité d'hémoglobine contenue dans 100 mL d'hématies, sa valeur normale est comprise entre 32 et 36 g/100 mL.

**Tableau II :** Les différents types d'hémoglobines chez l'adulte sain.

Types d'hémoglobines	Chaînes de globine	Proportion (%)
Hémoglobine A normale (HbA)	$\alpha_2\beta_2$	forme majoritaire
Hémoglobine A2 (HbA2)	$\alpha_2\delta_2$	2,5
Hémoglobine fœtale (HbF)	$\alpha_2\gamma_2$	traces (< 1 %)

L'hème est une proto-porphyrine IX solidement fixée par des liaisons covalentes au cœur de chacune des chaînes de globine, et liant un atome de fer par liaisons de coordination. Cet atome de fer, dans l'état  $\text{Fe}^{2+}$ , possède la propriété de fixer l'oxygène de façon réversible :  $\text{Hb} + \text{O}_2 \leftrightarrow \text{HbO}_2$ , avec  $\text{Hb}$  = désoxy-hémoglobine, et  $\text{HbO}_2$  = oxyhémoglobine. La mutation génétique du gène  $\beta\text{A}$  normal en  $\beta\text{S}$  anormal entraîne un changement de charge et de polarité de la molécule d'hémoglobine. Alors que l'acide glutamique est hydrophile et chargé négativement, la valine est hydrophobe et non chargée. La valine  $\beta 6$  d'une molécule  $\text{HbS}$ , bien qu'hydrophobe mais entourée d'eau, établit des liaisons hydrophobes avec en particulier la phénylalanine  $\beta 85$  et la leucine  $\beta 88$  d'une molécule  $\text{HbS}$  adjacente (33). Ce gène muté, à l'origine de la production d' $\text{HbS}$ , modifie la configuration de la molécule expliquant ainsi les particularités physico-chimiques de l' $\text{HbS}$  : hyposolubilité, polymérisation en milieu désoxygéné et faible affinité pour l'oxygène. Cette moindre solubilité de la

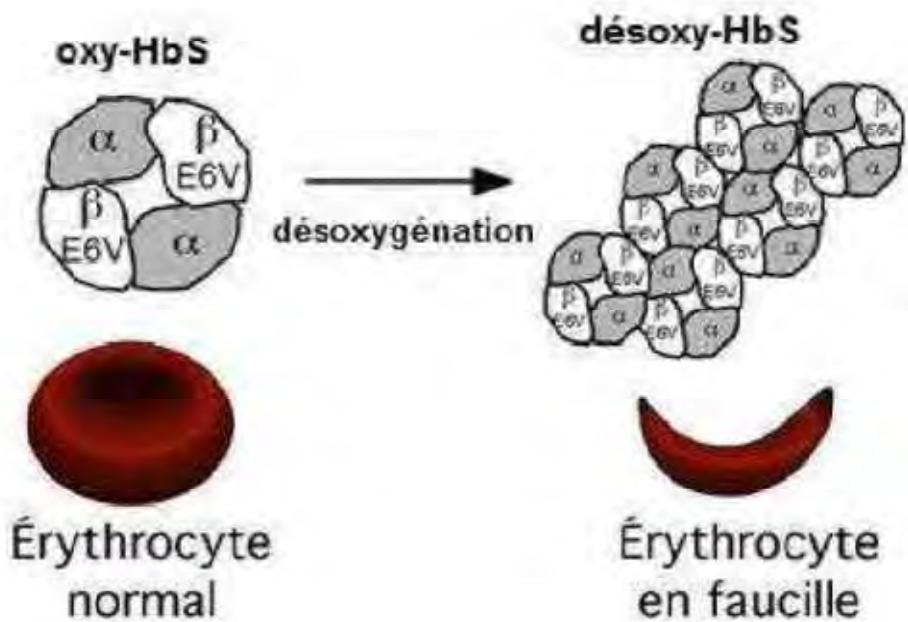
désoxyhémoglobine S conduit à l'association d'HbS et à l'agrégation de polymères d'HbS ou filaments tactoïdes (Figure 7).



**Figure 7 :** Formation réversible d'un polymère d'HbS composé de 7 double brins hélicoïdaux d'hémoglobine S sous l'effet de la désoxygénéation.

La particularité de cette hémoglobine S est que, à basse pression en oxygène et a fortiori dans sa forme désoxygénée, la protéine change de conformation par rapport à sa forme oxygénée, provoquant la polymérisation de la molécule. Cette polymérisation de l'HbS désoxygénée est à l'origine de la falcification du globule rouge drépanocytaire (Figure 8). Sous l'effet de la désoxygénéation, cette polymérisation à l'intérieur du globule rouge résulte du passage d'un état fluide à un état para-cristallin de l'HbS. Le globule rouge change alors de conformation et se retrouve déformé et distendu par ces cristaux qui le

traversent, induisant ainsi une diminution de sa plasticité et des lésions de sa membrane dont la perméabilité est modifiée. Il en résulte alors une perturbation des échanges ioniques transmembranaires (34).



**Figure 8 :** Polymérisation de la désoxyhémoglobine S aboutissant à la falcification du globule rouge.

Ce processus de polymérisation demande un certain temps à s'amorcer, de l'anglais « *delay time* » (35), qui est inversement proportionnel à la concentration intracellulaire en hémoglobine S. En effet, plus la concentration intracellulaire en HbS est élevée, plus ce temps de latence est court. Cet intervalle de latence est fonction de nombreux facteurs dont les plus communs sont l'élévation de la température (35), l'acidose (baisse du pH) (36) l'hypoxie (37) ou la déshydratation cellulaire (36). Ce délai nécessaire pour l'initiation de la polymérisation est un facteur critique dans le phénomène de falcification des globules rouges (38).

Quand la polymérisation est prolongée, les érythrocytes prennent alors une forme de faucille, « *sickle cell* » en anglais. Il s'agit du processus de falcification. C'est alors qu'on parle de drépanocyte (Figure 9). Ces

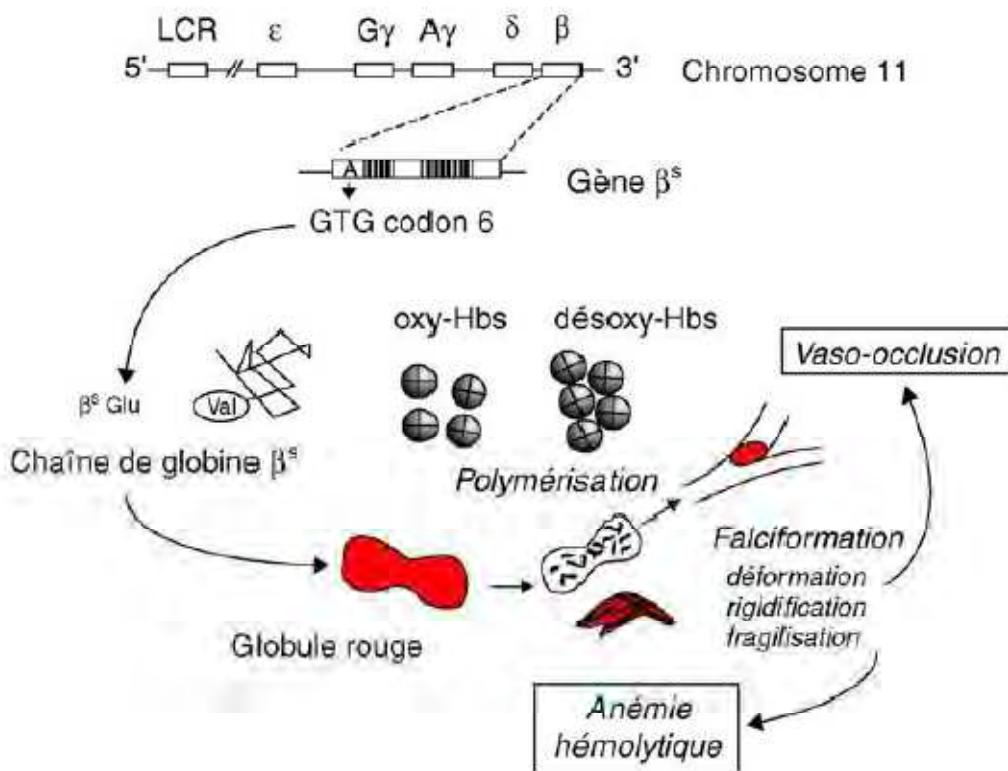
drépanocytes irréversibles sont caractéristiques du sang veineux des homozygotes à la drépanocytose.



**Figure 9 :** Représentation de globules rouges falciformés, appelés drépanocytes.

Le processus de polymérisation de l'HbS génère des dommages au niveau du cytosquelette et de la membrane érythrocytaire, mais quand ces derniers sont limités aussi bien dans le temps d'installation que dans le nombre de molécules concernées, ce processus est réversible et le globule rouge peut reprendre sa forme initiale. Il s'agit alors de discocytes. Cependant, après plusieurs cycles de désoxygénéation-réoxygénéation, les dommages augmentent et le processus de polymérisation de l'HbS devient irréversible, donnant lieu à la formation d'hématies définitivement déformées. De plus, les dommages occasionnés sur le cytosquelette augmentent également la fragilité du globule rouge contenant de l'HbS (39), qui peut ainsi voir sa durée de vie dans la circulation sanguine diminuée jusqu'à seulement 15 jours contre environ 120 jours pour un globule rouge normal HbA (40, 41). Sous cette forme, les érythrocytes deviennent plus rigides. De plus, la polymérisation de l'hémoglobine anormale entraîne une diminution de déformation (propriété fondamentale permettant de circuler dans des vaisseaux capillaires de diamètre inférieur au sien), une rigidification et une

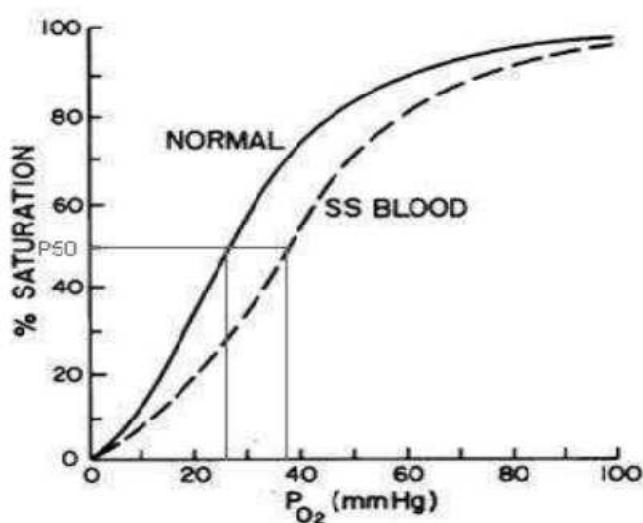
fragilisation du globule rouge. L'enchaînement de ces anomalies est responsable de l'anémie hémolytique et des crises vaso-occlusives à l'origine de la majeure partie de la symptomatologie clinique spécifiquement rencontrée chez ces patients (Figure 10) (42).



**Figure 10 :** Mécanisme physiopathologique de base de la drépanocytose.

Le phénomène de polymérisation conditionne également l'affinité de l'HbS pour l'oxygène (37). En situation normale, l'hémoglobine normale se lie avec l'oxygène via un procédé allostérique, où l'affinité de l'hémoglobine avec l'oxygène est affectée par la saturation en oxygène de la molécule, donnant ainsi une forme sigmoïde à la courbe d'affinité de l'oxygène pour l'hémoglobine. En présence d'HbS, dans des conditions physiologiques basales, et tant que la concentration en HbS reste inférieure au seuil correspondant au début de polymérisation de l'hémoglobine, soit environ 15 g/dL à 37°C, l'affinité de l'hémoglobine S pour l'oxygène est comparable à celle de l'hémoglobine A (43). En revanche, au-delà de ce seuil, la diminution du pouvoir oxyphorique de

l’HbS est caractérisée par l’augmentation de la P50 (pression partielle en O<sub>2</sub> nécessaire pour saturer à 50% en oxygène l’hémoglobine), avec un déplacement caractéristique de la courbe de dissociation de l’oxyhémoglobine (CDO) vers la droite (P50 de 35 mmHg chez les SCA *versus* 27 mmHg chez les CON) (44), ce qui favorise la dissociation de l’oxygène du sang (Figure 11). On peut observer ce déplacement vers la droite de la CDO suite à une augmentation de la température, de la concentration en ions H<sup>+</sup>, donc une acidose (effet Bohr), phénomènes qui sont impliqués dans la polymérisation de l’HbS. Ce décalage vers la droite de la CDO étant dépendant de la concentration en HbS (37), les sujets porteurs du trait drépanocytaire sont relativement « protégés » par l’hémoglobine A, et possèdent donc la même P50 que les sujets contrôles (45, 46).



**Figure 11 :** Courbe de dissociation de l’oxyhémoglobine décalée vers la droite chez les sujets drépanocytaires.

Cette augmentation de la P50 permet une meilleure libération de l’oxygène au niveau des tissus périphériques mais en revanche augmente la proportion d’HbS polymérisée et/ou polymérisable.

En revanche, la polymérisation est inhibée par l'oxygénéation et la présence de certaines hémoglobines non-S, telles que l'hémoglobine normale HbA (47) ou l'hémoglobine foetale HbF (48). L'HbF en particulier, présente une forte affinité pour l'oxygène et compense en partie les complications liées à l'HbS pendant les premiers mois de vie.

## **VI. Bases hémorhéologiques et caractéristiques dans la drépanocytose.**

### **1. Notions de base**

La rhéologie sanguine a été l'objet d'une très grande attention dès 1860. Cet intérêt avait un caractère aussi bien scientifique que clinique. C'est grâce à Jean-Léonard-Marie Poiseuille (1797-1869) (49) et ses travaux sur l'écoulement des fluides simples dans des tubes de verre que le concept de viscosité a pris de l'importance.

La rhéologie classe les fluides en deux grands groupes. On distingue les fluides newtoniens dont la viscosité est indépendante de la vitesse ou contrainte de cisaillement appliquée. C'est le cas de l'eau, du plasma, et de la plupart des solvants. Parallèlement à ces fluides, on distingue les fluides non newtoniens dont la viscosité varie en fonction de la vitesse/contrainte de cisaillement appliquée. Le sang est un fluide non newtonien.

L'hémorhéologie renvoie au comportement d'écoulement sanguin et aux propriétés biophysiques du sang et des éléments qui le composent. L'une des propriétés fondamentales qui déterminent le comportement sanguin est sa fluidité ou sa viscosité. La viscosité d'un fluide est le rapport entre la contrainte de cisaillement ( $\tau$ ) et la vitesse de cisaillement ( $\gamma$ ). La vitesse de cisaillement correspond à la vitesse de déformation du fluide et la contrainte de cisaillement correspond à la force de frottement qui s'exerce entre les différentes lames de fluide, et entre le fluide et la paroi du tube.

Poiseuille (49) démontra que la pression était égale au produit du débit et de la résistance (R) et que R était égal à :

$$R = 8L/r^4$$

Ou  $R$  = résistance,  $\eta$  = viscosité du fluide,  $L$  = longueur du tube,  $\pi$  = pi et  $r$  = rayon du tube. Cette loi a ensuite été utilisée en physiologie cardiovasculaire et elle l'est encore très largement. Pour cela, on considère  $L$  = longueur du vaisseau,  $r$  = rayon du vaisseau et  $\eta$  = viscosité du sang. Bien que très utile, l'application de cette loi à la physiologie vasculaire comporte un certain nombre de limites qui, la plupart du temps, sont ignorées par la communauté scientifique et médicale.

Premièrement, cette loi n'est validée que pour les fluides newtoniens, ce qui n'est pas le cas du sang puisque fluide non-newtonien. Contrairement à l'eau, la viscosité du sang varie selon les conditions hémodynamiques et les propriétés géométriques vasculaires, ces dernières déterminant la vitesse de cisaillement à l'intérieur des vaisseaux. D'autre part, cette formule considère que le rayon vasculaire reste inchangé au cours du temps (comme c'était le cas pour les tubes de verre utilisés par Poiseuille), ce qui, bien sûr, n'est pas le cas. Par ailleurs, le calcul des résistances selon cette équation considère que les facteurs géométriques (notamment le rayon) et la viscosité sanguine sont des entités indépendantes qui n'interagissent pas, renforçant l'hypothèse erronée que le poids des facteurs géométriques dans les résistances vasculaires est plus important que celui de la viscosité sanguine. Enfin, le calcul des résistances vasculaires ne tient pas compte de l'influence des autres facteurs hémorhéologiques sur les résistances vasculaires, tels que la déformabilité et l'agrégation des globules rouges. Nous allons dans un premier temps présenter quelques généralités sur les fluides.

### a) Les fluides newtoniens

Les fluides newtoniens sont des fluides dont la viscosité est indépendante de la vitesse ou contrainte de cisaillement appliquée : la valeur de la viscosité est donc

unique et ne varie pas. L'eau, le plasma, la plupart des solvants, les huiles minérales et le miel sont des fluides newtoniens.

### b) Les fluides non newtoniens

Contrairement aux fluides newtoniens, les fluides non newtoniens ont une viscosité qui varie en fonction de la vitesse/contrainte de cisaillement appliquée.

#### (1) *Fluides rhéofluidifiants*

Le comportement rhéofluidifiant traduit la décroissance de la viscosité avec l'augmentation de la vitesse/contrainte de cisaillement. Dans le cas contraire, on dit que le fluide est un rhéo-épaississant. Le comportement rhéofluidifiant est lié à la présence de petites entités en suspension qui vont subir des déformations et/ou une réorganisation plus ou moins importantes en fonction des contraintes appliquées : ce qui va affecter la viscosité globale du fluide (ex : polymères, pétroles lourds,...). Le rhéo-épaississement est lié à la dilatance de l'échantillon ou à des réorganisations associées à un accroissement de la fraction volumique (ex : émulsions de bitume, micelles géantes...). Le sang est un fluide rhéofluidifiant.

#### (2) *Fluides thixotropes :*

La thixotropie traduit la capacité de certains gels à se liquéfier sous l'effet d'une agitation constante et de se restructurer après un certain temps de repos. Il s'agit d'un phénomène à caractère transitoire qui dépend fortement de l'historique du fluide. Il est consécutif à une dispersion des différentes particules constituant un fluide et conséquent à la restauration des liaisons inter-particulaires. Cette grandeur introduit une dimension temporelle et réversible. Autrement dit, les fluides thixotropes sont des fluides ayant une mémoire à courte et à grande échelle. Le comportement à un instant ( $t$ ) d'un fluide thixotrope est fonction des contraintes subies dans un passé récent (mémoire à court terme). Lorsque la contrainte subie vient à disparaître, le fluide recouvre ses propriétés d'origines (mémoire à long terme). Le sang est un fluide thixotrope et une altération des

propriétés thixotropes est fréquemment retrouvée dans différentes pathologies comme le diabète ou la maladie de Gaucher (107).

### (3) Viscoélasticité

Un autre comportement non newtonien très important est le caractère viscoélastique. Il se retrouve très fréquemment dans les solutions de polymères et dans les polymères fondus. C'est un comportement visqueux (liquide) et élastique (solide). La réponse du fluide à une déformation présente à la fois un aspect visqueux (contrainte proportionnelle à la vitesse de déformation) et un aspect élastique (contrainte proportionnelle à la déformation). La pâte « silly-putty » est un modèle typique de fluide viscoélastique. Une boule de silly-putty apparaît comme une boule de caoutchouc (aspect solide) ou s'étale comme un fluide visqueux (aspect liquide).

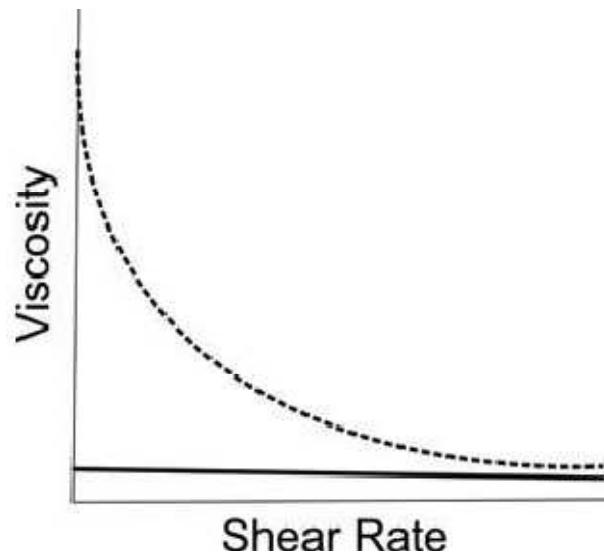
## 2. La viscosité sanguine

Comme nous venons de le voir, le sang est un fluide non newtonien ; ce qui signifie qu'à une température donnée, sa viscosité varie en fonction de la vitesse ou contrainte de cisaillement qui lui est appliquée. La viscosité sanguine diminue lorsque la vitesse de cisaillement ( $\gamma$ ) augmente, cette dernière dépendant notamment du débit ( $Q$ ) et du rayon vasculaire ( $r$ ) selon la relation :

$$\gamma = 4Q/\pi r^3$$

Ce comportement rhéofluidiant est lié à la présence des globules rouges en suspension dans le plasma. À faible vitesse de cisaillement, la viscosité sanguine est principalement déterminée par le niveau d'agrégation érythrocytaire. À vitesse de cisaillement élevée, la viscosité sanguine dépend essentiellement de la capacité des globules rouges à se déformer. Par ailleurs, le sang est un fluide viscoélastique ; ce qui signifie qu'il ne s'écoule pas en dessous d'une valeur seuil de vitesse de cisaillement (yield stress en anglais). Enfin, de par les propriétés rhéologiques dynamiques du globule rouge (agrégabilité et déformabilité), le sang possède des propriétés thixotropes. Il est à noter que le

rôle des leucocytes et des plaquettes, sur la viscosité sanguine est très limitée, de par leur nombre réduit par rapport au nombre de globules rouges total. Certains syndromes font l'exception, comme c'est le cas de syndromes où ces cellules sont surreprésentées (50).



**Figure 12** : Exemple de rhéogramme montrant le caractère rhéofluidiant du sang.

### 3. Facteurs modulant la viscosité sanguine

#### a) Viscosité plasmatique

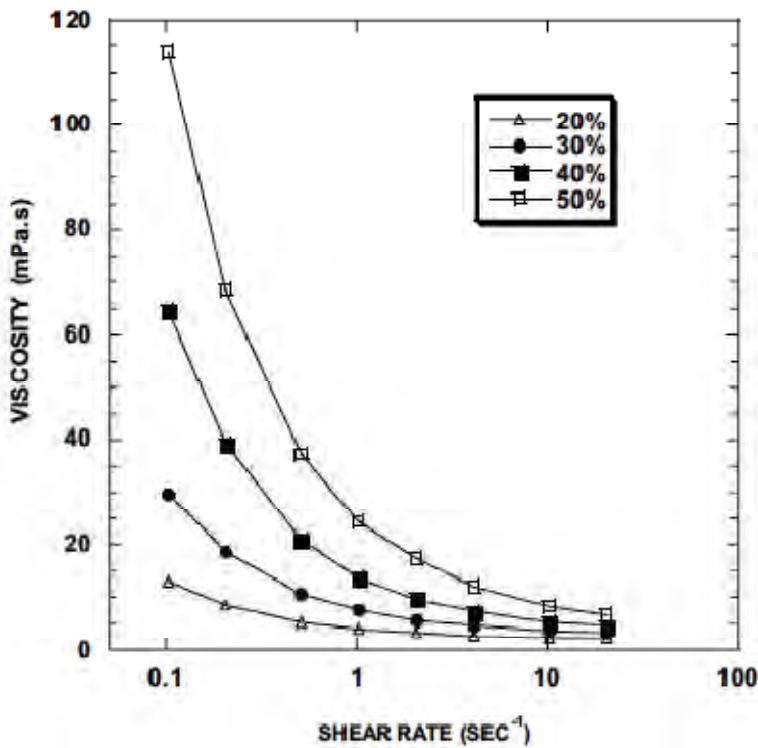
Le plasma constitue la phase liquide du sang, il se comporte comme un fluide newtonien. Ses propriétés visqueuses sont indépendantes de l'âge, du sexe et des propriétés d'écoulement du sang. Il se compose principalement d'eau, de glucose, de protéines et de sels minéraux. Les paramètres qui déterminent sa viscosité sont essentiellement attribués à la nature et à la concentration des protéines qui le composent. Il s'agira surtout des protéines de haut poids moléculaire telles que l'albumine, les globulines, les lipoprotéines et le fibrinogène qui, en raison de leurs morphologies asymétriques et allongées, influent sur la viscosité plasmatique. À 37°C, les valeurs de la viscosité

plasmatique sont comprises entre 1,1 et 1,3 mPa/s pour un individu sain à l'état de repos.

Bien que des valeurs élevées de viscosité plasmatique soient classiquement interprétées comme le reflet d'un dysfonctionnement immunologique, métabolique ou autre, de récents travaux ont également rapporté un rôle majeur de la viscosité plasmatique sur le tonus vasomoteur (51-53). En effet, le plasma étant la principale interface entre l'endothélium vasculaire et le sang, celui-ci, de par sa viscosité, influence directement le tonus vasomoteur en stimulant la production de monoxyde d'azote par le biais de la contrainte de cisaillement exercée sur les cellules endothéliales. Ainsi, il existe probablement une valeur seuil autour de laquelle la viscosité plasmatique optimale permet de maintenir une densité capillaire fonctionnelle maximale (50).

### b) Hématocrite

Les globules rouges sont approximativement 1000 fois plus représentés que les globules blancs dans le sang. Ensemble, ils déterminent l'hématocrite (volume des éléments figurés/volume total du sang). L'hématocrite (Hct) est le déterminant principal de la viscosité sanguine. Chez un individu en bonne santé l'Hct est d'environ 45 %. Quand l'Hct augmente, la viscosité du sang augmente de façon non linéaire et disproportionnée, et ce indépendamment de la vitesse de cisaillement (figure 13). Mais son effet est beaucoup plus marqué à faible cisaillement, car l'augmentation de l'Hct facilite l'interaction entre les globules rouges et la formation d'agrégats érythrocytaires (54). Il est à noter qu'*in vivo*, l'Hct varie en fonction du diamètre des vaisseaux. Il diminue avec la réduction de la lumière vasculaire jusqu'à une valeur critique (environ 7 µm) où, en dessous de cette valeur, il augmente à nouveau. La viscosité sanguine suit par conséquence la même cinétique (55).



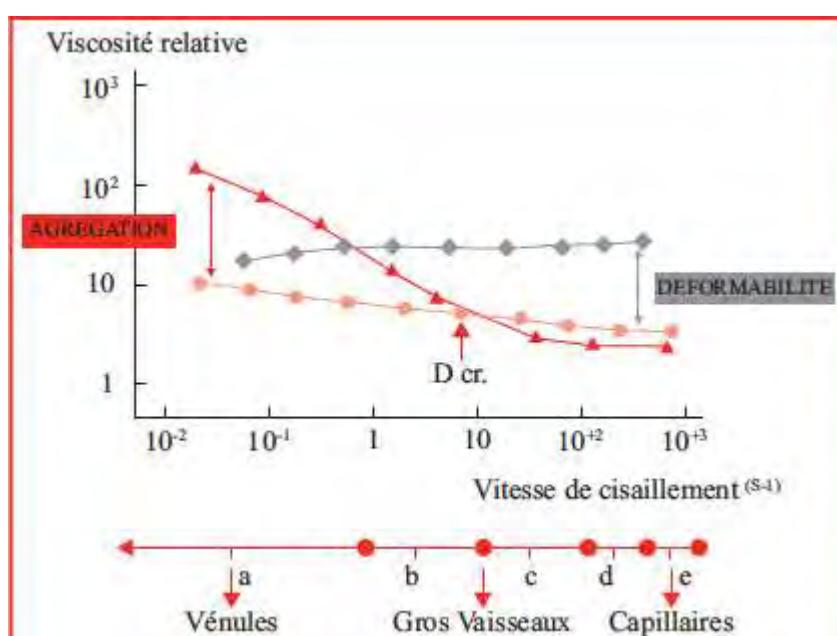
**Figure 13 :** Influence de l'Hct sur la viscosité sanguine à différentes vitesses de cisaillement.

### c) Propriétés rhéologiques des globules rouges.

Deux propriétés rhéologiques des globules rouges modulent la viscosité sanguine : la déformabilité et les propriétés d'agrégation érythrocytaire (auxquelles s'associent aussi les propriétés de désagrégation érythrocytaire). Ces deux propriétés influencent la viscosité sanguine différemment en fonction de la vitesse de cisaillement à laquelle est soumis le sang.

La figure 13 comporte trois courbes : une courbe normale (en orange), une courbe grise (globules rouges rigidifiés par un traitement par du glutaraldehyde) et une courbe rouge (agrégation érythrocytaire favorisée par l'ajout de Dextran). Nous pouvons observer qu'une perte de déformabilité érythrocytaire affecte principalement la viscosité sanguine à vitesse de cisaillement élevée. Le caractère déformable des globules rouges permet à ces derniers de s'aligner, dans le sens du flux et au centre du vaisseau (migration axiale). Des globules rouges rigides ont tendance à rester perpendiculaires au flux sanguin et à

augmenter les résistances et par conséquence la viscosité sanguine. En revanche, l'augmentation de l'agrégation érythrocytaire augmente la viscosité sanguine à vitesse de cisaillement faible, car les agrégats se mettent en travers des lignes de flux parallèles et augmentent les résistances vasculaires. On peut voir sur la courbe rouge que la viscosité sanguine diminue rapidement avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement et tend à se normaliser au même niveau que la courbe orange (situation normale) indiquant que les agrégats érythrocytaires sont rompus, quand la vitesse de cisaillement augmente. L'agrégation érythrocytaire est un phénomène réversible. Il est possible de noter qu'à des vitesses de cisaillement très élevées, la courbe rouge se situe légèrement en dessous de la courbe orange. Ce phénomène s'explique par le fait qu'à vitesse de cisaillement élevée, les quelques agrégats érythrocytaires persistants fluidifient le sang, car ils sont capables de migrer très facilement au centre du flux (migration axiale prononcée) (56). Enfin, la partie inférieure de la figure est la mise en correspondance des vitesses de cisaillement et territoires vasculaires où l'on peut trouver des vitesses de cisaillement de cet ordre de grandeur.



**Figure 14 :** Effet de la déformabilité et de l'agrégation érythrocytaire sur la viscosité sanguine en fonction de la vitesse de cisaillement.

### **(1) Déformabilité érythrocytaire**

La capacité de déformabilité de la membrane des érythrocytes est la combinaison de propriétés mécaniques et géométriques. Les facteurs intervenants sont (57):

- La viscosité interne de la cellule, déterminée principalement par la concentration en hémoglobine, et le type d'hémoglobine (l'hémoglobine S augmente la viscosité cytosolique).
- Le rapport surface-volume, très important à considérer, car une élévation de 3 à 4 % du volume de la cellule entraîne la lyse cellulaire. En effet, les forces faibles mises en jeu sont directement dépendantes de la distance entre les molécules. Une légère élévation de volume de la cellule modifie ces distances, ce qui montre l'importance de la régulation du milieu intérieur de la cellule. Nous rappelons, que le globule rouge dispose d'un excès de surface par rapport à une sphère qui aurait le même volume, lui permettant ainsi d'être soumis à des déformations extrêmes, sans se rompre lorsqu'il passe dans des micro-vaisseaux de diamètre inférieur au sien.
- L'élasticité et la viscosité membranaire, elles dérivent de ses deux composants : la bicoche lipidique et le squelette protéique. En tant que membrane fluide, la bicoche lipidique a une faible résistance à l'elongation, une résistance modérée à la courbure, et une résistance plus élevée à la dilatation. La résistance à la courbure est le résultat de deux paramètres : d'une part chaque feuillett est stabilisé par les interactions existant entre chaque phospholipide, et d'autre part la courbure entraîne l'expansion d'un feuillett et l'écrasement de l'autre, ce qui renforce la résistance de l'ensemble de la membrane (58). Les propriétés viscoélastiques de la membrane résultent d'interactions entre les lipides membranaires et le cytosquelette sous-jacent à cette membrane. Ce

dernier stabilise la bicouche lipidique et procure à la fois un renforcement et une élasticité à l'ensemble de la structure.

Toute perturbation de la déformabilité érythrocytaire a un impact sur la viscosité sanguine, particulièrement à vitesse de cisaillement élevée. Par ailleurs, indépendamment de ses effets sur la viscosité sanguine, une rigidification érythrocytaire cause une perturbation de la microcirculation et de l'apport en oxygène aux tissus (59) et une augmentation des résistances vasculaires dans l'ensemble de l'organe perfusé (60).

## (2) Agrégation érythrocytaire

Le phénomène d'agrégation érythrocytaire décrit la capacité des globules rouges à former des agrégats de façon spontanée sous forme de rouleaux (2 dimensions, empilement de globules rouges) et de réseaux en 3 dimensions lorsque le sang est à l'état de repos, ou que la vitesse de cisaillement est très faible ( $1 \text{ s}^{-1}$ ). Une augmentation de l'agrégation érythrocytaire augmente la viscosité sanguine à faible vitesse de cisaillement (veines et veinules surtout), et ce, même sans changement de l'hématocrite. L'agrégation érythrocytaire est un phénomène réversible ; ce qui signifie que lorsque la vitesse de cisaillement augmente (artères par exemple), les agrégats érythrocytaires sont dispersés. On peu d'ailleurs quantifier la force nécessaire pour disperser ces agrégats érythrocytaires chez un sujet donné (61). La formation en rouleaux est dépendante du rapport entre les forces d'adhésion/de cohésion (liaisons hydrophobes, forces de Van der Walls, forces électrostatiques et liaisons hydrogènes) et les forces de répulsion (potentiel zeta) (62). Pour expliquer le phénomène d'agrégation érythrocytaire, deux théories ont été proposées : la théorie de l'adsorption et la théorie de la déplétion.

La théorie de l'adsorption repose sur l'implication du fibrinogène ou toute autre protéine plasmatique de haut poids moléculaire dans l'attraction entre les globules rouges (63-66). Lorsque le fibrinogène se dépose sur la membrane de

l'érythrocyte, celui-ci serait adsorbé par le globule rouge, formant ainsi un pont permettant l'association de deux globules rouges.

La théorie de la déplétion repose sur l'existence d'une zone de déplétion, c'est-à-dire une zone dont la concentration en fibrinogène serait plus faible par rapport à l'ensemble de l'espace intercellulaire (65). La proximité des globules rouges et l'alignement spatial de deux zones de déplétion favoriseraient l'agrégation par osmose. L'attraction entre les deux globules rouges serait le résultat de cette dépression osmotique.

Il est à noter que l'agrégation érythrocytaire dépend de facteurs plasmatiques (la concentration en fibrinogène par exemple, comme cité précédemment), mais aussi de facteurs cellulaires qui influencent le potentiel agrégant des globules rouges ; c'est à dire l'agrégabilité érythrocytaire (64). Pour différencier l'influence des facteurs plasmatiques et des facteurs cellulaires sur l'agrégation érythrocytaire, on mesure ce paramètre sur des globules rouges remis en suspension dans du plasma puis dans une solution de Dextran, et ce, à même hématocrite (67).

Il a été observé une hyperagrégation érythrocytaire marquée dans divers désordres vasculaires et métaboliques tel que le diabète, le syndrome d'apnée du sommeil et l'obésité (68-70). Ces anomalies caractérisent un état pathologique (comme une inflammation marquée ou un déséquilibre métabolique) et participent aux perturbations cardiovasculaires. L'hyper-agrégation érythrocytaire a pour conséquence d'augmenter la viscosité sanguine, surtout à faible vitesse de cisaillement, et perturber le flux sanguin. Par ailleurs, une agrégation érythrocytaire marquée, avec persistance d'agrégats, est susceptible d'altérer la microcirculation, notamment au niveau pré-capillaire puisque dans cette zone vasculaire, les globules rouges ne peuvent passer que les un après les autres, rangés en file indienne (56).

## **4. Viscosité sanguine et résistances vasculaires**

### **a) Approche traditionnelle**

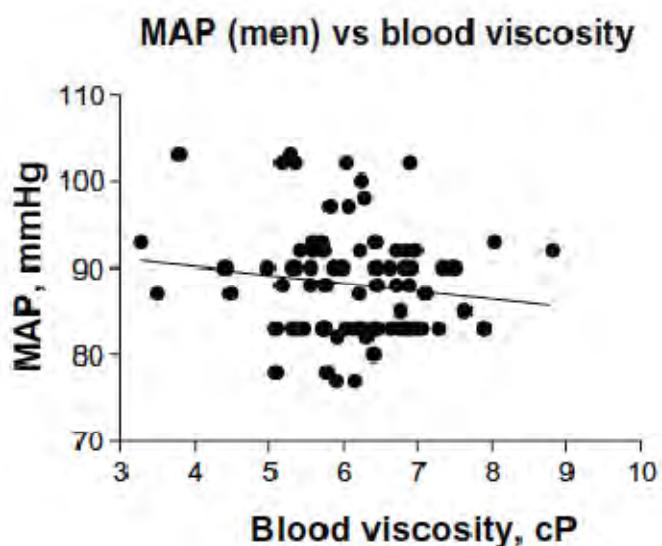
Les résistances vasculaires périphériques ou résistances à l'écoulement, correspondent aux forces s'opposant au flux sanguin. Elles résultent de la friction du sang contre les parois vasculaires. Cette résistance varie en fonction du diamètre des vaisseaux, de leur longueur et de la viscosité sanguine. Si tous ces paramètres restent dans des conditions physiologiques contrôlés, le système cardiovasculaire est dit « balancé ». La viscosité du sang, de même que la longueur des vaisseaux influencent de façon directement proportionnelle les résistances périphériques. Une élévation trop importante de la viscosité sanguine, comme c'est le cas dans certaines pathologies (polyglobulie de Vaquez, maladie Monge), se traduit par une augmentation importante des résistances vasculaires et de la pression artérielle.

### **b) Approche intégrée**

Bien que très utile en physiologie cardiovasculaire, le concept de la Loi de Poiseuille est très limité. En effet, toute augmentation de la viscosité sanguine ne se traduit pas systématiquement par une élévation des résistances vasculaires et de la pression artérielle (71). Rappelons que le principal stimulus de la production de monoxyde d'azote par les cellules endothéliales, donc de la vasodilatation, est la contrainte de cisaillement exercée sur ces cellules endothéliales (72). Or, la contrainte de cisaillement est le produit de la viscosité sanguine par la vitesse de cisaillement. Ce qui signifie, qu'une augmentation de la viscosité sanguine ne se traduit pas forcément par une augmentation de la pression artérielle. Il a aussi été rapporté qu'une augmentation modérée de la viscosité sanguine diminuait les résistances périphériques, car le cisaillement pariétal accru conduisait à une production et une libération de NO par l'endothélium, via des mécanismes de méchanotransduction (73).

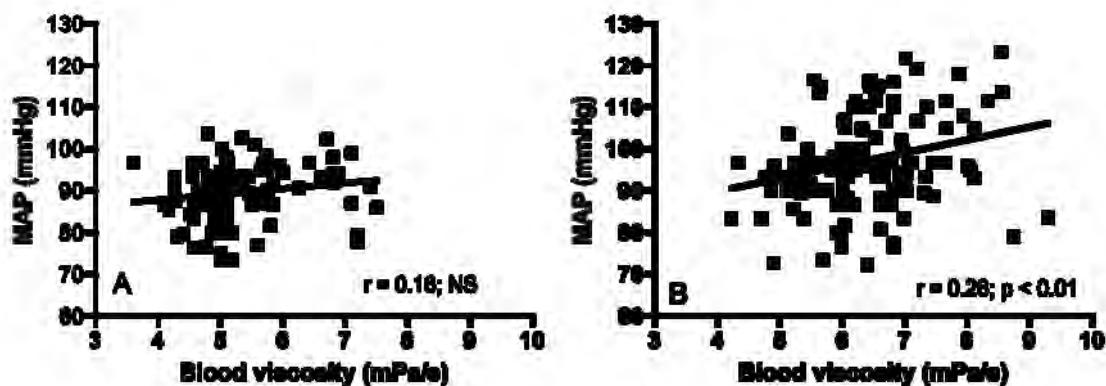
Les mécanismes de transduction de ce signal sont exclusivement associés à la transmission des forces mécaniques mises en jeu, de par la fluidité de la membrane cellulaire et grâce aux protéines du cytosquelette des cellules endothéliales. La conversion de ces signaux mécaniques en signaux biochimiques se réaliserait grâce à l'intervention de mécanotransducteurs (74) impliquant la famille des intégrines, une voie sodium/potassium (75, 76), et l'activation d'une série d'intermédiaires nécessitant le recrutement de protéines G endothéliales qui favoriseraient le relargage de calcium intracellulaire et stimuleraient l'expression de la NO-synthase et la formation de NO (77, 78).

Ainsi, l'étude de la relation entre la pression artérielle (ou les résistances vasculaires périphériques) et la viscosité sanguine est un moyen expérimental de se renseigner sur l'état de la fonction vasculaire d'un individu donné. Dans la figure 14, nous pouvons observer que, chez le sujet sain, une viscosité sanguine élevée ne se traduit pas par une pression artérielle moyenne plus importante, suggérant que la fonction vasculaire est suffisamment préservée pour produire du NO en quantité suffisante, en réponse à l'augmentation de la contrainte de cisaillement à la paroi et permettre une vasodilatation adaptée (79).



**Figure 15 :** Relation entre la pression artérielle moyenne et la viscosité sanguine chez des hommes en bonne santé.

Dans une autre étude, Tripette *et al* ont comparé la relation pression artérielle versus viscosité sanguine entre des porteurs du trait drépanocytaire et des non porteurs du trait drépanocytaire. Les porteurs du trait drépanocytaire ont généralement une viscosité sanguine supérieure à celle d'une population contrôle (1, 80). Les auteurs ont montré que la relation entre ces deux variables cliniques/biologiques était positive dans le premier groupe et nulle dans le deuxième groupe, suggérant ainsi que la fonction vasculaire est légèrement altérée dans la première population (figure 16).



**Figure 16 :** Relation entre la pression artérielle moyenne (MAP) et la viscosité sanguine dans une population contrôle (à gauche) et des porteurs du trait drépanocytaires (à droite).

Toutes ces données montrent que le système vasculaire, s'il est préservé, est capable de s'adapter à une augmentation de la viscosité sanguine pour maintenir des résistances vasculaires constantes et une pression artérielle stable. En revanche, si la fonction vasculaire est altérée, une augmentation de la viscosité sanguine pourrait conduire à une augmentation des résistances vasculaires comme la Loi de Poiseuille le suppose. Quoiqu'il en soit, l'utilisation de la relation entre la pression artérielle ou les résistances périphériques et la viscosité sanguine peuvent renseigner sur l'état de la fonction vasculaire (79).

## **5. Hémorhéologie et drépanocytose**

### **a) Viscosité sanguine**

Puisque la viscosité sanguine est majoritairement conditionnée par l'hématocrite, l'anémie marquée du drépanocytaire homozygote (SS) le conduit à avoir une viscosité sanguine à Hct natif beaucoup plus faible que celle observée dans la population normale. En revanche, à Hct standardisé, la viscosité sanguine du drépanocytaire est supérieure à celle d'un individu non anémique, car les globules rouges du drépanocytaire sont très rigides. Même en condition oxygénée et à hématocrite standardisé, la viscosité sanguine du drépanocytaire pour une vitesse de cisaillement donnée est 1,5 fois supérieure à celle d'un sujet normal (81). En condition désoxygénée, cette viscosité augmente 10 fois plus que celle du sang normal, car la polymérisation de l'HbS aboutit à une falcification et une rigidification érythrocytaire. En cas de crise vasoocclusive, la viscosité sanguine du drépanocytaire augmente. Alors que la viscosité sanguine à Hct natif du drépanocytaire SS est inférieure à la normale, celle du drépanocytaire SC est supérieure, car l'anémie plus modérée ne permet pas de compenser les autres anomalies de la rhéologie du globule rouge, aboutissant ainsi à une hyper viscosité sanguine chronique (82). C'est cette hyper viscosité sanguine chronique chez le SC qui pourrait expliquer les troubles otologiques et oculaires plus fréquents que chez les SS (83).

### **b) Viscosité plasmatique**

Peu de travaux ont été réalisés sur la viscosité plasmatique du drépanocytaire et celle-ci semble normale ou légèrement supérieure à la normale en condition d'état stable, et augmente en cas de crises vaso-occlusives, probablement en relation avec le relargage du fibrinogène et l'inflammation.

### c) La déformabilité érythrocytaire

Dans des conditions d'oxygénations identiques, il a été rapporté que les globules rouges de sujets drépanocytaires SS sont moins déformables que les érythrocytes de sujets sains (82, 84-87). Ce caractère est plus prononcé quand la pression artérielle en oxygène et le pH diminuent. Ceci est la résultante des altérations membranaires occasionnées par les cycles de falcification/dé-falcification et par le fait que l'HbS est moins soluble que l'HbA ; ce qui rend la viscosité interne des globules rouges drépanocytaires plus importante que chez des sujets sains. Ces altérations de la déformabilité érythrocytaire sont impliquées dans les désordres microcirculatoires rapportés au sein de la population drépanocytaire (84, 85). Néanmoins, il semblerait que la présence d'une  $\alpha$ -thalassémie associée conduise à une amélioration de la déformabilité érythrocytaire chez le drépanocytaire SS. La déformabilité érythrocytaire des drépanocytaires SC est également réduite par rapport à une population contrôle, mais moins que chez les SS, ce qui pourrait expliquer en partie que la survenue des évènements vaso-occlusifs soit moins fréquente chez les SC (82).

Ballas et Smith (88) ont montré que chez les SS la déformabilité érythrocytaire diminuait lors d'une crise vaso-occlusive, et ce, en rapport avec l'augmentation du nombre de cellules denses. Cette diminution supplémentaire de la déformabilité érythrocytaire participe à l'obstruction mécanique de la microcirculation. Cependant, Ballas *et al* (89) ont également rapporté que les patients qui présentaient une déformabilité érythrocytaire importante après une crise vaso-occlusive présentaient un risque plus important de déclencher un nouvel événement vaso-occlusif.

### d) Agrégation érythrocytaire

Peu de travaux ont été réalisés sur les propriétés d'agrégation érythrocytaire dans la drépanocytose, mais un travail récent a démontré que l'index d'agrégation érythrocytaire était plus faible chez les drépanocytaires SS et SC,

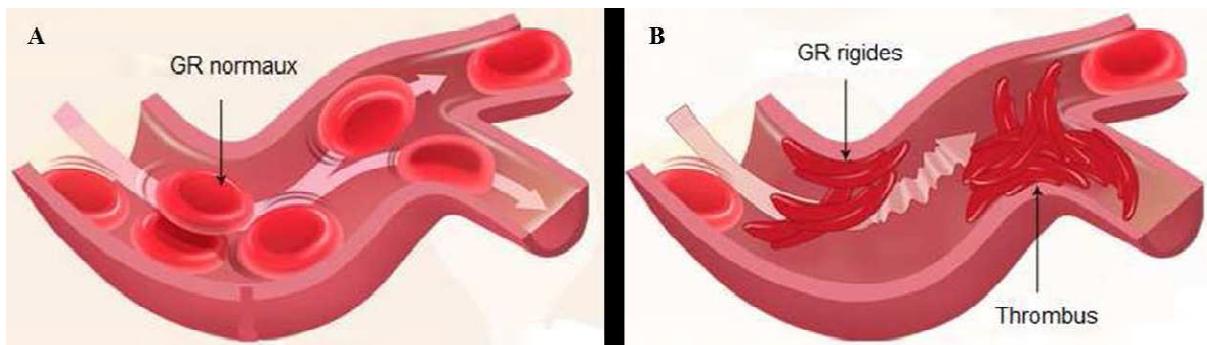
par rapport à une population contrôle (82). En revanche, la vitesse de cisaillement minimale nécessaire pour disperser les agrégats érythrocytaires ( $\gamma_{min}$ ) était supérieure chez les SS et SC par rapport à une population contrôle (82), résultat retrouvé par la suite dans une autre étude (90). Les mécanismes à l'origine de ce paradoxe (faible agrégation érythrocytaire, mais seuil de désagrégation élevée) ne sont pas élucidés, mais pourraient être liés à des phénomènes oxydatifs exacerbés chez le drépanocytaire puisque, *in vitro*, des globules rouges normaux exposés à un stress oxydatif voient leur index d'agrégation érythrocytaire diminuer mais le seuil de désagrégation érythrocytaire augmenter (91). Les répercussions cliniques de ces anomalies de l'agrégation érythrocytaire chez le drépanocytaire ne sont pas encore connues.

## VII. Circulation vasculaire et HbS

### 1. Le globule rouge drépanocytaire

Nous avons vu précédemment que la mutation génétique  $\beta^S$ , suite à l'enchaînement des cycles de polymérisation/dépolymérisation induisait une altération du globule rouge et de ses propriétés. Ces globules rouges falciformes étant plus rigides, moins déformables et plus fragiles conduisent à des altérations hématologiques et hémorhéologiques chez les patients drépanocytaires. Cette déformation de l'érythrocyte entraîne la libération de vésicules et une déshydratation cellulaire, ainsi qu'une augmentation de la perméabilité de la membrane aux cations ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$ ). De plus, un microenvironnement oxydant apparaît, avec formation de  $\text{Fe}^{3+}$ , création d'un cycle d'auto-oxydation de l'HbS et retentissement sur les autres protéines du globule rouge (92). Cela aboutit à un remaniement des phospholipides et à l'expression de molécules d'adhésion au niveau membranaire. Ainsi, les interactions des globules rouges avec leurs environnements plasmatiques et cellulaires sont modifiées, notamment vis-à-vis de la cellule endothéliale. De ce fait, l'observation du globule rouge drépanocytaire a permis d'expliquer les crises vaso-occlusives, où

les érythrocytes moins déformables obstruent les vaisseaux sanguins de petits et moyens diamètres (93) (Figure 17).



**Figure 17** : Microcirculation des globules rouges.

**A** : Microcirculation avec des GR normaux ; **B** : Microcirculation avec des GR moins déformables obstruant les microvaisseaux et créant une vaso-occlusion.

Cependant, les globules rouges falciformes ne peuvent expliquer à eux-seuls la survenue des crises vaso-occlusives. En effet, ce schéma physiopathologique ne prend pas en compte les facteurs susceptibles d'augmenter le temps de transit des globules rouges dans les territoires désoxygénés que représentent les plus petits microvaisseaux (94).

## 2. L’adhésion vasculaire

Il a été montré qu'il y avait un processus d'adhérence anormale des hématies falciformes aux cellules de l'endothélium vasculaire (95-98) suggérant des altérations rhéologiques chez les patients atteints de la drépanocytose. De plus, l'enchaînement des cycles de falcification/défalcification des globules rouges modifient leur potentiel adhésif en augmentant l'expression de certains récepteurs des molécules d'adhésion (99). Par ailleurs, les sujets drépanocytaires ont un environnement vasculaire pro-inflammatoire propice à l'adhérence des hématies falciformes et des leucocytes (100). Les leucocytes des patients atteints

de la drépanocytose ont également un potentiel adhésif plus important que ceux des sujets sains (101). L'adhésion à l'endothélium se fait *via* l'expression des protéines pro-adhésives spécifiques telles que VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1), ICAM-1 (Intercellular Cell Adhesion Molecule-1), P-selectine et E-selectine (102). Il y a donc un enchaînement d'évènements chez les drépanocytaires qui conduit aux crises vaso-occlusives:

- 1) les phénomènes d'adhésion vasculaire ralentissent le flux sanguin et permettent la falcification des érythrocytes,
- 2) les hématies falciformes obstruent les micro-vaisseaux, et
- 3) ces obstructions vasculaires créent une hypoxémie locale, ce qui favorise la polymérisation de l'HbS.

Le facteur déclenchant une crise vaso-occlusive est donc souvent difficile à identifier. Cependant, lors des crises vaso-occlusives, on observe fréquemment chez les drépanocytaires une surexpression des molécules d'adhésion (VCAM-1, ICAM-1, P-selectine et E-selectine) par les cellules endothéliales (102, 103). Cette adhésion importante proviendrait donc de multiples activations cellulaires (94).

### **3. L'altération du tonus vasculaire**

Il a été montré l'existence d'une altération du tonus vasculaire dans la drépanocytose, en conséquence d'une diminution de production de monoxyde d'azote (NO) et d'une augmentation de l'endothéline-1 (ET-1) (29, 42). Le NO, gaz soluble, est un radical très réactif, qui induit la relaxation musculaire des vaisseaux en inhibant l'entrée du calcium dans les cellules musculaires lisses (104). Il est formé à partir de l'arginine par des NO synthétases (NOS) et en particulier au niveau des cellules endothéliales. Dans la drépanocytose, le NO a plusieurs effets bénéfiques dont l'inhibition de l'adhésion des globules rouges contenant de l'HbS, avec l'endothélium vasculaire et l'inhibition de la déshydratation des globules rouges. Cependant, les sujets drépanocytaires

présentent un déficit en NO explicable en trois points : 1) par défaut de production (déficit du précurseur physiologique de NO : L-arginine) (29, 105-107), 2) par oxydation prématuée du NO induite par l'hémoglobine plasmatique qui provient d'une hémolyse importante (108) et ou 3) par l'anion superoxyde formé par la xanthine oxydase (XO) dont le taux plasmatique est élevé chez les patients drépanocytaires (109). Ainsi la diminution de la production de NO et sa moindre biodisponibilité, réduisant son activité chez les patients atteints de la drépanocytose, participent très probablement à la physiopathologie des crises vaso-occlusives. Par ailleurs, les perturbations hémorhéologiques telles que la déformabilité des globules rouges et l'adhérence élevée induisent la production de radicaux libres et de ce fait inactivent la production de NO (110). Il est intéressant de noter que l'hydroxyurée, utilisée comme traitement thérapeutique de la drépanocytose en stimulant l'expression de l'HbF, est également un donneur de NO (111). En revanche, l'ET-1 est le plus puissant vasoconstricteur connu, contribuant ainsi à l'augmentation du tonus vasculaire. Les drépanocytes peuvent induire la transcription du gène ET-1 *in vitro* (112), ce qui pourrait expliquer l'augmentation de son taux circulant dans la drépanocytose (113). Il existe donc un déséquilibre du tonus vasculaire, avec une altération de la balance NO/ET-1 en faveur d'une moindre vasomotricité vasculaire, contribuant aux phénomènes vaso-occlusifs.

#### **4. Hyperplasie vasculaire de l'*intima* : occlusion vasculaire**

L'hyperplasie intime seule ou associée à un événement thrombogène est reconnue comme un mécanisme déterminant dans les occlusions vasculaires fréquemment observées chez les sujets drépanocytaires (114). Cette hyperplasie vasculaire, caractérisée histologiquement par une prolifération de fibroblastes et de cellules musculaires lisses, pourrait être l'expression de la réponse vasculaire secondaire à l'agression chimique, mécanique ou cellulaire de la cellule endothéliale (114).

L'épaississement de l'*intima* (paroi la plus interne principalement composée de cellules épithéliales et de tissu conjonctif lâche) conduit à des sténoses segmentaires qui sont à la fois sources d'occlusions vasculaires, pouvant être associées à un processus de thrombose et à la fois responsables du ralentissement du flux sanguin. Ce phénomène a été largement décrit au niveau des artères cérébrales (115) où il rappelle les processus observés dans la maladie de Moyamoya. L'origine et le déroulement de l'occlusion vasculaire artérielle sont complexes à déterminer car il existe de nombreux facteurs cellulaires et hormonaux impliqués. Cette hyperplasie intime a également été mise en évidence dans d'autres territoires vasculaires tels qu'au niveau splénique et pulmonaire et également dans les artéries de la rétine où l'occlusion vasculaire est considérée comme étant à l'origine de la rétinopathie drépanocytaire et d'une raréfaction des capillaires par nécrose (116).

## VIII. Présentation clinique

### 1. Sujet drépanocytaire homozygote (sujet SS)

Chez le sujet drépanocytaire, deux types de manifestations cliniques majeures de la maladie sont observés : une anémie chronique hémolytique et des crises vaso-occlusives qui apparaissent dès les premiers mois de vie, quand l'hémoglobine drépanocytaire remplace progressivement l'hémoglobine fœtale.

Tout d'abord, vu que les hématies falciformes sont fragilisées et se rompent facilement, elles sont séquestrées et détruites par le filtre splénique. Même stimulée par la nécrose des cellules, l'érythropoïèse ne peut suivre le rythme de l'hémolyse et ne peut donc pas compenser la perte d'érythrocytes. Ainsi, on observe chez les sujets drépanocytaires une anémie hémolytique qui limite l'apport en oxygène aux tissus. En d'autres termes, la polymérisation de l'HbS est responsable de cette anémie (117). De plus, les crises vaso-occlusives sont les manifestations cliniques les plus fréquentes mais également les plus sévères chez l'adulte (118) car elles relèvent de l'obstruction des microvaisseaux par les

hématies falciformes rigidifiées suite à la polymérisation de l'HbS. Ces dernières peuvent interrompre complètement l'apport sanguin à un organe et être à l'origine d'une nécrose tissulaire par anoxie. Selon le tissu en question, cela peut se manifester par des douleurs intenses et brutales, atteignant fréquemment les extrémités des membres (mains et pieds), « hand-foot » syndrome (20) mais également les hanches et l'abdomen (119). Parallèlement à ce phénotype « vaso-occlusif », la drépanocytose s'accompagne, entre autres, de troubles hémorhéologiques, d'un stress oxydant sanguin, d'une moindre biodisponibilité du NO et à une forte augmentation de l'adhérence des globules rouges à l'endothélium. Tous ces désordres conduisent également à un phénotype « vasculopathie » du drépanocytaire. Ejindu et collaborateurs (20) se sont plus particulièrement intéressés aux manifestations ischémiques aiguës itératives sur le tissu osseux de sujets drépanocytaires. Ils ont remarqué que cette complication courante dans la maladie pouvait entraîner des effets à long terme sur la croissance et la qualité de l'os. Ainsi d'importants retards staturo-pondéraux sont fréquemment observés chez les enfants, ainsi que des déformations du faciès et du crâne. L'observation de radiographies peut parfois également révéler une ostéopénie chez l'adulte (20). Sur différentes localisations de l'os, des thrombi par accumulation d'érythrocytes ont également été décrits. Des infarctus sont ainsi observés dans les cavités médullaires et dans les épiphyses osseuses, donnant lieu à des crises douloureuses. Dans les cas les plus sévères, cela peut conduire à la destruction de l'os, la nécrose ischémique de l'épiphyse étant commune chez le sujet SS, surtout au niveau des têtes du fémur et de l'humérus. Des surinfections de l'os et des articulations (ostéomyélites, périostites, arthrites) sont également des complications sévères de la drépanocytose. Ainsi il existe un processus physiopathologique au niveau de l'os du drépanocytaire bien décrit et en rapport direct avec les épisodes d'ischémie aiguë. Il est raisonnablement envisageable qu'un phénomène analogue se produise au niveau du tissu musculaire et qu'il soit à l'origine de

mécanismes de remodelages. Dès le plus jeune âge, les sujets SS sont exposés aux complications de la drépanocytose. Il a notamment été avancé que l'anémie chronique pourrait engendrer un risque supplémentaire d'accidents vasculaires cérébraux (AVC) chez les sujets SS. En effet, les accidents vasculaires cérébraux sont plus particulièrement observés chez les enfants, et concernent 10% des sujets drépanocytaires (118). Il a ainsi été suggéré que l'augmentation du flux sanguin cérébral associée à l'anémie chronique pouvait conduire à des problèmes vasculaires cérébraux (120). Cependant, l'étude directe des vaisseaux dans le cerveau des sujets SS est très difficile, et peu de données sont accessibles.

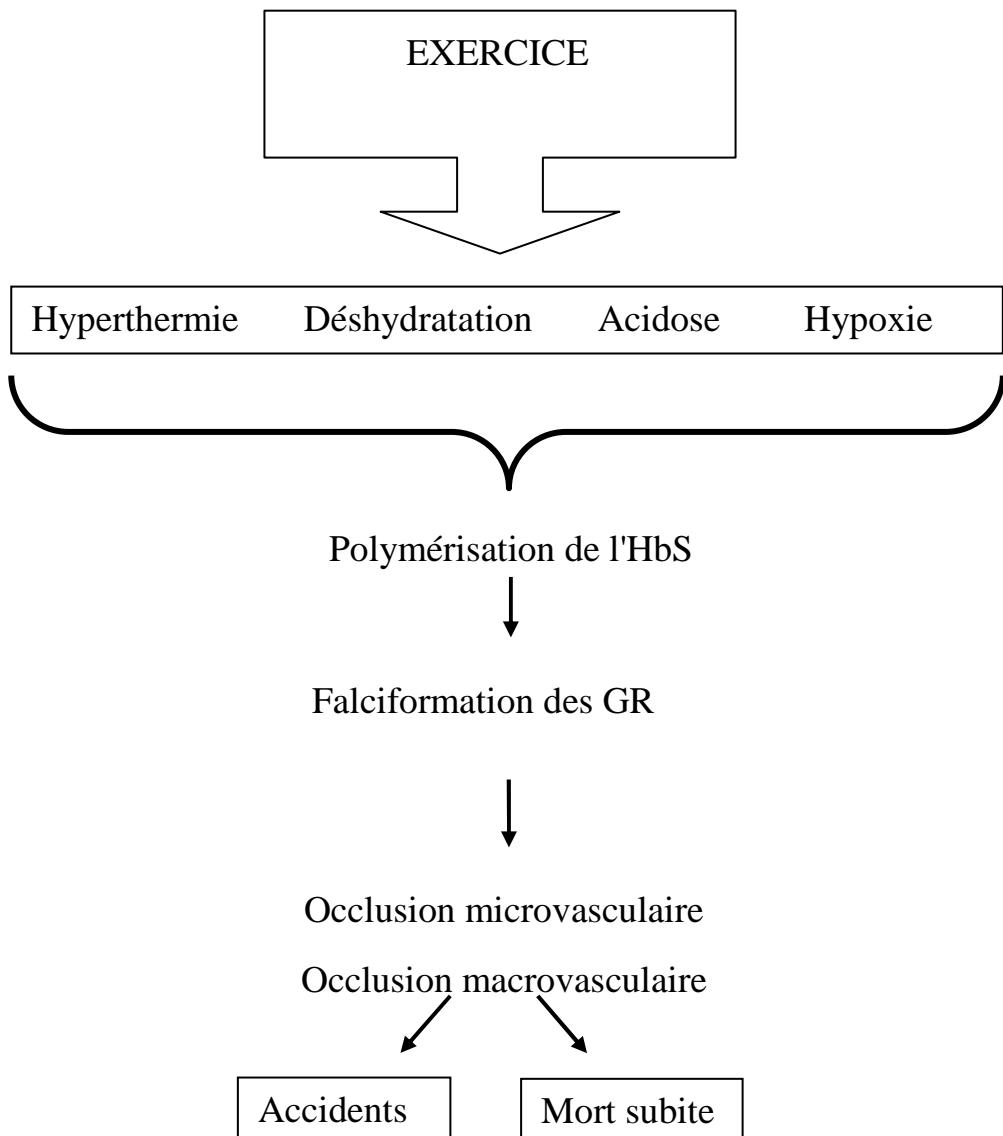
Chez les sujets SS, une hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) peut être associée à l'hémolyse (121). L'hypertension artérielle pulmonaire du sujet SS est la complication chronique la mieux reconnue à l'heure actuelle (122). On la retrouve chez 32 % d'entre eux (123). Il est également suggéré que l'HTAP soit un facteur de risque supplémentaire de mort soudaine (121). De plus, Pegelow et collaborateurs (1997) ont clairement montré que la survie après un accident vasculaire cérébrale était moins élevée chez les SS ayant de l'hypertension artérielle pulmonaire (124). Par ailleurs, les infections sont également plus nombreuses chez les jeunes sujets drépanocytaires que chez les sujets sains du même âge. Elles sont responsables d'une part importante de la mortalité par comorbidité de la drépanocytose (117, 125), telles que des méningites et des septicémies qui mettent en jeu le pronostic vital de ces patients(126). Chez le jeune enfant, la séquestration des globules rouges falciformes dans la rate aboutit à une asplénie, favorisant les infections, qui sont la deuxième cause de mortalité précoce (126). Par ailleurs, des infections associées à des embolies de graisse et des accès de vaso-occlusions de l'arbre vasculaire pulmonaire sont souvent la cause du syndrome thoracique aigu, fréquemment rencontré chez les drépanocytaires (117).

Enfin, les données issues de questionnaires d'activité physique, montrent que les sujets SS sont plus sédentaires que la population générale. Cette restriction d'activité contribue certainement au déconditionnement cardio-respiratoire et à l'intolérance à l'effort (127, 128). Cela peut influencer négativement le contrôle de la masse musculaire chez ces sujets. Cette potentielle amyotrophie est suspectée au regard d'un retard staturo-pondéral fréquent (20, 129), et de l'index de masse corporelle plus faible chez ces sujets. De fait, l'attitude à adopter vis à vis de l'activité physique chez les sujets SS est discutée mais à ce jour ne repose sur aucun consensus.

## **2. Sujets drépanocytaires hétérozygote ou les porteurs du trait drépanocytaire (PTD)**

Le sujet PTD est classiquement considéré comme « asymptomatique » (130). La présence de symptômes et leurs sévérités semblent relativement proportionnelles à la concentration intra globulaire en hémoglobine anormale (131), celle-ci étant inférieure à 50% de l'hémoglobine totale. La présence de l'HbA empêche la polymérisation de l'HbS pour une saturation en oxygène inférieure à 60%. Ainsi, le temps de latence de polymérisation de l'HbS est prolongé (132). Cependant, certains auteurs ont montré qu'en présence de certains stress (fièvre/hyperthermie, hypoxie, activité physique intense), la survenue du processus de polymérisation de l'HbS et la falcification des erythrocytes sont possibles et même favorisées (133-135). Bien que considérés comme « asymptomatiques », les sujets PTD courent donc un risque médical lié à la présence d'hémoglobine S circulante, spécialement lorsqu'ils font face à une situation physiologique stressante comme lors d'un séjour en altitude ou lors d'un exercice physique intense (133, 136-139). Dans ce contexte, l'étude post-mortem réalisée sur des recrues militaires noires américaines en période de formation par Kark et collaborateurs (1987), a rapporté un risque relatif de 30 % de mort subite inexpliquée (137). De plus, en cas d'exercice épuisant, ce risque

est multiplié par 30 chez les recrues militaires PTD par rapport aux recrues noires américaines saines et par 40 par rapport à l'ensemble des recrues. Les auteurs ont ainsi remarqué que, au cours de la pratique sportive, le risque relatif de mort subite des sujets PTD serait plus élevé que chez les sujets sains (137). En ce sens, Harrelson et collaborateurs (1995) ont montré que les sujets porteurs du trait drépanocytaire sont susceptibles de présenter des accès rhabdomyolytiques sévères qui peuvent conduire jusqu'à leur mort (138). En effet, l'exercice intense s'accompagne d'une hypoxémie locale relative, d'une acidose métabolique, d'une déshydratation et d'une augmentation de la température corporelle (Figure 18). Ces facteurs, qui, réunis, favorisent la survenue du processus de polymérisation de l'hémoglobine S puis de falcification des hématies (133), réduisant l'apport d'oxygène aux tissus certes, mais surtout conduisant à des épisodes vaso-occlusifs généralisés, potentiellement très sévère. Parmi les facteurs impliqués dans les accidents observés au cours de la pratique sportive chez les PTD, les facteurs cardiovasculaires, hémorhéologiques et inflammatoires pourraient jouer un rôle très important. Il semblerait que la sédentarité augmente le risque de survenue de complications médicales liées aux efforts physiques chez les PTD (80, 140). Aufradet et ses collaborateurs (141) ont démontré en 2010 que le fait de pratiquer régulièrement des activités physiques chez les PTD diminuerait l'activation endothéliale (mesurée par le taux de VCAM-1 soluble plasmatique) en réponse aux exercices musculaires. L'étude récente de Chirico et collaborateurs en 2012, a montré que le niveau du stress oxydatif lié aux activités physiques était significativement atténué chez les PTD sportifs comparés aux sédentaires (142). Aussi, l'activité physique modérée améliore le profil hémorhéologique des PTD avec une diminution de la viscosité sanguine et une augmentation de l'hématocrite (143).



**Figure 18:** Mécanismes explicatifs des accidents observés au cours de l'exercice physique chez les PTD (144)

## **B) RIGIDITE ARTERIELLE**

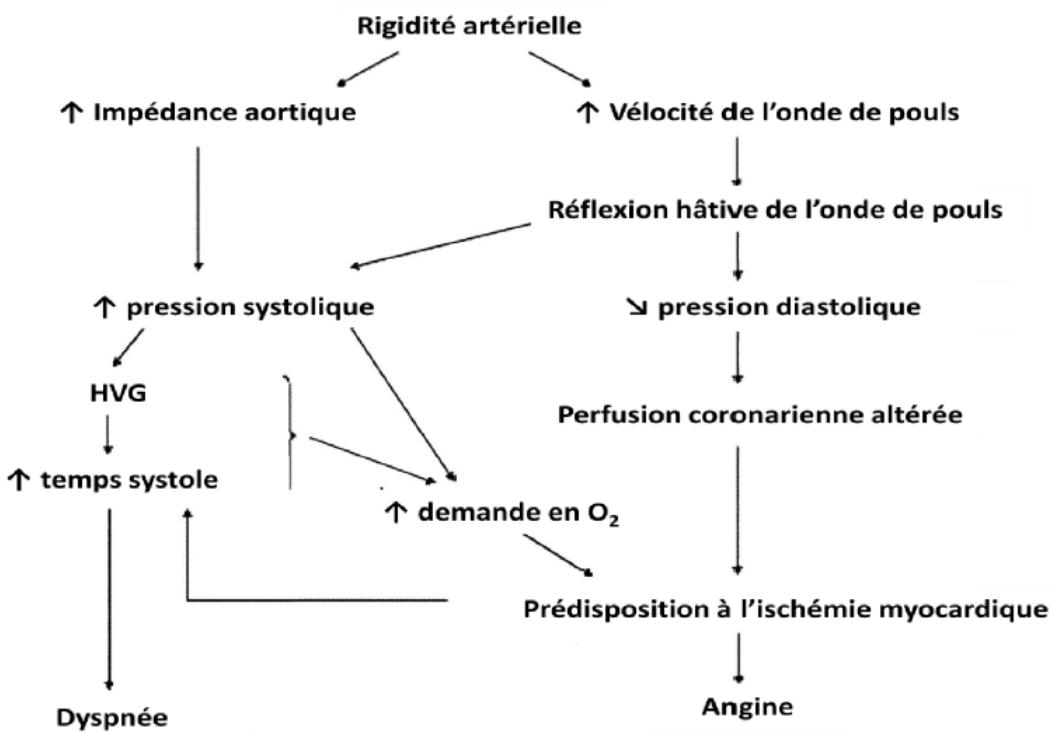
Une rigidité élevée signifie simplement que l'artère perd sa capacité à se dilater sous l'action de la pression. Elle n'est donc plus en mesure de contrôler le débit pulsé provoqué par les pulsations cardiaques. L'augmentation de la rigidité artérielle amène un lot important de conséquences cliniques. En effet, tout le système cardiovasculaire en subit les effets.

### **I. Implications cliniques de la rigidité artérielle**

La conséquence directe et facilement mesurable de la rigidité artérielle consiste en un changement au niveau des tensions artérielles. Ces modifications des tensions artérielles représentent le reflet des changements structurels et fonctionnels affectant la rigidité des artères élastiques. Avant l'âge de 50 ans, c'est l'accroissement des résistances périphériques qui font augmenter les PAS et PAD. Vers l'âge de cinquante ans, on assiste généralement à une augmentation concomitante des résistances périphériques et de la rigidité des grands vaisseaux. Après la cinquantaine, ce serait la rigidité des grands vaisseaux et un maintien des résistances périphériques qui seraient responsables de l'augmentation de PAS et la diminution de PAD (145). La perte d'élasticité au niveau des artères présente à partir de la cinquantaine contribue à diminuer le mouvement du sang dans l'artère plutôt que d'être poussé par le retour élastique (146). Il en résulte une baisse de la PAD avec une certaine «stagnation» du sang en diastole.

Lors de la systole ventriculaire, une onde est émise (onde incidente) dans l'arbre artériel par la contraction ventriculaire et l'éjection du sang. Elle voyage à travers le système vasculaire à une certaine vitesse pour atteindre un point en périphérie où la géométrie de l'artère change de façon importante (bifurcations, changements de calibre, etc.). À ces endroits, l'onde est partiellement réfléchie (onde réfléchie) et retourne en sens inverse vers le cœur, telle une vague (onde) qui rebondie lorsqu'elle frappe un mur. L'onde de pouls que nous pouvons

observer non-invasivement est dans les faits la sommation de l'onde incidente et de l'onde réfléchie (147). Finalement, la vitesse de l'onde de pouls est la vitesse à laquelle l'onde se propage à travers les artères. Plus les artères sont rigides, plus l'onde incidente se propage rapidement et, par conséquent, l'onde réfléchie retourne au cœur plus précocement. Lorsque l'onde de pouls est assez rapide pour revenir au cœur alors que la systole n'est pas complétée, on note une élévation de la PAS au niveau de l'aorte. Conséquemment, la PAD diminue dû à l'absence d'onde réfléchie en diastole. La post-charge (la force contre laquelle le ventricule gauche doit travailler pour expulser adéquatement et avec une pression appropriée le sang) se voit ainsi augmentée et la perfusion coronarienne s'effectue moins efficacement. L'augmentation de la post-charge ventriculaire, combinée à une diminution de la PAD, amène des conséquences notables au niveau cardiaque. D'abord, puisque le ventricule fournit un effort plus grand pour contrer l'onde réfléchie (post-charge), la consommation d'oxygène du myocarde est plus grande. Si l'on combine ce phénomène à une perfusion coronarienne diminuée, un débalancement se produit entre l'apport en oxygène et la demande. Ceci augmente le risque de complication ischémique. En réponse à l'augmentation chronique de la post-charge ventriculaire, une hypertrophie ventriculaire gauche (HVG) peut se développer (148). La sommation des modifications au niveau du myocarde et le cercle vicieux qu'elles engendrent peut mener à une dysfonction diastolique ou une cardiomyopathie (149).



**Figure 19:** conséquences de la rigidité artérielle

## II. LA rigidité artérielle en tant que facteur de risque

Un marqueur d'importance, spécifique et mesurable de façon non invasive de la rigidité artérielle est la vitesse de l'onde de pouls (VOP) (150). La rigidité artérielle, telle que mesurée par la VOP, est un reflet efficace des impacts que peuvent avoir les différents facteurs de risque de la maladie cardiovasculaire (MCV) sur le système vasculaire<sup>49</sup>.

Dans plusieurs cohortes de sujets sains, de tous les âges, la VOP aortique a été associée à une mortalité cardiovasculaire augmentée et aux MCV (maladie coronarienne et AVC) (151, 152). Cette VOP serait même un meilleur marqueur pronostique que les autres facteurs de risque traditionnels et donc, serait pertinente à évaluer en clinique pour une meilleure stratification du risque cardiovasculaire. Dans une cohorte Danoise, l'équipe de Willum-Hansen a démontré que, pour une élévation de 3,4 m/s de la VOP aortique, une

augmentation de 16 à 20% du risque d'événement cardiovasculaire est présente (152). Ainsi, il semble que la VOP soit un prédicteur efficace de mortalité totale et cardiovasculaire (153).

### **III. Etiologies de la rigidité artérielle**

#### **1. Rigidité artérielle et changements structuraux**

Avec le vieillissement, plusieurs changements se produisent au niveau artériel suite aux interactions complexes d'éléments autant physiques, hémodynamiques qu'hormonales. Les propriétés des artères dépendent de l'équilibre entre leur contenu en collagène, en élastine et de leur qualité. Avec le temps, il est possible de constater une surproduction de collagène aux propriétés altérées, des bris et une réorganisation anarchique des fibres d'élastine les rendant ainsi dysfonctionnelles (154). Une combinaison de mécanismes, dont l'activation de métalloprotéinases et la dégradation de l'élastine par ces dernières, est responsable de cette réorganisation lente des fibres élastiques dans le temps (155). Le stress induit par l'étirement répété de la paroi vasculaire lors de la systole ventriculaire (156) ainsi qu'un milieu de plus en plus inflammatoire, ont été identifiés comme des causes potentielles (157). La structure des artères, ainsi que leur pouvoir élastique, s'en voient donc diminués. Les déséquilibres en collagène/élastine de même que la diminution de la qualité des fibres d'élastine amènent un remodelage vasculaire, c'est-à-dire un épaississement de la paroi vasculaire, particulièrement l'*intima-média*, et une dilatation des artères élastiques (158).

#### **2. Rigidité artérielle et calcification de la média**

Un autre mécanisme responsable de l'augmentation de la rigidité artérielle avec l'âge est la calcification de la *média* des gros troncs artériels (159). Plus spécifiquement, il est question d'un mécanisme de calcification de l'élastine («l'élastocalcinose» ou la sclérose de Monckeberg). Globalement, le calcium et

le phosphate se lient ensemble et s'accumulent dans la tunique médiale des artères, là où l'élastine est présente (160). Ces calcifications sont associées à la présence de protéines régulant la minéralisation osseuse, comparables à celles exprimées normalement dans l'ostéogénèse. Les cellules musculaires lisses (CML) pourraient être la source de ces protéines inhabituelles. Effectivement, les CML expriment un certain nombre de marqueurs et phénotypes ostéochondrogéniques facilitant ou régulant l'élastocalcinose (161). L'élastocalcinose a pour conséquence de diminuer l'élasticité et la compliance, en plus d'augmenter la rigidité artérielle par la vitesse de l'onde de pouls. Certains auteurs affirment toutefois que l'élastocalcinose n'est qu'un facteur d'influence mineur sur l'augmentation de la rigidité artérielle (162).

### **3. Rigidité artérielle et changements de la réponse cellulaire**

En plus de l'expression d'un phénotype ostéogénique, les CML peuvent réagir différemment face aux stress mécaniques ainsi qu'aux substances vasoactives. On constate une diminution de la réponse aux substances induisant une vasodilatation (par exemple l'oxyde nitrique et l'endothéline) (163). En parallèle, on note une surexpression des substances provoquant une vasoconstriction (par exemple l'angiotensine II et le stress oxydant) (164). L'oxyde nitrique (NO), molécule libérée par l'endothélium provoquant une vasodilatation au niveau vasculaire, est elle-même sécrétée en plus petite quantité chez les personnes âgées, en plus d'avoir une biodisponibilité diminuée (165). L'ensemble de ces altérations de la fonction vasculaire est une des caractéristiques de la dysfonction endothéliale. Les liens entre les changements de la structure vasculaire et de la fonction endothéliale sont encore peu précis. Néanmoins, il a été mis en évidence que la contribution directe des CML sur la rigidité artérielle est proportionnelle au tonus vasculaire qu'ils produisent (166). Une réponse inappropriée de ces dernières mène donc à des changements de la rigidité artérielle des vaisseaux.

#### **4. Rigidité artérielle et produits avancés de glycation**

Un autre facteur d'importance influençant la rigidité artérielle est la présence et la formation de produits avancés de glycation (AGE). Ils sont produits par la modification de protéines et de lipides suite à une oxydation et une glycation de ces dernières. Cette lente réaction non-enzymatique, appelée réaction de Maillard, se développe au contact prolongé des protéines et lipides aux sucres aldoses comme le glucose. La vitesse de formation des AGE dépend principalement de l'ampleur de la présence de glucose, de l'état inflammatoire du milieu et du taux de renouvellement des molécules susceptibles d'être glyquées (165, 167). Ils s'accumulent dans la paroi vasculaire pour ensuite modifier sa structure et ses fonctions (168).

Le résultat de toutes les modifications engendrées est une fonction vasodilatatrice altérée et une augmentation disproportionnée du tonus vasculaire en rapport avec la quantité de AGE se trouvant à proximité (165).

L'accumulation de AGE et de molécules peut contribuer à l'accroissement de l'espace occupé par la matrice extracellulaire et conséquemment, un épaississement de la paroi vasculaire (169). Somme toute, la présence des AGE dans la paroi vasculaire provoque une diminution de la compliance et une augmentation de la rigidité artérielle (170).

#### **5. Rigidité artérielle et conditions associées**

Certaines conditions provoquent à elles seules une augmentation marquée de la rigidité artérielle, s'ajoutant à l'augmentation observée en vieillissant.

Une première est le syndrome métabolique. La pierre angulaire de l'augmentation de la rigidité artérielle en présence de ce syndrome pourrait être la résistance à l'insuline et par conséquent, le diabète. En effet, il existe une corrélation linéaire positive entre la concentration d'insuline, la glycémie et la rigidité des artères centrales (171).

La progression de la rigidité artérielle est grandement accélérée chez les patients atteints d'IRC, et ce peu importe l'âge du diagnostic ou le stade de progression de l'IRC (172). En fait, les marqueurs de rigidité artérielle augmentent progressivement du stade 1 au stade terminal de l'IRC et sont indépendamment reliés au niveau de fonction rénale. Les mécanismes causant cette croissance rapide de la rigidité artérielle sont semblables à ceux du vieillissement. Toutefois, les désordres du métabolisme minéral osseux propres à l'IRC amènent une contribution plus importante des calcifications vasculaires à l'évolution de la rigidité artérielle que dans la population saine (173).

#### **IV. Méthode de mesure non-invasive de la rigidité artérielle**

Depuis plus d'un siècle, plusieurs appareils ou techniques ont été mis au point dans le but de mesurer et évaluer efficacement la rigidité artérielle. Il existe deux méthodes les plus représentatives de la rigidité artérielle et de ses conséquences, soit la mesure de la VOP et le profil de l'onde de pouls (POP). D'ailleurs, ces mesures font l'objet d'un consensus d'experts pour leur utilisation à des fins cliniques et de recherches<sup>48</sup>. Parmi ces deux méthodes, la mesure de la vitesse de l'onde de pouls est plus utilisée.

Tel que vu précédemment, la VOP est en fait la vitesse à laquelle l'onde de pouls se propage à travers les vaisseaux. La mesure de la VOP se base sur le principe physique que plus un matériel est rigide et dense, plus rapidement les ondes se propagent à travers ce matériel. La VOP semble être une des méthodes de mesure de la rigidité artérielle régionale la plus reproductible, la plus fiable et la plus simple d'application (150). La VOP carotido-fémorale (VOPc-f) représente la rigidité artérielle centrale au niveau de l'aorte, tandis que la VOP carotido-radiale (VOPc-r) représente plutôt la rigidité périphérique. Il est à noter que la VOP c-f est la mesure la plus représentative de la rigidité artérielle et de ses impacts. C'est celle-ci qui est corrélée le plus fortement aux complications cardiovasculaires dans diverses populations. Il existe plusieurs appareils

permettant de mesurer l'onde de pouls dont le pOpmètre®. Sa technique consiste à placer deux capteurs à infrarouge reliés à un boîtier au niveau d'un doigt et d'un orteil. Le principe est de mesurer le décalage temporel entre l'onde de pouls au doigt et celle à l'orteil pour déterminer, à partir de la taille du patient, la vitesse de propagation de l'onde de pouls (VOPdo) (174).

## V. Activité physique et rigidité artérielle

Plusieurs recherches ont été effectuées afin d'élucider les impacts de l'activité physique sur la rigidité artérielle dans différentes populations. Toutefois, il existe peu d'études à ce sujet concernant les sujets drépanocytaires.

### 1. Activité physique d'endurance

Des études transversales démontrent une faible présence de rigidité artérielle chez des hommes et femmes actifs sans problème de santé contrairement aux personnes sédentaires (175-177). Effectivement, le travail de Tanaka H. et ses collègues démontre que les hommes plus âgés ayant été actifs leur vie durant ont une rigidité et une compliance artérielle semblables à leurs pairs plus jeunes. D'autre part, les hommes âgés sédentaires ont une rigidité artérielle nettement supérieure à leurs semblables plus jeunes (168). Il semble que les activités physiques pratiquées à plus haute intensité (par la méthode d'entraînement continu ou par intervalles) aient un plus grand impact sur la rigidité artérielle des sujets sains, hypertendus ou avec maladie cardiovasculaire (MCV) (178). Ferreira I et ses collègues suggèrent donc que le but visé de l'activité physique pour le maintien et l'amélioration de la rigidité artérielle doit être l'amélioration de la capacité cardiorespiratoire par la pratique d'exercices à haute intensité (179). Ceci est cohérent avec les études précitées montrant que les activités physiques à plus haute intensité seraient plus efficaces. Il semble que de 4 à 12 semaines d'activités physiques cardiovasculaires soient suffisantes pour induire une diminution de la rigidité artérielle (180).

## **2. Entraînement musculaire**

Les effets de l'entraînement musculaire sur la rigidité artérielle ont été moins étudiés que l'activité physique cardiovasculaire.

Les différents auteurs n'arrivent pas à statuer clairement sur les effets de l'entraînement musculaire. Néanmoins, nous pouvons constater que la majorité des études d'interventions chez des hommes et femmes d'âges divers ne démontrent aucun impact de l'entraînement musculaire, ou une amélioration de la rigidité artérielle (181-183). À l'inverse, certaines études démontrent un effet délétère de la musculation sur la rigidité artérielle (184-186). Ce qui semble être le tronc commun de la plupart des études négatives est l'intensité de la musculation. L'entraînement musculaire à plus haute intensité (entraînement de force et puissance) semble procurer des effets négatifs sur la compliance artérielle. Cependant, l'équipe de Miyachi M. et de Kawano H et leurs collègues ont démontré que les effets négatifs disparaissent complètement pour retrouver des valeurs basales après une période de désentraînement (185, 186). Finalement, l'équipe d'Okamoto a rapporté qu'un programme de musculation comprenant seulement des contractions concentriques semble diminuer la compliance artérielle tandis que des contractions excentriques seulement n'ont pas d'impact sur la compliance chez des femmes adultes (187).

## CONTRIBUTION PERSONNELLE

---

## **I. MATERIELS ET METHODES**

### **1. Aspects éthiques et financiers**

Les protocoles des trois études que compose cette thèse ont été approuvées par le comité d'éthique de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal (*Ref: 017/2014 / REC / UCAD*). Les sujets ont été informés quant aux procédures et aux objectifs de chaque étude, et une fiche de consentement a été recueillie pour chaque sujet.

Nous avions bénéficié d'un appui financier du Ministère de l'Enseignement Supérieur du Burkina Faso sous forme d'une bourse d'étude couvrant la période 2013 à 2016. Aussi, en 2015, nous avions été bénéficiaire d'une bourse de mobilité de trois mois de l'AUF (zone Afrique de l'Ouest) qui nous a permis le dosage des différents marqueurs biologiques au Service d'Explorations Fonctionnelles Vasculaires de l'Université d'Angers (France).

### **2. Population d'étude**

Les travaux scientifiques reposent sur l'évaluation de la fonction vasculaire de sujets sénégalais volontaires. Ces sujets ont été répartis en trois groupes selon leur statut hémoglobinique : les sujets sains ou contrôles (HbAA), les sujets porteurs du trait drépanocytaire (HbAS = PTD) et les sujets drépanocytaires (HbSS). Les sujets ont été recrutés au Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) et à l'Institut Supérieur de l'Education Populaire et du Sport (INSEPS) de Dakar, Sénégal. Ils ont ensuite pris part à une visite médicale d'inclusion comportant :

- Un examen médical complet,
- Les mesures anthropométriques (âge, genre, taille, poids),
- Une électrophorèse de l'hémoglobine,
- Un bilan lipidique (cholestérol total, HDL et LDL, triglycérides),
- Une glycémie à jeun,
- Bilan de la fonction rénale (urée et créatininémie)

Les sujets ont été exclus du protocole après l'examen médical si :

- Ils présentaient une hémoglobinopathie autre que la drépanocytose,
- Ils étaient transfusés il y a moins de trois mois,
- Ils refusaient de participer volontairement à l'étude
- Pour les femmes participant à l'étude, l'existence d'une grossesse ou d'une contraception à visée hormonale.

Dans le cadre de l'étude 1, 45 sujets ont été inclus (9 PTD, 14 HbSS et 22 HbAA), représentés dans le tableau III.

Dans le cadre de l'étude 2, 26 sujets PTD ont été inclus en fonction de leur niveau de viscosité sanguine ( $\eta_b$ ) : 13 PTD à  $\eta_b$  élevée (PTD\_h  $\eta_b$ ) et 13 PTD à  $\eta_b$  basse (PTD\_1  $\eta_b$ ), représentés dans le tableau IV.

Dans le cadre de l'étude 3, 42 sujets PTD ont été inclus dont 25 PTD sédentaires et 17 PTD sportifs, représentés dans le tableau V.

Tableau III : population de l'étude 1

	HbAA (n=22)	PTD (n= 9)	HbSS (n=14)
Age (ans)	34 ± 9	32 ± 9	29 ± 9
Poids (kg)	70,00 ± 8,86	52,14 ± 6,92	76,04 ± 13,91
Taille (cm)	168,50 ± 9,89	167,93 ± 7,26	174,77 ± 8,87
HbS (%)	NA	38,52 ± 4,20	79,35 ± 4,68

NA : non applicable.

Tableau IV : population de l'étude 2

	PTD_hnb (n=13)	PTD_lnb (n=13)
Age (ans)	33± 12	34 ± 11
Poids (kg)	61,71 ± 13,16	63,38 ± 11,12
Taille (cm)	167,29 ± 6,63	170,77 ± 7,43
HbS (%)	39,17±6,90	39,95 ± 2,99

Tableau V : population de l'étude 3

	PTD sédentaires (n=25)	PTD sportifs (n=17)
Age (ans)	26±6	26±4
Poids (kg)	62,41±11,52	64,73±7,69
Taille (cm)	169,61±8,12	175,36±8,26
HbS (%)	38,36±4,39	38,79±5,34

### **3. Protocole**

Dans les études 1, 2 et 3, nous avons mesuré les caractéristiques anthropométriques (âge, genre, taille et poids) des sujets. Nous avons également évalué dans ce protocole les paramètres biochimiques standards (glycémie à jeun, bilan lipidique, fonction rénale) et hémorhéologiques (viscosité sanguine, hématocrite). La fonction vasculaire a été aussi évaluée par la mesure de la rigidité artérielle. Enfin, Le niveau de risque cardiovasculaire (en %) a été calculé selon le score de Framingham-Laurier (188).

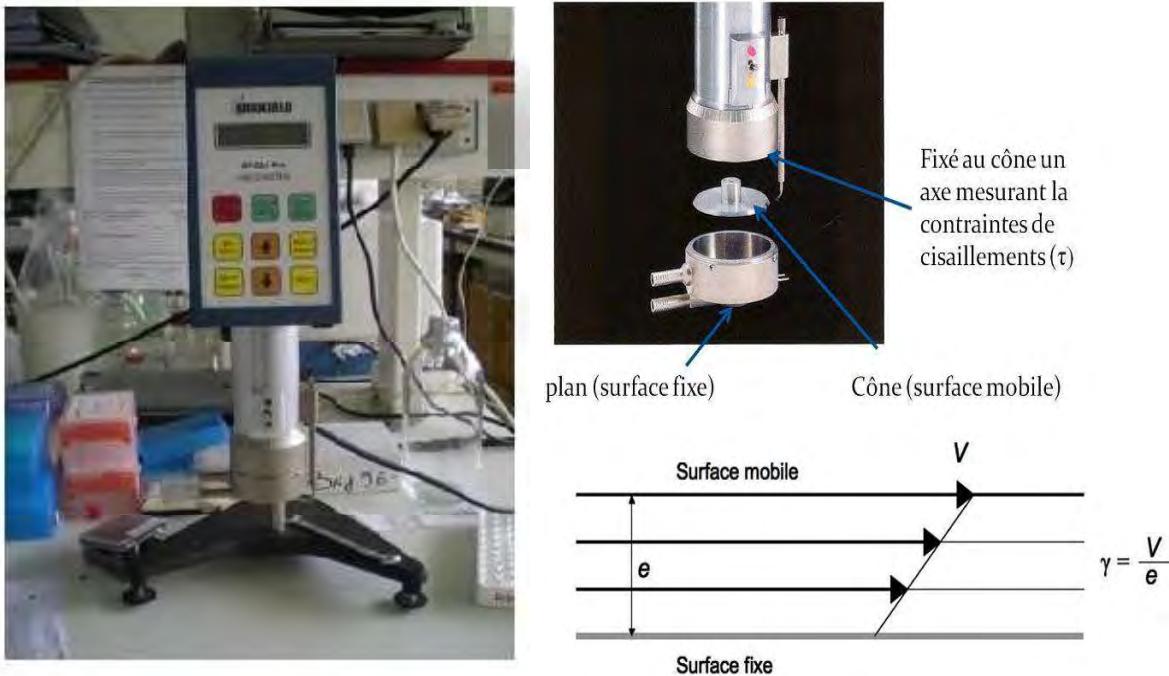
Dans l'étude 1, l'état inflammatoire systémique a été évalué, les niveaux du stress oxydatif et de production du monoxyde d'azote (NO) de nos sujets ont été mesurés.

Tous les sujets étaient à jeun lors des explorations biologiques et vasculaires.

### **4. Variables mesurées**

#### **a) Variables hémorhéologiques**

La viscosité sanguine ( $\eta_b$ ) a été mesurée à l'aide d'un viscosimètre cône plan (*Brookfield Pro DV II +, with CPE40 spindle; Middleboro, MA*) à la vitesse de  $225\text{ S}^{-1}$  à  $37^\circ\text{C}$  en accord avec les récentes recommandations de normalisation des techniques hémorhéologiques (Figure 19) (189). L'hématocrite (Hct) a été évaluée par la méthode de micro-centrifugation (*Jouan-Hema-C, Saint Herblain, France*) à la vitesse de 1500 g pendant 5 min à la température de  $25^\circ\text{C}$ .



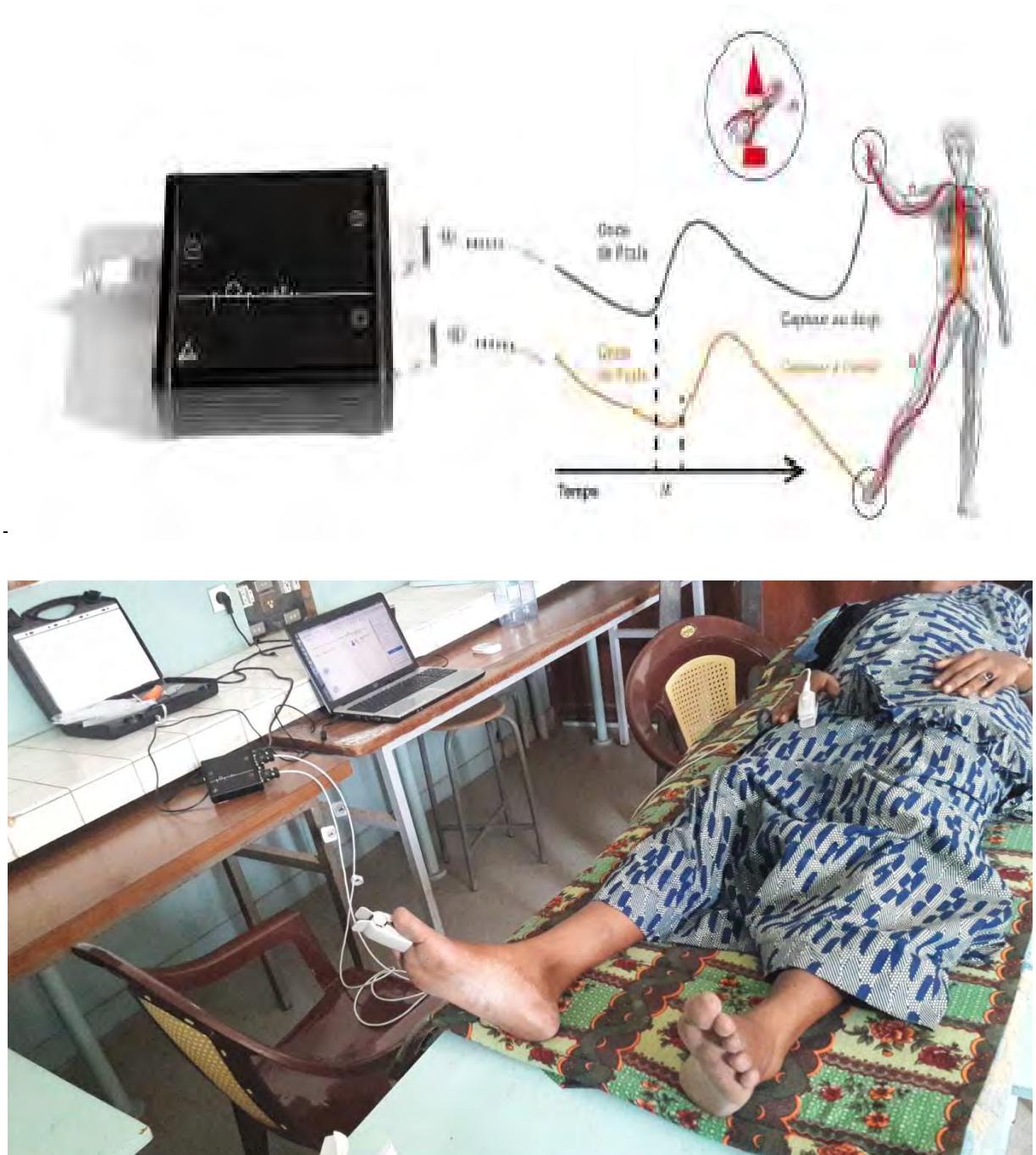
**Figure 20:** Viscosimètre cône-plan Brookfield, modèle LVDV-II+PRO

Avant toute mesure, il est nécessaire de régler par calibration la distance ( $e$ ) entre le plan et le cône (l'entrefer). L'appareil peut calculer la vitesse de cisaillement  $\gamma$  à partir de la vitesse de rotation  $V$  choisie pour la mesure (c.-à-d.  $\gamma = V/e$ ). Ainsi, à partir de la contrainte de cisaillement exercée par le sang sur l'axe et de la vitesse de cisaillement appliquée, l'appareil nous donne la viscosité sanguine.

### b) Mesure de la rigidité artérielle

La rigidité artérielle a été évaluée par la mesure de la vitesse de l'onde de pouls doigt-orteil (VOPdo) grâce à l'appareil pOpmètre® (axelife sas-France) selon la méthode décrite par Alivon et al (174). La mesure est réalisée chez un sujet en décubitus dorsal, au repos au moins pendant 10 min et n'ayant pas consommé de café et de tabac dans les 3 heures précédent l'examen. Deux capteurs à infrarouge reliés à un boîtier au niveau d'un doigt et d'un orteil permet de mesurer le temps de transit doigt-orteil de l'onde de pouls. Le principe est de mesurer le décalage temporel entre l'onde de pouls du doigt et celle de l'orteil

pour déterminer, à partir de la taille du patient, la vitesse de propagation de l'onde de pouls (Figure 21).



**Figure 21 :** pOpmètre<sup>®</sup> (Axelife sas - France)

**c) Evaluation du stress oxydatif**

Le stress oxydatif a été déterminé par le dosage plasmatique des produits de la peroxydation des lipides (malondialdéhyde, MDA) par colorimétrie (kit *MAK085-1KT, Sigma-Aldrich, Allemagne*). L'activité antioxydante a été évaluée par le dosage plasmatique de la superoxyde dismutase (SOD) par colorimétrie (*SOD Assay Kit, 19160, Sigma-Aldrich, Allemagne*).

**d) Evaluation de l'état inflammation**

Les cytokines pro-inflammatoires suivantes : interleukine 6 (IL-6) et facteur nécrosant tumoral (TNF $\alpha$ ) ont été dosées dans le plasma selon la méthode d'ELISA (*Human IL-6 ELISA Kit, RAB0306 et Human TNF $\alpha$  ELISA Kit, RAB0476, Sigma-Aldrich, Allemagne*).

**e) Mise en évidence des métabolites du monoxyde d'azote (NO)**

Les nitrites et nitrates plasmatiques ont été dosés par colorimétrie selon la méthode de Griess (*Nitric Oxide Assay Kit, ab65328, Abcam, France*).

## **5. Analyses statistiques**

Les données ont été analysées avec le logiciel SPSS 16.0. Les variables quantitatives étaient représentées sous forme de moyennes  $\pm$  écart type. Les variables quantitatives entre les groupes indépendants ont été comparées par des tests non paramétriques (Kruskal-Wallis et Man-Whitney). Des régressions linéaires univariées ont été utilisées pour la recherche de corrélation entre la VOPdo et les autres variables, et des régressions linéaires multi-variées ont permis d'identifier les déterminants indépendants de la rigidité artérielle. Pour toutes les analyses statistiques, le seuil de significativité a été fixé à  $p < 0,05$ .

# ETUDE 1

---

## **Etude 1 : Impact du trait drépanocytaire sur la rigidité artérielle des sujets africains.**

Dans la première partie de ce travail de thèse consacrée à la revue de la littérature, nous avions vu que la drépanocytose est une hémoglobinopathie très répandue en Afrique sub saharienne. Elle conduit à des désordres hémorhéologiques, métaboliques et hémodynamiques, déclenchant des complications variées pouvant aboutir à la mort. Ces différents désordres pourraient conduire à des modifications structurales et fonctionnelles des artères. Tripette et al en 2013 ont montré que les sujets PTD avaient une légère altération de la fonction vasculaire (1).

Le but de cette étude était d'évaluer la fonction vasculaire des sujets PTD par la mesure de la rigidité artérielle en comparaison à des sujets sains et drépanocytaires et aussi de rechercher les mécanismes physiopathologiques sous-jacents. Ainsi 9 sujets PTD ont été comparés à 14 sujets drépanocytaires (HbSS) et à 22 contrôles (HbAA). La vitesse de l'onde de pouls (VOPdo), les variables hémorhéologiques (Hct et  $\eta_b$ ) ainsi que métaboliques (cytokines pro-inflammation, stress oxydant et métabolites du NO) ont été mesurés.

Les résultats de notre étude confirment que le groupe HbSS a une pression artérielle (PA) plus basse associée à une baisse de la VOPdo comparé au groupe HbAA. Comparés au groupe HbSS, le groupe PTD avait une viscosité sanguine et un score de RCV plus élevés, une biodisponibilité du NO plus basses ainsi qu'une élévation de la VOPdo ; cette dernière n'était pas différente de celle du groupe HbAA.

La PAM basse du groupe HbSS associée à une augmentation de la biodisponibilité du NO expliquerait le fait que leurs artères soient moins rigides que ceux du groupe PTD (190, 191). Nous n'avions pas pu mettre en évidence une association entre la VS et la PAM comme l'a trouvé Tripette et al en 2013 (1).

**Article 1 :** Impact du trait drépanocytaire sur la rigidité artérielle des sujets africains.

V. Ouédraogo<sup>1</sup>, R. Soleti<sup>2</sup>, I. Signolet<sup>3</sup>. M Diaw<sup>1</sup>, M. Hallab<sup>4</sup>, A. Samb<sup>1,5</sup>, A. Ba<sup>1,5</sup> and G. Lefthériotis<sup>6</sup>.

Soumis en phase de révision dans *Journal des Maladies Vasculaires*.

**Impact du trait drépanocytaire sur la rigidité artérielle des sujets africains.**

*Impact of sickle cell trait on arterial stiffness in African subjects.*

V. Ouédraogo<sup>1</sup>, R. Soleti<sup>2</sup>, I. Signolet<sup>3</sup>, M Diaw<sup>1</sup>, M. Hallab<sup>4</sup>, A. Samb<sup>1,5</sup>, A. Ba<sup>1,5</sup> and

G. Lefthériotis<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>*Laboratoire de Physiologie Humaine, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d’Odontologie, UCAD, Sénégal;*

<sup>2</sup>*Laboratoire Inserm U1063 – SOPAM, Université d’Angers – France ;*

<sup>3</sup>*Laboratoire de Biochimie, CHU Angers, 49933 Angers Cedex – France ;*

<sup>4</sup>*Hôpital Universitaire de Nantes, Place Ricordeau, 44000 Nantes – France ;*

<sup>5</sup>*Unité Mixte Internationale (UMI 3189), “Environnement, Santé, Sociétés” CNRS, UCAD, CNRST, USSTB, UGB, Dakar, Sénégal.*

<sup>6</sup>*Laboratoire de Biologie Neuro-vasculaire et Mitochondriale Intégrée UMR CNRS 6214 – Inserm 1083, Faculté de Médecine Angers, 49045 Angers – France.*

**Auteur correspondant :** Dr OUEDRAOGO Valentin

Laboratoire de Physiologie Humaine, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d’Odontologie, UCAD, Sénégal.

Numéro téléphone : 00221771659683

E-mail : sportin\_t@yahoo.fr

## Résumé

Le trait drépanocytaire est la forme bénigne de la maladie drépanocytaire. Souvent asymptomatiques, les sujets porteurs du trait drépanocytaire (PTD) présentent des perturbations hémorhéologiques avec un stress oxydant majoré comparativement à des sujets sains. Ces perturbations pourraient engendrer des modifications structurales et fonctionnelles des gros vaisseaux. L'objectif de l'étude était d'évaluer la rigidité artérielle, un marqueur indépendant de l'athérosclérose sub-clinique, chez des sujets PTD par comparaison à des sujets drépanocytaires homozygotes.

Neuf PTD âgés de  $32 \pm 9$  ans (7 hommes) ont été comparés à 14 sujets drépanocytaires homozygotes âgés de  $29 \pm 9$  ans (2 hommes) et à 22 sujets témoins âgés de  $34 \pm 9$  ans (11 hommes), recrutés au Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) de Dakar (Sénégal). La rigidité artérielle a été déterminée par la mesure de la vitesse de l'onde de pouls doigt-orteil (VOPdo) en utilisant pOpmetre® (Axelife SAS-France) et l'état inflammatoire caractérisé par une mesure immunoenzymatique de l'interleukine 6 (IL-6). Le risque cardio-vasculaire (RCV en %) a été évalué selon le score de Framingham-Laurier.

Les PTD avaient une VOPdo (m/s) supérieure à celle des drépanocytaires ( $8,2 \pm 2,2$  m/s vs  $6,1 \pm 0,9$ ,  $p = 0,004$ ) mais non différente de celle des sujets sains ( $8,2 \pm 2,2$  m/s et  $7,4 \pm 1,8$  m/s,  $p = 0,33$ ). Une régression linéaire multivariée montrait une corrélation positive entre la VOPdo et la PP ( $p < 0,001$ ;  $r^2 = 0,39$ ;  $F = 13,20$ ).

Les résultats montrent que les PTD ont des artères plus rigides que les drépanocytaires. Seule la PP demeure un déterminant indépendant de la rigidité artérielle.

**Mots clés :** Artères, Drépanocytose ; Africains.

## Summary

Sickle cell trait (SCT) is the benign condition of sickle cell disease. Often asymptomatic, the carriers of the sickle cell trait have hemorheological disturbances with increased oxidative stress compared to healthy subjects. These disturbances could lead to structural and functional changes in large vessels. The aim of the study was to measure arterial stiffness, an independent marker of subclinical atherosclerosis, SCT carriers compared to sickle cell anemia (SCA) subjects.

Nineteen SCT carriers aged  $32 \pm 9$  years (7 men) were compared to 14 SCA subjects aged  $29 \pm 9$  years (2 men) and 26 control subjects aged  $34 \pm 9$  years (11 men) recruited to the National Blood Transfusion Center (CNTS) in Dakar (Senegal). Arterial stiffness was assessed by measurement of the pulse wave velocity finger-toe (PWVft) used pOpmètre<sup>®</sup> (*Axelife SAS-France*). The cardiovascular risk (CVR) was assessed according to the Framingham Laurier score.

The SCT carriers had a significant higher PWVft (m/s) than SCA subjects ( $8.2 \pm 2.2$  m/s vs  $6.1 \pm 0.9$ ,  $p=0.004$ ) but not different from that of healthy controls ( $8.2 \pm 2.2$  m/s vs  $7.7 \pm 2.6$ ,  $p=0.33$ ). Multivariate linear regression showed a positive correlation between PWVft and the PP ( $p<0.001$ ;  $r^2 = 0.39$ ;  $F = 13.20$ ).

The results show that the SCT carriers have arteries stiffer than SCA subjects. The PP remain independent determinant of arterial stiffness.

Keywords: arteries, sickle cell, Africans.

## INTRODUCTION

La drépanocytose est une maladie héréditaire à transmission autosomique récessive. C'est l'hémoglobinopathie la plus répandue dans le monde, touchant plus de 270 millions de personnes, et dont la majeure partie se trouve en Afrique Sub-saharienne [1]. Au Sénégal, sa prévalence est de 8 à 10 % [2]. L'hémoglobine S (HbS) anormale provient de la mutation du gène de la chaîne  $\beta$  de l'hémoglobine A (HbA). La physiopathologie de la drépanocytose repose sur une polymérisation et une désoxygénéation de l'HbS. L'HbS polymérisée entraîne également la rigidification et la falcification des globules rouges responsables de la survenue de crises vaso-occlusives [3].

Le trait drépanocytaire est la forme hétérozygote et bénigne de la drépanocytose [4]. Les porteurs du trait drépanocytaire (PTD) sont caractérisés par des perturbations hémorhéologiques à type d'hyperviscosité sanguine, d'une légère hyperagrégation érythrocytaire et une déformabilité érythrocytaire faiblement diminuée par rapport à des sujets à hémoglobine normale [5, 6]. Ces anomalies pourraient être liées en partie à un stress oxydant plus important chez les porteurs du trait drépanocytaire [7]. Des auteurs ont avancé l'hypothèse selon laquelle, les désordres hémorhéologiques chez le PTD seraient à l'origine de complications rares (rhabdomyolyse, mort subite) observées lors de l'activité physique [8, 9] mais également de complications de type thromboembolique [10, 11]. Plusieurs de ces auteurs ont proposé de reclasser le trait drépanocytaire [12, 13] comme un cofacteur de morbidité et de mortalité [14, 15].

Les perturbations hémorhéologiques ainsi que le stress oxydatif engendrés par l'HbS pourraient également conduire à une modification structurale et fonctionnelle des artères. Ces modifications des parois artérielles constituent des facteurs de risque cardiovasculaire [16]. L'augmentation de la rigidité artérielle est un facteur indépendant de la mortalité cardiovasculaire [17]. Par ailleurs, les drépanocytaires homozygotes (SS) sont caractérisés par une pression sanguine plus basse responsable d'une diminution de la rigidité artérielle [18]. Une étude récente a montré une augmentation non significative de la rigidité artérielle chez les sujets PTD par rapport aux sujets à hémoglobine normale [19]. Cependant cette étude a été réalisée uniquement dans une population caucasienne et une autre étude avait objectivé une différence de rigidité artérielle entre afro-américains et caucasiens [20]. De plus, aucune étude ne s'est encore intéressée aux différences de rigidité artérielle pouvant exister entre les sujets PTD et les sujets homozygotes.

Le but de notre étude a donc été d'évaluer la rigidité artérielle chez des sujets drépanocytaires homozygotes et hétérozygotes (PTD) africains par comparaison à des sujets non drépanocytaires.

## MATERIELS ET METHODES

### Population

L'étude a été réalisée à l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar (Sénégal). Le protocole a été réalisé selon les déclarations de Helsinki et approuvé par le comité d'éthique de l'Université (Réf: 017/2014/CER/UCAD). Les sujets ont été informés de la procédure et de l'objectif de l'étude. Vingt-six patients porteurs de l'hémoglobine S (HbS) ont été recrutés au Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) de Dakar dont 12 étaient hétérozygotes AS (groupe PTD) et 14 homozygotes SS (groupe HbSS). La confirmation de l'hémoglobinopathie a été faite par une électrophorèse de l'hémoglobine. Aucun des sujets porteurs d'hémoglobine HbS n'était diabétique ou atteint d'une pathologie cardiovasculaire connue. Le groupe témoin était constitué de 26 sujets avec une hémoglobine normale AA (groupe HbAA) et recrutés dans la population des donneurs de sang du CNTS.

### Variables mesurées

Les variables cardiovasculaires (pression artérielle systolique et diastolique et la fréquence cardiaque) ont été mesurées chez nos sujets qui étaient en position couchée après un repos de 15 minutes. L'hypertension artérielle a été définie selon les recommandations de la Société Française d'Hypertension Artérielle [21]. Des prélèvements sanguins ont été réalisés pour la glycémie, le bilan

lipidique (HDL et LDL cholestérol, cholestérol total et triglycérides), des marqueurs du stress oxydatif, des marqueurs du métabolisme du monoxyde d'azote (NO) et des cytokines pro-inflammatoires, et pour la mesure des variables hémorhéologiques. Le niveau de risque cardiovasculaire (en %) a été évalué selon le score de Framingham-Laurier [22].

### **Évaluation du stress oxydatif**

Le stress oxydatif vasculaire a été déterminé par le dosage plasmatique des produits de la peroxydation des lipides (malondialdéhyde, MDA) par colorimétrie (kit *MAK085-1KT, Sigma-Aldrich, Allemagne*). L'activité antioxydante a été évaluée par le dosage plasmatique de la superoxyde dismutase (SOD) par colorimétrie (*SOD Assay Kit, 19160, Sigma-Aldrich, Allemagne*).

### **Évaluation de l'inflammation vasculaire**

Les cytokines pro-inflammatoires vasculaires suivantes : interleukine 6 (IL-6) et facteur nécrosant tumoral (TNF $\alpha$ ) ont été dosées dans le plasma selon la méthode d'ELISA (*Human IL-6 ELISA Kit, RAB0306 et Human TNF $\alpha$  ELISA Kit, RAB0476, Sigma-Aldrich, Allemagne*).

### **Mise en évidence des métabolites du monoxyde d'azote (NO)**

Les nitrites et nitrates plasmatiques ont été dosés par colorimétrie selon la méthode de Griess (*Nitric Oxide Assay Kit, ab65328, Abcam, France*).

### **Variables hémorhéologiques**

La viscosité sanguine ( $\eta_b$ ) a été mesurée à l'aide d'un viscosimètre cône plan (*Brookfield Pro DV II +, with CPE40 spindle; Middleboro, MA*) à la vitesse de  $225\text{S}^{-1}$  à  $37^\circ\text{C}$  en accord avec les récentes recommandations de normalisation des techniques hémorhéologiques [23]. L'hématocrite (Hct) a été évalué par la méthode de micro-centrifugation (*Jouan-Hema-C, Saint Herblain, France*) à la vitesse de 1500 g pendant 5 min à la température de  $25^\circ\text{C}$ .

### **Mesure de la rigidité artérielle**

La rigidité artérielle a été évaluée par la mesure de la vitesse de l'onde de pouls doigt–orteil (VOPdo) grâce à l'appareil pOpmètre<sup>®</sup> (*axelife sas-France*) selon la méthode décrite par Alivon et al [24]. La mesure est réalisée chez un sujet en décubitus dorsal, au repos au moins pendant 10 min et n'ayant pas consommé de café et de tabac dans les 3 heures précédent l'examen. Deux capteurs à infrarouge reliés à un boîtier au niveau d'un doigt et d'un orteil permettent de mesurer le temps de transit doigt-orteil de l'onde de pouls. Le principe est de mesurer le décalage temporel entre l'onde de pouls

du doigt et celle de l'orteil pour déterminer, à partir de la taille du patient, la vitesse de propagation de l'onde de pouls.

## **Analyses statistiques**

Les données ont été analysées avec le logiciel SPSS 16.0. Les variables quantitatives étaient représentées sous forme de moyennes  $\pm$  écart type. Les variables quantitatives entre les groupes indépendants ont été comparées par des tests non paramétriques (Kruskal-Wallis et Man-Whitney). Des régressions linéaires univariées ont été utilisées pour la recherche de corrélation entre la VOPdo et les autres variables, et des régressions linéaires multi-variées ont permis d'identifier les déterminants indépendants de la rigidité artérielle. Pour toutes les analyses statistiques, le seuil de significativité a été fixé à  $p < 0,05$ .

## **RESULTATS**

### **Données anthropométriques et cardiovasculaires**

Il n'existait pas de différence statistiquement significative entre les trois groupes concernant l'âge ( $p > 0,05$ ) (*tableau 1*).

Le groupe HbSS avait des pressions artérielles systolique, moyenne et pulsée plus basses comparé au groupe HbAA ( $p < 0,001$ ). Le risque cardiovasculaire était plus élevé ( $p < 0,001$ ) dans les groupes PTD et HbAA comparés au groupe HbSS (*tableau 1*).

### **Hémorhéologie, marqueurs du stress oxydatif, cytokines pro-inflammatoires et métabolisme du monoxyde d'azote**

Les résultats sont présentés dans le *tableau 2*. La viscosité sanguine ( $\eta_b$ ) était plus élevée dans le groupe PTD que dans le groupe HbSS ( $p = 0,001$ ) et dans le groupe HbAA ( $p < 0,001$ ). Elle n'était pas différente entre le groupe HbSS et le groupe HbAA. L'Hct du groupe HbSS était significativement plus bas que ceux des groupes PTD et HbAA, respectivement (tous les  $p < 0,001$ ).

La concentration de la superoxyde dismutase (SOD) était significativement plus élevée dans le groupe HbAA comparée aux autres groupes ( $p < 0,001$ ) mais la différence n'était pas statistiquement significative entre les groupes HbSS et PTD ( $p > 0,05$ ). Les concentrations d'IL-6 n'étaient pas statistiquement différentes entre les 3 groupes. La concentration de nitrites/nitrates était plus élevée

dans le groupe HbSS comparée aux groupes PTD et HbAA ( $p<0,001$ ) ; aucune différence significative n'a été notée entre le groupe PTD et le groupe HbAA.

### Vitesse de l'onde de pouls doigt-orteil (VOPdo)

La VOPdo du groupe HbSS était plus basse que celle de groupe PTD et celle du groupe HbAA  $6,1 \pm 0,9$  m/s ;  $8,2 \pm 2,2$  m/s et  $7,4 \pm 1,8$  m/s ( $p = 0,004$  et  $p = 0,030$ ) respectivement (*figure 1*). En revanche, la différence n'était pas significative entre le groupe PTD et le groupe HbAA  $8,2 \pm 2,2$  m/s et  $7,4 \pm 1,8$  m/s respectivement ( $p=0,33$ ).

### Corrélations entre la VOPdo et les autres variables

Des corrélations positives ont été observées entre la VOPdo et l'âge ( $p = 0,001$  ;  $r = 0,47$ ) ; la PAM ( $p = 0,04$  ;  $r = 0,31$ ), le RCV ( $p < 0,001$  ;  $r = 0,61$ ) et PP ( $p = 0,006$  ;  $r = 0,40$ ) (*figure 2*). Les régressions linéaires multiples ajustées sur l'âge, la PAM et la PP montrent que seul la PP était un déterminant indépendant de la rigidité artérielle ( $p<0,001$  ;  $r^2 = 0,39$  ;  $F = 13,20$ ).

## DISCUSSION

Les résultats de notre étude confirment que le groupe HbSS a une pression artérielle (PA) plus basse associée à une diminution de la rigidité artérielle comparé au groupe HbAA. Comparé au groupe HbSS, le groupe PTD avait une viscosité sanguine et un score de RCV plus élevés, une biodisponibilité du NO plus basse ainsi qu'une augmentation de la rigidité artérielle, mais non différente du groupe HbAA.

Notre étude est la première à comparer la rigidité artérielle entre groupes HbSS et PTD. Le groupe PTD de notre étude avait des artères plus rigides que le groupe HbSS. Cette augmentation de la rigidité pourrait être expliquée d'abord par l'âge. En dehors de l'âge, la PA constitue le principal facteur déterminant de la rigidité artérielle. Le groupe PTD avait des PA élevées par rapport au groupe HbSS et présentaient une réduction de la biodisponibilité du NO, ce qui pourrait expliquer l'augmentation de leur rigidité artérielle. De plus, le groupe PTD avait une activité antioxydante inférieure à celle du groupe HbSS. Dans les hématies, la SOD joue un rôle protecteur contre les effets délétères du stress oxydatif [25]. La réduction de la concentration de la SOD plasmatique crée un déséquilibre de la balance stress oxydatif/activité antioxydante et il est bien établi que l'augmentation du stress oxydatif joue un rôle important dans la progression de l'athérosclérose, un des facteurs majeurs de la rigidification artérielle dans la population générale [26]. Ce résultat diffère cependant de celui de Schacter et al. [25] qui ont retrouvé une activité antioxydante du groupe PTD

supérieure à celle du groupe HbSS. Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que le groupe HbSS de notre étude était à l'état stable tandis que celui de Schacter et al. [25] était en période de crises vaso-occlusives. La diminution de l'activité antioxydante des groupes drépanocytaires (PTD et HbSS) comparée au groupe HbAA s'expliquerait par des mécanismes intrinsèques tels que l'auto-oxydation de l'HbS et le nombre réduit des HbA adultes [27, 28].

Bien que le groupe PTD de notre étude ait des PA basses comparé au groupe HbAA, on notait une tendance à une rigidité artérielle supérieure à celle du groupe HbAA. Bayramoglu et al. avaient trouvé des résultats similaires avec un index d'augmentation de la pression pulsée du groupe PTD, un indice utilisé pour évaluer la rigidité artérielle, supérieure à celle du groupe HbAA [19].

Du fait de la sévérité de l'affection, les sujets drépanocytaires SS sont exposés à des complications cardiovasculaires à type d'hypertension artérielle pulmonaire ou d'atteinte de l'artère rénale [29-31]. Dans la population générale, la rigidité artérielle est un déterminant indépendant de la mortalité cardiovasculaire [17]. Malgré leurs complications cardiovasculaires, le groupe HbSS avait des artères moins rigides que le groupe HbAA [18]. Nos résultats confirment cette notion avec une VOPdo du groupe HbSS inférieure à celle du groupe HbAA. La PAM plus basse du groupe HbSS associée à l'augmentation de la biodisponibilité du NO pourraient également expliquer une VOPdo plus basse comme décrite dans la littérature [32, 33]. L'augmentation de la biodisponibilité du NO rencontrée dans le groupe HbSS est conforme à ce qui est retrouvé dans la littérature [34]. L'anémie, l'hypoxie chronique, l'augmentation des forces de cisaillement et le jeune âge du groupe HbSS stimuleraient la libération du NO endothérial, augmentant ainsi sa biodisponibilité [35, 36].

Le score de RCV de Framingham Laurier permet de prédire la survenue d'événements cardiovasculaires dans les 10 années à venir. Il est clairement établi que le RCV influe fortement sur l'augmentation de la rigidité artérielle [37, 38]. Dans notre étude, il existait une corrélation positive entre la VOPdo et le RCV, cela confirme ce qui est déjà retrouvé dans la littérature.

### **Limite de l'étude**

Dans l'évaluation du stress oxydatif, nous n'avions pu doser qu'un seul marqueur, la SOD, alors que dans la plupart des études au moins trois marqueurs sont utilisés.

## CONCLUSION

Notre étude est la première à mettre en évidence que les sujets PTD ont les artères plus rigides que les sujets SS. Elle permet également de confirmer la basse pression sanguine des sujets drépanocytaires homozygotes, ainsi qu'une absence de rigidité artérielle comparée aux sujets sains. Bien que les sujets PTD aient une rigidité artérielle supérieure à celle des sujets sains, cette différence n'était pas statistiquement significative. La PP demeure un déterminant indépendant de la rigidité artérielle.

**Déclaration de liens d'intérêts.** Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

## REFERENCES

1. Bandeira FMGC, Bezerra MAC, Santos MNN, Gomes YM, Araújo AS, Abath FGC. Importância dos programas de triagem para o gene da hemoglobina S. Rev Bras Hematol Hemoter. 2007;29:179-84.
2. Diop S, Sene A, Cisse M, Toure AO, Sow O, Thiam D, et al. Prevalence and morbidity of G6PD deficiency in sickle cell disease in the homozygote. Dakar Med. 2005;50:56-60.
3. Stuart M.J, Nagel R.L. Sickle-cell disease. Lancet. 2004;364:1343-60.
4. Le Gallais D, Lonsdorfer J, Bogui P, Fattoum S. Point: Sickle cell trait should be considered asymptomatic and as a benign condition during physical activity. J Appl Physiol. 2007;103:2137-8.
5. Connes P, Hue O, Tripette J, Hardy-Dessources MD. Blood rheology abnormalities and vascular cell adhesion mechanisms in sickle cell trait carriers during exercise. Clinical Hemorheol Microcirc. 2008;39:179-84.
6. Connes P, Sara F, Hardy-Dessources M.D, Etienne-Julian M, Hue O. Does higher red blood cell (RBC) lactate transporter activity explain impaired RBC deformability in sickle cell trait? Jpn J Physiol. 2005;55:385-7.
7. Ray D, Deshmukh P, Goswami K, Garg N. Antioxidant vitamin levels in sickle cell disorders. Natl Med J India. 2007;20:11-3.
8. Eichner ER. Sickle cell trait in sports. Curr Sports Med Rep. 2010;9:347-51.
9. Tripette J, Hardy-Dessources MD, Sara F, Montout-Hedreville M, Saint-Martin C, Hue O, et al. Does repeated and heavy exercise impair blood rheology in carriers of sickle cell trait? Clin J Sport Med. 2007;17:465-70.
10. Austin H, Key NS, Benson JM, Lally C, Dowling NF, Whitsett C, et al. Sickle cell trait and the risk of venous thromboembolism among blacks. Blood. 2007;110:908-12.
11. Austin H, Lally C, Benson JM, Whitsett C, Hooper WC, Key NS. Hormonal contraception, sickle cell trait, and risk for venous thromboembolism among African American women. Am J Obstet Gynecol. 2009;200:620. e1-3.
12. Connes P, Hardy-Dessources MD, Hue O. Counterpoint: Sickle cell trait should not be considered asymptomatic and as a benign condition during physical activity. J Appl Physiol (1985). 2007;103:2138-40.

13. Kark JA, Ward FT. Exercise and hemoglobin S. *Semin Hematol.* 1994;31:181-225.
14. Sears DA. The morbidity of sickle cell trait: a review of the literature. *Am J Med.* 1978;64:1021-36.
15. Tsaras G, Owusu-Ansah A, Boateng FO, Amoateng-Adjepong Y. Complications associated with sickle cell trait: a brief narrative review. *Am J Med.* 2009;122:507-12.
16. O'Rourke M. Mechanical principles in arterial disease. *Hypertension.* 1995;26:2-9.
17. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension.* 2001;37:1236-41.
18. Lemogoum D, Van Bortel L, Najem B, Dzudie A, Teutcha C, Madu E, et al. Arterial stiffness and wave reflections in patients with sickle cell disease. *Hypertension.* 2004;44:924-9.
19. Bayramoglu T, Akkus O, Nas K, Illyes M, Molnar F, Gurkan E, et al. Arterial stiffness and pulse wave reflection in young adult heterozygous sickle cell carriers. *Turk J Haematol.* 2013;30:379-86.
20. Morris AA, Patel RS, Binongo JN, Poole J, Al Mheid I, Ahmed Y, et al. Racial differences in arterial stiffness and microcirculatory function between Black and White Americans. *J Am Heart Assoc.* 2013;2:e002154.
21. Société Française d'Hypertension Artérielle. Recommandations de la Société française d'hypertension artérielle: mesures de la pression artérielle pour le diagnostic et le suivi du patient hypertendu. *Presse Med.* 2012 ; 41 : 221-4.
22. Lee WC, Kim MT, Ko KT, Lee WK, Kim SY, Kim HY, et al. Relationship between Serum Testosterone and Cardiovascular Disease Risk Determined Using the Framingham Risk Score in Male Patients with Sexual Dysfunction. *World J Mens Health.* 2014;32:139-44.
23. Baskurt OK, Boynard M, Cokelet GC, Connes P, Cooke BM, Forconi S, et al. New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2009;42:75-97.
24. Alivon M, Vo-Duc Phuong T, Vignon V, Bozec E, Khettab H, Hanon O, et al. A novel device for measuring arterial stiffness using finger-toe pulse wave velocity: Validation study of the pOpmetre®. *Arch Cardiovasc Dis.* 2015;108:227-34.
25. Schacter L, Warth JA, Gordon EM, Prasad A, Klein BL. Altered amount and activity of superoxide dismutase in sickle cell anemia. *FASEB J.* 1988;2:237-43.
26. Bonomini F, Tengattini S, Fabiano A, Bianchi R, Rezzani R. Atherosclerosis and oxidative stress. *Histol Histopathol.* 2008;23:381-90.
27. Landburg PP, Teerlink T, Biemond BJ, Brandjes DP, Muskiet FA, Duits AJ, et al. Plasma asymmetric dimethylarginine concentrations in sickle cell disease are related to the hemolytic phenotype. *Blood Cells Mol Dis.* 2010;44:229-32.
28. Vives Corrons JL, Miguel-Garcia A, Pujades MA, Miguel-Sosa A, Cambiazzo S, Linares M, et al. Increased susceptibility of microcytic red blood cells to in vitro oxidative stress. *Eur J Haematol.* 1995;55:327-31.
29. Manci EA, Culberson DE, Yang YM, Gardner TM, Powell R, Haynes J, et al. Causes of death in sickle cell disease: an autopsy study. *Br J Haematol.* 2003;123:359-65.
30. Morris CR, Morris SM, Hagar W, Van Warmerdam J, Claster S, Kepka-Lenhart D, et al. Arginine therapy: a new treatment for pulmonary hypertension in sickle cell disease? *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168:63-9.

31. Acar P, Maunoury C, de Montalembert M, Dulac Y. [Abnormalities of myocardial perfusion in sickle cell disease in childhood: a study of myocardial scintigraphy]. Arch Mal Coeur Vaiss. 2003;96:507-10.
32. Gladwin M.T, Schechter AN, Ognibene FP, Coles WA, Reiter CD, Schenke WH, et al. Divergent nitric oxide bioavailability in men and women with sickle cell disease. Circulation. 2003;107:271-8.
33. Blacher J, Asmar R, Djane S, London GM, Safar ME. Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients. Hypertension. 1999;33:1111-7.
34. Rees DC, Cervi P, Grimwade D, O'Driscoll A, Hamilton M, Parker NE, et al. The metabolites of nitric oxide in sickle-cell disease. Br J Haematol. 1995;91:834-7.
35. Kaul DK, Liu XD, Fabry ME, Nagel RL. Impaired nitric oxide-mediated vasodilation in transgenic sickle mouse. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2000;278:H1799-806.
36. Nath KA, Shah V, Haggard JJ, Croatt AJ, Smith LA, Hebbel RP, et al. Mechanisms of vascular instability in a transgenic mouse model of sickle cell disease. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2000;279:R1949-55.
37. Takahara M, Katakami N, Osonoi T, Saitou M, Sakamoto F, Matsuoka TA, et al. Different Impacts of Cardiovascular Risk Factors on Arterial Stiffness versus Arterial Wall Thickness in Japanese Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. J Atheroscler Thromb. 2015;22:971-80.
38. Mitchell GF, Guo CY, Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Vita JA, et al. Cross-sectional correlates of increased aortic stiffness in the community: the Framingham Heart Study. Circulation. 2007;115:2628-36.

Tableau 1 : Variables anthropométriques et cardiovasculaires de la population étudiée.

	Groupe HbAA (n=22)	Groupe PTD (n=09)	Groupe HbSS (n=14)
Age (ans)	34 ± 9	32 ± 9	29 ± 9
FC (btm/mn)	75 ± 14	68 ± 8	75 ± 11
PAS (mmHg)	136 ± 14	121 ± 14 <sup>a</sup>	116 ± 12 <sup>c</sup>
PAD (mmHg)	74 ± 7	72 ± 6	69 ± 8
PAM (mmHg)	95 ± 8	88 ± 7	85 ± 8 <sup>c</sup>
PP (mmHg)	61 ± 18	49 ± 15 <sup>a</sup>	47 ± 7 <sup>c</sup>
RCV (%)	3,46 ± 2,43	3,28 ± 2,56 <sup>b</sup>	1,14 ± 0,97 <sup>c</sup>

**PTD** = porteurs du trait drépanocytaire, **FC** = fréquence cardiaque, **PAS** = pression artérielle systolique, **PAD** = pression artérielle diastolique, **PAM** = pression artérielle moyenne, **PP** = pression pulsée, **RCV** = risque cardiovasculaire, **a** = différence significative entre les porteurs du trait drépanocytaire (PTD) et les témoins (AA), **b** = différence significative entre PTD et les drépanocytaires homozygotes (SS), **c** = différence significative entre SS et AA.

Tableau 2 : Variables biologiques

	Groupe HbAA	Groupe PTD	Groupe HbSS
$\eta b$ ( $mPas^{-1}$ )	4,89±0,54	5,65±0,80 <sup>a, b</sup>	4,91 ± 0,55
Hct (%)	40±2	40±1 <sup>b</sup>	31±4 <sup>c</sup>
SOD (% d'inhibition)	86,46±8,44	72,91±11,70 <sup>a</sup>	78,11±6,14 <sup>c</sup>
IL-6 (pg/ml)	11,46±4,64	6,66±4,71	13,37±11,87
Nitrites/Nitrates (nmol/ml)	17,95±5,01	19,44±1,35 <sup>b</sup>	29,56±8,70 <sup>c</sup>

**$\eta b$**  = viscosité sanguine, **SOD** = superoxyde dismutase, **Hct** = hématocrite, **IL-6** = interleukine 6, **a** = différence significative entre les PTD et les AA, **b** = différence significative entre les porteurs du trait drépanocytaire (PTD) et les drépanocytaires homozygotes (SS), **c** = différence significative entre SS et les témoins (AA).

### Légendes des figures

**Figure 1** : montre la vitesse de l'onde de pouls doigt-orteil (VOPdo) chez les sujets drépanocytaires (**AS** = porteurs du trait drépanocytaire, **SS** = drépanocytaires homozygotes) et témoins (**AA**) ; \* si  $p<0,05$  et \*\* si  $p<0,01$ .

**Figure 2** : montre les corrélations entre la vitesse de l'onde de pouls doigt-orteil (VOPdo) et l'âge, la pression artérielle moyenne (PAM), la viscosité sanguine, le score de risque cardiovasculaire (RCV) et l'interleukine6 (IL-6) dans l'ensemble de la population d'étude.

## Legends of the figures

**Figure 1:** shows the pulse wave velocity finger-toe (PWVft) in sickle cell patients (AS = sickle cell trait carriers, SS = sickle cell anemia subjects) and control (AA); \* If  $p < 0.05$  and \*\* if  $p < 0.01$ .

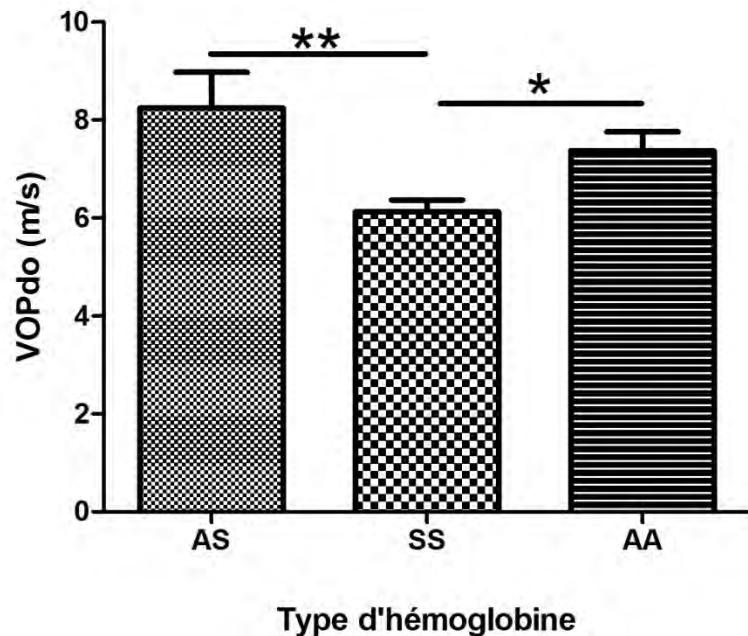
**Figure 2:** shows the correlations between the pulse wave velocity finger-toe (PWVft) and age, mean arterial pressure (MAP), blood viscosity, the score of cardiovascular risk (RRS) and interleukine6 (IL-6) in the whole study population.

## Legends of the tables

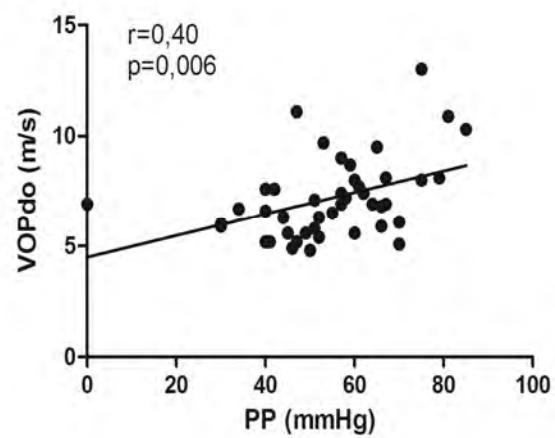
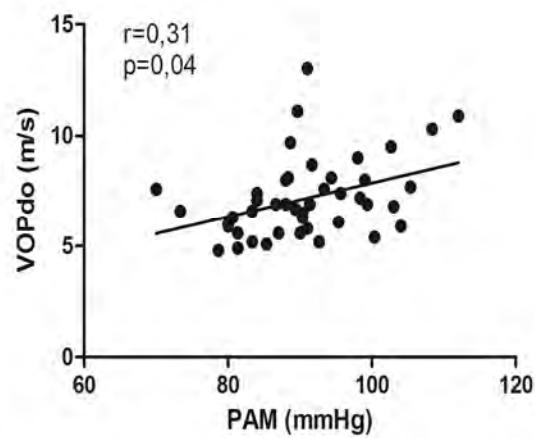
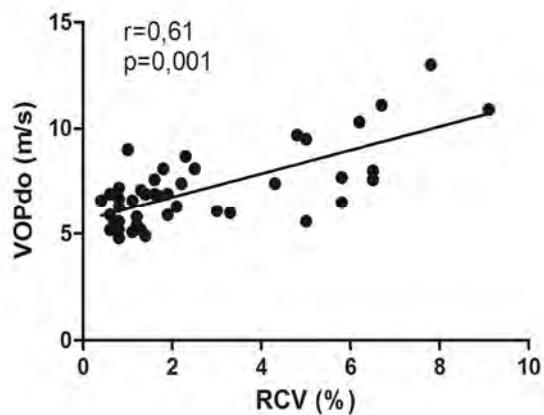
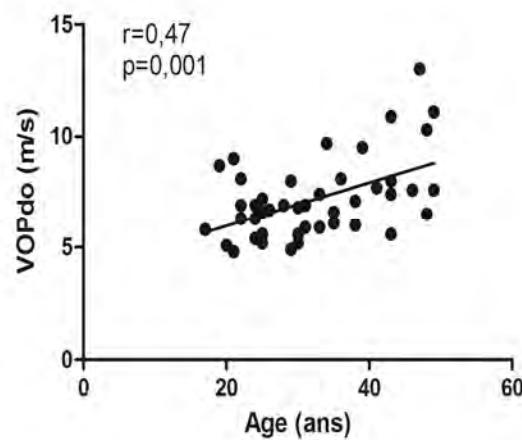
**Table 1:** PTD = sickle cell trait carriers, FC = heart rate, PAS = systolic blood pressure, PAD = diastolic blood pressure, PAM = mean arterial pressure, PP = pulse pressure, RCV = cardiovascular risk, a = difference between sickle cell trait carrier (PTD) and controls (AA), b = difference between PTD and sickle cell anemia (SS), c = difference between SS and AA.

**Table 2:** nb = blood viscosity, SOD = superoxide dismutase, Hct = Haematocrit, IL-6 = interleukin 6, a = difference between sickle cell trait carrier (PTD) and controls (AA), b = difference between PTD and sickle cell anemia (SS), c = difference between SS and AA.

**Figure 1 :**



**Figure 2 :**



## ETUDE 2

---

## **Etude 2 : Viscosité sanguine, rigidité artérielle et PTD.**

Les sujets PTD sont caractérisés par des modifications hémorhéologiques à type d'hyperviscosité sanguine comparés à des sujets à hémoglobine normale (HbAA) (192). Dans l'étude 1 nous avons montré que les sujets PTD avaient les artères plus rigides que les sujets HbSS.

Au vu de ceci, nous faisons l'hypothèse que les sujets PTD à haute viscosité sanguine auraient les artères plus rigides que ceux à viscosité basse. Pour tester cette hypothèse, nous avions mesuré la VOPdo, la viscosité sanguine et le profil lipidique chez 13 PTD à viscosité sanguine élevée (SCT\_h $\eta$ b) par comparaison à 13 PTD à viscosité sanguine basse (SCT\_l $\eta$ b).

Nos résultats montrent que les SCT\_h $\eta$ b avaient une VOPdo plus élevée que les SCT\_l $\eta$ b, aussi ils avaient un taux de HDL cholestérol bas comparés aux SCT\_l $\eta$ b. Le taux sérique de HDL cholestérol joue un rôle protecteur contre la rigidité artérielle (193, 194). Nos sujets SCT\_h $\eta$ b avaient un taux sérique de HDL cholestérol bas, ce qui expliquerait l'augmentation de la rigidité artérielle dans cette population. L'augmentation de la rigidité artérielle pourrait les exposer à des complications cardio-vasculaires d'où l'intérêt de promouvoir le sport modéré dans cette population, ce qui améliorerait leur profil hémorhéologique (195).

## Original Research Article

# High blood viscosity is associated with high pulse wave velocity in African sickle cell trait carriers

Ouédraogo Valentin<sup>1\*</sup>, Diaw Mor<sup>1</sup>, Lounbano-Vouumbi Ghislain<sup>1</sup>, Sow Abdou Khadir<sup>1</sup>, Tiendrebeogo Arnaud Jean Florent<sup>1</sup>, Samb Abdoulaye<sup>1</sup>, Hallab Magid<sup>2</sup>, Leftheriotis Georges<sup>3</sup>, Ba Abdoulaye<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Physiology and Functional Explorations, Faculty of Medicine, Pharmacy and Dentistry, Cheikh Anta Diop University, PB 5005, Dakar, Senegal

<sup>2</sup>University Hospital of Nantes, Place Ricordeau, 44000 Nantes – France

<sup>3</sup>Neuro-Vascular Biology Laboratory and Integrated Mitochondrial UMR CNRS 6214 - 1083 Inserm, Angers Faculty of Medicine, 49045 Angers - France

Received: 11 October 2016

Accepted: 17 October 2016

\*Correspondence:

Dr. Ouédraogo Valentin,  
E-mail: sportin\_t@yahoo.fr

**Copyright:** © the author(s), publisher and licensee Medip Academy. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License, which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## ABSTRACT

**Background:** Sickle cell trait (SCT) is the benign condition of sickle cell disease. Often asymptomatic, the SCT carriers have hemorheological disturbances such as blood hyper-viscosity compared to healthy subjects. These disturbances could lead to structural and functional changes in large vessels. The aim of the study was to evaluate the association between blood viscosity ( $\eta_b$ ) and pulse wave velocity (PWV) in SCT carriers.

**Methods:** Thirteen SCT with high blood viscosity (SCT\_h $\eta_b$ ) aged 34±12 years (4 men) were compared to 13 SCT with low blood viscosity (SCT\_l $\eta_b$ ) aged 32±9 years (5 men) recruited from the National Blood Transfusion Center (CNTS) in Dakar (Senegal). Pulse wave velocity finger-toe (PWVft) was assessed using *pOpmetre® (Axelite SAS-France)*. Cardiovascular risk (CVR) was assessed according to the Framingham Laurier score.

**Results:** SCT\_h $\eta_b$  had higher PWVft (m/s) than SCT\_l $\eta_b$  respectively 8.98±1.98 and 7.11±1.18 ( $p = 0.004$ ). CVR score (%) was higher in SCT\_h $\eta_b$  than SCT\_l $\eta_b$ , but this difference was not statistically significant (5.96±7.45 vs 2.09±2.15;  $p=0.31$ ). Multivariate linear regression showed a positive correlation between PWVft and  $\eta_b$  and CVR score ( $r^2=0.74$ ,  $F=21.19$ ,  $p<0.001$ ).

**Conclusions:** Present results indicate that the SCT\_h $\eta_b$  carriers have arteries stiffer than SCT\_l $\eta_b$  and  $\eta_b$  and CVR could remain independent determinants of arterial stiffness in SCT carriers.

**Keywords:** Blood viscosity, Pulse wave velocity, Sickle cell trait

## INTRODUCTION

Sickle cell is an inherited autosomal recessive disease. Abnormal hemoglobin S (HbS) comes from the replacement of glutamic acid with valine of the  $\beta$  chain of hemoglobin. It is the most common hemoglobinopathy, affecting over 270 million people worldwide and the major part is located in Sub-Saharan Africa.<sup>1</sup> In Senegal, the prevalence of Hemoglobin HbS is 8-10%.<sup>2</sup> There are

mainly two great forms of sickle cell: sickle cell anemia (SCA) the homozygous form and sickle cell trait (SCT) the heterozygous form. The SCA in which the hemoglobin S level is very high is characterized by repeated vaso-occlusive crisis. Among the mechanisms involved in the physiopathology of circulatory disturbances described in the SCA population, include hemorheological abnormalities and oxidative stress phenomena.<sup>3,5</sup> Inflammatory factors such as IL-1 $\beta$ , IL-6

and TNF $\alpha$  have also been reported in subjects of SCA<sup>6</sup>. Although, SCT is generally considered as benign condition and SCT carriers (SCTc) are often asymptomatic, authors have shown that the SCT is characterized by high blood viscosity ( $\eta_b$ ) associated with decreased red blood cell deformability compared to subjects with normal hemoglobin.<sup>7,8</sup> Moreover, recent studies have found in SCTc high level of oxidative stress markers and pro-inflammatory cytokines and hemorheological abnormalities which could disturb vascular function.<sup>9-12</sup>

Indeed, reactive oxygen species and pro-inflammatory cytokines are well described as inhibitory factor of synthesis of nitrogen monoxide (NO). Chronic exposure of endothelium to these free radicals could lead to structural modifications of conductance vessels, would give therefore stiffening of the arteries and would elevate the cardiovascular risk score.

Furthermore, Bayramoglu and al have recently showed that SCT had a non-significant high pulse wave velocity (PWV) compare to subjects with normal hemoglobin.<sup>13</sup> And according to our knowledge, few studies on vascular function in SCT population were performed. Based on these observations, we carried out this work to compare the PWV between SCT carriers with high  $\eta_b$  (SCT\_h $\eta_b$ ) and SCT carriers with low  $\eta_b$  (SCT\_l $\eta_b$ ) viscosity.

## METHODS

The present study was performed at the University Cheikh Anta Diop of Dakar (Senegal). The protocol was performed according to the statements of Helsinki and agreed by the ethics committee of the University (Ref: 017/2014 / REC / UCAD). Subjects were informed of the procedure and the purpose of the study. Twenty six (26) SCT carriers were recruited from the National Blood Transfusion Center (CNTS). Confirmation of hemoglobinopathy was done by electrophoresis of hemoglobin. None of the subjects carrying hemoglobin HbS was diabetic or suffering from known cardiovascular disease. Present subjects were subdivided in two groups according to the cut off mean value of  $\eta_b$  (5.80 mPa.s<sup>-1</sup>) generally reported in subjects without hemoglobinopathy or cardiovascular risk.<sup>14</sup> Group 1: thirteen SCTc who had high  $\eta_b$  ( $\eta_b > 6$  mPa.s<sup>-1</sup>, SCT\_h $\eta_b$ ) and Group 2: thirteen SCTc with low  $\eta_b$  ( $\eta_b < 6$  mPa.s<sup>-1</sup>, SCT\_l $\eta_b$ ).

### Measurements

Cardiovascular variables (systolic and diastolic blood pressures and heart rate) were evaluated at resting and fasting condition following the recommendations of the American Society of Cardiology.<sup>15</sup> Blood samples for measuring lipid profiles (LDL and HDL cholesterol, total cholesterol and triglycerides), for the measurement of hemorheological variables were taken at the first visit. The cardiovascular risk score (CVR) was assessed according to the Framingham Laurier score.<sup>16</sup>

### Hemorheological variables

Blood viscosity ( $\eta_b$ ) was assessed using a viscometer cone plane (Brookfield DV II + Pro, with CPE40 spindle; Middleboro, MA) at 225s<sup>-1</sup> and at 37 °C according to the recent Standards recommendations of technical of hemorheologic.<sup>17</sup> Haematocrit (Hct) was evaluated by the method of micro-centrifugation (Jouan-Hema-C, Saint Herblain, France) at a speed of 1500 g for 5 min at 25 °C.

### Assessment of arterial stiffness

Pulse wave velocity was measured as a good surrogate of Arterial stiffness. It was assessed using finger-toe pulse wave velocity (PWVft) with pOpmetre® (Axelife SAS, France) as recommended by Alivon M and al<sup>18</sup>.

### Statistical analyses

Data collected were analyzed using SPSS 16.0 software. The results of quantitative variables were represented as mean  $\pm$  standard deviation. The comparison of quantitative variables between the two groups was calculated using nonparametric tests (Mann-Whitney U test). Linear regressions were used to identify correlations between the PWVft and other variables. The significance level was set at p≤0.05.

## RESULTS

### Anthropometric and cardiovascular data

No difference in age between the two groups was observed (Table 1). The analysis of the blood pressure showed that the cardiovascular profile of SCT\_h $\eta_b$  was not significantly different to these of SCT\_l $\eta_b$ , (Table 1). Also, the difference was not statistically significant between the CVR (%) of SCT\_h $\eta_b$  and that of SCT\_l $\eta_b$  respectively 5.96±7.45 and 2.09±2.15 (p=0.31) (Table 1).

**Table 1: Anthropometric and cardio-vascular variables.**

	SCT_h $\eta_b$	SCT_l $\eta_b$	P value
Age (years)	34±12	32±9	p=0.69
SBP (mmHg)	135.31±17.05	121.38±8.39	p=0.10
DBP (mmHg)	80.77±7.99	74.15±6.80	p=0.31
MAP (mmHg)	98.94±7.51	89.90±6.63	p=0.29
HR (bat/mn)	71±9	75±8	p=0.26
CVR (%)	5.96±7.45	2.09±2.15	p=0.31

### Lipid and hemorheologic data

The results were reported in Table 2. There were no difference between the two groups for triglyceride, total and LDL cholesterol. But the SCT\_h $\eta_b$  had lower HDL cholesterol compared to SCT\_l $\eta_b$ , respectively 49.84±19.59, 62.00±13.56 (p=0.044). Blood viscosity ( $\eta_b$ ) was significantly higher in the SCT\_h $\eta_b$  than in the

SCT\_hhb ( $5.83 \pm 0.71 \neq 4.91 \pm 0.55$  mPas $^{-1}$ ;  $p=0.001$ ). Regarding the Hct of SCT\_hhb, it was significantly

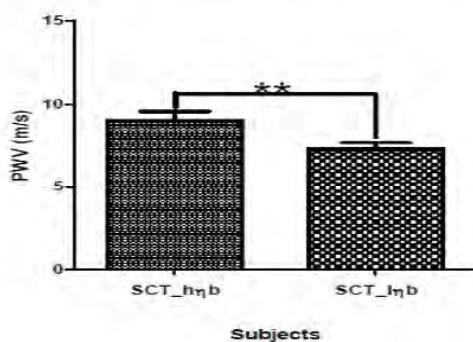
higher than those of SCT\_lhb, respectively  $41.10 \pm 3.09\%$ ;  $39.74 \pm 6.63\%$  ( $p=0.029$ ).

**Table 2: Lipid and hemorheologic variables.**

	SCT_hhb	SCT_lhb	P value
Total_c (mg/dl)	$163.62 \pm 42.08$	$176.92 \pm 32.93$	$p=0.24$
Triglycerides (mg/dl)	$51.23 \pm 24.97$	$47.46 \pm 16.01$	$p=1.00$
LDL_c (mg/dl)	$103.53 \pm 31.36$	$105.42 \pm 29.72$	$p=0.76$
HDL_c (mg/dl)	$49.84 \pm 19.59$	$62.00 \pm 13.56$	$p=0.044$
Hct (%)	$41.10 \pm 3.09$	$39.74 \pm 6.63$	$p=0.029$
$\eta_b$ (mPa.s $^{-1}$ )	$6.52 \pm 0.53$	$5.17 \pm 0.70$	$p<0.001$

### Pulse wave velocity

The SCT\_hhb had a significantly higher PWVft than SCT\_lhb, respectively  $8.98 \pm 1.98$  and  $7.11 \pm 1.18$  m/s ( $p = 0.004$ ) (Figure 1).



PWV: Pulse Wave Velocity; SCT\_hhb: Sick Cell Trail with high blood viscosity; SCT\_lhb: Sick Cell Trail with low blood viscosity; \*\*:  $p \leq 0.01$ .

**Figure 1: Comparison of the pulse wave velocity between groups.**

**Table 3: Relation between PWVft and other variables.**

PWVft with	Spearman R	P value
Age	0.40	$p=0.046$
$\eta_b$	0.61	$p=0.001$
CVR	0.55	$p=0.004$

### Relation between PWVft and other variables

Positive association were observed between PWVft and some variables such as age ( $r=0.40$ ;  $p=0.046$ );  $\eta_b$  ( $r=0.61$ ;  $p=0.001$ ) and CVR ( $r=0.55$ ;  $p=0.004$ ) (Table 3). However, only the  $\eta_b$  and the CVR were independent determinants of arterial stiffness ( $r^2=0.74$ ,  $F=21.19$ ,  $p<0.001$ ).

### DISCUSSION

The results of present study show that SCT\_hhb had higher PWVft than SCT\_lhb. Although SCT\_hhb had sub increase in blood pressures (SBP, DBP and MAP) and a score of CVR compare to SCT\_lhb, this difference was not statistically significant. About the lipid profile, only the HDL cholesterol was significantly lower in SCT\_hhb than in SCT\_lhb. This is in accordance with the higher CVR in this group.

Our study is the first to compare the PWV of SCT subjects according to blood viscosity. Indeed, we found that SCT\_hhb had stiffer arteries than SCT\_lhb. Arterial stiffness is an important determinant of cardiovascular mortality.<sup>19</sup> Blood pressure remains the major contributing factor to arterial stiffness out of age. Indeed, in our SCT\_hhb we noted a non-significant increase (due certainly to the number of subjects in the study) in systolic, diastolic and mean blood pressure which is observed usually with higher PWVft. Serum HDL cholesterol are protective against arterial stiffness.<sup>20,21</sup> In our study, the SCT\_hhb had a low serum HDL, which would contribute more to high level of the PWVft in present SCT\_hhb subjects.

SCT subjects are characterized by blood hyper viscosity compared with healthy subjects.<sup>7</sup> Hemorheological disturbances play an important role in atherosclerosis. Recently, it has been proved that blood viscosity can predict the occurrence of cardiovascular events.<sup>22</sup> Several authors have been interested in the association between blood viscosity and arterial stiffness. No association was found in healthy subjects, however, in patients who already have a cardiovascular risk factor, there were a positive correlation between arterial stiffness and blood viscosity.<sup>23-24</sup>

Present results could be reinforced by the positive correlation between PWV and  $\eta_b$ . The CVR score of Framingham Laurier predict the occurrence of cardiovascular events in the next 10 years. It is clearly established that the CVR strongly influences the increase

in arterial stiffness.<sup>25,26</sup> In present study, there was a positive correlation between PWVft and CVR; this was confirmed in the literature for other populations than SCT.

## CONCLUSION

It seems that SCT having high blood viscosity have stiffer arteries than those with lower blood viscosity. They are thus exposed to cardiovascular events hence the interest to promote preventive measures such as regular practice of moderate physical activity that would improve hemorheological disturbances encountered in this population. Varied multi-analysis controlled by age, have identified blood viscosity and CVR score as independent determinants of arterial stiffness in SCT subjects.

*Funding: No funding sources*

*Conflict of interest: None declared*

*Ethical approval: The study was approved by the Institutional Ethics Committee*

## REFERENCES

1. Bandeira FMGC BM, Santos MNN, Gomes YM. Importância dos programas de triagem para o gene da hemoglobina S. Rev Bras Hematol Hemoter. 2007;29:05.
2. Diop S, Sene A, Cisse M, Toure AO, Sow O, Thiam D, et al. Prevalence and morbidity of G6PD deficiency in sickle cell disease in the homozygote. Dakar medical. 2005;50(2):56-60.
3. Galacteros F. Physiopathological basis of sickle cell disease, management and current therapeutics]. Bulletin de la Societe de pathologie exotique. 2001;94(2):77-9.
4. Machado RF. Sickle cell anemia-associated pulmonary arterial hypertension. Jornal brasileiro de pneumologia: publicacao oficial da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. 2007;33(5):583-91.
5. Lin EE, Rodgers GP, Gladwin MT. Hemolytic anemia-associated pulmonary hypertension in sickle cell disease. Current hematology reports. 2005;4(2):117-25.
6. Belcher JD, Bryant CJ, Nguyen J, Bowlin PR, Kielbik MC, Bischof JC, et al. Transgenic sickle mice have vascular inflammation. Blood. 2003;101(10):3953-9.
7. Connes P, Hue O, Tripette J, Hardy-Dessources MD. Blood rheology abnormalities and vascular cell adhesion mechanisms in sickle cell trait carriers during exercise. Clin hemo Micro. 2008;39(1-4):179-84.
8. Connes P, Sara F, Hardy-Dessources MD, Etienne-Julian M, Hue O. Does higher red blood cell (RBC) lactate transporter activity explain impaired RBC deformability in sickle cell trait? Japanese J Physi. 2005;55(6):385-7.
9. Ray D, Deshmukh P, Goswami K, Garg N. Antioxidant vitamin levels in sickle cell disorders. Nat Med J India. 2007;20(1):11-3.
10. Monchanin G, Serpero LD, Connes P, Tripette J, Wouassi D, Francina A, et al. Plasma levels of adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 in athletes with sickle cell trait with or without alpha-thalassemia during endurance exercise and recovery. Clinical hemorheology and microcirculation. 2008;40(2):89-97.
11. Patel RS, Al Mheid I, Morris AA, Ahmed Y, Kavtaradze N, Ali S, et al. Oxidative stress is associated with impaired arterial elasticity. Atherosclerosis. 2011;218(1):90-5.
12. Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. Circulation. 2000;102(18):2165-8.
13. Bayramoglu T, Akkus O, Nas K, Illyes M, Molnar F, Gurkan E, et al. Arterial stiffness and pulse wave reflection in young adult heterozygous sickle cell carriers. Turkish journal of haematology : official journal of Turkish Society of Haematology. 2013;30(4):379-86.
14. Lamarre Y, Lalanne-Mistrih ML, Romana M, Lemonne N, Mougenel D, Waltz X, et al. Male gender, increased blood viscosity, body mass index and triglyceride levels are independently associated with systemic relative hypertension in sickle cell anemia. PloS one. 2013;8(6):e66004.
15. Pickering TG. What is the true blood pressure? Smirk revisited. J Clin Hyper. 2005;7(7):421-4.
16. Lee WC, Kim MT, Ko KT, Lee WK, Kim SY, Kim HY, et al. Relationship between Serum Testosterone and Cardiovascular Disease Risk Determined Using the Framingham Risk Score in Male Patients with Sexual Dysfunction. The world journal of men's health. 2014;32(3):139-44.
17. Baskurt OK, Boynard M, Cokelet GC, Connes P, Cooke BM, Forconi S, et al. New guidelines for hemorheological laboratory techniques. Clinical hemorheology and microcirculation. 2009;42(2):75-97.
18. Alivon M, Vo-Duc Phuong T, Vignon V, Bozec E, Khettab H, Hanon O, et al. A novel device for measuring arterial stiffness using finger-toe pulse wave velocity: Validation study of the pOpmetre. Archives of cardiovascular diseases. 2015.
19. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. Hypertension. 2001;37(5):1236-41.
20. Wang F, Ye P, Luo L, Xiao W, Qi L, Bian S, et al. Association of serum lipids with arterial stiffness in a population-based study in Beijing. European J Clin Invest. 2011;41(9):929-36.
21. Zhao WW, Yang YH, Lu B, Feng XC, He M, Yang ZH, et al. Serum high-density lipoprotein cholesterol and progression to arterial stiffness in

- middle-aged and elderly Chinese. Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: NMCD. 2013;23(10):973-9.
- 22. Yu KJ, Zhang MJ, Li Y, Wang RT. Increased whole blood viscosity associated with arterial stiffness in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2014;29(3):540-4.
  - 23. Parkhurst KL, Lin HF, Devan AE, Barnes JN, Tarumi T, Tanaka H. Contribution of blood viscosity in the assessment of flow-mediated dilation and arterial stiffness. *Vascular medicine*. 2012;17(4):231-4.
  - 24. Li Y, Tian XX, Liu T, Wang RT. Association between whole blood viscosity and arterial stiffness in patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocrine*. 2015;49(1):148-54.
  - 25. Takahara M, Katakami N, Osonoi T, Saitou M, Sakamoto F, Matsuoka TA, et al. Different Impacts of Cardiovascular Risk Factors on Arterial Stiffness versus Arterial Wall Thickness in Japanese Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *J Atherosclerosis and thrombosis*. 2015.
  - 26. Mitchell GF, Guo CY, Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Vita JA, et al. Cross-sectional correlates of increased aortic stiffness in the community: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2007;115(20):2628-36.

**Cite this article as:** Valentin O, Mor D, Ghislain L, Khadir SA, Florent TAJ, Abdoulaye S, et al. High blood viscosity is associated with high pulse wave velocity in African sickle cell trait carriers. *Int J Res Med Sci* 2016;4:4709-13.

## ETUDE 3

---

### **Etude 3 : Activité physique régulière, rigidité artérielle et PTD.**

Dans l'étude 1 nous avions montré que les sujets PTD avaient les artères plus rigides que les sujets SS, et dans l'étude 2 il est ressorti que les sujets PTD à viscosité sanguine élevée avaient également les artères plus rigides que ceux à viscosité basse. Des études récentes ont prouvé que la pratique régulière d'activités physiques modérées permet d'améliorer le profil hémorhéologique (195), l'état inflammatoire (141) et le stress oxydant (142) chez les sujets PTD.

Ainsi, nous avons émis l'hypothèse selon laquelle les PTD sportifs auraient les artères plus souples que ceux sédentaires. L'étude a été réalisée chez 25 PTD sédentaires (SCT\_untrained) et 17 PTD sportifs (SCT\_trained). Nos résultats confirment les effets bénéfiques du sport sur les variables hémorhéologiques chez les PTD. Aussi, les PTD sportifs avaient une VOPdo basse comparés aux sédentaires. La pratique régulière du sport facilite les phénomènes de vasodilatation induits par le NO endothérial, augmentant ainsi la compliance artérielle tout en réduisant la viscosité sanguine et les autres phénomènes entravant une bonne circulation sanguine (141, 142).

# PLOS ONE

## Pulse Wave Velocity measured with pOpmetre is lower in trained sickle cell trait carriers than in their untrained counterpart.

--Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	PONE-D-16-39148
<b>Article Type:</b>	Research Article
<b>Full Title:</b>	Pulse Wave Velocity measured with pOpmetre is lower in trained sickle cell trait carriers than in their untrained counterpart.
<b>Short Title:</b>	Arterial Stiffness in Sickle cell trait and Physical Exercise
<b>Corresponding Author:</b>	Mor DIAW Universite Cheikh Anta Diop Dakar, Dakar SENEGAL
<b>Keywords:</b>	sickle cell trait, arterial stiffness, blood viscosity, regular sport activity
<b>Abstract:</b>	Background: Sickle cell trait is the benign condition of sickle cell disease. However, in some situations such as vigorous exercise, sickle cell trait carriers can present abnormal hemorheological alterations with increased oxidative stress. It has been suggested that these disturbances could lead to stiffer arteries. On the other hand, the benefit of regular sport on hemorheological properties and oxidative stress specifically for this population has been well documented, but no study has investigated the effect of training on arterial stiffness as a marker of the overall vascular function. Purpose: The aim of our study is to evaluate the impact of regular sport on arterial stiffness in sickle cell trait carriers. Methods: Arterial stiffness (finger-toe pulse wave velocity) and blood viscosity were evaluated in 25 untrained sickle cell trait carriers, and 17 trained sickle cell trait carriers who reported to practice sport activities for at least 10 hours per week ( $26\pm6$ and $26\pm4$ year-old, respectively). Results: Untrained sickle cell carriers had higher pulse wave velocity than their trained counterpart ( $7.77\pm2.27$ vs. $6.45\pm0.96$ m/s). In addition, a positive association has been noted with blood viscosity in the trained subjects only. Conclusion: The lower arterial stiffness observed in the trained group confirms the beneficial effects of regular sport in sickle cell trait carriers.
<b>Order of Authors:</b>	Valentin Ouédraogo Arnaud Jean Florent Tiendrebeogo Julien Tripette Abdou khadir Sow Mor Diaw Moussa Seck Mountaga Diop Magid Hallab Abdoulaye Samb Abdoulaye Ba Georges Lefthériotis
<b>Opposed Reviewers:</b>	
<b>Additional Information:</b>	
<b>Question</b>	<b>Response</b>
<b>Financial Disclosure</b>	The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript
Please describe all sources of funding	

**Pulse Wave Velocity measured with pOpmetre is lower in trained sickle cell trait carriers than in their untrained counterpart.**

Valentin Ouédraogo<sup>1</sup>, Arnaud Jean Florent Tiendrébéogo<sup>1</sup>, Julien Tripette<sup>2</sup>, Abdou Khadir Sow<sup>1</sup>, Mor Diaw<sup>1</sup>, Moussa Seck<sup>3</sup>, Mountaga Diop<sup>4</sup>, Magid Hallab<sup>5</sup>, Abdoulaye Samb<sup>1,6</sup>, Abdoulaye Ba<sup>1,6</sup> and Georges Lefthériotis<sup>7</sup>.

*<sup>1</sup>Laboratoire de Physiologie Humaine, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie, UCAD, Sénégal;*

*<sup>1</sup>Ochanomizu University, 2-1-1 Otsuka, Bunkyo District, Tokyo, Japan.*

*<sup>3</sup>Laboratoire d'Hémato-Immunologie, FMPO, UCAD, Dakar, Sénégal ;*

*<sup>4</sup>Institut National Supérieur de l'Education Populaire et du Sport, UCAD, BP 3256 Dakar, Sénégal ;*

*<sup>5</sup>Hôpital Universitaire de Nantes, Place Ricordeau, 44000 Nantes – France ;*

*<sup>6</sup>Unité Mixte Internationale (UMI 3189), ‘‘Environnement, Santé, Sociétés’’ CNRS, UCAD, CNRST, USTTB, UGB, Dakar, Sénégal ;*

*<sup>7</sup>Laboratoire de Biologie Neuro-vasculaire et Mitochondriale Intégrée UMR CNRS 6214 – Inserm 1083, Faculté de Médecine Angers, 49045 Angers – France.*

**Short title: Arterial Stiffness in Sickle Cell Trait and Physical Exercise**

**Corresponding Author:** Dr DIAW Mor

Laboratoire de Physiologie et Explorations fonctionnelles. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie. Université Cheikh Anta Diop.

E-mail : [romdiaw@gmail.com](mailto:romdiaw@gmail.com)

Portable : 00221776724849

## **ABSTRACT**

*Background:* Sickle cell trait is the benign condition of sickle cell disease. However, in some situations such as vigorous exercise, sickle cell trait carriers can present abnormal hemorheological alterations with increased oxidative stress. It has been suggested that these disturbances could lead to stiffer arteries. On the other hand, the benefit of regular sport on hemorheological properties and oxidative stress specifically for this population has been well documented, but no study has investigated the effect of training on arterial stiffness as a marker of the overall vascular function. *Purpose:* The aim of our study is to evaluate the impact of regular sport on arterial stiffness in sickle cell trait carriers. *Methods:* Arterial stiffness (finger-toe pulse wave velocity) and blood viscosity were evaluated in 25 untrained sickle cell trait carriers, and 17 trained sickle cell trait carriers who reported to practice sport activities for at least 10 hours per week ( $26\pm6$  and  $26\pm4$  year-old, respectively). *Results:* Untrained sickle cell carriers had higher pulse wave velocity than their trained counterpart ( $7.77\pm2.27$  vs.  $6.45\pm0.96$  m/s). In addition, a positive association has been noted with blood viscosity in the trained subjects only. *Conclusion:* The lower arterial stiffness observed in the trained group confirms the beneficial effects of regular sport in sickle cell trait carriers.

**Key words:** sickle cell trait, arterial stiffness, blood viscosity, regular sport activity.

## INTRODUCTION

Sickle cell trait (SCT) is the heterozygous form of sickle cell anemia. While usually considered as asymptomatic, SCT carriers can sometimes show significant hemorheological disturbances (increased blood viscosity and decrease erythrocyte deformability) that may impair the vascular function (1, 2). For instance, water deprivation and vigorous exercise have been both described to affect the hemorheological properties in higher proportions than in subjects with normal hemoglobin (3-6). This contributes to induce higher oxidative stress and increased inflammatory response (7-9). These alterations are thought to be responsible of the occurrence of exercise collapse associated with sickle cell trait (10). While acute and intense exercises can be deleterious, a regular physical activity and moderate exercising seems to induce protective effects by lowering the above-mentioned post-exercise alterations (3, 10-13). However, evidences of this exercise-induced protective effect in SCT carriers have not been reported at a more integrative and functional level.

Pulse wave velocity is commonly used to assess the arterial compliance/stiffness and is regarded as an integrative marker of the overall vascular function (14). In the general population, higher arterial stiffness is associated with hypertension, ventricular hypertrophy, higher risk for cardiovascular events, lower tissue perfusion, *etc.* (15-21). In addition, regular exercise increases arterial compliance, which reflects an improved vascular function (22-25). While homogenous sickle cell disease has been associated with lower PWV (26), no similar observation has been done in SCT carriers. Recently, Bayramoğlu *et al* (27) tested PWV in both SCT carriers and subjects with normal hemoglobin, and did not report any difference. However, the higher magnitude of standard deviation in the SCT group (double) suggests heterogeneity of PWV values. In the latter study, nor the physical activity habits of the subjects neither the

hemorheological properties were investigated. The aims of the present study are 1) to compare PWV between untrained and trained SCT carriers, and 2) to investigate the possible association between the PWV and SCT-related hemorheological alterations.

## MATERIAL AND METHODS

### Subjects and study design

The protocol complies with the statements of the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics Committee of Cheikh Anta Diop University (*017/2014 / REC / UCAD*). Forty-two SCT carriers participated in the study. All subjects were informed of the procedure and the purpose of the study and have signed an informed consent. They were recruited at two different locations. Twenty-five subjects contacted at the National Blood Transfusion Center formed the “SCT\_Untrained” group ( $26 \pm 6$  year-old,  $BMI = 26.4 \pm 5.9 \text{ kg/m}^2$ ). They all declared not having practiced regular sport activities within the 3 previous years. In addition, seventeen subjects have been recruited at the National Institute of Popular Education and Sport ( $26 \pm 4$  year-old,  $BMI = 26.4 \pm 4.4 \text{ kg/m}^2$ ). These subjects specialized in various sports (e.g. football, basketball, handball and gymnastic) and reported to practice for at least 10 hours per week. They were assigned to the “SCT\_Trained” group. For all subjects, confirmation of hemoglobinopathy was done by electrophoresis of hemoglobin. All subjects carried the hemoglobin S trait (sometimes referred as AS). Subjects were non-smoker and free of diabetes and cardiovascular/systemic diseases.

All measurements were performed at the Cheikh Anta Diop University campus. Appointments were made with the recruited subjects at different dates, between April and November 2014. Subjects were invited to come at the university medical center at 8:00 am after an 8-hour overnight fasting. No sport or vigorous activity were allowed for at least 24 hours preceding the

experimental day. The experiment consisted in blood pressure measurements, heart rate (HR) monitoring, blood sampling (to assess hemorheological parameters), and an evaluation of PWV.

### **Cardiovascular outcomes**

Systolic and diastolic blood pressure (SBP and DBP respectively) and heart rate (HR) were evaluated at resting conditions following the recommendations of the American Society of Cardiology (28). Mean arterial pressure (MAP) was calculated using the following equation: diastolic pressure + 1/3 (systolic pressure – diastolic pressure).

### **Hemorheological variables**

Blood was sampled in EDTA tubes to evaluate hemorheological profile of subjects. According to the recent international guidelines for the standardization of hemorheological techniques, blood viscosity ( $\eta_b$ ) was assessed using a cone plane viscometer (Brookfield DV II + Pro, with CPE40 spindle; Middleboro, MA) at  $225\text{s}^{-1}$  and  $37^\circ\text{C}$  (29). Haematocrit (Hct) was evaluated using micro-centrifugation (Jouan-Hema-C, Saint Herblain, France) at  $1500\text{ g}$ ,  $25^\circ\text{C}$  during 5 min.

### **Assessment of arterial stiffness**

Pulse wave velocity was measured as a surrogate marker of arterial stiffness using a finger-toe pulse wave velocity (PWVft) device (pOpmetre®, Axelife SAS, France). To comply with the procedure described in Alivon et al.(17), and ensure resting conditions, subjects were asked to comfortably stay in supine position for at least 10 min before the measurement. In addition, no coffee or tobacco was allowed within the 3 hours preceding the experiment. Briefly, the PWVft

examination consists in assessing the arterial pulse wave time offset between the finger and toe. Then, the wave propagation speed can be calculated using the subject size as an estimation of the distance between the two locations.

### **Statistical analyses**

The analyses were performed using SPSS 16.0 software (IBM corporation, New York, USA). Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation. A Mann-Whitney test was used to compare the different parameters between the two groups. Partial correlation tests were used to test the relationship between the PWVft and viscosity in each group. The significance levels were set at  $p<0.05$  and  $p<0.001$ .

## RESULTS

### Cardiovascular data

Both groups showed similar characteristics for blood pressure and HR measurements (Table 1).

**Table 1:** Cardiovascular and Haematocrit data

	SCT_untrained	SCT_trained	P value
SBP (mmHg)	119.24±12.89	122.29±9.66	NS
DBP (mmHg)	72.20±6.12	69.24±6.80	NS
MAP (mmHg)	87.88±7.89	86.92±7.53	NS
HR (bat/mn)	73±10	70±12	NS
Hct (%)	40.7±4.7	38.04±1.08	p<0.001

**SCT\_untrained:** untrained sickle cell trait carriers; **SCT\_trained:** trained sickle cell trait carriers; **SBP:** systolic blood pressure; **DBP:** diastolic blood pressure; **MAP:** mean arterial pressure; **HR:** heart rate; **Hct:** Haematocrit; **NS:** not significant ( $p>0.05$ ).

## Hemorheologic data

As showed in Figure 1, blood viscosity ( $\eta_b$ ) was significantly higher in the SCT\_untrained compared to the SCT\_trained ( $5.89 \pm 0.13$  vs.  $5.42 \pm 0.39$  mPas $^{-1}$ ,  $p=0.005$ ). Hct was significantly higher in SCT\_untrained ( $40.70 \pm 4.66\%$  vs.  $38.04 \pm 1.08\%$  in SCT\_trained,  $p<0.001$ ).

**Fig 1:** comparison of blood viscosity between groups.  $\eta_b$ : blood viscosity; **SCT\_untrained**: untrained sickle cell trait carriers; **SCT\_trained**: trained sickle cell trait carriers; \*\*:  $p<0.01$ .

## Pulse wave velocity

The SCT\_untrained had a significantly higher PWVft than SCT\_trained ( $7.77 \pm 2.27$  vs.  $6.45 \pm 0.96$  m/s,  $p = 0.012$ , Figure 2). A positive association was detected between PWVft and  $\eta_b$  ( $r=0.77$ ;  $p<0.001$ ) in trained SCT carriers. No such association was noted in the SCT\_untrained group.

**Fig 2:** comparison of pulse wave velocity between groups. **PWVft**: pulse wave velocity finger-toe; **SCT\_untrained**: untrained sickle cell trait carriers; **SCT\_trained**: trained sickle cell trait carriers; \*:  $p<0.05$ .

## DISCUSSION

The main result of the present study is that trained SCT carriers had more compliant arteries compared to their untrained counterpart. The beneficial effects of a regular sport activity on the hemorheological properties of SCT carriers are also confirmed. Moreover, a good correlation was found between blood viscosity level and PWV in the trained population.

Decreases in  $\eta_b$  and Hct in trained SCT carriers are both consistent with literature (11). Similarly to what occurs in subjects with normal hemoglobin, sport training-related plasma volume extension has probably been responsible for the improvement of the hemorheological properties (30, 31). It has already been suggested that a low  $\eta_b$  in SCT carriers could improve microcirculation, subsequently enhancing oxygen supply to muscles (3). Therefore, the hemorheological improvement observed in the present study support the hypothesis that sport training should be considered as a strategy to prevent medical events sometimes described in SCT carriers (11-13).

While several researches described beneficial effects of a regular moderate physical activity on arterial compliance in healthy population (24), the present study is the first to focus on SCT carriers. The main outcome indicates that what prevailed in subjects with normal hemoglobin is also true in SCT carriers. Trained SCT carrier indeed presented a significant lower PWVft compared to the untrained control group. The latter observation taken together with the positive correlation between PWV and blood viscosity in trained subjects and the absence of association in the untrained group reinforces the proposition that exercise prescription could be a powerful strategy to prevent vascular complications in the population (12, 13). Blood viscosity is one mechanical factor able to influence vascular homeostasis (32). Change in blood viscosity alters shear stress on endothelial wall, and subsequently modulate the nitric oxide-induced vasodilation process. In SCT carrier, regular exercise could contribute to maintain vascular homeostasis by lowering blood viscosity alterations inherent to their genotype.

This study presents some limitations. The system used to assess PWVft is relatively recent, and few studies using a similar technique have been published (17), which limits comparisons with other PWVft studies. However, the “pOpmètre®” device is minimally invasive, easy-to-use and

easily transportable. Those characteristics greatly facilitated the management of the present study. The study also has some strength. It is the first to be interested in PWV in both trained and untrained SCT carriers. This is particularly relevant since arterial stiffness tend to be a more integrative marker of the vascular function/homeostasis compared to hemorheological and biomolecular parameters, which are usually reported and make an important part of the available literature on the topic.

In conclusion, the present study confirms the beneficial effects of regular exercise in SCT carriers. Indeed, a positive effect has been noted on arterial compliance. It is the responsibility of the medical community to state whether SCT should be recognized as a medical condition. If so, exercise might be prescribed to patients presenting the SCT co-factor. Finally, future studies could be interested in the volume and intensity of physical activity rather than training status, to assess the relevance of designing physical activity recommendations specifically for the SCT population.

#### **COMPETING INTEREST:**

The authors declare that they have no competing interests.

#### **AUTHOR CONTRIBUTIONS:**

Conceived and designed the experiments: VO; AJFT; JT; MD; AB; MH and GL. Performed the experiments: VO; MD; AKS; AB and MH. Recruited the patients: VO; MD. Analyzed the data: VO; MD; AB and GL. Wrote the paper: VO; MD; JT; AS; AB and GL. Carefully revised the draft: VO; AJFT; MD; JT. Approved the submitted final version: VO; AJFT; JT; MD; AB; MH and GL.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

We would like to thank that all the participants of study, as well as the INSEPS and CNTS staff for the management of subjects recruitment.

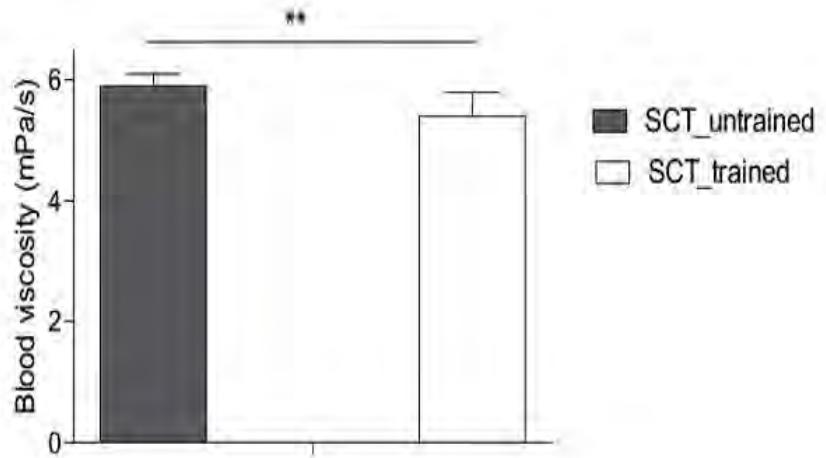
## **REFERENCES**

1. Connes P, Hue O, Tripette J, Hardy-Dessources MD. Blood rheology abnormalities and vascular cell adhesion mechanisms in sickle cell trait carriers during exercise. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2008;39(1-4):179-84. PubMed PMID: 18503123.
2. Connes P, Sara F, Hardy-Dessources MD, Etienne-Julian M, Hue O. Does higher red blood cell (RBC) lactate transporter activity explain impaired RBC deformability in sickle cell trait? *The Japanese journal of physiology*. 2005 Dec;55(6):385-7. PubMed PMID: 16441976.
3. Tripette J, Hardy-Dessources MD, Romana M, Hue O, Diaw M, Samb A, et al. Exercise-related complications in sickle cell trait. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2013;55(1):29-37. PubMed PMID: 23478224.
4. Tripette J, Loko G, Samb A, Gogh BD, Sewade E, Seck D, et al. Effects of hydration and dehydration on blood rheology in sickle cell trait carriers during exercise. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2010 Sep;299(3):H908-14. PubMed PMID: 20581085.
5. Diaw M, Connes P, Samb A, Sow AK, Sall ND, Sar FB, et al. Intraday blood rheological changes induced by Ramadan fasting in sickle cell trait carriers. *Chronobiology international*. 2013 Nov;30(9):1116-22. PubMed PMID: 23915011.
6. Diaw M, samb A, Diop S, Sall ND, Ba A, Cisse F, et al. Effects of hydration and water deprivation on blood viscosity during a soccer game in sickle cell trait carriers. *British journal of sports medicine*. 2014 Feb;48(4):326-31. PubMed PMID: 22685122.
7. Monchanin G, Serpero LD, Connes P, Tripette J, Wouassi D, Bezin L, et al. Effects of progressive and maximal exercise on plasma levels of adhesion molecules in athletes with sickle cell trait with or without alpha-thalassemia. *Journal of applied physiology*. 2007 Jan;102(1):169-73. PubMed PMID: 16902065.
8. Tripette J, Connes P, Hedreville M, Etienne-Julian M, Marlin L, Hue O, et al. Patterns of exercise-related inflammatory response in sickle cell trait carriers. *British journal of sports medicine*. 2010 Mar;44(4):232-7. PubMed PMID: 18499764.
9. Fasmallio RC, Martin C, Chirico EN, Feasson L, Oyonno-Enguelle S, Dubouchaud H, et al. Effect of alpha-thalassaemia on exercise-induced oxidative stress in sickle cell trait. *Acta physiologica*. 2012 Aug;205(4):541-50. PubMed PMID: 22409225.
10. O'Connor FG, Bergeron MF, Cantrell J, Connes P, Harmon KG, Ivy E, et al. ACSM and CHAMP summit on sickle cell trait: mitigating risks for warfighters and athletes. *Medicine and science in sports and exercise*. 2012 Nov;44(11):2045-56. PubMed PMID: 22811029.
11. Diaw M, Diop S, Soubaiga FY, Seck M, Faye BF, Niang MN, et al. Blood viscosity is lower in trained than in sedentary sickle cell trait carriers. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2015;61(1):23-9. PubMed PMID: 24961729.

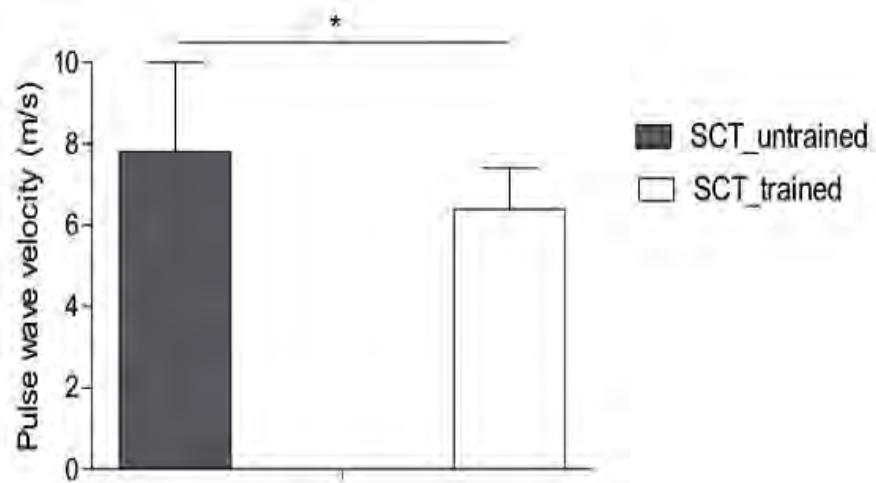
12. Aufradet E, Monchanin G, Oyono-Engelle S, Feasson L, Messonnier L, Francina A, et al. Habitual physical activity and endothelial activation in sickle cell trait carriers. *Medicine and science in sports and exercise*. 2010 Nov;42(11):1987-94. PubMed PMID: 20386338.
13. Chirico EN, Martin C, Faes C, Feasson L, Oyono-Enguelle S, Aufradet E, et al. Exercise training blunts oxidative stress in sickle cell trait carriers. *Journal of applied physiology*. 2012 May;112(9):1445-53. PubMed PMID: 22323645.
14. Kingwell BA. Large artery stiffness: implications for exercise capacity and cardiovascular risk. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2002 Mar;29(3):214-7. PubMed PMID: 11906486.
15. Boutouyrie P, Tropeano AI, Asmar R, Gautier I, Benetos A, Lacolley P, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of primary coronary events in hypertensive patients: a longitudinal study. *Hypertension*. 2002 Jan;39(1):10-5. PubMed PMID: 11799071.
16. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension*. 2001 May;37(5):1236-41. PubMed PMID: 11358934.
17. Alivon M, Vo-Duc Phuong T, Vignon V, Bozec E, Khettab H, Hanon O, et al. A novel device for measuring arterial stiffness using finger-toe pulse wave velocity: Validation study of the pOpmetre(R). *Archives of cardiovascular diseases*. 2015 Apr;108(4):227-34. PubMed PMID: 25682547.
18. Tanaka H, DeSouza CA, Seals DR. Absence of age-related increase in central arterial stiffness in physically active women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998 Jan;18(1):127-32. PubMed PMID: 9445266.
19. O'Rourke M. Mechanical principles in arterial disease. *Hypertension*. 1995 Jul;26(1):2-9. PubMed PMID: 7607724.
20. Arnett DK, Evans GW, Riley WA. Arterial stiffness: a new cardiovascular risk factor? *American journal of epidemiology*. 1994 Oct 15;140(8):669-82. PubMed PMID: 7942769.
21. Rowe JW. Clinical consequences of age-related impairments in vascular compliance. *The American journal of cardiology*. 1987 Oct 30;60(12):68G-71G. PubMed PMID: 3673900.
22. Shephard RJ, Balady GJ. Exercise as cardiovascular therapy. *Circulation*. 1999 Feb 23;99(7):963-72. PubMed PMID: 10027821.
23. Sugawara J, Otsuki T, Tanabe T, Hayashi K, Maeda S, Matsuda M. Physical activity duration, intensity, and arterial stiffening in postmenopausal women. *American journal of hypertension*. 2006 Oct;19(10):1032-6. PubMed PMID: 17027823.
24. Tanaka H, Dinenno FA, Monahan KD, Clevenger CM, DeSouza CA, Seals DR. Aging, habitual exercise, and dynamic arterial compliance. *Circulation*. 2000 Sep 12;102(11):1270-5. PubMed PMID: 10982542.
25. Hayashi K, Sugawara J, Komine H, Maeda S, Yokoi T. Effects of aerobic exercise training on the stiffness of central and peripheral arteries in middle-aged sedentary men. *The Japanese journal of physiology*. 2005 Aug;55(4):235-9. PubMed PMID: 16248931.
26. Lemogoum D, Van Bortel L, Najem B, Dzudie A, Teutcha C, Madu E, et al. Arterial stiffness and wave reflections in patients with sickle cell disease. *Hypertension*. 2004 Dec;44(6):924-9. PubMed PMID: 15534075. Epub 2004/11/10. eng.
27. Bayramoglu T, Akkus O, Nas K, Illyes M, Molnar F, Gurkan E, et al. Arterial stiffness and pulse wave reflection in young adult heterozygous sickle cell carriers. *Turkish journal of haematology : official journal of Turkish Society of Haematology*. 2013 Dec;30(4):379-86. PubMed PMID: 24385828. Pubmed Central PMCID: 3874964.

28. Pickering TG. What is the true blood pressure? Smirk revisited. *Journal of clinical hypertension*. 2005 Jul;7(7):421-4. PubMed PMID: 16015053.
29. Baskurt OK, Boynard M, Cokelet GC, Connes P, Cooke BM, Forconi S, et al. New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2009;42(2):75-97. PubMed PMID: 19433882.
30. Mairbaurl H. Red blood cells in sports: effects of exercise and training on oxygen supply by red blood cells. *Frontiers in physiology*. 2013;4:332. PubMed PMID: 24273518. Pubmed Central PMCID: 3824146.
31. Sawka MN, Convertino VA, Eichner ER, Schnieder SM, Young AJ. Blood volume: importance and adaptations to exercise training, environmental stresses, and trauma/sickness. *Medicine and science in sports and exercise*. 2000 Feb;32(2):332-48. PubMed PMID: 10694114.
32. Cho YI, Cho DJ, Rosenson RS. Endothelial shear stress and blood viscosity in peripheral arterial disease. *Current atherosclerosis reports*. 2014 Apr;16(4):404. PubMed PMID: 24519415. Epub 2014/02/13. eng.

**Figure 1**



**Figure 2**



## **DISCUSSION GENERALE**

Les principaux résultats de notre travail sont 1) comparé au groupe HbSS, le groupe PTD avait une viscosité sanguine et un score de RCV plus élevés, une biodisponibilité du NO plus basse ainsi qu'une augmentation de la rigidité artérielle, sans que cette dernière soit différente de celle du groupe HbAA ; 2) les PTD à viscosité sanguine élevée avaient un bas HDL cholestérol et des artères plus rigides que celles des PTD à viscosité sanguine basse ; 3) les PTD sportifs avaient une viscosité sanguine basse et des artères plus souples comparés aux PTD sédentaires.

### **L'hémoglobinopathie S et rigidité artérielle (étude 1 et 2)**

Dans l'étude 1 nos sujets HbSS avaient les artères souples comparés aux sujets HbAA. Notre résultat réconforte celui de Lemogoum et coll. (196). La PP plus basse du groupe HbSS associée à l'augmentation de la biodisponibilité du NO pourraient expliquer cette augmentation de la compliance artérielle comme décrite dans la littérature (190, 191). La VOPdo n'était pas statistiquement différente entre les groupes PTD et HbAA. Notre résultat est similaire à celui de Bayramoglu et al (197). Par contre, les sujets PTD avaient les artères plus rigides comparés aux sujets HbSS. L'âge et la PP sont les principaux déterminants de la rigidité artérielle dans la population générale (150, 198). Les sujets PTD dans notre étude avaient une réduction de la biodisponibilité du NO comparés aux sujets HbSS ce qui pourrait expliquer l'augmentation de la rigidité artérielle. Le score de RCV de Framingham Laurier permet de prédire la survenue d'évènements cardiovasculaires dans les 10 années à venir. Il est clairement établi que le RCV influe fortement sur l'augmentation de la rigidité artérielle (199, 200). Nos sujets PTD avaient un score de RCV élevé comparés aux sujets HbSS, ce qui expliquerait davantage l'augmentation de leur rigidité artérielle.

L'étude 2 a montré que les PTD à viscosité sanguine élevée avaient les artères plus rigides que ceux à viscosité sanguine basse. Le taux sérique de HDL cholestérol permet de prévenir l'installation d'une rigidité artérielle (193, 194). Les sujets PTD à viscosité sanguine élevée avaient un taux sérique de HDL bas ce qui serait responsable de l'augmentation de la rigidité artérielle. Les perturbations hémorhéologiques semblent jouer un rôle important dans l'athérosclérose. Ainsi, la viscosité sanguine permet de prédire la survenue d'évènements cardio-vasculaires (201). Nous avions mis en évidence une association positive entre la VOPdo et la viscosité sanguine ; ceci rejoint ce qui est retrouvé dans la littérature (201, 202).

### **Trait drépanocytaire, rigidité artérielle et pratique régulière d'une activité physique (étude 3)**

Les études 1 et 2 ont confirmé qu'il existe une légère altération de la fonction vasculaire chez les sujets PTD comme l'a suggéré Tripette et al en 2013 (1). Les résultats de l'étude 3 confirment les effets bénéfiques de la pratique régulière d'activités physiques modérées chez les sujets PTD. En effet, les PTD sportifs avaient les artères plus souples que ceux sédentaires. Cette augmentation de la compliance artérielle est la conséquence de la basse viscosité sanguine retrouvée chez les PTD sportifs. La baisse de la viscosité sanguine chez les PTD sportifs est probablement liée à l'augmentation du volume plasmatique sans variation de la masse globulaire (phénomène auto-hémodilution) causée par la pratique régulière d'une activité physique (203, 204). La viscosité sanguine est le principal stimulant de la libération du NO endothéliale (205). Ainsi nous émettons l'hypothèse selon laquelle la pratique régulière du sport faciliterait les phénomènes de vasodilatation induits par le NO endothérial, augmentant ainsi la compliance artérielle tout en réduisant la viscosité sanguine et les autres phénomènes qui entravent une bonne circulation sanguine (141, 142). Nous encourageons les PTD à pratiquer régulièrement des activités physiques

modérées tout en respectant certaines conditions, à savoir l'hydratation ad libitum comme l'a bien démontré Diaw et al en 2014. (206); afin de limiter les événements vasculaires fatals liés à l'hyperviscosité sanguine.

## **CONCLUSION GENERALE**

La drépanocytose demeure un problème de santé publique en Afrique Sub-saharienne. Bien que les porteurs du trait drépanocytaire soient le plus souvent asymptomatiques, les résultats de notre travail de thèse montrent qu'ils ont une légère altération de la fonction vasculaire comparés aux drépanocytaires puisque leurs artères étaient plus rigides. Mais comparés aux sujets à hémoglobine normale, cette différence de rigidité artérielle n'était pas statistiquement significative. La dysfonction endothéliale semble jouer un rôle important dans cette altération de la fonction vasculaire étant donné que les PTD avaient une diminution de la biodisponibilité du NO comparés aux drépanocytaires. Aussi, la viscosité sanguine semble également participer à cette altération de la fonction vasculaire. En effet nos résultats montrent que les PTD à viscosité sanguine élevée avaient des artères plus rigides que ceux à viscosité basse. Etant donné que les PTD sont caractérisés par une hyperviscosité sanguine de repos, une activité physique régulière et modérée est à promouvoir dans cette population comme l'ont montré nos résultats, afin de limiter les événements vasculaires fatals liés à l'hyperviscosité sanguine.

## PERSPECTIVES

Les résultats de notre travail de thèse confirment la légère altération de la fonction vasculaire chez les PTD avec une rigidité artérielle augmentée et une diminution de la biodisponibilité du NO. Pour compléter l'évaluation de la fonction vasculaire des PTD nous projetons de poursuivre nos travaux par la recherche d'une dysfonction endothéliale chez les PTD car il existe peu d'études chez les PTD comparés aux drépanocytaires. Aussi, nous souhaitons continuer nos travaux de recherche chez les PTD par l'évaluation de l'impact des perturbations hémorhéologiques, inflammatoires et du stress oxydant sur l'atteinte structurale des vaisseaux, à savoir la recherche de calcifications artérielles comme cela a déjà été fait dans certaines hémoglobinopathies ( $\beta$ -thalassémie). Enfin nous voudrions évaluer l'impact du trait drépanocytaire sur la fonction vasculaire des sujets hypertendus.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Tripette J, Hardy-Dessources MD, Romana M, Hue O, Diaw M, Samb A, et al. Exercise-related complications in sickle cell trait. Clinical hemorheology and microcirculation. 2013;55(1):29-37. PubMed PMID: 23478224.
2. Hodenpyl E. A Case of Apparent Absence of the Spleen with General Compensatory Lymphatic Hyperplasia. Medical Record. 1898;54(10):4. PubMed PMID: 23813607. Pubmed Central PMCID: 3784812.
3. Lebby R. Case of absence of the spleen. . South J Med Pharmacol (Charleston). 1846 Oct;3. PubMed PMID: 23813607. Pubmed Central PMCID: 3784812.
4. Serjeant GR. The natural history of sickle cell disease. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2013 Oct;3(10):a011783. PubMed PMID: 23813607. Pubmed Central PMCID: 3784812.
5. Herrick JB. Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. 6: 517-521, 1910. Archives of internal medicine. 1910;6:517-21.
6. Washburn R. Peculiar Elongated and Sickle-Shaped Red Blood Corpuscles in a Case of Severe Anemia. . Medical Semi-Monthly. 1911;15.
7. Cook JE MJ. Severe anemia with remarkable elongated and sickle-shaped red blood cells and chronic leg ulcer. . Archives of Internal Medicine. 1915;16.
8. Mason VR. Sickle cell anemia. . Journal of the American Medical Association. 1922;79.
9. Emmel VE. A study of the erythrocytes in a case of severe anemia with elongated and sickle-shaped red blood corpuscles. . Archives of Internal Medicine. 1917;20:586.
10. Neel JV. The clinical detection of the genetic carriers of inherited disease. Medicine. 1947 May;26(2):115-53. PubMed PMID: 20239238.
11. Taliaferro WH, Huck JG. The Inheritance of Sickle-Cell Anaemia in Man. Genetics. 1923 Nov;8(6):594-8. PubMed PMID: 17246028. Pubmed Central PMCID: 1200767.
12. Neel JV. The Inheritance of Sickle Cell Anemia. Science. 1949 Jul 15;110(2846):64-6. PubMed PMID: 17774955.
13. Sherman I. The sickling phenomenon, with special reference to the differentiation of sickle cell anemia from the sickle cell trait. . Bull Johns Hopkins Hosp. 1940 Sep;67(19). PubMed PMID: 18880907.
14. Daland GA, Castle WB. A simple and rapid method for demonstrating sickling of the red blood cells; the use of reducing agents. The Journal of laboratory and clinical medicine. 1948 Sep;33(9):1082-8. PubMed PMID: 18880907.
15. Watson J. A study of sickling of young erythrocytes in sickle cell anemia. Blood. 1948 Apr;3(4):465-9. PubMed PMID: 18908032.
16. Pauling L, Itano HA, et al. Sickle cell anemia a molecular disease. Science. 1949 Nov 25;110(2865):543-8. PubMed PMID: 15395398.
17. Hunt JA, Ingram VM. Abnormal human haemoglobins. II. The chymotryptic digestion of the trypsin-resistant core of haemoglobins A and S. Biochimica et biophysica acta. 1958 Jun;28(3):546-9. PubMed PMID: 13560405.
18. Hunt JA, Ingram VM. A terminal peptide sequence of human haemoglobin? Nature. 1959 Aug 22;184(Suppl 9):640-1. PubMed PMID: 14405428.
19. Nagel RL, Roth EF, Jr. Malaria and red cell genetic defects. Blood. 1989 Sep;74(4):1213-21. PubMed PMID: 2669996.
20. Ejindu VC, Hine AL, Mashayekhi M, Shorvon PJ, Misra RR. Musculoskeletal manifestations of sickle cell disease. Radiographics : a review publication of the Radiological Society of North America, Inc. 2007 Jul-Aug;27(4):1005-21. PubMed PMID: 17620464.

21. Galacteros F. [Neonatal detection of sickle cell disease in metropolitan France. Association française pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant (AFDPHE)]. Archives de pédiatrie : organe officiel de la Société française de pédiatrie. 1996 Oct;3(10):1026-31. PubMed PMID: 8952800. Détection néonatale de la drépanocytose en France métropolitaine. Association française pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant (AFDPHE).
22. Galacteros F. Drépanocytose. Orphanet. 2000 Oct;N. Casadevall(10):1026-31. PubMed PMID: 8952800. Détection néonatale de la drépanocytose en France métropolitaine. Association française pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant (AFDPHE).
23. Bardakdjian J, Wajcman H. [Epidemiology of sickle cell anemia]. La Revue du praticien. 2004 Sep 30;54(14):1531-3. PubMed PMID: 15558961. Épidémiologie de la drépanocytose.
24. Bardakjian J, Benkerrou M, Bernaudin F, Briard ML, Ducrocq R, Lambilliotte A, et al. [Neonatal screening of sickle cell anemia in metropolitan France]. Archives de pédiatrie : organe officiel de la Société française de pédiatrie. 2000 Dec;7(12):1261-3. PubMed PMID: 11147058. Le dépistage néonatal de la drépanocytose en France métropolitaine.
25. Mbodj M, Ndoye O, Diarra M, Mbaye BN, Sow Toure H, Diouf L, et al. [Sickle cell disease neonatal screening. First evaluation]. Dakar medical. 2003;48(3):202-5. PubMed PMID: 15776632. Dépistage néonatal de la drépanocytose au CHU de Dakar: premier bilan.
26. Ingram VM. A specific chemical difference between the globins of normal human and sickle-cell anaemia haemoglobin. Nature. 1956 Oct 13;178(4537):792-4. PubMed PMID: 13369537.
27. Patrinos GP, Wajcman H. Recording human globin gene variation. Hemoglobin. 2004 May;28(2):v-vii. PubMed PMID: 15182050.
28. Sheridan BL, Weatherall DJ, Clegg JB, Pritchard J, Wood WG, Callender ST, et al. The patterns of fetal haemoglobin production in leukaemia. British journal of haematology. 1976 Apr;32(4):487-506. PubMed PMID: 816370.
29. Kato GJ, Gladwin MT, Steinberg MH. Deconstructing sickle cell disease: reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. Blood reviews. 2007 Jan;21(1):37-47. PubMed PMID: 17084951. Pubmed Central PMCID: 2048670.
30. Serjeant GR. The emerging understanding of sickle cell disease. British journal of haematology. 2001 Jan;112(1):3-18. PubMed PMID: 11167776.
31. Bailey K, Morris JS, Thomas P, Serjeant GR. Fetal haemoglobin and early manifestations of homozygous sickle cell disease. Archives of disease in childhood. 1992 Apr;67(4):517-20. PubMed PMID: 1374603. Pubmed Central PMCID: 1793326.
32. Widmarier E.P RHaSKT. Human Physiology - The mechanisms of body function. . Medicine and science in sports and exercise. 2008;Eleventh edition.
33. Vekilov PG. Sickle-cell haemoglobin polymerization: is it the primary pathogenic event of sickle-cell anaemia? British journal of haematology. 2007 Oct;139(2):173-84. PubMed PMID: 17897293.
34. Palek J, Lux SE. Red cell membrane skeletal defects in hereditary and acquired hemolytic anemias. Seminars in hematatology. 1983 Jul;20(3):189-224. PubMed PMID: 6353590.
35. Hofrichter J, Ross PD, Eaton WA. Kinetics and mechanism of deoxyhemoglobin S gelation: a new approach to understanding sickle cell disease. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1974 Dec;71(12):4864-8. PubMed PMID: 4531026. Pubmed Central PMCID: 433999.
36. Ueda Y, Bookchin RM. Effects of carbon dioxide and pH variations in vitro on blood respiratory functions, red blood cell volume, transmembrane pH gradients, and sickling in

- sickle cell anemia. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 1984 Aug;104(2):146-59. PubMed PMID: 6431043.
37. Bessis M, Delpech G. Sickle cell shape and structure: images and concepts (1840-1980). *Blood cells*. 1982;8(2):359-435. PubMed PMID: 6760930.
38. Mozzarelli A, Hofrichter J, Eaton WA. Delay time of hemoglobin S polymerization prevents most cells from sickling in vivo. *Science*. 1987 Jul 31;237(4814):500-6. PubMed PMID: 3603036.
39. Barabino GA, Platt MO, Kaul DK. Sickle cell biomechanics. *Annual review of biomedical engineering*. 2010 Aug 15;12:345-67. PubMed PMID: 20455701.
40. Shemin D, Rittenberg D. The life span of the human red blood cell. *The Journal of biological chemistry*. 1946 Dec;166(2):627-36. PubMed PMID: 20276177.
41. Callender ST, Powell EO, Witts LJ. Normal red-cell survival in men and women. *The Journal of pathology and bacteriology*. 1947 Oct;59(4):519-32. PubMed PMID: 18907561.
42. Labie DaE, J. Bases moléculaires et physiopathologiques des maladies de l'hémoglobine. *EMC-Hématologie*. 2005;2:220-39.
43. Benesch RE, Edalji R, Kwong S, Benesch R. Oxygen affinity as an index of hemoglobin S polymerization: a new micromethod. *Analytical biochemistry*. 1978 Aug 15;89(1):162-73. PubMed PMID: 30335.
44. Elbaum D, Nagel RL. Esterase activity of hemoglobin. Differences between HB A and HB S. *The Journal of biological chemistry*. 1981 Mar 10;256(5):2280-3. PubMed PMID: 7462237.
45. Becklake MR, Griffiths SB, Mc GM, Goldman HI, Schreve JP. Oxygen dissociation curves in sickle cell anemia and in subjects with the sickle cell trait. *The Journal of clinical investigation*. 1955 May;34(5):751-5. PubMed PMID: 14367534. Pubmed Central PMCID: 438687.
46. Young RC, Jr., Rachal RE, Del Pilar Aguinaga M, Nelson BL, Kim BC, Winter WP, et al. Automated oxyhemoglobin dissociation curve construction to assess sickle cell anemia therapy. *Journal of the National Medical Association*. 2000 Sep;92(9):430-5. PubMed PMID: 11052456. Pubmed Central PMCID: 2608524.
47. Adachi K, Asakura T. Polymerization of AS hybrid hemoglobin. Potent inhibitory effect of hemoglobin A on the polymerization of AS hybrid hemoglobin. *The Journal of biological chemistry*. 1984 Feb 25;259(4):2108-12. PubMed PMID: 6698959.
48. Steinberg MH, Embury SH. Alpha-thalassemia in blacks: genetic and clinical aspects and interactions with the sickle hemoglobin gene. *Blood*. 1986 Nov;68(5):985-90. PubMed PMID: 3533181.
49. Poiseuille J. Recherches expérimentales sur le mouvement des liquides dans les tubes de très petits diamètres. 1844. PubMed PMID: 1538280.
50. Connes PaB, M.R. Aspects basiques de l'hémorhéologie. 2010. PubMed PMID: 18391640.
51. Salazar Vazquez BY, Cabrales P, Tsai AG, Intaglietta M. Nonlinear cardiovascular regulation consequent to changes in blood viscosity. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2011;49(1-4):29-36. PubMed PMID: 22214675. Epub 2012/01/05. eng.
52. Tsai AG, Acero C, Nance PR, Cabrales P, Frangos JA, Buerk DG, et al. Elevated plasma viscosity in extreme hemodilution increases perivascular nitric oxide concentration and microvascular perfusion. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2005 Apr;288(4):H1730-9. PubMed PMID: 15576432.
53. Tsai AG, Friesenecker B, McCarthy M, Sakai H, Intaglietta M. Plasma viscosity regulates capillary perfusion during extreme hemodilution in hamster skinfold model. *The American journal of physiology*. 1998 Dec;275(6 Pt 2):H2170-80. PubMed PMID: 9843817.

54. Sevick EM, Jain RK. Viscous resistance to blood flow in solid tumors: effect of hematocrit on intratumor blood viscosity. *Cancer research*. 1989 Jul 1;49(13):3513-9. PubMed PMID: 2731173.
55. Toksvang LN, Berg RM. Using a classic paper by Robin Fahraeus and Torsten Lindqvist to teach basic hemorheology. *Advances in physiology education*. 2013 Jun;37(2):129-33. PubMed PMID: 23728130. Epub 2013/06/04. eng.
56. Baskurt OK, Meiselman HJ. Blood rheology and hemodynamics. *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 2003 Oct;29(5):435-50. PubMed PMID: 14631543.
57. Mohandas N, Chasis JA. Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. *Seminars in hematology*. 1993 Jul;30(3):171-92. PubMed PMID: 8211222.
58. Khodadad JK, Waugh RE, Podolski JL, Josephs R, Steck TL. Remodeling the shape of the skeleton in the intact red cell. *Biophysical journal*. 1996 Feb;70(2):1036-44. PubMed PMID: 8789122. Pubmed Central PMCID: 1225005.
59. Parthasarathi K, Lipowsky HH. Capillary recruitment in response to tissue hypoxia and its dependence on red blood cell deformability. *The American journal of physiology*. 1999 Dec;277(6 Pt 2):H2145-57. PubMed PMID: 10600832.
60. Baskurt OK, Yalcin O, Ozdem S, Armstrong JK, Meiselman HJ. Modulation of endothelial nitric oxide synthase expression by red blood cell aggregation. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2004 Jan;286(1):H222-9. PubMed PMID: 14512280.
61. Hardeman MR, Ince C. Clinical potential of in vitro measured red cell deformability, a myth? *Clinical hemorheology and microcirculation*. 1999;21(3-4):277-84. PubMed PMID: 10711755.
62. Fontes A, Fernandes HP, de Thomaz AA, Barbosa LC, Barjas-Castro ML, Cesar CL. Measuring electrical and mechanical properties of red blood cells with double optical tweezers. *Journal of biomedical optics*. 2008 Jan-Feb;13(1):014001. PubMed PMID: 18315359. Epub 2008/03/05. eng.
63. Baskurt OK, Meiselman HJ. Hemodynamic effects of red blood cell aggregation. *Indian journal of experimental biology*. 2007 Jan;45(1):25-31. PubMed PMID: 17249324.
64. Baskurt OK, Meiselman HJ. RBC aggregation: more important than RBC adhesion to endothelial cells as a determinant of in vivo blood flow in health and disease. *Microcirculation*. 2008 Oct;15(7):585-90. PubMed PMID: 18608991.
65. Neu B, Meiselman HJ. Depletion-mediated red blood cell aggregation in polymer solutions. *Biophysical journal*. 2002 Nov;83(5):2482-90. PubMed PMID: 12414682. Pubmed Central PMCID: 1302334.
66. Neu B, Wenby R, Meiselman HJ. Effects of dextran molecular weight on red blood cell aggregation. *Biophysical journal*. 2008 Sep 15;95(6):3059-65. PubMed PMID: 18586848. Pubmed Central PMCID: 2527284.
67. Schechner V, Ben-Ami R, Hershcovici T, Yedgar S, Beigel Y, Shapira I, et al. Plasma dependent reduction in red blood cell aggregation after dextran sulfate low-density lipoprotein apheresis--implications for rheological studies. *Therapeutic apheresis and dialysis : official peer-reviewed journal of the International Society for Apheresis, the Japanese Society for Apheresis, the Japanese Society for Dialysis Therapy*. 2005 Oct;9(5):379-84. PubMed PMID: 16202011.
68. Brun JF. Hormones, metabolism and body composition as major determinants of blood rheology: potential pathophysiological meaning. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2002;26(2):63-79. PubMed PMID: 12082254.

69. Brun JF, Aloulou I, Varlet-Marie E. Hemorheological aspects of the metabolic syndrome: markers of insulin resistance, obesity or hyperinsulinemia? Clinical hemorheology and microcirculation. 2004;30(3-4):203-9. PubMed PMID: 15258344.
70. Sinnapah S, Cadelis G, Waltz X, Lamarre Y, Connes P. Overweight explains the increased red blood cell aggregation in patients with obstructive sleep apnea. Clinical hemorheology and microcirculation. 2015;59(1):17-26. PubMed PMID: 23271197. Epub 2012/12/29. eng.
71. Martini J, Cabrales P, Tsai AG, Intaglietta M. Mechanotransduction and the homeostatic significance of maintaining blood viscosity in hypotension, hypertension and haemorrhage. Journal of internal medicine. 2006 Apr;259(4):364-72. PubMed PMID: 16594904.
72. Li YS, Haga JH, Chien S. Molecular basis of the effects of shear stress on vascular endothelial cells. Journal of biomechanics. 2005 Oct;38(10):1949-71. PubMed PMID: 16084198.
73. Chien S. Mechanotransduction and endothelial cell homeostasis: the wisdom of the cell. American journal of physiology Heart and circulatory physiology. 2007 Mar;292(3):H1209-24. PubMed PMID: 17098825.
74. Stamenovic D, Fredberg JJ, Wang N, Butler JP, Ingber DE. A microstructural approach to cytoskeletal mechanics based on tensegrity. Journal of theoretical biology. 1996 Jul 21;181(2):125-36. PubMed PMID: 8935591.
75. Shyy JY, Chien S. Role of integrins in endothelial mechanosensing of shear stress. Circulation research. 2002 Nov 1;91(9):769-75. PubMed PMID: 12411390.
76. Wang WC, Grover R, Gallagher D, Espeland M, Fandal A. Developmental screening in young children with sickle cell disease. Results of a cooperative study. The American journal of pediatric hematology/oncology. 1993 Feb;15(1):87-91. PubMed PMID: 7680549.
77. Kanai AJ, Strauss HC, Truskey GA, Crews AL, Grunfeld S, Malinski T. Shear stress induces ATP-independent transient nitric oxide release from vascular endothelial cells, measured directly with a porphyrinic microsensor. Circulation research. 1995 Aug;77(2):284-93. PubMed PMID: 7614715.
78. Davis ME, Cai H, Drummond GR, Harrison DG. Shear stress regulates endothelial nitric oxide synthase expression through c-Src by divergent signaling pathways. Circulation research. 2001 Nov 23;89(11):1073-80. PubMed PMID: 11717166.
79. Vázquez BYS. Blood pressure and blood viscosity are not correlated in normal healthy subjects. Vascular health and risk management. 2012 Jul 10;8:1. PubMed PMID: 2526657.
80. O'Connor FG, Bergeron MF, Cantrell J, Connes P, Harmon KG, Ivy E, et al. ACSM and CHAMP summit on sickle cell trait: mitigating risks for warfighters and athletes. Medicine and science in sports and exercise. 2012 Nov;44(11):2045-56. PubMed PMID: 22811029.
81. Chien S, Sung LP. Molecular basis of red cell membrane rheology. Part 1. Biorheology. 1990;27(3-4):327-44. PubMed PMID: 2261500.
82. Tripette J, Alexy T, Hardy-Dessources MD, Mougenel D, Beltan E, Chalabi T, et al. Red blood cell aggregation, aggregate strength and oxygen transport potential of blood are abnormal in both homozygous sickle cell anemia and sickle-hemoglobin C disease. Haematologica. 2009 Aug;94(8):1060-5. PubMed PMID: 19644138. Pubmed Central PMCID: 2719028.
83. Lionnet F, Hammoudi N, Stojanovic KS, Avellino V, Grateau G, Girot R, et al. Hemoglobin sickle cell disease complications: a clinical study of 179 cases. Haematologica. 2012 Aug;97(8):1136-41. PubMed PMID: 22315500. Pubmed Central PMCID: 3409809.

84. Chien S, Usami S, Bertles JF. Abnormal rheology of oxygenated blood in sickle cell anemia. *The Journal of clinical investigation*. 1970 Apr;49(4):623-34. PubMed PMID: 5443167. Pubmed Central PMCID: 322516.
85. Brandao MM, Fontes A, Barjas-Castro ML, Barbosa LC, Costa FF, Cesar CL, et al. Optical tweezers for measuring red blood cell elasticity: application to the study of drug response in sickle cell disease. *European journal of haematology*. 2003 Apr;70(4):207-11. PubMed PMID: 12656742.
86. Kaul DK, Fabry ME, Windisch P, Baez S, Nagel RL. Erythrocytes in sickle cell anemia are heterogeneous in their rheological and hemodynamic characteristics. *The Journal of clinical investigation*. 1983 Jul;72(1):22-31. PubMed PMID: 6874947. Pubmed Central PMCID: 1129157.
87. Mohandas N, Evans E. Mechanical properties of the red cell membrane in relation to molecular structure and genetic defects. *Annual review of biophysics and biomolecular structure*. 1994;23:787-818. PubMed PMID: 7919799.
88. Ballas SK, Smith ED. Red blood cell changes during the evolution of the sickle cell painful crisis. *Blood*. 1992 Apr 15;79(8):2154-63. PubMed PMID: 1562742.
89. Ballas SK. Sickle cell disease: clinical management. *Bailliere's clinical haematology*. 1998 Mar;11(1):185-214. PubMed PMID: 10872478. Epub 2000/06/29. eng.
90. Waltz X, Hedreville M, Sinnappah S, Lamarre Y, Soter V, Lemonne N, et al. Delayed beneficial effect of acute exercise on red blood cell aggregate strength in patients with sickle cell anemia. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2012;52(1):15-26. PubMed PMID: 22414551.
91. Baskurt OK, Meiselman HJ, Kayar E. Measurement of red blood cell aggregation in a "plate-plate" shearing system by analysis of light transmission. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 1998 Dec;19(4):307-14. PubMed PMID: 9972668.
92. Hebbel RP, Leung A, Mohandas N. Oxidation-induced changes in microrheologic properties of the red blood cell membrane. *Blood*. 1990 Sep 1;76(5):1015-20. PubMed PMID: 2393710.
93. Baudon JJ. Crises aigues drépanocytaires. *Journal Internantional de Médecine*. 2009. PubMed PMID: 17895531.
94. Kaul DK, Nagel RL. Sickle cell vasoocclusion: many issues and some answers. *Experientia*. 1993 Jan 15;49(1):5-15. PubMed PMID: 8428611.
95. Hoover R, Rubin R, Wise G, Warren R. Adhesion of normal and sickle erythrocytes to endothelial monolayer cultures. *Blood*. 1979 Oct;54(4):872-6. PubMed PMID: 476304.
96. Hebbel RP, Boogaerts MA, Eaton JW, Steinberg MH. Erythrocyte adherence to endothelium in sickle-cell anemia. A possible determinant of disease severity. *The New England journal of medicine*. 1980 May 1;302(18):992-5. PubMed PMID: 7366623.
97. Hebbel RP, Boogaerts MA, Koresawa S, Jacob HS, Eaton JW, Steinberg MH. Erytrocyte adherence to endothelium as a determinant of vasocclusive severity in sickle cell disease. *Transactions of the Association of American Physicians*. 1980;93:94-9. PubMed PMID: 7245585.
98. Hebbel RP, Yamada O, Moldow CF, Jacob HS, White JG, Eaton JW. Abnormal adherence of sickle erythrocytes to cultured vascular endothelium: possible mechanism for microvascular occlusion in sickle cell disease. *The Journal of clinical investigation*. 1980 Jan;65(1):154-60. PubMed PMID: 7350195. Pubmed Central PMCID: 371350.
99. Chiang EY, Frenette PS. Sickle cell vaso-occlusion. *Hematology/oncology clinics of North America*. 2005 Oct;19(5):771-84, v. PubMed PMID: 16214643.
100. Kaul DK, Liu XD, Zhang X, Ma L, Hsia CJ, Nagel RL. Inhibition of sickle red cell adhesion and vasoocclusion in the microcirculation by antioxidants. *American journal of*

- physiology Heart and circulatory physiology. 2006 Jul;291(1):H167-75. PubMed PMID: 16443674.
101. Kaul DK, Hebbel RP. Hypoxia/reoxygenation causes inflammatory response in transgenic sickle mice but not in normal mice. *The Journal of clinical investigation*. 2000 Aug;106(3):411-20. PubMed PMID: 10930444. Pubmed Central PMCID: 314325.
  102. Hebbel RP. Adhesive interactions of sickle erythrocytes with endothelium. *The Journal of clinical investigation*. 1997 Dec 1;100(11 Suppl):S83-6. PubMed PMID: 9413407.
  103. Solovey A, Lin Y, Browne P, Choong S, Wayner E, Hebbel RP. Circulating activated endothelial cells in sickle cell anemia. *The New England journal of medicine*. 1997 Nov 27;337(22):1584-90. PubMed PMID: 9371854.
  104. Gladwin MT, Schechter AN. Nitric oxide therapy in sickle cell disease. *Seminars in hematology*. 2001 Oct;38(4):333-42. PubMed PMID: 11605168.
  105. Morris CR, Kato GJ, Poljakovic M, Wang X, Blackwelder WC, Sachdev V, et al. Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and mortality in sickle cell disease. *Jama*. 2005 Jul 6;294(1):81-90. PubMed PMID: 15998894. Pubmed Central PMCID: 2065861.
  106. Morris CR, Kuypers FA, Larkin S, Sweeters N, Simon J, Vichinsky EP, et al. Arginine therapy: a novel strategy to induce nitric oxide production in sickle cell disease. *British journal of haematology*. 2000 Nov;111(2):498-500. PubMed PMID: 11122090.
  107. Vichinsky E. New therapies in sickle cell disease. *Lancet*. 2002 Aug 24;360(9333):629-31. PubMed PMID: 12241949.
  108. Reiter CD, Wang X, Tanus-Santos JE, Hogg N, Cannon RO, 3rd, Schechter AN, et al. Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease. *Nature medicine*. 2002 Dec;8(12):1383-9. PubMed PMID: 12426562.
  109. Aslan M, Ryan TM, Adler B, Townes TM, Parks DA, Thompson JA, et al. Oxygen radical inhibition of nitric oxide-dependent vascular function in sickle cell disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2001 Dec 18;98(26):15215-20. PubMed PMID: 11752464. Pubmed Central PMCID: 65009.
  110. Turchetti V, Boschi L, Donati G, Borgogni G, Coppola D, Dragoni S, et al. Endothelium and hemorheology. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2004;30(3-4):289-95. PubMed PMID: 15258356.
  111. Gladwin MT, Shelhamer JH, Ognibene FP, Pease-Fye ME, Nichols JS, Link B, et al. Nitric oxide donor properties of hydroxyurea in patients with sickle cell disease. *British journal of haematology*. 2002 Feb;116(2):436-44. PubMed PMID: 11841449.
  112. Phelan M, Perrine SP, Brauer M, Faller DV. Sickled erythrocytes, after sickling, regulate the expression of the endothelin-1 gene and protein in human endothelial cells in culture. *The Journal of clinical investigation*. 1995 Aug;96(2):1145-51. PubMed PMID: 7635951. Pubmed Central PMCID: 185305.
  113. Rybicki AC, Benjamin LJ. Increased levels of endothelin-1 in plasma of sickle cell anemia patients. *Blood*. 1998 Oct 1;92(7):2594-6. PubMed PMID: 9746804.
  114. Francis RB, Jr., Johnson CS. Vascular occlusion in sickle cell disease: current concepts and unanswered questions. *Blood*. 1991 Apr 1;77(7):1405-14. PubMed PMID: 2009364.
  115. Rothman SM, Fulling KH, Nelson JS. Sickle cell anemia and central nervous system infarction: a neuropathological study. *Annals of neurology*. 1986 Dec;20(6):684-90. PubMed PMID: 3813497.
  116. Asdourian GK, Nagpal KC, Busse B, Goldbaum M, Patriankos D, Rabb MF, et al. Macular and perimacular vascular remodelling sickling haemoglobinopathies. *The British journal of ophthalmology*. 1976 Jun;60(6):431-53. PubMed PMID: 952816. Pubmed Central PMCID: 1017523.

117. Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. *Lancet*. 2010 Dec 11;376(9757):2018-31. PubMed PMID: 21131035.
118. Habibi A, Bachir D, Godeau B. [Acute complications in sickle cell disease]. *La Revue du praticien*. 2004 Sep 30;54(14):1548-56. PubMed PMID: 15558964. Complications aigues de la drépanocytose.
119. Ahmed S, Shahid RK, Russo LA. Unusual causes of abdominal pain: sickle cell anemia. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2005 Apr;19(2):297-310. PubMed PMID: 15833695.
120. Ohene-Frempong K, Weiner SJ, Sleeper LA, Miller ST, Embury S, Moohr JW, et al. Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: rates and risk factors. *Blood*. 1998 Jan 1;91(1):288-94. PubMed PMID: 9414296.
121. Gladwin MT, Sachdev V, Jison ML, Shizukuda Y, Plehn JF, Minter K, et al. Pulmonary hypertension as a risk factor for death in patients with sickle cell disease. *The New England journal of medicine*. 2004 Feb 26;350(9):886-95. PubMed PMID: 14985486.
122. Maitre B, Mekontso-Dessap A, Habibi A, Bachir D, Parent F, Godeau B, et al. [Pulmonary complications in adult sickle cell disease]. *Revue des maladies respiratoires*. 2011 Feb;28(2):129-37. PubMed PMID: 21402228. Complications pulmonaires des syndromes drépanocytaires majeurs chez l'adulte.
123. Kato GJ, Hsieh M, Machado R, Taylor Jt, Little J, Butman JA, et al. Cerebrovascular disease associated with sickle cell pulmonary hypertension. *American journal of hematology*. 2006 Jul;81(7):503-10. PubMed PMID: 16755569. Pubmed Central PMCID: 2206539.
124. Pegelow CH, Colangelo L, Steinberg M, Wright EC, Smith J, Phillips G, et al. Natural history of blood pressure in sickle cell disease: risks for stroke and death associated with relative hypertension in sickle cell anemia. *The American journal of medicine*. 1997 Feb;102(2):171-7. PubMed PMID: 9217567.
125. Leikin SL, Gallagher D, Kinney TR, Sloane D, Klug P, Rida W. Mortality in children and adolescents with sickle cell disease. Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *Pediatrics*. 1989 Sep;84(3):500-8. PubMed PMID: 2671914.
126. Bachir D. La drépanocytose. *Revue Française des Laboratoires*. 2000;324. PubMed PMID: 15820199.
127. Adebayo RA, Balogun MO, Akinola NO, Akintomide AO. Cardiovascular changes in sickle cell anaemia. *Nigerian journal of medicine : journal of the National Association of Resident Doctors of Nigeria*. 2002 Oct-Dec;11(4):145-52. PubMed PMID: 12955989.
128. Machado RF, Mack AK, Martyr S, Barnett C, Macarthur P, Sachdev V, et al. Severity of pulmonary hypertension during vaso-occlusive pain crisis and exercise in patients with sickle cell disease. *British journal of haematology*. 2007 Jan;136(2):319-25. PubMed PMID: 17156401. Pubmed Central PMCID: 2040190.
129. Ashcroft MT, Serjeant GR, Desai P. Heights, weights, and skeletal age of Jamaican adolescents with sickle cell anaemia. *Archives of disease in childhood*. 1972 Aug;47(254):519-24. PubMed PMID: 4340016. Pubmed Central PMCID: 1648274.
130. Diggs L ACF, Bibbs J. The incidence and the significance of the sickle cell trait. *Annals of Internal Medicine*. 1993;7:769-78. PubMed PMID: 15882551.
131. Lonsdorfer J BP, Le Gallais D, Lonsdorfer A and Sofo I. Aptitude des drépanocytaires à l'effort physique. *Médecine d'Afrique Noire*. 1990;37:636-41. PubMed PMID: 18391640.
132. Noguchi CT. Polymerization in erythrocytes containing S and non-S hemoglobins. *Biophysical journal*. 1984 Jun;45(6):1153-8. PubMed PMID: 6743746. Pubmed Central PMCID: 1434986.
133. Bergeron MF, Cannon JG, Hall EL, Kutlar A. Erythrocyte sickling during exercise and thermal stress. *Clinical journal of sport medicine : official journal of the Canadian Academy of Sport Medicine*. 2004 Nov;14(6):354-6. PubMed PMID: 15523207.

134. Bookchin RM, Balazs T, Landau LC. Determinants of red cell sickling. Effects of varying pH and of increasing intracellular hemoglobin concentration by osmotic shrinkage. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 1976 Apr;87(4):597-616. PubMed PMID: 5563.
135. Martin TW, Weisman IM, Zeballos RJ, Stephenson SR. Exercise and hypoxia increase sickling in venous blood from an exercising limb in individuals with sickle cell trait. *The American journal of medicine*. 1989 Jul;87(1):48-56. PubMed PMID: 2741981.
136. Jones SR, Binder RA, Donowho EM, Jr. Sudden death in sickle-cell trait. *The New England journal of medicine*. 1970 Feb 5;282(6):323-5. PubMed PMID: 5410817.
137. Kark JA, Posey DM, Schumacher HR, Ruehle CJ. Sickle-cell trait as a risk factor for sudden death in physical training. *The New England journal of medicine*. 1987 Sep 24;317(13):781-7. PubMed PMID: 3627196.
138. Harrelson GL, Fincher AL, Robinson JB. Acute exertional rhabdomyolysis and its relationship to sickle cell trait. *Journal of athletic training*. 1995 Oct;30(4):309-12. PubMed PMID: 16558353. Pubmed Central PMCID: 1317999.
139. Anzalone ML, Green VS, Buja M, Sanchez LA, Harrykissoon RI, Eichner ER. Sickle cell trait and fatal rhabdomyolysis in football training: a case study. *Med Sci Sports Exerc*. 2010 Jan;42(1):3-7. PubMed PMID: 20010136.
140. Kark JA, Ward FT. Exercise and hemoglobin S. *Seminars in hematology*. 1994 Jul;31(3):181-225. PubMed PMID: 7973777.
141. Aufradet E, Monchanin G, Oyonno-Engelle S, Feasson L, Messonnier L, Francina A, et al. Habitual physical activity and endothelial activation in sickle cell trait carriers. *Medicine and science in sports and exercise*. 2010 Nov;42(11):1987-94. PubMed PMID: 20386338.
142. Chirico EN, Martin C, Faes C, Feasson L, Oyono-Enguelle S, Aufradet E, et al. Exercise training blunts oxidative stress in sickle cell trait carriers. *Journal of applied physiology*. 2012 May;112(9):1445-53. PubMed PMID: 22323645.
143. Diaw M, Diop S, Soubaiga FY, Seck M, Faye BF, Niang MN, et al. Blood viscosity is lower in trained than in sedentary sickle cell trait carriers. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2014 Jun 24. PubMed PMID: 24961729.
144. Sara F. Influence du trait drépanocytaire sur les aptitudes énergétiques: métabolisme du lactate.  
. Thèse STAPS, Université des Antilles et de la Guyane. 2005.
145. Staessen J, Amery A, Fagard R. Isolated systolic hypertension in the elderly. *Journal of hypertension*. 1990 May;8(5):393-405. PubMed PMID: 2163412.
146. Franklin SS, Gustin Wt, Wong ND, Larson MG, Weber MA, Kannel WB, et al. Hemodynamic patterns of age-related changes in blood pressure. *The Framingham Heart Study. Circulation*. 1997 Jul 1;96(1):308-15. PubMed PMID: 9236450.
147. London GM. Increased arterial stiffness in end-stage renal failure: why is it of interest to the clinical nephrologist? *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 1994;9(12):1709-12. PubMed PMID: 7708249.
148. O'Rourke MF, Kelly RP. Wave reflection in the systemic circulation and its implications in ventricular function. *Journal of hypertension*. 1993 Apr;11(4):327-37. PubMed PMID: 8390498.
149. O'Rourke MF, Hashimoto J. Mechanical factors in arterial aging: a clinical perspective. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007 Jul 3;50(1):1-13. PubMed PMID: 17601538.
150. vhhnn. Effects of arterial stiffness, pulse wave velocity, and wave reflection on the central aortic pressure waveform. *J Clin Hypertens* 2008.

151. Maldonado J, Pereira T, Polonia J, Silva JA, Morais J, Marques M, et al. Arterial stiffness predicts cardiovascular outcome in a low-to-moderate cardiovascular risk population: the EDIVA (Estudo de DIstensibilidade Vascular) project. *Journal of hypertension*. 2011 Apr;29(4):669-75. PubMed PMID: 21252699.
152. Willum-Hansen T, Staessen JA, Torp-Pedersen C, Rasmussen S, Thijs L, Ibsen H, et al. Prognostic value of aortic pulse wave velocity as index of arterial stiffness in the general population. *Circulation*. 2006 Feb 7;113(5):664-70. PubMed PMID: 16461839.
153. Karras A, Haymann JP, Bozec E, Metzger M, Jacquot C, Maruani G, et al. Large artery stiffening and remodeling are independently associated with all-cause mortality and cardiovascular events in chronic kidney disease. *Hypertension*. 2012 Dec;60(6):1451-7. PubMed PMID: 23090769.
154. Johnson CP, Baugh R, Wilson CA, Burns J. Age related changes in the tunica media of the vertebral artery: implications for the assessment of vessels injured by trauma. *Journal of clinical pathology*. 2001 Feb;54(2):139-45. PubMed PMID: 11215283. Pubmed Central PMCID: 1731358.
155. Wang M, Lakatta EG. Altered regulation of matrix metalloproteinase-2 in aortic remodeling during aging. *Hypertension*. 2002 Apr;39(4):865-73. PubMed PMID: 11967241.
156. Rizzoni D, Porteri E, Guelfi D, Muiesan ML, Valentini U, Cimino A, et al. Structural alterations in subcutaneous small arteries of normotensive and hypertensive patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation*. 2001 Mar 6;103(9):1238-44. PubMed PMID: 11238267.
157. Dao HH, Essalihi R, Bouvet C, Moreau P. Evolution and modulation of age-related medial elastocalcinosis: impact on large artery stiffness and isolated systolic hypertension. *Cardiovascular research*. 2005 May 1;66(2):307-17. PubMed PMID: 15820199.
158. Fonck E, Feigl GG, Fasel J, Sage D, Unser M, Rufenacht DA, et al. Effect of aging on elastin functionality in human cerebral arteries. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2009 Jul;40(7):2552-6. PubMed PMID: 19478233.
159. Niederhoffer N, Lartaud-Idjouadiene I, Giummelly P, Duvivier C, Peslin R, Atkinson J. Calcification of medial elastic fibers and aortic elasticity. *Hypertension*. 1997 Apr;29(4):999-1006. PubMed PMID: 9095090.
160. Bailey M, Pillarisetti S, Jones P, Xiao H, Simionescu D, Vyavahare N. Involvement of matrix metalloproteinases and tenascin-C in elastin calcification. *Cardiovascular pathology : the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology*. 2004 May-Jun;13(3):146-55. PubMed PMID: 15081471.
161. Speer MY, Yang HY, Brabb T, Leaf E, Look A, Lin WL, et al. Smooth muscle cells give rise to osteochondrogenic precursors and chondrocytes in calcifying arteries. *Circulation research*. 2009 Mar 27;104(6):733-41. PubMed PMID: 19197075. Pubmed Central PMCID: 2716055.
162. Cantini C, Kieffer P, Corman B, Liminana P, Atkinson J, Lartaud-Idjouadiene I. Aminoguanidine and aortic wall mechanics, structure, and composition in aged rats. *Hypertension*. 2001 Oct;38(4):943-8. PubMed PMID: 11641314.
163. Lyons D, Roy S, Patel M, Benjamin N, Swift CG. Impaired nitric oxide-mediated vasodilatation and total body nitric oxide production in healthy old age. *Clinical science*. 1997 Dec;93(6):519-25. PubMed PMID: 9497788.
164. Zieman SJ, Melenovsky V, Kass DA. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2005 May;25(5):932-43. PubMed PMID: 15731494.
165. Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation*. 2006 Aug 8;114(6):597-605. PubMed PMID: 16894049.

166. Gaballa MA, Jacob CT, Raya TE, Liu J, Simon B, Goldman S. Large artery remodeling during aging: biaxial passive and active stiffness. *Hypertension*. 1998 Sep;32(3):437-43. PubMed PMID: 9740608.
167. Schmidt AM, Yan SD, Wautier JL, Stern D. Activation of receptor for advanced glycation end products: a mechanism for chronic vascular dysfunction in diabetic vasculopathy and atherosclerosis. *Circulation research*. 1999 Mar 19;84(5):489-97. PubMed PMID: 10082470.
168. Tanaka S, Avigad G, Brodsky B, Eikenberry EF. Glycation induces expansion of the molecular packing of collagen. *Journal of molecular biology*. 1988 Sep 20;203(2):495-505. PubMed PMID: 3143838.
169. Brownlee M. Advanced protein glycosylation in diabetes and aging. *Annual review of medicine*. 1995;46:223-34. PubMed PMID: 7598459.
170. Kass DA, Shapiro EP, Kawaguchi M, Capriotti AR, Scuteri A, deGroof RC, et al. Improved arterial compliance by a novel advanced glycation end-product crosslink breaker. *Circulation*. 2001 Sep 25;104(13):1464-70. PubMed PMID: 11571237.
171. Salomaa V, Riley W, Kark JD, Nardo C, Folsom AR. Non-insulin-dependent diabetes mellitus and fasting glucose and insulin concentrations are associated with arterial stiffness indexes. The ARIC Study. *Atherosclerosis Risk in Communities Study*. *Circulation*. 1995 Mar 1;91(5):1432-43. PubMed PMID: 7867184.
172. Wang MC, Tsai WC, Chen JY, Huang JJ. Stepwise increase in arterial stiffness corresponding with the stages of chronic kidney disease. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2005 Mar;45(3):494-501. PubMed PMID: 15754271.
173. Guerin AP, London GM, Marchais SJ, Metivier F. Arterial stiffening and vascular calcifications in end-stage renal disease. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2000 Jul;15(7):1014-21. PubMed PMID: 10862640.
174. Alivon M, Vo-Duc Phuong T, Vignon V, Bozec E, Khettab H, Hanon O, et al. A novel device for measuring arterial stiffness using finger-toe pulse wave velocity: Validation study of the pOpmetre(R). *Archives of cardiovascular diseases*. 2015 Apr;108(4):227-34. PubMed PMID: 25682547.
175. Edwards DG, Lang JT. Augmentation index and systolic load are lower in competitive endurance athletes. *American journal of hypertension*. 2005 May;18(5 Pt 1):679-83. PubMed PMID: 15882551.
176. Wijnen JA, Kuipers H, Kool MJ, Hoeks AP, van Baak MA, Struyker Boudier HA, et al. Vessel wall properties of large arteries in trained and sedentary subjects. *Basic research in cardiology*. 1991;86 Suppl 1:25-9. PubMed PMID: 2036093.
177. van de Laar RJ, Ferreira I, van Mechelen W, Prins MH, Twisk JW, Stehouwer CD. Lifetime vigorous but not light-to-moderate habitual physical activity impacts favorably on carotid stiffness in young adults: the amsterdam growth and health longitudinal study. *Hypertension*. 2010 Jan;55(1):33-9. PubMed PMID: 19996070.
178. Edwards DG, Schofield RS, Magyari PM, Nichols WW, Braith RW. Effect of exercise training on central aortic pressure wave reflection in coronary artery disease. *American journal of hypertension*. 2004 Jun;17(6):540-3. PubMed PMID: 15177529.
179. Ferreira I, Twisk JW, Stehouwer CD, van Mechelen W, Kemper HC. Longitudinal changes in VO<sub>2max</sub>: associations with carotid IMT and arterial stiffness. *Medicine and science in sports and exercise*. 2003 Oct;35(10):1670-8. PubMed PMID: 14523303.
180. Sugawara J, Otsuki T, Tanabe T, Hayashi K, Maeda S, Matsuda M. Physical activity duration, intensity, and arterial stiffening in postmenopausal women. *American journal of hypertension*. 2006 Oct;19(10):1032-6. PubMed PMID: 17027823.

181. Casey DP, Beck DT, Braith RW. Progressive resistance training without volume increases does not alter arterial stiffness and aortic wave reflection. *Experimental biology and medicine*. 2007 Oct;232(9):1228-35. PubMed PMID: 17895531.
182. Casey DP, Pierce GL, Howe KS, Mering MC, Braith RW. Effect of resistance training on arterial wave reflection and brachial artery reactivity in normotensive postmenopausal women. *European journal of applied physiology*. 2007 Jul;100(4):403-8. PubMed PMID: 17394009.
183. Cortez-Cooper MY, Anton MM, Devan AE, Neidre DB, Cook JN, Tanaka H. The effects of strength training on central arterial compliance in middle-aged and older adults. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation : official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology*. 2008 Apr;15(2):149-55. PubMed PMID: 18391640.
184. Cortez-Cooper MY, DeVan AE, Anton MM, Farrar RP, Beckwith KA, Todd JS, et al. Effects of high intensity resistance training on arterial stiffness and wave reflection in women. *American journal of hypertension*. 2005 Jul;18(7):930-4. PubMed PMID: 16053989.
185. Miyachi M, Kawano H, Sugawara J, Takahashi K, Hayashi K, Yamazaki K, et al. Unfavorable effects of resistance training on central arterial compliance: a randomized intervention study. *Circulation*. 2004 Nov 2;110(18):2858-63. PubMed PMID: 15492301.
186. Kawano H, Tanaka H, Miyachi M. Resistance training and arterial compliance: keeping the benefits while minimizing the stiffening. *Journal of hypertension*. 2006 Sep;24(9):1753-9. PubMed PMID: 16915024.
187. Okamoto T, Masuhara M, Ikuta K. Effects of eccentric and concentric resistance training on arterial stiffness. *Journal of human hypertension*. 2006 May;20(5):348-54. PubMed PMID: 16496019.
188. Lee WC, Kim MT, Ko KT, Lee WK, Kim SY, Kim HY, et al. Relationship between Serum Testosterone and Cardiovascular Disease Risk Determined Using the Framingham Risk Score in Male Patients with Sexual Dysfunction. *World J Mens Health*. 2014 Dec;32(3):139-44. PubMed PMID: 25606562. Pubmed Central PMCID: 4298816.
189. Baskurt OK, Boynard M, Cokelet GC, Connes P, Cooke BM, Forconi S, et al. New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2009;42(2):75-97. PubMed PMID: 19433882.
190. Gladwin MT, Schechter AN, Ognibene FP, Coles WA, Reiter CD, Schenke WH, et al. Divergent nitric oxide bioavailability in men and women with sickle cell disease. *Circulation*. 2003 Jan 21;107(2):271-8. PubMed PMID: 12538427.
191. Blacher J, Asmar R, Djane S, London GM, Safar ME. Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients. *Hypertension*. 1999 May;33(5):1111-7. PubMed PMID: 10334796.
192. Connes P, Hue O, Tripette J, Hardy-Dessources MD. Blood rheology abnormalities and vascular cell adhesion mechanisms in sickle cell trait carriers during exercise. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2008;39(1-4):179-84. PubMed PMID: 18503123.
193. Wang F, Ye P, Luo L, Xiao W, Qi L, Bian S, et al. Association of serum lipids with arterial stiffness in a population-based study in Beijing. *European journal of clinical investigation*. 2011 Sep;41(9):929-36. PubMed PMID: 21314825.
194. Zhao WW, Yang YH, Lu B, Feng XC, He M, Yang ZH, et al. Serum high-density lipoprotein cholesterol and progression to arterial stiffness in middle-aged and elderly Chinese. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*. 2013 Oct;23(10):973-9. PubMed PMID: 23010609.

195. Diaw M, Diop S, Soubaiga FY, Seck M, Faye BF, Niang MN, et al. Blood viscosity is lower in trained than in sedentary sickle cell trait carriers. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2015;61(1):23-9. PubMed PMID: 24961729.
196. Lemogoum D, Van Bortel L, Najem B, Dzudie A, Teutcha C, Madu E, et al. Arterial stiffness and wave reflections in patients with sickle cell disease. *Hypertension*. 2004 Dec;44(6):924-9. PubMed PMID: 15534075.
197. Bayramoglu T, Akkus O, Nas K, Illyes M, Molnar F, Gurkan E, et al. Arterial stiffness and pulse wave reflection in young adult heterozygous sickle cell carriers. *Turkish journal of haematology : official journal of Turkish Society of Haematology*. 2013 Dec;30(4):379-86. PubMed PMID: 24385828. Pubmed Central PMCID: 3874964.
198. Demirci MS, Gungor O, Kircelli F, Carrero JJ, Tatar E, Demirci C, et al. Impact of mean arterial pressure on progression of arterial stiffness in peritoneal dialysis patients under strict volume control strategy. *Clinical nephrology*. 2012 Feb;77(2):105-13. PubMed PMID: 22257540.
199. Takahara M, Katakami N, Osonoi T, Saitou M, Sakamoto F, Matsuoka TA, et al. Different Impacts of Cardiovascular Risk Factors on Arterial Stiffness versus Arterial Wall Thickness in Japanese Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*. 2015 Apr 10. PubMed PMID: 25864887.
200. Mitchell GF, Guo CY, Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Vita JA, et al. Cross-sectional correlates of increased aortic stiffness in the community: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2007 May 22;115(20):2628-36. PubMed PMID: 17485578.
201. Yu KJ, Zhang MJ, Li Y, Wang RT. Increased whole blood viscosity associated with arterial stiffness in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2014 Mar;29(3):540-4. PubMed PMID: 23981121.
202. Li Y, Tian XX, Liu T, Wang RT. Association between whole blood viscosity and arterial stiffness in patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocrine*. 2015 May;49(1):148-54. PubMed PMID: 25312690.
203. Mairbaurl H. Red blood cells in sports: effects of exercise and training on oxygen supply by red blood cells. *Frontiers in physiology*. 2013;4:332. PubMed PMID: 24273518. Pubmed Central PMCID: 3824146.
204. Sawka MN, Convertino VA, Eichner ER, Schnieder SM, Young AJ. Blood volume: importance and adaptations to exercise training, environmental stresses, and trauma/sickness. *Medicine and science in sports and exercise*. 2000 Feb;32(2):332-48. PubMed PMID: 10694114.
205. Cho YI, Cho DJ, Rosenson RS. Endothelial shear stress and blood viscosity in peripheral arterial disease. *Current atherosclerosis reports*. 2014 Apr;16(4):404. PubMed PMID: 24519415. Epub 2014/02/13. eng.
206. Diaw M, samb A, Diop S, Sall ND, Ba A, Cisse F, et al. Effects of hydration and water deprivation on blood viscosity during a soccer game in sickle cell trait carriers. *British journal of sports medicine*. 2014 Feb;48(4):326-31. PubMed PMID: 22685122.

## ANNEXES

---

## **LISTE DES COMMUNICATIONS**

### **Communications orales :**

**Journée conjointe de Biologie et de Médecine** (Dakar, juin 2015)

**Ouédraogo V**, Diaw M, Sow Ak et al. Profil lipidique et hémorhéologique des sujets drépanocytaires sénégalais.

**2<sup>ème</sup> congrès de la Société Africaine de Physiologie et de Physiopathologie** (Abidjan, février 2016)

**Ouédraogo V**, Tiendréogo AJF, Ouédraogo N et al. Impact du sport sur la rigidité artérielle des sujets sénégalais porteurs du trait drépanocytaire.

### **Communications affichées :**

**1<sup>er</sup> congrès de Physiologie et de Biologie intégrative** (Strasbourg, mai 2015)

**Ouédraogo V**, Signolet I, Diaw M et al. Arterial stiffness in the African heterozygous and homozygous sickle cell disease. *Actaphysiologica*. 2015 May 1;214:pp 57.

**15<sup>ème</sup> congrès de la Société Française de Médecine Vasculaire** (Paris, octobre 2016)

**Ouédraogo V**, Soleti R, Signolet I et al. Contribution du score de risque cardio-vasculaire à la rigidité artérielle des sujets drépanocytaires (homozygotes et hétérozygotes) sénégalais par rapport à la viscosité sanguine et au stress oxydant.

**Auteur/Author : OUEDRAOGO Valentin**

### **Résumé/Abstract**

La drépanocytose est l'hémoglobinopathie la plus répandue au monde. Elle est caractérisée par des perturbations hématologiques, hémorhéologiques et hémodynamiques. Le trait drépanocytaire est la forme bénigne de la maladie et les sujets porteurs du trait drépanocytaire (PTD) sont le plus souvent asymptomatiques. L'impact de ces différentes perturbations sur la fonction vasculaire notamment chez le PTD est peu connu. Ce travail de thèse nous a permis d'évaluer la fonction vasculaire par la mesure de la rigidité artérielle (RA) chez les sujets PTD en comparaison à des sujets drépanocytaires et contrôles (étude 1), également à rechercher le lien entre le niveau de viscosité sanguine et la RA chez les PTD (étude 2) et enfin à évaluer l'impact de la pratique régulière du sport sur la RA des sujets PTD (étude 3). Les sujets PTD avaient les artères plus rigides que les drépanocytaires mais non différente des contrôles. Etant donné que les PTD sont caractérisés par une hyperviscosité sanguine de repos, nous avions retrouvé que les PTD à viscosité sanguine élevée avaient les artères plus rigides que ceux à viscosité sanguine basse. Mais nous avions noté que la pratique régulière du sport chez les PTD entraînait une diminution de cette viscosité sanguine améliorant ainsi leur rigidité artérielle.

**Mots clés :** *drépanocytose, trait drépanocytaire, rigidité artérielle, sport.*

---

Sickle cell disease is the most common hemoglobinopathy in the world. It is characterized by haematological, hemorheological and hemodynamic disturbances. Sickle cell trait is the benign form of the disease and sickle cell trait carriers (SCTc) are usually asymptomatic. The impact of these disturbances on vascular function especially in the SCTc is little known. This work has allowed us to assess vascular function by the measurement of arterial stiffness (AS) in SCTc compared to sickle cell anemia and controls (study 1), also to search the link between the level of blood viscosity and AS in SCTc (study 2) and finally to assess the impact of regular sport on AS of SCTc (study 3). The SCTc had stiffer arteries than sickle cell anemia subjects but not different from controls. Because SCTc are characterized by blood hyper viscosity at rest, we found that SCTc with higher blood viscosity had arteries stiffer than those with lower blood viscosity. But we found that the regular practice of sports by PTD caused a decrease in the blood viscosity thus enhancing their arterial stiffness.

**Keys words:** *sickle cell disease, sickle cell trait, arterial stiffness, sport.*