

CS-06543

RÉPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE  
UNION-DISCIPLINE-TRAVAIL

FACULTÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES  
Département de Physiologie Animale

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Année universitaire 1992-1993

192

# THÈSE

Pour obtenir le Diplôme de Docteur de 3<sup>ème</sup> cycle  
Option **Physiologie Animale**

Présentée et soutenue publiquement le 28 octobre 1993

*Par*

**ANGOUE YAPO**

**PROFIL DE DENSITE GLOBULAIRE  
AU REPOS ET A L'EFFORT DANS LA  
DREPANOCYTOSE HOMOZYGOTE  
EN PERIODE INTER-CRITIQUE**

## COMPOSITION DU JURY

- Président :* Professeur Bialli SERI
- Examineurs :* Professeur Atté Michel OFFOUMOU  
Professeur Amadou SANGARE  
Professeur Ehouman Etienne EHILE
- Directeur de thèse :* Professeur Agrégé Pascal BOGUI

## AVANT-PROPOS DU DIRECTEUR DE THESE

La thèse de Monsieur Angoué YAPO, intitulée  
Profil de densité globulaire au repos et à l'effort  
dans la drépanocytose homozygote en période inter-critique  
constitue un travail de recherche qui, à mon avis, me paraît intéres-  
sant à plusieurs titres.

En premier lieu, ce travail est le résultat d'un esprit  
d'équipe qui anime tout le personnel du service d'explorations  
fonctionnelles du CHU de Yopougon, et sans lequel il n'aurait pu  
aboutir. C'est donc tout naturellement que mes félicitations  
s'adressent à l'ensemble du personnel de ce service que monsieur YAPO  
a rejoint en 1989 et dans lequel il a su s'intégrer harmonieusement.

D'autre part, ce travail, qui s'est échelonné sur 4 ans, a  
nécessité de la part de monsieur YAPO des efforts importants pour  
l'acquisition des connaissances théoriques dans des domaines très  
éloignés de ceux de sa formation de base (Biologiste Physico-  
Chimiste) : physiologie des épreuves d'efforts rectangulaires et  
triangulaires, physiologie et physiopathologie du transport sanguin de  
l'oxygène, physiopathologie de la drépanocytose homozygote ; etc...

De plus, monsieur YAPO a largement participé à l'exécution  
pratique de tous les examens biologiques effectués au cours de ce  
travail, sous la direction du Docteur Danièle VALERO-TARAS  
responsable du laboratoire des gaz du sang à qui je rends un hommage  
mérité pour la qualité des résultats biologiques et de l'encadrement  
technique de monsieur Angoué YAPO.

Enfin ce travail, outre son intérêt évident pour la détec-  
tion des facteurs physico chimiques susceptibles de révéler un état  
pré critique de la drépanocytose homozygote, constitue une des trop  
rares études menées conjointement par des chercheurs de la faculté des  
sciences et de la faculté de médecine. Ce travail contribuera, du  
moins je l'espère, au renforcement de la collaboration scientifique  
entre ces deux facultés pour un meilleur développement de leurs  
recherches respectives.

Fait à Abidjan, le 15 juillet 1993

Le Directeur de Thèse

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE  
Le Chef de Service :  
Pr Agr. Pascal BOGUI

# R E M E R C I E M E N T S

---

---

A MONSIEUR LE PROFESSEUR SERI BIALLI,  
Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques.

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

En remerciement pour la chaleureuse bienveillance qu'il nous a toujours manifestée.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR OFFOUMOU ATTE MICHEL,  
Professeur de Physiologie à la Faculté des Sciences et Techniques d'Abidjan.

Qui nous a fait l'honneur de juger cette thèse.  
Qu'il soit remercié pour sa disponibilité.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR SANGARE AMADOU,  
Chef de service d'Hématologie du C.H.U de YOPOUGON

Qui nous a fait l'honneur de juger cette thèse.  
Qu'il soit remercié pour sa grande disponibilité.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR EHILE EHOUAN ETIENNE,  
Professeur de Physiologie à la Faculté des Sciences et Techniques d'Abidjan

Qui nous a fait l'honneur de juger cette thèse.  
Nous vous exprimons, ici, nos remerciements.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE PASCAL BOGUI,  
Chef de service du Laboratoire de Physiologie  
de la Faculté de Médecine

Qui nous a accueilli dans son laboratoire et inspiré le  
sujet de cette thèse.

La rigueur de sa méthode scientifique nous a fait comprendre  
le véritable sens de la recherche.

Qu'il soit remercié pour son encadrement et avant tout pour  
sa grande qualité de relation humaine.

A MADAME LE DOCTEUR TARAS DANIELE,  
Responsable du laboratoire des gaz du sang du CHU de COCODY

Qui nous a initié aux techniques des gradients de phtalate,  
la précision de son enseignement nous a permis de découvrir  
les joies de la technique bien faite.

Nous la remercions tant pour sa participation au cours de ce  
travail que pour son encadrement technique.

A MONSIEUR LE DOCTEUR DAH CYRILLE,  
Maitre Assistant au Département de Physiologie  
de la Faculté de Médecine

Que nous remercions de sa collaboration efficace pour la  
finition de ce travail.

A MADAME VIGNIER,

Responsable des bourses de la Mission de Coopération  
Française à Abidjan.

Qui nous a permis de finaliser cette thèse par un séjour de  
45 jours en France.

Nous vous exprimons toute notre reconnaissance.

A TOUT LE PERSONNEL DES LABORATOIRES DES C.H.U. DE YOPOUGON  
ET DE COCODY,

Que tous, ici, soient remerciés pour leur amitié et leur  
collaboration, en particulier Madame BAE Madeleine.

A MON FRERE OGUIE YAPO,

Qui a financé notre séjour à l'étranger au 1er et au 2ème  
cycle de nos études.

Cette thèse est le fruit de tes sacrifices.

# S O M M A I R E

Pages

SYMBOLES ET ABREVIATIONS

INDEX DES FIGURES

INDEX DES TABLEAUX

## CHAPITRE I : INTRODUCTION GENERALE ET PROBLEMATIQUE

1-	INTRODUCTION GENERALE.....	1
2-	PROBLEMATIQUE.....	5
3-	HISTORIQUE DES GRADIENTS DE PHTALATE.....	8
4-	MOTIVATION DE L'ETUDE.....	12
5	HYPOTHESE DE TRAVAIL.....	14

## CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

1-	SUJETS.....	16
2-	MATERIELS.....	21
3-	METHODOLOGIE.....	24
3-1-	PARTIE BIOCLINIQUE.....	24
3-1-1-	Procédure expérimentale	
3-1-2-	Phase de repos	
3-1-3-	Phase de d'effort	
3-1-4-	Phase de récupération	
3-2-	PARTIE BIOLOGIQUE.....	26
3-2-1-	Détermination du gradient de densité de phtalate.	
3-2-2-	Préparation des gradients de densité des esters de phtalate.	
3-2-3-	Détermination de la distribution de la densité cellulaire.	
3-2-4-	Détermination des indices densitométriques	
3-2-5-	Représentation graphique	

**CHAPITRE III : RESULTATS**

1- :	ETUDE DES PROFILS DE DENSITE GLOBULAIRE, DES HEMATOCRITES, ET DES PRINCIPAUX INDICES DENSITOMETRIQUES AU REPOS.....	35
1-1-	PROFIL DE DENSITE GLOBULAIRE.....	36
1-1-1-	Chez les témoins	
1-1-2-	Chez les drépanocytaires	
1-1-3-	Chez les deux sous-groupes de drépanocytaires	
1-2-	COMPARAISON DES HEMATOCRITES ET DES INDICES DENSITOMETRIQUES DES TEMOINS ET DES DREPANOCYTAIRES	40
1-3-	COMPARAISON DES HEMATOCRITES ET DES INDICES DENSITO- METRIQUES DES DEUX SOUS-GROUPES DE SUJETS DREPANOCYTAIRES.....	40
2- :	EVALUATION DE L'APTITUDE PHYSIQUE DES TEMOINS ET DES DREPANOCYTAIRES .....	45
2-1-	AU COURS DE L'EFFORT EXHAUSTIF A INTENSITE CROISSANTE.....	45
2-2-	AU COURS DE L'EFFORT A INTENSITE CONSTANTE.....	45
2-3-	EVALUATION DE L'APTITUDE PHYSIQUE DES DEUX SOUS-GROUPES DE SUJETS DREPANOCYTAIRES.....	48
3- :	ETUDE DES PROFILS DE DENSITE GLOBULAIRE, DES HEMATOCRITES ET DES INDICES DENSITOMETRIQUES AU COURS DE L'EFFORT RECTANGULAIRE A INTENSITE CONSTANTE DE 20 MINUTES.....	50
3-1-	POURCENTAGE D'APPARITION DE NOUVELLES CELLULES.....	50
3-1-1-	Chez les témoins	
3-1-2-	Chez l'ensemble des drépanocytaires	
3-1-3-	Chez les deux sous-groupes de drépanocytaires	
3-2-	L'HEMATOCRITE.....	56
3-2-1-	Chez les témoins	
3-2-2-	Chez les drépanocytaires	
3-3-	LES INDICES DENSITOMETRIQUES.....	56
3-4-	HEMATOCRITE ET INDICES DENSITOMETRIQUES POUR CHACUN DES DEUX SOUS-GROUPES DE DREPANOCYTAIRES.....	60
3-4-1-	L'hématocrite	
3-4-2-	Les indices densitométriques	

3-5-	COMPARAISON DE L'HEMATOCRITE ET DES INDICES DENSITOMETRIQUES DES TEMOINS ET DES DREPANOCYTAIRES.....	60
3-5-1-	L'hématocrite	
3-5-2-	Les indices densitométriques	
3-6-	COMPARAISON DE L'HEMATOCRITE ET DES INDICES DENSITOMETRIQUES DES DEUX SOUS-GROUPES DE DREPANOCYTAIRES.	62
3-6-1-	L'hématocrite	
3-6-2-	Les indices densitométriques	
4-	ETUDE DES HEMATOCRITES ET DES INDICES DENSITOMETRIQUES A LA RECUPERATION PASSIVE DE 20 MINUTES.....	65
4-1-	L'HEMATOCRITE.....	65
4-1-1-	Chez les témoins	
4-1-2-	Chez les drépanocytaires	
4-2-	LES INDICES DENSITOMETRIQUES.....	65
4-2-1-	Chez les témoins	
4-2-2-	Chez les drépanocytaires	
4-3-	DES TEMOINS ET DES DREPANOCYTAIRES.....	66
4-3-1-	L'hématocrite	
4-3-2-	Les indices densitométriques	
4-4-	DES DEUX SOUS-GROUPES DE DREPANOCYTAIRES.....	66
4-4-1-	L'hématocrite	
4-4-2-	Les indices densitométriques	
5-	ETUDE DES GAZ DU SANG.....	69
5-1-	CHEZ LES TEMOINS	
5-2-	CHEZ LES DREPANOCYTAIRES	
5-3-	CHEZ LES DEUX SOUS-GROUPES DE DREPANOCYTAIRES	
 <u>CHAPITRE IV : DISCUSSIONS - CONCLUSION.....</u>		 72
 <u>CHAPITRE V : CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVE.....</u>		 89
 <u>BIBLIOGRAPHIE : .....</u>		 91



## A B R E V I A T I O N S

M.W.	:	Mann - Whitney
S.C.	:	Surface Corporelle
I.M.C.	:	Index de Masse Corporelle
V.G.M.	:	Volume Globulaire Moyen
P.M.T.	:	Puissance Maximale Tolérée
F.C.	:	Fréquence Cardiaque
Delta FC	:	Différence entre la fréquence cardiaque d'effort et la fréquence cardiaque de repos.
Hb	:	Hémoglobine
H %	:	Hématocrite
SaO2	:	Saturation Artérielle de l'Hémoglobine en Oxygène (en pour cent)
O2	:	Oxygène
I.S.C.	:	Irreversibly Sickle Cell = drépanocyte irréversible
W	:	Effort 20 mn.
R	:	Repos
Récup.	:	Récupération 20 mn.
D1	:	Densité moyenne de cellules comprise entre 20 et 60 %
D2	:	Densité moyenne de cellules comprise entre 60 et 90 %
S	:	Significatif
T.S.	:	Très Significatif
N.S.	:	Non Significatif
E.T.	:	Écart-Type <u>lire</u> +/-

## F I G U R E S

	Pages
Figure n° 1 : Détermination des Indices Densitométriques...	30
Figure n° 2 : Représentation graphique de la distribution de la densité globulaire.....	32
Figure n° 3 : Profils densitométriques comparés au repos des sujets drépanocytaires et des sujets témoins...	36
Figure n° 4 : Profils densitométriques comparés au repos des sujets drépanocytaires du sous-groupe 1 et des sujets témoins.....	38
Figure n° 5 : Profils densitométriques comparés au repos des sujets drépanocytaires du sous-groupe 2 et des sujets témoins.....	39
Figure n° 6 : Distribution des érythrocytes en fonction de leurs densités au repos et à l'effort chez les sujets témoins.....	51
Figure n° 7 : Distribution des érythrocytes en fonction de leurs densités au repos et à l'effort chez les sujets drépanocytaires.....	52
Figure n° 8 : Distribution des érythrocytes en fonction de leurs densités au repos et à l'effort chez les sujets drépanocytaires du sous-groupe 1 .....	54

- Figure n° 9: Distribution des érythrocytes en fonction de leurs densités au repos et à l'effort chez les sujets drépanocytaires du sous-groupe 2..... 55
- Figure n° 10 : Profils densitométriques comparés au repos des 4 sujets drépanocytaires et des sujets témoins..... 76

## T A B L E A U X

=====

	Pages
Tableau n° I : Grandeurs anthropométriques de la population étudiée.....	17
Tableau n° II : Grandeurs anthropométriques des sujets drépanocytaires.....	19
Tableau n° III: Données hématologiques des drépanocytaires ..	20
Tableau n° IV : Comparaison au test "U" de Mann Whitney, de l'hématocrite et des indices densitométriques obtenus au repos des sujets témoins et des sujets drépanocytaires.....	41
Tableau n° V : Comparaison au test "U" de Mann Whitney, de l'hématocrite et des indices densitométriques obtenus au repos des deux sous-groupes de sujets drépanocytaires.....;	43
Tableau n° VI : Comparaison au test "U" de Mann Whitney, de la puissance maximale tolérée, et des fréquences cardiaques respectivement de repos, d'effort et de réserve déterminées lors de l'épreuve d'effort des sujets témoins et des sujets drépanocytaires.....	46

- Tableau n°VII : Comparaison au test "U" de Mann Whitney de la fréquence cardiaque de repos, d'effort et de réserve déterminée lors de l'épreuve rectangulaire des sujets témoins et des sujets drépanocytaires..... 47
- Tableau n°VIII : Comparaison au test "U" de Mann Whitney, de la puissance maximale tolérée, et des fréquences cardiaques respectivement de repos, d'effort et de réserve déterminées lors de l'épreuve d'effort triangulaire, puis rectangulaire des deux sous-groupes de drépanocytaires .... 49
- Tableau n° IX: Comparaison au test "T" de Wilcoxon, des hémocrites et des indices densitométriques selon les états physiologiques chez les sujets témoins..... 57
- Tableau n° X : Comparaison au test "T" de Wilcoxon, des hémocrites et des indices densitométriques selon les états physiologiques chez les drépanocytaires..... 59
- Tableau n°XI : Comparaison au test "t" de Wilcoxon des variations des hémocrites et des indices densitométriques selon les états physiologiques chez les deux sous-groupes de sujets drépanocytaires..... 61

- Tableau n°XII : Comparaison au test "U" de Mann Whitney,  
des variations des hémocrites et des indices  
densitométriques selon les états physiologiques des  
sujets témoins et des sujets drépanocytaires..... 63
- Tableau n°XIII: Comparaison au test "U" de Mann Whitney,  
des variations des hémocrites et des indices  
densitométriques obtenus à l'effort de 20 minutes  
des deux sous-groupes de drépanocytaires..... 64
- Tableau n°XIV : Comparaison au test "U" de Mann Whitney,  
des hémocrites et des indices densitomé-  
triques obtenus à la récupération passive  
de 20 minutes des sujets témoins et des sujets  
drépanocytaires..... 67
- Tableau n°XV : Comparaison au test "U" de Mann Whitney,  
des hémocrites et des indices densitomé-  
triques obtenus à la récupération passive  
de 20 minutes des deux sous-groupes  
de sujets drépanocytaires..... 68

Tableau n°XVI : Comparaison au test "U" de Mann Whitney, des gaz du sang selon les états physiologiques des sujets témoins et des sujets drépanocy taires.....	70
Tableau n°XVII : Comparaison au test "U" de Mann-Whitney, des gaz du sang selon les états physiologiques des deux sous-groupes de sujets drépanocytaires.....	71

# C H A P I T R E I

---

## 1 - INTRODUCTION GENERALE ET PROBLEMATIQUE

### 1- INTRODUCTION GENERALE

#### 1-1- FONCTION DU GLOBULE ROUGE

Le globule rouge est une cellule ressemblant à un sac rempli d'hémoglobine (Hb).

Sa fonction principale est le transport des gaz respiratoires entre les poumons et les tissus. Afin d'assurer avec un maximum d'efficacité sa fonction de transporteur d'oxygène, le globule rouge doit être parfaitement adapté au système circulatoire.

La déformabilité de sa membrane, la fluidité de son cytoplasme et le surplus membranaire par rapport à son volume assurent cette exigence. Ces qualités permettent à la membrane de se déformer dans le flux circulatoire en tournant comme une chenille de tank autour du cytoplasme et de circuler dans les capillaires les plus étroits (SCHIMID et WELL (1968), FISHERT et SCHIMID (1977)). La perte de fluidité du cytoplasme CHIEN et al (1970), HORNE (1981), liée à la polymérisation de la déoxyhémoglobine S HAHN et GILLESPIE (1927), HARRIS (1950), entraîne des altérations de la membrane responsable des perturbations rhéologiques pouvant conduire aux crises vaso-occlusives.

#### 1-2- PHYSIOPATHOLOGIE DE LA DREPANOCYTOSE

L'anémie drépanocytaire a pour cause une mutation ponctuelle d'un des acides aminés de surface de la chaîne de globine bêta de l'hémoglobine : le résidu glutamate bêta 6 (A3) hydrophile est substitué par une valine hydrophobe INGRAM (1956).



La mutation a deux conséquences principales au niveau physiopathologique :

1) Une faible affinité de l'hémoglobine S pour l'oxygène car les polymères d'HbS dans les hématies fixent peu ou pas d'oxygène : pour une pression partielle d'O<sub>2</sub> donnée, la quantité d'O<sub>2</sub> fixée par les globules rouges drépanocytaires est plus basse que celle fixée par les globules rouges contenant de l'HbA, RODMAN et al (1959), PHILIP et al (1967), SCHIMID (1980). Cette diminution de l'affinité s'exprime par l'élévation de la P<sub>50</sub> (pression partielle d'oxygène, déterminant une saturation de l'hémoglobine en oxygène de 50%). Dans la drépanocytose à Hb S la P<sub>50</sub> moyenne peut atteindre 37 mmHg alors qu'elle est de 27 mmHg dans les globules rouges à HbA, SEAKING et al (1973), FABRY et NAGEL (1982).

2) La diminution de la solubilité de l'Hb dans les globules rouges, surtout quand la saturation en O<sub>2</sub> est réduite (HAHN et GILLESPIE (1927), HARRIS (1950). Elle conduit à la formation de polymères sous forme de fibres rigides qui déforment et fragilisent les érythrocytes BESSIS et al (1958), MURUYAMA (1966). Puis la diminution de la déformabilité des globules rouges résulte d'une élévation importante de la viscosité interne des cellules, due à l'augmentation de la concentration intra-cellulaire de l'HbS (par perte d'eau), à la présence de fibres et polymères et aux altérations secondaires de la membrane érythrocytaire POYART et al (1983).

Les altérations structurales de la membrane érythrocytaire atteignent les protéines du squelette et les constituants du domaine intrinsèque (lipides).

Elles s'établissent progressivement, à la suite de plusieurs épisodes de falciformation selon un processus cumulatif, et entraînent des altérations fonctionnelles majeures dont l'aboutissement est un globule rouge déshydraté, rigide en forme de faucille, à durée de vie considérablement raccourcie (quelques heures à 10 jours contre 120 jours en moyenne pour les hématies à hémoglobine normale) BURSEAU et POYART (1933), BEUZARD (1985).

Ces érythrocytes drépanocytaires rigides et déformés appelés drépanocytes se bloquent à l'intérieur des fins capillaires sanguins tissulaires qu'ils obstruent. PANPIT et al (1974), HORNE (1981).

Pour satisfaire leurs besoins impérieux d'oxygène, les tissus atteints compensent alors la baisse globale de leur irrigation sanguine par une augmentation de l'extraction d'oxygène sur le débit sanguin local restant. Celle-ci consiste en une désaturation plus accentuée du sang afférent lors de la traversée des capillaires tissulaires, accentuant ainsi la polymérisation intra-érythrocytaire de l'hémoglobine S et l'apparition concomitante de nouveaux drépanocytes .

Une réaction en chaîne s'instaure, aggravée par les perturbations chimiques locales suite à la souffrance tissulaire ischémique (acidose) : c'est la crise vaso-occlusive RICHARDSON et al (1979), HEBBEL et al (1980), KENNY et al (1981).

Ces drépanocytes responsables d'obstruction de la microcirculation, rendent compte des infarctus multiples disséminés dans tous les organes, surtout dans ceux dont le débit circulatoire est faible et peu adaptable (rate, squelette).

## 2- PROBLEMATIQUE

Les hémoglobinopathies sont responsables de la grande majorité des anémies hémolytiques corpusculaires familiales. Elles constituent un sérieux problème de santé publique dans de vastes parties du monde, car elles sont, par leur fréquence, les premières maladies génétiquement déterminées DREYFUS (1984). On dénombre plus de 585 mutations HUISMAN (1987). Mais nous nous intéresserons, dans le cadre de cette étude, à une seule d'entre elles, la drépanocytose de forme homozygote (HbSS).

La drépanocytose est une maladie héréditaire récessive, et autosomique, qui s'exprime principalement à l'état homozygote. Elle affecte essentiellement les populations noires d'Afrique, EDINGTON et LEHMANN (1955) et d'Amérique, LEHMANN et HUNTSMAN (1974), SCHIMIDT (1980) ; ainsi que les populations du Moyen Orient, GELPIE (1970), de l'Inde, BRITTENHALM et al (1977), et des pays méditerranéens. CHOREMIS et al (1951), ROTH et al (1980). En Côte d'Ivoire, cette anomalie génétique touche plus d'un million de personnes dont 100.000 à 300.000 d'entre elles sont atteintes de formes graves homozygotes (HbS) ou double hétérozygotes (HbSC), CABANNES et al (1979, 1981, 1986).

La maladie se manifeste par la survenue imprévisible de crises vaso-occlusives douloureuses généralement ostéo-articulaires ou abdominales, évoluant sur un fond d'anémie chronique de type hémolytique (taux d'hémoglobine compris entre 50 et 100g/l de sang) BEGUE (1984).

Sur le plan fonctionnel, elle est responsable d'un handicap cardio-respiratoire et locomoteur, LONSDORFER et al (1983, 1983, 1983 ; 1986, 1986 ; 1990) de gravité variable se manifestant dès l'enfance et s'aggravant au cours des 30 à 40 années d'existence moyenne des malades.

En conséquence, pour ceux d'entre eux qui parviennent à l'âge adulte, les possibilités d'insertion dans le monde des professions manuelles demeurent réduites. La prévention de ses complications devient donc une des préoccupations majeures des cliniciens.

Les recherches cliniques et fondamentales se sont multipliées dans différentes directions. Le dépistage néonatal de la maladie permet de prendre les mesures thérapeutiques appropriées dès la naissance COSSU et al (1982).

Enfin et surtout, des méthodes d'identification moléculaire de l'anomalie génétique ont permis d'élaborer une stratégie de prévention reposant sur le conseil génétique par le dépistage des transmetteurs et des couples à risque ALTER (1979, 1981).

Mais, cette stratégie de prévention élaborée en Europe, se heurte en Afrique noire à des barrières socio-culturelles. De ce fait, et pour l'heure, l'amélioration de la prise en charge des drépanocytaires à partir d'un suivi biologique spécifique demeure l'une des préoccupations premières des médecins et des chercheurs africains.

Pour notre part, l'amélioration des conditions d'existence de ces patients passe par une meilleure connaissance physiopathologique de la maladie.

Notre étude se propose d'identifier certaines modifications physico-chimiques et fonctionnelles du sang drépanocytaire conduisant à l'écllosion d'une crise vaso-occlusive, et d'en préciser les relations avec l'activité physique spontanée ou contrôlée. Le but recherché est de mettre en évidence un syndrome biologique évocateur de l'imminence d'une crise vaso-occlusive permettant, par la mise en route précoce du traitement palliatif, d'en atténuer les manifestations morbides.

Pour atteindre ces objectifs, nous avons entrepris l'étude des profils de densité globulaire par migration au travers d'un milieu phtalate de densité croissante, indiquant les proportions relatives des différentes fractions de densité globulaire au sein de la population cellulaire.

### 3- HISTORIQUE DES GRADIENTS DE PHTALATE

Les gradients de phtalate sont une méthode de centrifugation différentielle basée sur la séparation des globules rouges en fonction de leurs densités.

L'étude des profils de densité globulaire par migration au travers d'un milieu phtalate de densité croissante indique les proportions relatives des différentes fractions de densité globulaire au sein de la population érythrocytaire. DANON et MARIKOVSKY (1964) ont été les premiers à appliquer la méthode des gradients de densité de phtalate à la séparation des éléments cellulaires du sang.

Ils ont étudié le vieillissement des globules rouges normaux et montré que la densité cellulaire augmente avec l'âge des cellules.

- BLUMENFELD et al (1988) ont étudié la distribution de la densité des globules rouges normaux chez les adultes en fonction de la race et du sexe.

Ils ont montré que les leucodermes ont des densités globulaires significativement plus élevées que les mélanodermes. Il a mis en évidence également que les hommes ont des densités globulaires significativement plus élevées que les femmes. Mais la femme leucoderme a des globules rouges significativement plus denses que le mélanoderme (tout sexe confondu)

- ORRINGER (1983), KURANTSIN-MILLS et al (1987), NASH et MEISLMAN (1991), ont montré que la densité augmente en fonction de l'état de déshydratation des globules rouges à HbAA et HbSS.

- CHOMEL et al (1989) ont préparé une gamme de référence de densité de phtalate pour l'étude des densités globulaires pour deux laboratoires, constituant l'étape préliminaire d'une étude standardisée de population érythrocytaire chez les sujets atteints d'hémoglobinopathie.

Plusieurs auteurs, FABRY et NAGEL (1982), ORRINGER et al (1980) ont utilisé cette technique pour l'étude de la répartition érythrocytaire au cours de la drépanocytose.

Pour ces derniers, il existe une relation entre le déplacement des cellules vers les densités élevées et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (C.C.M.Hb) : plus la concentration corpusculaire est élevée, plus les cellules sont denses.

- LABIE (1983) a mis en évidence la présence simultanée de cellules légères, de cellules de densité normale et de cellules de densité élevée dans la drépanocytose.

- ORRINGER et al (1980), WEEMS et al (1984), RODGERS et al (1985), KEIDAN et al (1989), ont montré que la distribution des globules rouges se révèle très hétérogène dans la drépanocytose par rapport à celle des sujets à hémoglobine normale.

- WAJCMAN et LABIE (1981) ont montré que si l'on sépare par centrifugation des globules rouges à HbS en fonction de leur densité, les cellules les plus denses sont celles dont la viscosité cytoplasmique est la plus élevée. Elles sont donc les plus exposées à un débit élevé de polymérisation intra-érythrocytaire.

- FABRY et NAGEL (1982) ont étudié l'implication de l'hétérogénéité des érythrocytes dans la sévérité clinique de la drépanocytose, en montrant que cette hétérogénéité varie considérablement d'un sujet drépanocytaire à un autre.

- BILLET et al (1986) ont montré que le pourcentage de cellules denses ne prédit pas la survenue d'une crise vaso-occlusive chez le drépanocytaire : ces auteurs n'ont retrouvé aucune corrélation entre le nombre de cellules denses et l'incidence des crises douloureuses.

- PAJOT et al (1988) ont montré que la sévérité clinique de la drépanocytose est fortement corrélée avec la D50.

- FABRY et al (1984) ont étudié l'évolution des cellules denses chez onze patients drépanocytaires à travers 14 crises vaso-occlusives.

Ils ont montré que la survenue d'une crise vaso-occlusive s'accompagne, 12 fois sur 14, d'une chute importante des fractions très denses, surtout de la fraction F4 de l'ordre de 70 % avec une variation de 36 à 94 %, ils ont également mis en évidence que les cellules denses retrouvent leur pourcentage initial 7 à 30 jours après la crise.

BILLET et al (1988) ont montré que le pourcentage des cellules denses chute de 10 % +/- 9,5 à 5,7 % +/- 4,9 au début de la crise vaso-occlusive (entre le 1er et le 3ème jour). Puis vers la fin de la crise, cette chute s'accroît, atteignant 3,1 % +/- 2 le 9ème jour.

- BALLAS et SMITH (1992) ont montré que la crise vaso-occlusive chez un drépanocytaire est caractérisée par deux phases :



- la première phase s'est manifestée par l'augmentation des fractions lourdes (F4) : de 13,6 % (+/- 6,39) à 19 % (+/- 10,54) et du nombre de réticulocytes, puis par une diminution de la déformabilité des globules rouges. Cette phase a duré 1 à 3 jours.

- La seconde phase s'est signalée par une chute importante des fractions lourdes (F4) : de 19,4 % (+/- 10,54) à 3,5 % (+/- 1,9) avec une augmentation de la déformabilité des globules rouges jamais observée à l'état inter-critique de la maladie.

#### 4- MOTIVATIONS DE L'ETUDE

Les cellules falciformées irréversibles (I.S.C.) sont considérées comme des indices de la maladie drépanocytaire. Leurs nombres sur des frottis de sang périphérique varient considérablement d'un patient drépanocytaire à un autre.

Or les efforts pour déterminer le rôle des I.S.C. sont complexes du fait de la difficulté de standardisation de la quantification de ces cellules. C'est pourquoi certains auteurs ont développé d'autres méthodes de quantification qui soient plus objectives que le comptage au microscope des cellules à partir de frottis sanguin DANON et MARIKOVSKY (1964).

Le test des gradients d'ester de phtalate, renseigne sur l'hétérogénéité de la population cellulaire, notamment sur les fractions légères, traduisant indirectement la réponse érythropoïétique à l'anémie chronique d'une part et surtout sur les fractions lourdes témoins de la présence de cellules denses d'autre part.

Toutefois, la corrélation entre fractions lourdes et drépanocytes ne semble pas bien établie.

Selon NOGUCHI et al (1980), FABRY et al (1991), et FABRY FINE (1992) dans les fractions de densité élevée, à côté des drépanocytes irréversibles, se trouvent des cellules denses dont la forme reste discocyte, ce qui suggère que certaines cellules sont déshydratées sans que leur morphologie ne soit affectée.

Ces cellules denses ont une viscosité élevée et une faible déformabilité. Elles peuvent, comme les drépanocytes, provoquer des vaso-occlusions au niveau de la micro-circulation.

Ainsi, l'appréciation des conséquences rhéologiques par le seul comptage des ISC est insuffisant du fait du polymorphisme extrême des cellules falciformées, d'une part et de l'existence démontrée de cellules denses mais non déformées d'autre part NOGUCHI et al (1980).

Aussi la technique des gradients de phtalate permet-elle de quantifier de façon objective la quasi-totalité des cellules denses.

## 5- HYPOTHESE DE TRAVAIL

Les travaux de certains auteurs : WEEMS et al (1984), FABRY et NAGEL (1982) font état de la stabilité des profils de densité globulaire en ester de phtalate, dans la drépanocytose homozygote, chez un même sujet, en période non critique.

Si tel est le cas, alors, il ne devrait pas exister de relation entre les profils de densité globulaire et l'incidence des crises douloureuses.

Ainsi donc, l'appréciation fine, des profils de distribution de la densité cellulaire au repos, permettrait-elle de mieux cerner leurs variations éventuelles sous l'influence d'un effort musculaire modéré.

En effet, BALLAS et SMITH (1992) ont observé une augmentation nette du pourcentage des fractions denses (F4) 1 à 3 jours avant la manifestation d'une crise vaso-occlusive.

Par ailleurs, l'effort est reconnu de façon empirique par les cliniciens comme l'un des facteurs déclenchant les crises vaso-occlusives.

Or aucun travail ne rapporte, à notre connaissance l'impact réel de l'exercice physique sur les modifications éventuelles des profils de densité des globules rouges.

C'est pourquoi, notre étude se propose de déterminer les profils de densité globulaire dans la drépanocytose homozygote au repos et à l'effort.

Cette étude nous permettra d'établir :

- le profil de densité globulaire de drépanocytaires homozygotes en période inter-critique vivant en milieu tropical humide, et bénéficiant d'un suivi médical correct ;

- d'évaluer les éventuelles modifications des profils de densité globulaire après un exercice physique de durée et d'intensité moyenne chez des drépanocytaires homozygotes et chez des sujets sains à HbAA.

- de comparer les modifications survenues sur les profils de densité globulaire chez les deux groupes de sujets.

# C H A P I T R E    I I

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

### 1- SUJETS

Cinquante trois sujets de sexe masculin, âgés de 18 à 30 ans, ont participé volontairement à l'étude. Ils sont tous mélanodermes et originaires de la sous-région ouest-africaine. Ces sujets étaient répartis en deux groupes selon leur type d'hémoglobine.

#### 1-1- LE GROUPE TEMOIN

Ce groupe est constitué de 32 sujets à hémoglobine normale HbAA, âgés de 18 à 28 ans (22,8 ans +/- 2,7). Ils pesaient entre 50 et 83 kg (65,2 +/- 8,81 kg) pour une taille comprise entre 1,6 et 1,85 m (1,70 m +/- 0,06). Vingt étaient des ouvriers agricoles, sept étaient étudiants et cinq étaient sans emploi. Leur niveau physique était de type sédentaire c'est-à-dire qu'ils pratiquaient au plus trois heures de sport par semaine, et ne participaient à aucune compétition sportive. Ils étaient en bonne santé apparente et ne souffraient d'aucune affection aiguë depuis plus de trois mois (Tableau n°1).

#### 1-2- LE GROUPE DE SUJETS DREPANOCYTAIRES

##### HOMOZYGOTES

Ce groupe est constitué de 21 drépanocytaires homozygotes, âgés de 18 à 30 ans (23 +/- 4,4 ans) de poids compris entre 45 et 75 kg (55,2 +/- 7,8 kg) et de taille comprise entre 1,53 et 1,87 m. (1,72 +/- 0,08 m.). Ils étaient sélectionnés parmi les patients régulièrement suivis par le centre de consultation du service d'Hématologie du C.H.U. de Cocody.

**TABLEAU N° 1 GRANDEURS ANTHROMETRIQUES DE LA POPULATION ETUDIEE**

	age (annees)	poids kg	taille m	S.C m2	I.M.C kg/m2
<b>HbAA</b>					
n=32	22,8	65,2	1,7	1,73	22,3
E.T	2,7	8,8	0,06	0,18	2
<b>HbSS</b>					
n=21	23,8	55,2	1,72	1,65	18,61
E.T	4,4	7,8	0,08	0,15	1,73
<b>M.W</b>	NS	TS	NS	S	S

Ils n'avaient pas fait de crise depuis au moins un mois avant l'étude.

Aucun d'entre eux ne souffrait d'un déficit locomoteur ni d'affection cardiovasculaire ou pulmonaire.

Le diagnostic de la drépanocytose homozygote s'appuyait sur les critères hématologiques suivants :

1) HbSS > 80 % ; HbF < 15 % ; VGM > 80 fl.

2) Absence de microcytose chez le drépanocytaire ainsi que chez les parents (Tableaux n° II, III).



**TABLEAU N° II : GRANDEURS ANTHROPOMETRIQUES  
DES SUJETS DREPANOCYTAIRES**

	age (annees)	poids kg	taille m	S.C m <sup>2</sup>	I.M.C kg/m <sup>2</sup>
<b>HbSS</b>					
n=9	23,11	55,8	1,71	1,66	18,95
E.T	4,11	6,26	0,06	0,12	1,58
n=12	23,83	54,58	1,72	1,64	18,35
E.T	4,95	9,34	0,1	0,17	1,85
<b>M.W</b>	<b>NS</b>	<b>NS</b>	<b>NS</b>	<b>NS</b>	<b>NS</b>

TABLEAU N° III : DONNEES HEMATOLOGIQUES DES DREPANOCYTAIRES

HbSS	F.S %	HbF %	HbA2 %	T.Hb g%	V.G.M FI
n=21	87,57	8,84	3,61	8,51	86,2
E.T	3,9	3,39	1,01	1,45	5,8
n=9	88,23	8,61	3,18	8,46	90,8
E.T	4,13	3,68	0,94	1,36	8,7
n=12	86,97	9,04	3,99	8,54	88,1
E.T	3,8	3,29	0,95	1,56	7,4
M.W	NS	NS	NS	NS	NS

## 2- MATERIELS

Nous avons utilisé les matériels suivants :

### 1) Un Bicycle Ergométrique

de Marque GOULD GODARD BV Type 18070 LANDRY

Il s'agit d'un bicycle à frein électromagnétique qui permet d'imposer des charges allant de 0 à 400 watts avec une variation minimale de 5 watts et une précision de l'ordre de 1 % .

La charge réelle correspond à celle lue pour une vitesse de rotation de 60 tours par minute.

L'épreuve consiste en un pédalage en position couchée, la résistance au pédalage ou intensité de l'effort étant fixé à 50 % de la puissance maximale tolérée préalablement déterminée avec un bicycle ergométrique.

### 2) Un cardio-fréquence-mètre (modèle sport tester PE 3000) pour le relevé des fréquences cardiaques.

Il s'agit d'un cardio-fréquence-mètre miniaturisé à intégration automatique. Il comprend :

- un émetteur électronique de pulsations
- une ceinture comportant des électrodes
- un récepteur sous forme de bracelet-montre.

Lorsqu'il est réglé sur le mode "fréquence-cardiaque" chaque pulsation apparaît sur le cadran du récepteur ce qui permet un contrôle visuel du signal et si nécessaire son comptage.

### 3) Un sphyngomanomètre Mercurex Carrier.

Il s'agit d'un tensionmètre à mercure complété par un sthétoscope qui permet la mesure de la pression artérielle au brassard par méthode auscultatoire.

4) Un analyseur des gaz du sang de marque RADIOMETER, Microsystème BMS 3 MK2.

Cet appareil mesure simultanément trois paramètres :

le pH, et la pCO<sub>2</sub> par potentiométrie avec une précision de 0,02 unités pour le pH et de +/- 1 Torr pour la pCO<sub>2</sub> et la pO<sub>2</sub> par polarographie avec une précision (+/- 1 Torr). L'appareil est équipé d'un système de thermostabilisation à circulation d'eau, permettant la mesure des 3 paramètres à température constante (37°C).

5) Un Hémoxy-analyseur de marque RADIOMETER modèle OS M3 pour la détermination de la saturation de l'hémoglobine en oxygène.

Son principe de fonctionnement est basé sur la mesure de l'absorbance comparée d'un faisceau lumineux à travers successivement deux solutions étalons (saturation = 0 % et saturation = 100 %) et de la solution à analyser à travers l'eau à 6 longueurs d'onde : 535 ; 560 ; 577 ; 622 ; 636 et 670 nm.

Pour chaque échantillon sanguin, l'absorbance mesurée est directement proportionnelle à l'épaisseur de la cuvette, (le parcours de la lumière) et la concentration de l'échantillon à mesurer, selon la loi de BEER Lambert.

6) Une centrifugeuse à micro-hématocrite non réfrigérée de Marque Sigma n°201 type Bioblock scientific.

7) Des seringues en verre de 5 ml héparinées.

8) Des tubes à hématocrite de 75 mm de longueur et 1,4 mm de diamètre, non héparinés (polylabo Bioblock réf 97 206).

9) Du dibutyle phtalate et diméthyle phtalate (Prolabo réf 22 111 296 et 25 6111294), (densité respective 1,045 et 1,190).

10) Des plaques rainurées pour le classement des capillaires.

11) De la pâte de scellement (polylabo P. block réf 94 402).

12) Du papier non pelucheux pour essuyer les tubes.

13) Et enfin des flacons de 25 ml pour le stockage des mélanges d'esters de phtalate.

Chaque prélèvement de sang artériel est effectué grâce à une seringue verrouillable sur l'aiguille de Cournand. Chaque seringue contient de l'héparine et 5 billes en verre pour homogénéiser le prélèvement.

### 3-1-2- La phase de repos

Le sujet installé en décubitus dorsal observe un repos strict pendant 10 minutes. Le repos est jugé sur la stabilité de la fréquence cardiaque et confirmé par la normalité du pH artériel lors du prélèvement du sang artériel de repos.

### 3-1-3- La phase d'effort

Le sujet effectue un pédalage à vide pendant 2 mn sans résistance pour permettre "un échauffement musculaire". Ensuite, pendant 20 minutes, il est soumis à un effort d'une puissance constante correspondant à 50 % de sa puissance maximale tolérée. Le prélèvement de sang artériel est réalisé à la 20e minute ou juste avant l'arrêt prématuré de l'effort lorsque le sujet signale son épuisement.

### 3-1-4- La phase de récupération passive

Pendant cette phase, le sujet observe un repos strict pendant 20 minutes, au terme duquel est recueilli le 3ème échantillon de sang artériel.

### 3-2- PARTIE BIOLOGIQUE

#### 3-2-1- Détermination du gradient de densité de phtalate pour l'étude des profils de densité globulaire

##### PRINCIPE

La densité du sang entier, du plasma ou des cellules sanguines peut être déterminée par pesée directe d'un volume donné.

Les méthodes indirectes consistent généralement en la préparation d'une série de liquide de densité croissante à la surface desquels, à partir d'une hauteur déterminée, on laisse tomber une goutte du liquide dont on veut mesurer la densité.

Si la goutte tombe au fond du tube, sa densité est supérieure à celle du milieu environnant. Inversement, si elle remonte à la surface, elle est de densité plus basse.

Les résultats obtenus par ces méthodes représentent la densité de toute la population cellulaire, incluant les leucocytes, les plaquettes et le plasma. En utilisant des mélanges d'ester de phtalate non miscibles à l'eau, BALENTINE et BURFORD (1960) obtiennent des cellules totalement expurgées de leur milieu de suspension.

Appliquant ces mélanges d'ester à la séparation des érythrocytes DANON et MARIKOVSKY (1964) proposent une technique dans laquelle les cellules sont séparées en fonction de leur densité. C'est cette méthode que nous avons adoptée.

### 3-2-2- Préparation des gradients des esters de phtalate

On utilise du diméthyle phtalate ( $d = 1,190$ ) et du dibutyl phtalate ( $d = 1,045$ ) pour préparer les solutions-mères dont les densités s'échelonnent entre 1,078 et 1,130.

Le choix de cette gamme de densité repose sur l'élargissement déjà démontré de l'échelle de densité chez le drépanocytaire ORRINGER et al (1980), WEENS et LESSIN (1984), RODGERS et al (1985).

La densité d'un soluté d'ester est obtenue par mélange des deux esters utilisés selon des proportions indiquées par la formule suivante :

$$V_B = \frac{V_T (d_M - d_x)}{d_M - d_B}$$

$V_B$  : volume du dibutyl phtalate (DBP)

$V_T$  : volume total du mélange

$d_M$  : densité du diméthyl phtalate (DMP)

$d_B$  : densité du dibutyl phtalate (DBP)

$d_x$  : densité souhaitée du mélange.

Exemple d'un mélange de volume égal à 20 ml et de densité égale à 1,110 :

DBP ( $d = 1,045$ ), 11 ml

DMP ( $d = 1,190$ ), 9 ml



Ainsi, nous avons préparé, à partir de cette formule, vingt quatre mélanges d'esters de phtalate dont la densité varie de 1,078 à 1,130. L'augmentation de la densité d'un mélange à l'autre est de : 0,003 de la densité 1,078 à la densité 1,096 et de 0,002 de 1,096 à la densité 1,130.

Nous avons obtenu 7 séries de densité comprise entre 1,078 et 1,096 et 17 séries de densité entre 1,096 et 1,130. Les solutions "mères" sont conservées à la température du laboratoire dans des flacons capsulés.

La densité (d) d'une substance est le rapport de sa masse volumique à celle d'une substance de référence (l'eau). Elle est sans dimension.

### 3-2-3- Détermination de la distribution de la densité cellulaire.

Après avoir mesuré les gaz du sang, l'échantillon est immédiatement utilisé pour l'étude de la distribution des densités cellulaires.

Il doit être homogénéisé et hépariné à la température ambiante. Pour chaque point de la série de vingt quatre tubes microcapillaires, nous avons introduit 0,5 cm du mélange correspondant à chaque densité en plongeant le bout du tube dans le flacon du mélange. L'excès d'esters de phtalate est enlevé à l'aide d'un papier buvard.

Le sang homogénéisé est introduit dans chaque tube capillaire par capillarité en évitant toute bulle d'air. Le tube est ainsi rempli en prenant soin de laisser un espace de 1,5 cm à son extrémité supérieure (le sang restant dans la seringue est conservé dans le réfrigérateur à 4°C pour une mesure ultérieure), puis bouché par la pâte de scellement à l'extrémité inférieure.

Les vingt quatre séries de préparation obtenues sont alignées par ordre de densité croissante de l'ester de phtalate dans les plaques rainurées prévues à cet effet. Ensuite les séries sont soumises à une centrifugation pendant 15 minutes à 12.600 tours par minute. La force centrifuge éloigne du centre des tubes capillaires les cellules, la distance étant proportionnelle à la densité de l'échantillon. Les cellules migrent au travers de la couche d'ester si elles sont plus denses que celles-ci. D'où, en fin de centrifugation, dans les tubes contenant les mélanges d'ester de faible densité, la totalité des cellules se situe au-dessous de la couche d'ester. Par contre, dans les tubes contenant les mélanges de densité élevée, la plupart des cellules se trouvent au-dessus de la couche d'ester, leur densité étant inférieure à celle du milieu (Figure n°1).

#### 3-2-4- Détermination des indices densitométriques.

A l'aide d'une règle graduée en 0,5 mm on mesure la hauteur des cellules au-dessus et en-dessous de la couche d'ester (Figure n°1). A partir de cette détermination en mm des fractions supérieure et inférieure, on calcule le pourcentage d'hématies dont la densité est inférieure à la densité du mélange considéré.

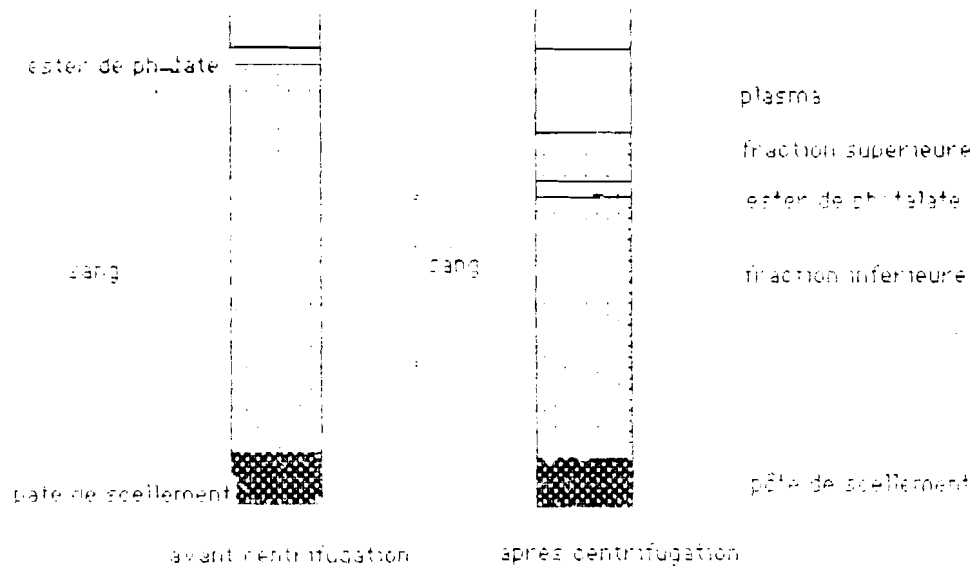


Fig. N° 1 Démonstration des fractions de GR en tube hématocrit.

TC de cellules de densité  $\rho_{dk} = (\text{fraction sup} / (\text{fraction sup} + \text{fraction inf})) \times 100$

Exemple : le pourcentage de cellules de densité inférieure à celle du mélange d'ester de phtalate est égal au rapport de la fraction supérieure des globules rouges sur la somme de la fraction supérieure et de la fraction inférieure multiplié par 100.

$$\% \text{ de cellules de densité } < dx = \text{F.S.} / (\text{F.S.} + \text{F.I.}) \times 100$$

### 3-2-5- Représentation graphique

Le profil de densité globulaire est obtenu en portant en abscisse les densités du mélange d'ester et en ordonnée le pourcentage de cellule dont la densité est inférieure à la densité choisie en abscisse (Figure n°2).

Diverses valeurs caractéristiques en sont déduites :

$F_3$  : pourcentage des hématies ayant une densité supérieure à 1,100

$F_4$  : pourcentage des hématies ayant une densité supérieure à 1,110

$F_5$  : pourcentage des hématies ayant une densité supérieure à 1,120

$D_{50}$  : densité pour un pourcentage de 50 % de cellules ; représente la densité médiane de la repartition cellulaire.

$R_{60}$  : intervalle de densité comportant 60 % de la population des hématies centrés par la  $D_{50}$ , en écartant 20% des cellules les plus légères et 20 % des cellules les plus lourdes.

En plus de ces fractions classiques, nous avons introduit les zones de densité suivantes :

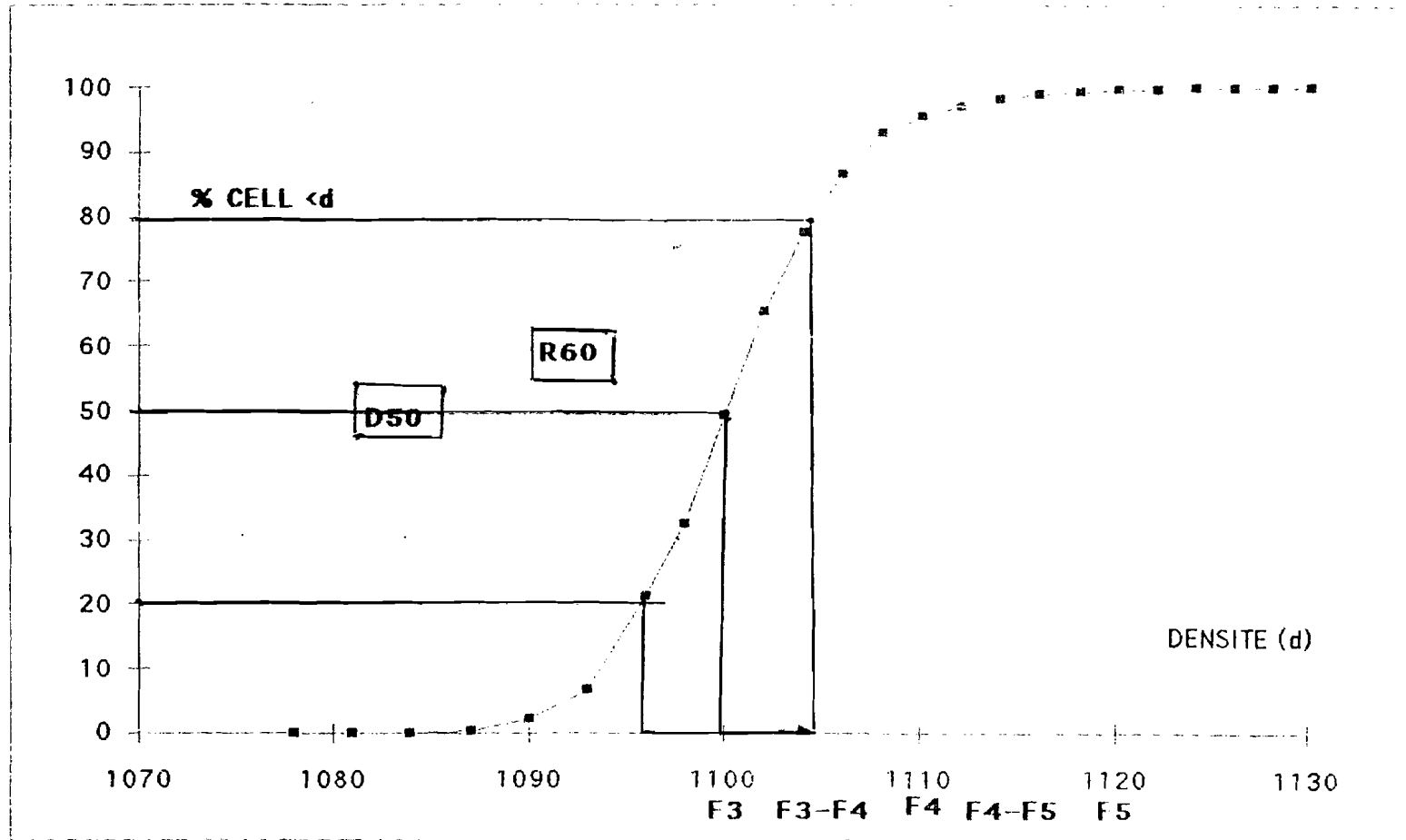


FIGURE NO 2 : PROFIL DE DENSITE GLOBULAIRE AU REPOS : HbAA

Les 2ème et 3ème zones de densité sont déplacées vers la droite par rapport au profil du groupe témoin sauf en ce qui concerne la zone comprise entre les densités 1,078 et 1,096 (Figure n°3).

Le sous-groupe 1 présente un profil de densité globulaire semblable à celui des témoins en ce qui concerne les 2ème et 3ème zones de la courbe. En revanche, la 1ère zone fait apparaître des cellules de faible densité par rapport à la 1ère zone de la courbe chez les témoins (Figure n°4).

Le sous-groupe 2 présente, par rapport aux sujets témoins des anomalies morphologiques qui touchent les trois zones définies de la courbe. Ces anomalies sont de plus en plus prononcées du sous-groupe 1 au sous-groupe 2 avec accentuation de la 1ère zone, puis suivi d'une réduction importante de la 2ème zone du sous-groupe 1 au sous-groupe 2 (Figure n°5).

L'observation des profils individuels de densité globulaire chez les drépanocytaires montre une horizontalisation progressive de ces trois zones entre le sujet ayant la densité la plus faible et celui ayant la densité la plus élevée.

F3-F4 : pourcentage des hématies ayant une densité comprise entre 1,100 et 1,110.

F4-F5 : pourcentage des hématies ayant une densité comprise entre 1,110 et 1,120.

DM 20-60 : densité moyenne de cellules comprise entre 20 et 60 % : D1

DM 60-90 : densité moyenne de cellules comprise entre 60 et 90 % : D2

### 3-2-5-1- Exploitation statistique des données.

Pour évaluer dans notre population, un changement significatif des valeurs obtenues entre les différentes situations, nous avons utilisé :

- le test "U" de Mann-Whitney pour la comparaison de grandeurs de deux groupes différents.

- le test "t" non paramétrique de Wilcoxon pour comparer des valeurs au sein d'un même groupe de sujets.

Pour apprécier les relations existant entre certains paramètres, nous avons eu recours aux équations de régression linéaire avec détermination du coefficient de corrélation "r".

Nous allons évaluer les effets de l'épreuve d'effort à puissance constante de 20 mn. sur les profils de densité globulaire, sur l'hématocrite et sur les indices de densité globulaire obtenus. La comparaison sera établie chez les sujets d'un même groupe d'une part et chez les deux groupes de sujets d'autre part.

Pour apprécier une éventuelle relation entre la moyenne et d'autres grandeurs biologiques nous avons scindé le groupe de sujets drépanocytaires en deux sous-groupes.

Enfin dans le souci d'évaluer globalement la relation entre la densité érythrocytaire et les autres grandeurs physiques ou biologiques de repos ou d'effort, le groupe des drépanocytaires sera scindé en deux sous-groupes :

- le sous-groupe I à densité érythrocytaire relativement peu élevé, caractérisé par un profil de densité proche de celui des sujets témoins.

- le sous-groupe II à densité érythrocytaire élevé, caractérisé par un profil de densité très élevé par rapport à celui des sujets témoins.



RESULTATS

1- ETUDE DES PROFILS DE DENSITE GLOBULAIRE,  
DES HEMATOCRITES, ET DES PRINCIPAUX INDICES  
DENSITOMETRIQUES AU REPOS

1-1- PROFIL DE DENSITE GLOBULAIRE

1-1-1- Chez les témoins

La figure n°3 relative à une comparaison du profil moyen de densité des érythrocytes au repos, des témoins et des drépanocytaires se traduit par une courbe sigmoïde comportant 3 zones :

- une première zone comprise entre les densités 1,078 et 1,090, qui se confond presque avec l'axe des abscisses, correspond à l'absence de cellule de densité légère ;
- une deuxième zone comprise entre les densités 1,093 et 1,108, correspond aux cellules de densité normale,
- et enfin, une troisième zone délimitée entre les densités 1,108 et 1,130 correspond à l'absence de cellules de densité hautement élevées.

1-1-2- Chez les drépanocytaires

Le profil moyen du groupe drépanocytaire présente, par rapport au profil moyen du groupe témoin des zones de densité différentes.

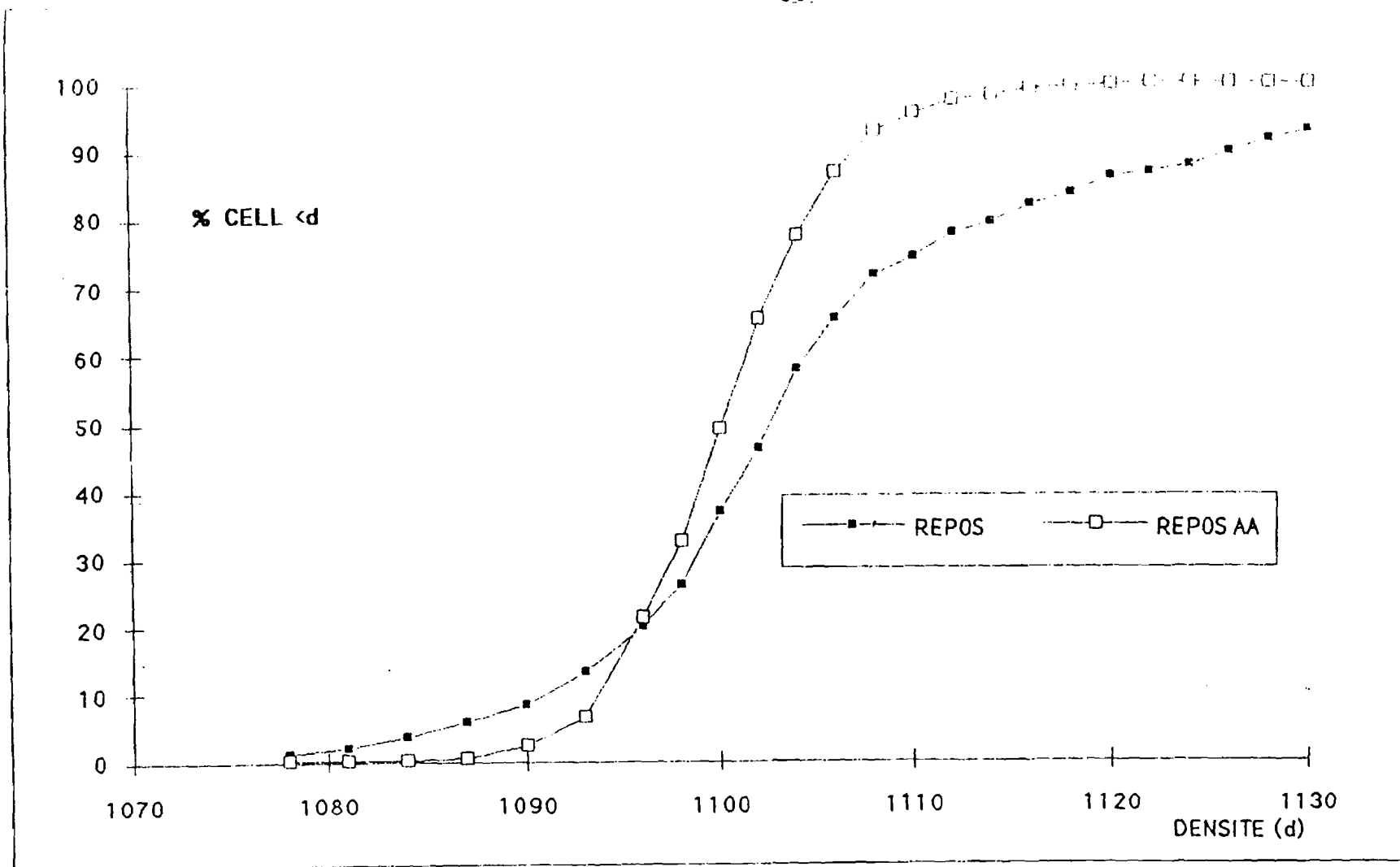
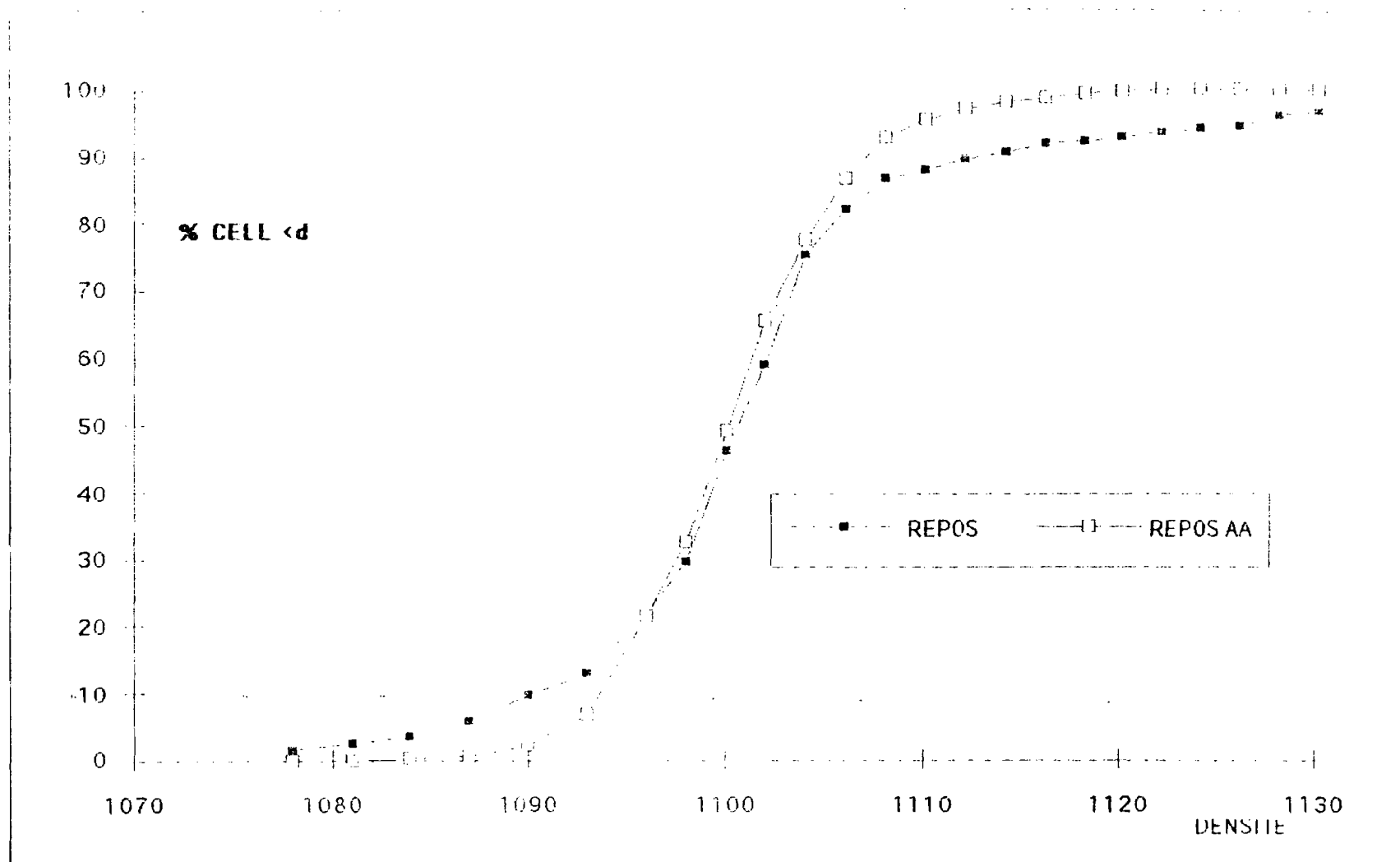
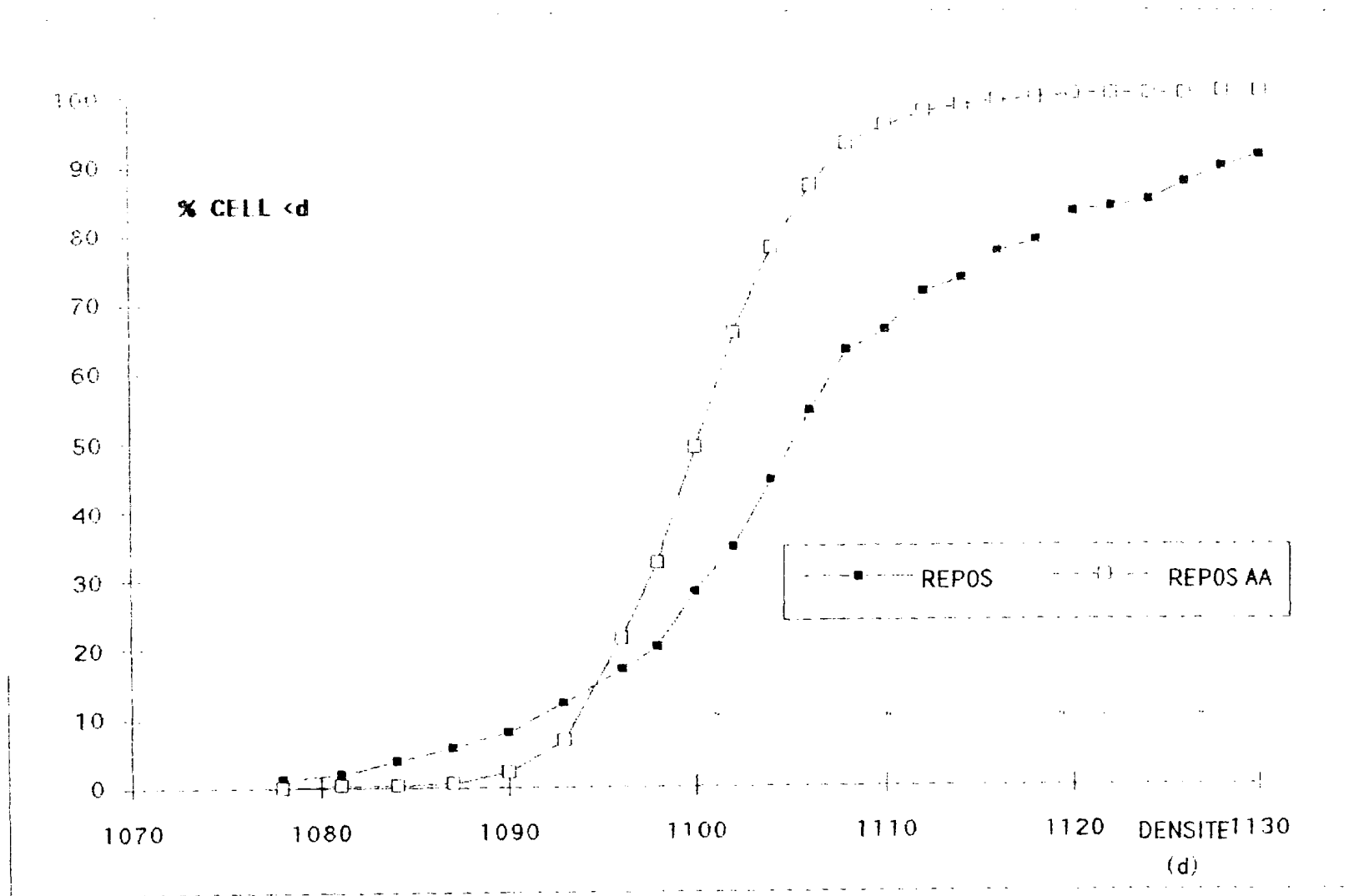


FIGURE NO 3: comparaison du profil moyen de densité globulaire au repos des témoins  
ET des drepanocytaires



**FIGURE NO 4: COMPARAISON DU PROFIL MOYEN DE DENSITE' GLOBULAIRE AU REPOS  
DES TEMOINS ET DU SOUS -GROUPE 1 DES DRPANOCYTAIRES**



**FIGURE NO 5: COMPARAISON DU PROFIL MOYEN DE DENSITE GLOBULAIRE AU REPOS DES TEMOINS ET DU SOUS-GROUPE 2 DES DREPANOCYTAIRES**

1-2- COMPARAISON DES HEMATOCRITES ET DES PRINCIPAUX  
INDICES DENSITOMETRIQUES DES TEMOINS ET DES  
DREPANOCYTAIRES.

1-2-1- L'hématocrite

L'hématocrite est significativement plus bas chez les drépanocytaires que chez les témoins (23,3 +/- 4,3 % contre 41 +/- 3,5 %). La différence observée est statistiquement très significative ( $p < 1 \%$ ) (Tableau n°IV A-B).

1-2-2- Les indices densitométriques

A l'exception de la sous fraction F3-F4, tous les indices densitométriques (F3, F4, F5, D50, R60 et F4-F5) sont significativement plus élevés ( $P < 1 \%$ ) chez les drépanocytaires que chez les témoins. A l'inverse, la fraction F3-F4 est significativement plus basse chez les drépanocytaires (38,2 +/- 9,6%) que chez les témoins (47,1 +/- 18% ;  $P < 5 \%$ ) (Tableau n°IV A-B).

1-3- COMPARAISON DES HEMATOCRITES ET DES INDICES  
DENSITOMETRIQUES DES DEUX SOUS-GROUPES DES SUJETS  
DREPANOCYTAIRES

1-3-1- L'hématocrite

Les tableaux n°V A et B montrent que les valeurs des hématocrites des deux sous groupes sont sensiblement les mêmes. En effet, la différence est statistiquement non significative ( $p > 5 \%$ ).

1-3-2- Les indices densitométriques

A l'exception des fractions F3-F4 et R60, tous les indices densitométriques sont significativement plus élevés dans le sous-groupe 2 que dans le sous-groupe 1.

Les différences observées sont statistiquement très significatives ( $p < 1 \%$ ) sauf la F3-F4 et la R60 (Tableau n°V A et B).

**TABLEAU N° IV-A COMPARAISON AU TEST "U" DE MANN WHITNEY "DE L'HEMATOCRITE ET DES INDICES DENSITOMETRIQUES OBTENUS AU REPOS DES SUJETS TEMOINS ET DES SUJETS DREPANOCYTAIRES**

		Ht%	F3	F4	F3-F4	F4-F5	F5
<b>HbAA</b>							
n=32		41	51,8	4,7	47,1	4,4	0,3
E.T		3,5	20,7	3	19	2,3	0,6
<b>HbSS</b>							
n=21		23,3	63,8	25,7	38,3	12,3	13,3
E.T		4,3	14,7	13,8	9,6	7,8	7,3
<b>M.W</b>							
		TS	TS	TS	S	TS	TS

**TAB. LEAU N° IV- b COMPARAISON AU TEST "U" DE MANN WHITNEY" DES INDICES  
DENSITOMETRIQUES OBTENUS AU REPOS DES SUJETS TEMOINS ET  
DES SUJETS DREPANOCTYAIRES**

HbAA	D50	R60	D1	D2
n=32	1,099	0,007	23,7	18,9
E.T	0,002	0,0001	2,4	2,5
HbSS				
n=21	1,103	0,021	33,2	21,1
E.T	0,0027	0,0219	5,8	3,4
M.W	TS	TS	TS	NS

**TABLEAU N°V-A COMPARAISON AU TEST "U" DE MANN WHITNEY DE L'HEMATOCRITE ET DES INDICES DENSITOMETRIQUES OBTENUS AU REPOS DES DEUX SOUS GROUPES DE SUJETS DREPANOCYTAIRES**

	Ht%	F3	F4	F3-F4	F4-F5	F5
<b>HbAA</b>						
n=9	23,6	52,1	12,1	40	4,7	7,4
E.T	4,8	11,8	5,4	12,2	1,5	4,4
<b>HbSS</b>						
n=12	23,6	72,8	35,8	37	18,1	17,8
E.T	4,1	9,6	7,8	7,5	4,9	5,7
<b>M.W</b>	<b>NS</b>	<b>TS</b>	<b>TS</b>	<b>S</b>	<b>TS</b>	<b>TS</b>



**TABLEAU °V-B: COMPARAISON AU TEST "U" DE "MANN WHITNEY" DES INDICES DENSITOMETRIQUES OBTENUS AU REPOS DES DEUX SOUS-GROUPES DE DREPANOCYTAIRES**

	REPOS	D50	R60	D1	D2
<b>HbSS</b>					
<b>n=9</b>	1,101	0,011	27,9	18,5	
<b>E.T</b>	0,001	0,003	3,8	1,8	
<b>n=12</b>	1,105	0,021	37,1	23	
<b>E.T</b>	0,002	0,007	3,38	3	
<b>M.W</b>	TS	TS	TS	S	

## 2- EVALUATION DE L'APTITUDE PHYSIQUE DES SUJETS TEMOINS ET DES DREPANOCYTAIRES

### 2-1- AU COURS DE L'EFFORT EXHAUSTIF A INTENSITE CROISSANTE

Les résultats consignés dans le tableau n°VI montrent que les drépanocytaires ont un niveau d'aptitude physique plus bas, de 40 % environ par rapport aux témoins à HbAA : la Puissance Maximale Tolérée (P.M.T.) est de  $1,47 \pm 0,35$  watt/kg contre  $2,59 \pm 0,41$  watt/kg ;  $P < 10^{-3}$ ). Cette baisse de l'aptitude physique s'accompagne d'une diminution d'environ 10 % du pic de fréquence cardiaque des sujets drépanocytaires ( $149,2 \pm 12,30$  batt/mn) par rapport à la valeur du pic de fréquence cardiaque des sujets témoins ( $164,8 \pm 13,9$  batt/mn). Mais la fréquence cardiaque de repos est comparable entre les deux groupes. Il en résulte que la fréquence cardiaque de réserve est plus faible chez les drépanocytaires que chez les témoins ( $77,4 \pm 13,5$  batt/min contre  $96,7 \pm 14,9$  batt/mn ;  $P < 1 \%$ ).

### 2-2- AU COURS DE L'EFFORT A INTENSITE CONSTANTE

L'analyse du tableau n°VII indique que la puissance moyenne absolue développée au cours de cet effort est statistiquement plus faible chez les drépanocytaires ( $0,7 \pm 0,17$  watt/kg) que chez les témoins ( $1,3 \pm 0,04$  watt/kg ;  $P < 5 \%$ ).

Ce niveau d'effort représente, en valeur relative, 49,6 % de la P.M.T. chez les HbSS et 50,2 % de la P.M.T. chez les HbAA.

**TABLEAU N°VI COMPARAISON AU TEST "U" DE "MANN WHITNEY" DE LA PUISSANCE MAXIMALE TOLEREES, ET DES FREQUENCES CARDIAQUES RESPECTIVEMENT DE REPOS, D'EFFORT ET DE RESERVE DETERMINEES LORS DE L'EPREUVE TRIANGULAIRE CHEZ LES SUJETS TEMOINS ET CHEZ LES SUJETS DRÉPANO-CYTAIRES**

	PMT w/kg	F.C REPOS ball/mn	F.C.PMT ball/mn	F.C. RESEVE ball/mn
<b>HbAA</b>				
n=32	2,59	67,3	164,8	96,7
E.T	0,41	9,3	13,9	14,9
<b>HbSS</b>				
n=21	1,47	71,9	149,2	77,4
E.T	0,35	10,5	12,3	13,5
<b>M.W</b>	TS	NS	TS	TS

TABLEAU N°VII

COMPARAISON AU "TEST "U" DE MANN WHITNEY" DES FREQUENCES CARDIAQUES RESPECTIVEMENT DE REPOS, D'EFFORT ET DE RESERVE LORS DE L'EPREUVE RECTANGULAIRE DES SUJETS TEMOINS ET DES SUJETS DREPANOCYTAIRES

	1/2PMT	F.C. 50%PMT	F.C PMT- F.C REPOS	F.C1/2PMT- F.C REPOS	c
	W/KG	batt/mn	batt/mn a	batt/mn b	% b/a
HbAA n=32	1,3	135	96,7	67,7	70
E.T	0,04	14,5	14,9	13,3	13,9
HbSS n=21	0,73	136,4	77,4	65,2	85,1
E.T	0,17	13,1	13,5	15,3	22,2
M.W	TS	NS	TS	NS	TS

La fréquence cardiaque induite par l'effort chez les drépanocytaires n'est pas statistiquement différente de celle des témoins :  $136,4 \pm 13,1$  batt/mn contre  $135 \pm 14,5$  batt/mn. ( $P > 5 \%$ ) (Tableau n°VII).

Il en est de même de la fréquence cardiaque de réserve exprimée en valeur absolue :  $65,2 \pm 15,3$  batt/mn contre  $67,71 \pm 13,3$  batt/min respectivement chez les HbS et chez les HbA. Par contre si l'on considère le taux d'utilisation de la fréquence cardiaque de réserve, on constate que les drépanocytaires en utilisent une proportion plus importante que les témoins ( $85,1 \pm 22,4 \%$  contre  $70 \pm 13,9 \%$ ). (Tableau n°VII).

### 2-3- EVALUATION DE L'APTITUDE PHYSIQUE DES DEUX SOUS-GROUPES DES SUJETS DREPANOCYTAIRES

#### 2-3-1- Au cours de l'effort exhaustif à intensité croissante

L'analyse du tableau n°VIII indique les indices des performances et les indices de sollicitation cardio-vasculaire sont sensiblement les mêmes chez les deux sous-groupes de sujets drépanocytaires ( $P > 5 \%$ ).

#### 2-3-2- Au cours de l'effort à intensité constante

Les résultats consignés dans le tableau n°VIII montrent que les indices de performances ainsi que les indices de sollicitation cardio-vasculaire sont sensiblement les mêmes chez les deux sous-groupes de sujets drépanocytaires ( $P > 5 \%$ ).

**TABLEAU N°VIII COMPARAISON AU TEST "U" DE "MANN WHITNEY" DE LA PUISSANCE MAXIMALE TOLEREE, ET DES FREQUENCES CARDIAQUES DE REPOS, D' EFFORT ET DE RESERVE DETERMINEES LORS DE L'EPREUVE TRIANGULAIRE, PUIS RECTANGULAIRE DES DEUX SOUS- GROUPES DE DREPANOCYTAIRES**

	HbSS	F.C(REPOS) batt/mn	F.C(PMT) batt/mn	50% F.C PMT batt/mn	F.C RESERVE batt/mn	PMT W/KG	1/2PMT W/KG
	n=9	71,4	152,7	137,3	81,2	1,53	0,76
	E.T	11	11,7	4,3	11,9	0,32	0,16
	n=12	72,2	147,4	135,1	74,5	1,45	0,72
	E.T	10,6	12,5	6,9	14,5	0,38	0,2
	M.W	NS	NS	NS	NS	NS	NS

3- ETUDE DES PROFILS DE DENSITE GLOBULAIRE,  
DES VARIATIONS DES HEMATOCRITES ET DES PRINCIPAUX  
INDICES DENSITOMETRIQUES AU COURS DE L'EFFORT  
RECTANGULAIRE A INTENSITE CONSTANTE DE 20 MINUTES

Les effets de l'effort ont été évalués sur le pourcentage d'apparition de nouvelles cellules (Figure n°6) et sur les variations des valeurs des indices densitométriques.

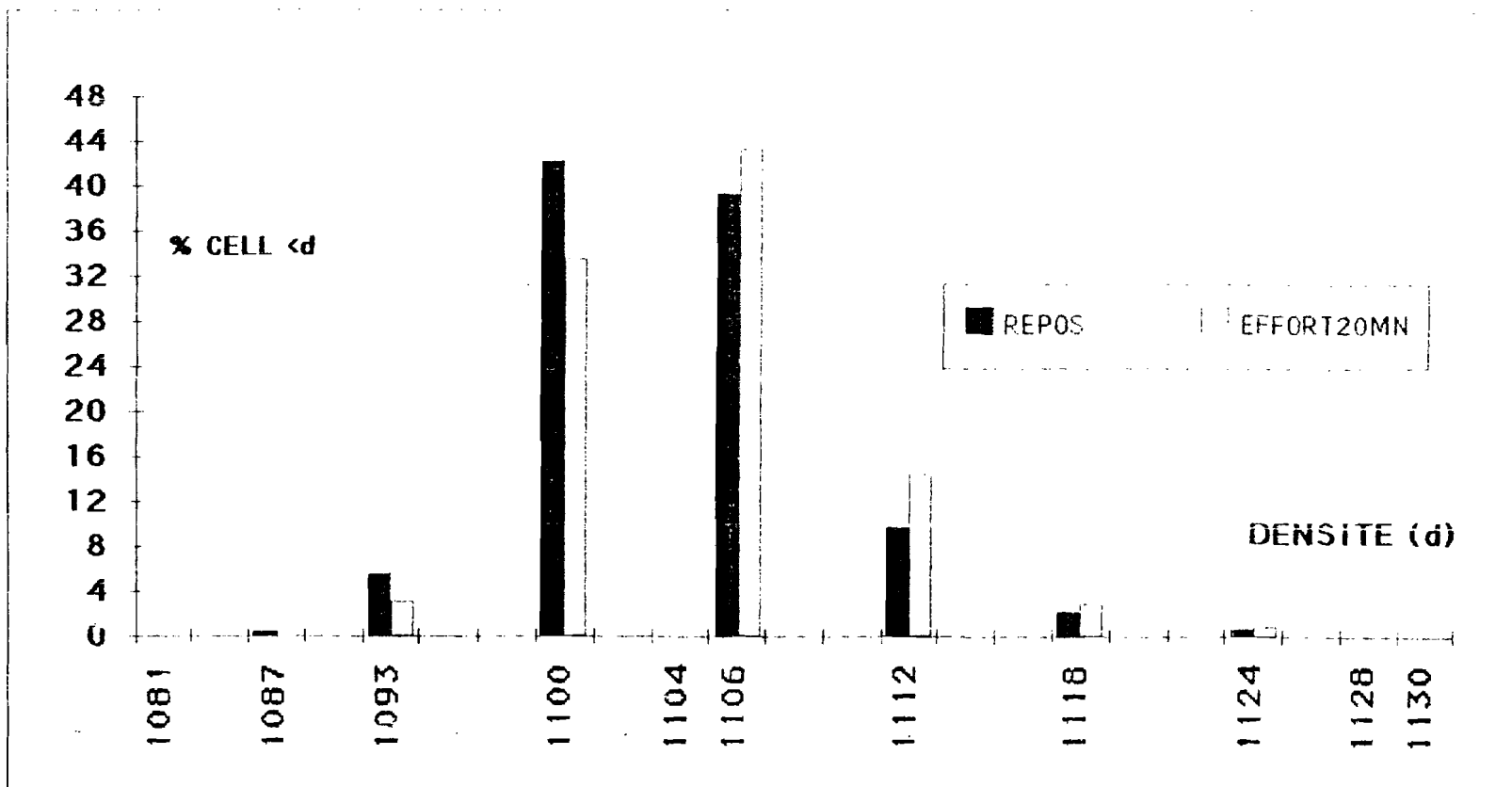
3-1- EFFET DE L'EFFORT SUR LE POURCENTAGE  
D'APPARITION DE NOUVELLES CELLULES

3-1-1- Chez les témoins

Il existe une augmentation du pourcentage de nouvelles cellules dans les zones de densité comprises d'une part, entre 1,096 et 1,100 ; et d'autre part entre 1,102 et 1,108 (Figure n°6).

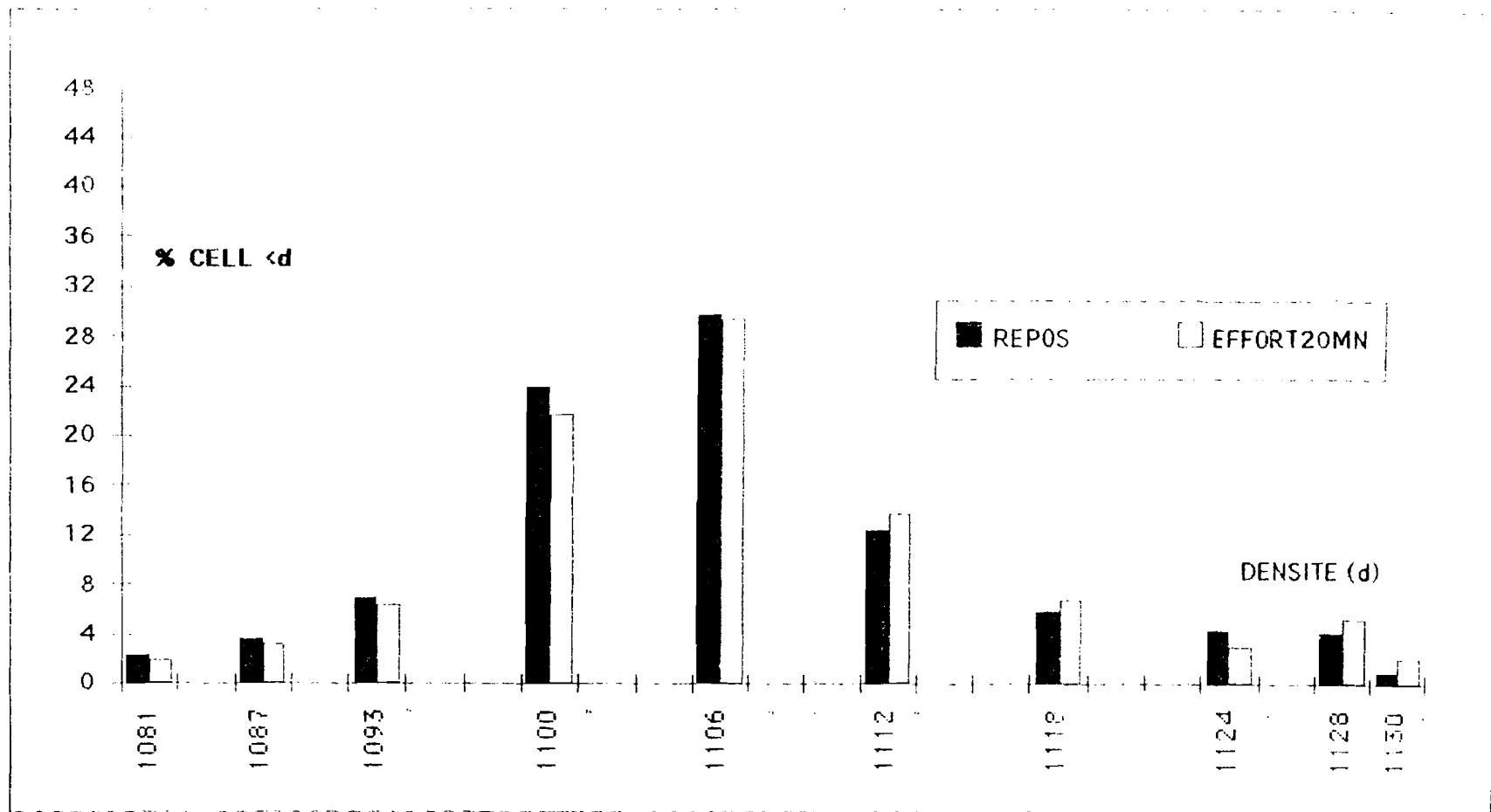
3-1-2- Chez l'ensemble des drépanocytaires

L'augmentation du pourcentage de nouvelles cellules concerne seulement la zone de densité supérieure à 1,106 (figure n°7).



**FIGURE NO 6: DISTRIBUTION DES ERYTHROCYTES EN FONCTION DE LEURS DENSITES CHEZ LES TEMOINS A HbAA AU REPOS ET A L'EFFORT RECTANGULAIRE**



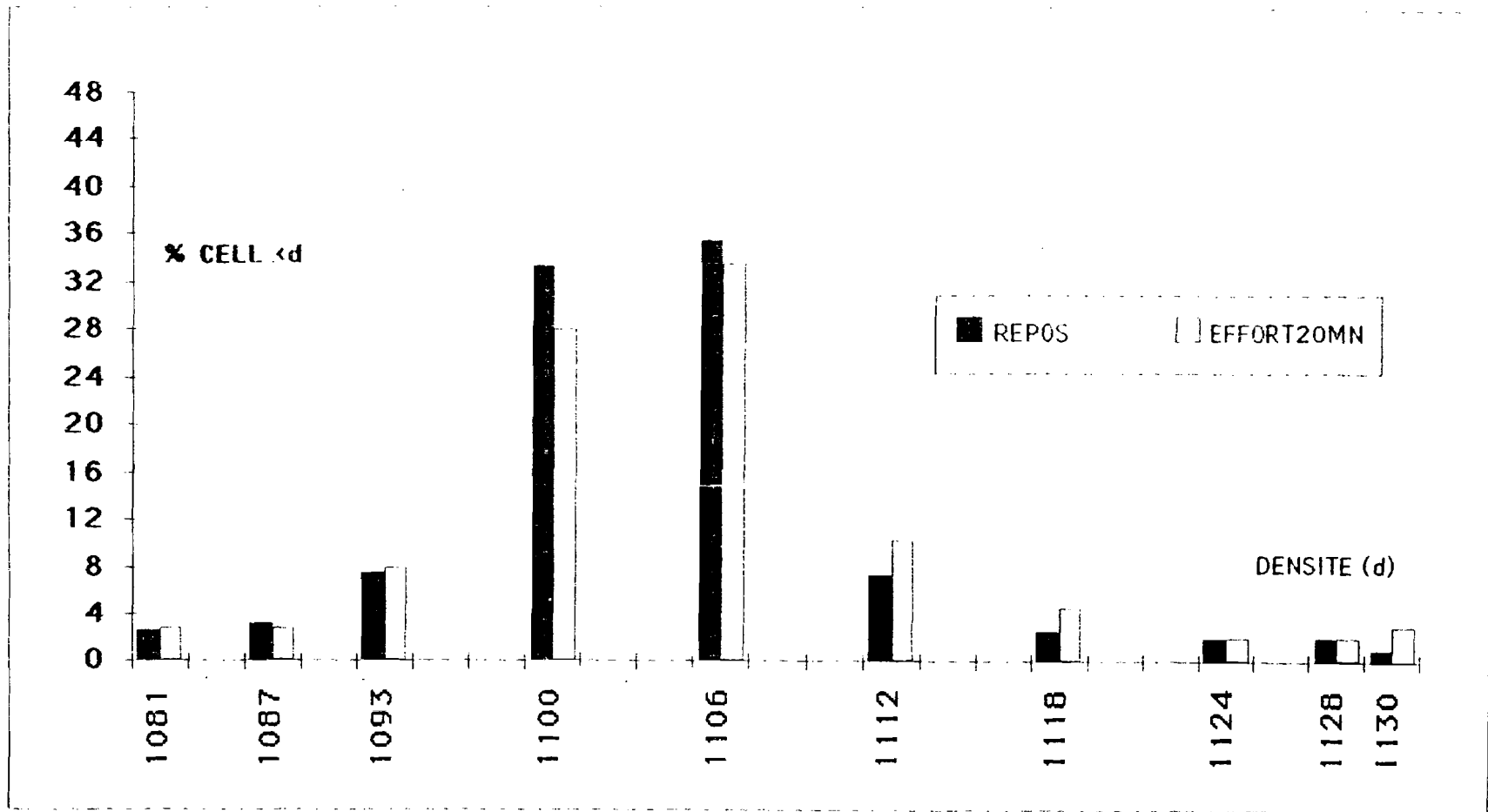


**FIGURE NO 7: DISTRIBUTION DES ERYTHROCYTES EN FONCTION DE LEURS DENSITES CHEZ LES DREPANOCYTAIRES A HbSS AU REPOS ET A L'EFFORT RECTANGULAIRE**

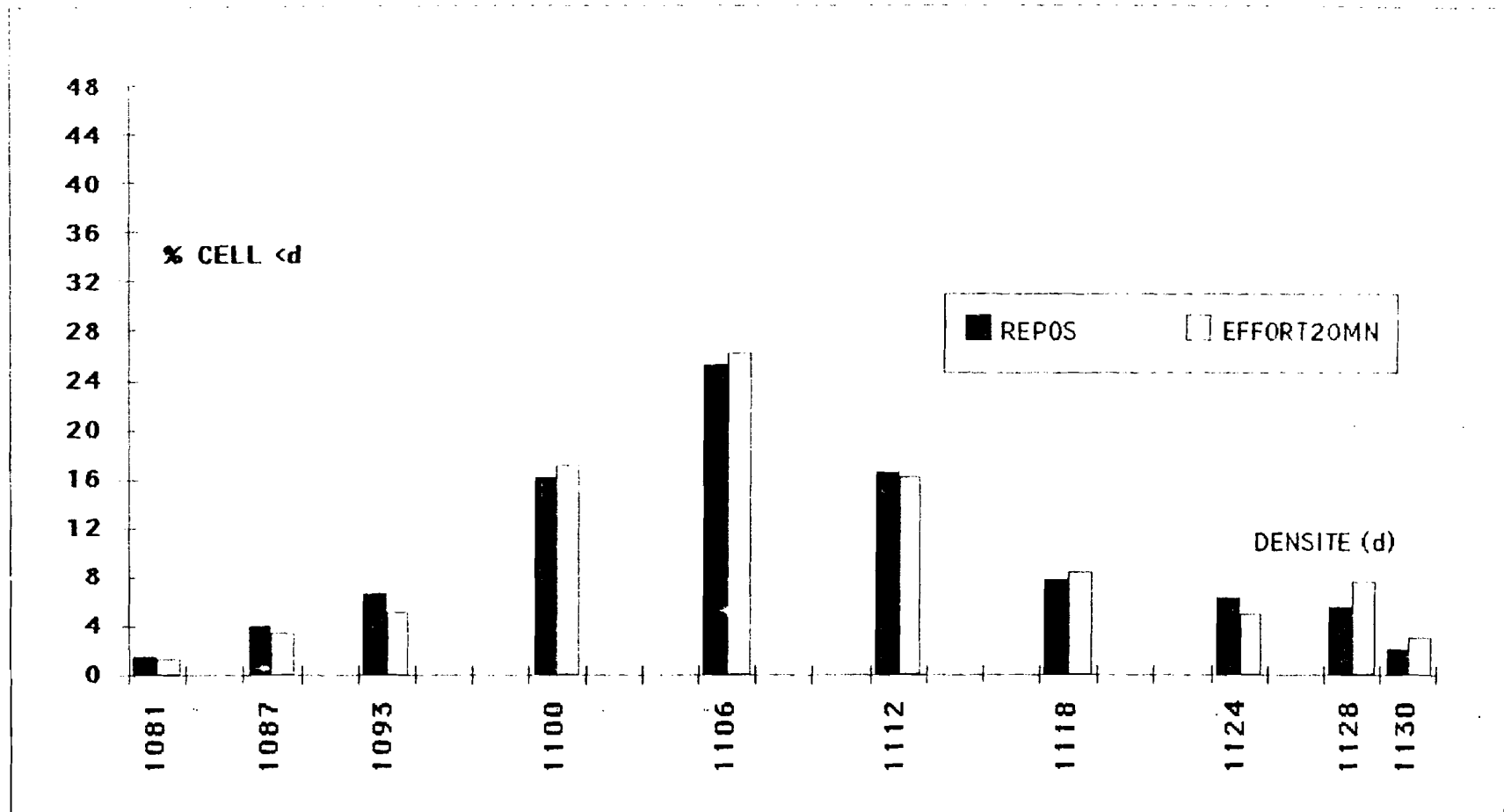
3-1-3- Chez les deux sous-groupes de sujets  
drépanocytaires

Pour les densités comprises entre 1,090 et 1,093 et celles supérieures à 1,102, les taux d'apparition de nouvelles cellules sont augmentés. Alors que, le taux de nouvelles cellules est abaissé pour les densités comprises entre 1,096 et 1,100.

Par contre, les effets de l'effort sont nuls sur la zone de densité supérieure à 1,120 chez les sujets du sous-groupe 1 (figure n°8). En revanche, le taux de nouvelles cellules de densité supérieure à 1,126 est nettement augmenté chez les sujets du sous-groupe 2 (figure n°9,).



**FIGURE NO 8: DISTRIBUTION DES ERYTHROCYTES EN FONCTION DE LEURS DENSITES CHEZ LE SOUS-GROUPE 1 DE DREPANOCYTAIRES AU REPOS ET A L'EFFORT RECTANGULAIRE**



**FIGURE No 9: DISTRIBUTION DES ERYTHROCYTES EN FONCTION DE LEURS DENSITES CHEZ LE SOUS -GROUPE 2 DE DREPANOCYTAIRES A HbSS AU REPOS ET A L'EFFORT RECTANGULAIRE**

### 3-2- EFFET DE L'EFFORT SUR L'HEMATOCRITE

#### 3-2-1- Chez les témoins

L'effort s'accompagne d'une augmentation statistiquement très significative de l'hématocrite qui s'élève en moyenne de  $2 \pm 1,40 \%$ . ( $P < 1\%$ ). (Tableau n°IX).

Pendant la phase de récupération, l'hématocrite de fin d'effort s'abaisse d'environ  $1,7 \pm 2,3$  sans rejoindre la valeur de repos. Cette baisse est statistiquement très significative ( $P < 1\%$ ) (Tableau n°IX).

#### 3-2-2- Chez les drépanocytaires

L'effort s'accompagne également d'une augmentation statistiquement significative, en moyenne de  $1,3 \pm 1,8 \%$  de l'hématocrite. ( $P < 5\%$ ) (Tableau n°X).

### 3-3- EFFET DE L'EFFORT SUR LES INDICES

#### DENSITOMETRIQUES

#### 3-3-1- Chez les témoins

A la fin de l'effort, la fraction F3 est augmentée en moyenne de  $13,5 \%$  par rapport à la valeur de repos. (F3 =  $65,3 \pm 18 \%$  contre  $51,8 \pm 20,7 \%$ ;  $P < 1 \%$ ).

Toutefois, cette augmentation globale de la fraction F3 n'est pas répartie de façon homogène au sein de ses sous-fractions F3-F4, F4-F5 et F5 (Tableau n°IX).

En effet, près de 80% de cette augmentation concernent la zone F3-F4 (cellules de densité moyenne comprise entre 1100 et 1110) contre  $12,6 \%$  pour la fraction F4-F5 (densité comprise entre 1110 et 1120) et seulement  $3,7\%$  pour la fraction F5 (densité supérieure à 1120).

		HbAA					
		n=32	W/R	RECUP/W	RECUP/R		
	Ht%	E.T					
		n=32	2,03	-1,7	0,6		
		E.T	1,4	2,3	2,1		
	WILCOXON		S	S	NS		
	F3	n=32	13,5	-4,2	9,2		
		E.T	11	9,4	9,1		
	WILCOXON		S	S	S		
	F4	n=32	2,2	-0,2	1,7		
		E.T	2,3	2,2	1,9		
	WILCOXON		S	NS	S	TABLEAU N° :IX	
	F3-F4	n=32	11,3	-3,9	7,5	COMPARAISON	
		E.T	11	9,1	8,7	AU TEST "T" DE WILCOXON	
	WILCOXON		S	NS	S	DES VARIATIONS DES HEMATOCRITES	
	F4-F5	n=32	1,7	-0,12	1,6	ET DES INDICES DENSITOMETRIQUES	
		E.T	2,3	2,3	1,7	SELON LES ETATS PHYSIOLOGIQUES	
	WILCOXON		S	NS	S	CHEZ LES SUJETS TEMOINS	
	F5	n=32	0,5	-0,09	0,4		
		E.T	0,9	0,6	0,8		
	WILCOXON		S	NS	S		
	D50	n=32	0,001	0	0,001		
		E.T	0,001	0	0,001		
	WILCOXON		S	NS	S		
	R60	n=32	0	0	0		
		E.T	0,001	0	0,001		
	WILCOXON		NS	NS	NS		

Les changements observés au niveau de chacune de ces trois sous-fractions de F3 sont statistiquement significatifs, de même que ceux de la D50. ( $P < 5\%$ ) (Tableau n°X).

Seule la R60 ne subit aucune modification significative à l'effort par rapport à sa valeur de repos.

### 3-3-2- Chez les drépanocytaires

A la fin de l'effort, la F3 n'est augmentée en moyenne que de 3,30 % (F3 = 63,8 +/- 14,70 % à 67,3 +/- 13,1 %). Cette augmentation n'est pas statistiquement significative ( $p > 5\%$ ). De même les changements des fractions F3-F4, F4-F5, de la D50 et de la R60 ne sont pas statistiquement significatifs ( $p > 5\%$ ). Ainsi, seuls les changements des deux sous fractions F4 et F5 sont statistiquement significatifs ( $P < 5\%$ ) et ce en raison des variations significatives de F5, les variations de la fraction F4-F5 n'étant pas non plus significatives. (Tableau n°X).

	HbSS	W/R	RECUP/W	RECUP/R
Ht%	n=21	1,3	-0,4	0,9
	E.T	1,8	1,9	1,9
WILCOXON		S	NS	S
F3	n=21	3,3	-0,14	3,2
	E.T	9,3	6,3	7,1
WILCOXON		NS	NS	NS
F4	n=21	2,4	-1,3	1,04
	E.T	4,3	3,3	5,4
WILCOXON		S	NS	NS
F3-F4	n=21	0,9	1,2	2,1
	E.T	8,6	6,3	7,6
WILCOXON		NS	NS	NS
F4-F5	n=21	0,8	-1,8	-1
	E.T	3	3,9	5,2
WILCOXON		NS	NS	NS
F5	n=21	1,6	0,4	2
	E.T	2,8	2,5	3,4
WILCOXON		S	NS	S
D50	n=21	0	0	0
	E.T	0,002	0,001	0,002
WILCOXON		NS	NS	NS
R60	n=21	0	0	0,001
	E.T	0,003	0,003	0,003
WILCOXON		NS	NS	NS

TABLEAU N°: X COMPARAISON AU  
TEST "T" DE WILCOXON  
DES VARIATIONS DES  
HEMATOCRITES ET DES INDICES  
DENSITOMETRIQUES SELON  
LES ETATS PHYSIOLOGIQUES  
CHEZ LES DREPANOCYTAIRES



3-4- EFFET DE L'EFFORT SUR LES HEMATOCRITES ET SUR  
LES INDICES DENSITOMETRIQUES POUR CHACUN DES  
DEUX SOUS-GROUPES DE SUJETS DREPANOCYTAIRES

3-4-1- L'hématocrite.

L'hématocrite s'accompagne, uniquement, d'une augmentation statistiquement significative dans le sous-groupe 2 ( $p < 5\%$ ). (Tableau n°XI).

3-4-2- Les indices densitométriques

Les fractions F4, F4-F5 et la D50 s'accompagnent d'une augmentation statistiquement significative dans le sous-groupe 1, ( $P < 5\%$ ), alors que seule la fraction F5 est statistiquement significative dans le sous-groupe 2 ( $P < 5\%$ ) (Tableau n°XI).

3-5- COMPARAISON DES VARIATIONS DES HEMATOCRITES  
ET DES PRINCIPAUX INDICES DENSITOMETRIQUES  
DES TEMOINS ET DES DREPANOCYTAIRES

3-5-1- L'hématocrite

L'augmentation de l'hématocrite observée entre le repos et l'effort est statistiquement plus importante chez les témoins que chez les drépanocytaires ( $2 \pm 1,40\%$  contre  $1,30 \pm 1,8\%$  ;  $p < 1\%$ ) (Tableau n°XII).

De même, la baisse de l'hématocrite observée au cours de la récupération est statistiquement plus importante chez les témoins que chez les drépanocytaires ( $-1,70 \pm 2,4\%$  contre  $-0,4 \pm 1,9\%$  ;  $p < 1\%$ ). (Tableau n°XII).

TABEAU N°XI : COMPARAISON AU TEST "T" DE WILCOXON DES  
VARIATIONS DES HEMATOCRITES ET DES INDICES  
DENSITOMETRIQUES SELON LES ETATS PHYSIOLOGIQUES  
CHEZ LES DEUX SOUS- GROUPES DE DREPANOCYTAIRES

HbSS									
W-REPOS	Ht%	F3	F4	F3-F4	F4-F5	F5	D50	R60	
n=9	0,9	7,3	3,8	3,6	2,6	1,2	0,001	0,002	
E.T	1,3	12,1	5,6	12,2	2,9	3,4	0,001	0,003	
WILCOXON	NS	NS	S	NS	S	NS	S	NS	
n=12	1,1	0,3	1,0	-0,7	-0,6	1,6	0,000	0,000	
E.T	1,6	5,2	3,3	4,1	4,1	2,4	0,001	0,004	
WILCOXON	S	NS	NS	NS	NS	S	NS	NS	
RECUP-EFFORT	Ht%	F3	F4	F3-F4	F4-F5	F5	D50	R60	
n=9	0,0	-1,9	-0,2	-1,7	0,1	-0,3	-0,001	0,001	
E.T	2,3	6,5	2,3	5,5	2,5	1,5	0,002	0,004	
WILCOXON	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	
n=12	-0,8	1,2	-1,8	2,9	-3,1	1,3	0,000	0,000	
E.T	1,5	6,0	4,7	6,3	5,1	2,8	0,001	0,004	
WILCOXON	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	
REC-REPOS	Ht%	F3	F4	F3-F4	F4-F5	F5	D50	R60	
n=9	0,9	5,4	3,6	1,9	2,7	0,9	0,001	0,002	
E.T	1,9	7,8	5,7	9,1	3,6	2,9	0,002	0,006	
WILCOXON	NS	NS	S	NS	S	NS	NS	NS	
n=12	0,3	1,5	-0,8	2,3	-3,7	2,9	0,000	0,001	
E.T	1,4	6,3	4,5	6,8	4,5	3,7	0,002	0,003	
WILCOXON	NS	NS	NS	NS	S	S	NS	NS	

### 3-5-2- Principaux indices densitométriques.

L'augmentation de la fraction F3 observée entre le repos et l'effort est statistiquement plus élevée chez les témoins que chez les drépanocytaires (13,6 +/- 11 % contre 3,3 +/- 9,3) ( $p < 1\%$ ). De même, la sous fraction F3-F4 et la D50 sont statistiquement plus élevées ( $P < 1\%$ ) chez les témoins que chez les drépanocytaires.

En revanche, les augmentations des fractions F4, F5, F4-F5, entre le repos et l'effort ne sont pas statistiquement différentes entre témoins et drépanocytaires ( $P > 5\%$ ). (Tableau n°XII).

## 3-6- LES DEUX SOUS-GROUPES DREPANOCYTAIRES

### 3-6-1- L'hématocrite

Les valeurs des hématocrites sont sensiblement les mêmes chez les deux sous-groupes de sujets drépanocytaires. La différence notée est non significative ( $P > 5\%$ ) (Tableau n°XIII).

### 3-6-2- Les indices densitométriques

Seules les variations des fractions F3 et F4-F5 sont statistiquement significatives ( $p < 5\%$ ) chez les deux sous-groupes de sujets drépanocytaires (Tableau n°XIII).

TABLEAU N°XII COMPARAISON AU TEST "U" DE MANN WHITNEY DES VARIATIONS DES HEMATOCRITES ET DES INDICES DENSITOMETRIQUES OBTENUS SELON LES ETATS PHYSIOLOGIQUES DES SUJETS TEMOINS ET DES SUJETS DRÉPANOCYTAIRES

W/REPOS HbAA/HbSS	Ht%	F3	F4	F3-F4	F4-F5	F5	D50	R60
n=32	2	13,6	2,2	11,3	1,8	0,5	0,001	0
E.T	1,4	11	2,3	10,9	2,3	0,9	0,001	0,001
n=21	1,3	3,3	2,4	1	0,8	1,6	0	0
E.T	1,8	9,3	4,3	8,6	3	2,8	0,002	0,003
M.W	S	TS	NS	TS	NS	NS	S	NS
RECUP/W	Ht%	F3	F4	F3-F4	F4-F5	F5	D50	R60
n=32	-1,7	-4,2	-0,21	-4	0,1	-0,9	0	0
E.T	2,4	9,4	2,2	0,1	2,3	0,6	0,001	0,003
n=21	-0,4	-0,1	-1,3	1,3	-2	0,4	0	0
E.T	1,9	6,3	3,3	6,3	4	2,5	0,001	0,003
M.W	TS	NS	NS	S	NS	NS	NS	NS
RECUP/REPOS	Ht%	F3	F4	F3-F4	F4-F5	F5	D50	R60
n=32	0,6	9,2	1,7	7,5	1,6	0,15	0,001	0
E.T	2,1	10	1,9	8,8	1,7	0,8	0,001	0,001
n=21	0,9	3,2	1	2,1	-1	2	0	0,001
E.T	1,9	7,1	5,4	7,6	5,2	3,4	0,002	0,003
M.W	NS	TS	NS	S	S	S	NS	NS

TABLEAU N°XIII

**COMPARAISON AU TEST 'U' DE MANN WHITNEY DES HEMATOCRITES  
ET DES INDICES DENSITOMETRIQUES SELON LES ETATS PHYSIOLOGIQUES**

**DES deux sous groupes de sujets drepanocytaires**

HbSS	Ht%	F3	F4	F3-F4	F4-F5	F5	D50	R60
<b>W-REPOS</b>								
n=9	0,9	7,3	3,8	3,6	2,6	1,2	0,001	0,002
E.T	1,3	12,1	5,6	12,2	2,9	3,4	0,001	0,003
n=12	1,1	0,3	1,0	-0,7	-0,6	1,6	0,000	0,000
E.T	1,6	5,2	3,3	4,1	4,1	2,4	0,001	0,004
<b>M.W</b>	NS	S	NS	NS	S	NS	NS	NS
<b>RECUP-REPOS</b>								
n=9	0,9	5,4	3,6	1,9	2,7	0,9	0,001	0,002
E.T	1,9	7,8	5,7	9,1	3,6	2,9	0,002	0,006
n=12	0,3	1,5	-0,8	2,3	-3,7	2,9	0,000	0,001
E.T	1,4	6,3	4,5	6,8	4,5	3,7	0,002	0,003
<b>M.W</b>	NS	NS	NS	NS	TS	NS	NS	NS

#### 4- ETUDE DES HEMATOCRITES ET DES PRINCIPAUX INDICES DENSITOMETRIQUES A LA RECUPERATION PASSIVE DE 20 MINUTES

##### 4-1- L'HEMATOCRITE

###### 4-1-1- Chez les témoins

L'hématocrite a une valeur qui se rapproche de celle de repos.

###### 4-1-2- Chez les drépanocytaires

L'hématocrite est significativement plus élevée par rapport à sa valeur basale de repos ( $p < 5\%$ ).

##### 4-2- LES INDICES DENSITOMETRIQUES.

###### 4-2-1- Chez les témoins

La plupart des indices densitométriques tendent à retrouver des valeurs proches de celles de repos, mais leurs élévations demeurent statistiquement significatives pour les fractions F3, F4, F4-F5 et F5 sauf la R60 ( $P < 5\%$ ).

###### 4-2-2- Chez les drépanocytaires

Les indices densitométriques sont, au plan statistique, strictement identiques à ceux obtenus à l'effort, sauf la F5 qui demeure statistiquement significative ( $p < 5\%$ ).

#### 4-3- COMPARAISON DE L'HEMATOCRITE ET DES INDICES DENSITOMETRIQUES DESTEMOINS ET DES DREPANOCYTAIRES

##### 4-3-1- L'hématocrite.

L'hématocrite reste significativement élevé chez les drépanocytaires ( $p < 5\%$ ), alors qu'il se rapproche de sa valeur de repos chez les témoins.

##### 4-3-2- Les Indices densitométriques.

Les différences observées au niveau des indices densitométriques pendant les périodes de fin d'effort et de récupération chez les témoins et chez les drépanocytaires ne sont pas statistiquement significatives. ( $P > 5\%$ ), (Tableau n°XIV).

#### 4-4- COMPARAISON DES HEMATOCRITES ET DES INDICES DENSITOMETRIQUES DES DEUX SOUS-GROUPES DE DREPANOCYTAIRES

##### 4-4-1- L'hématocrite

L'hématocrite du sous groupe 1 demeure élevé alors que celui du sous groupe 2 retrouve sa valeur basale de repos. Toutefois, la différence observée au sein du sous groupe 1 n'est pas statistiquement significative. ( $P > 5\%$ ).

##### 4-4-2- Les indices densitométriques

Dans le sous groupe 1 les fractions F4 et F4-F5 demeurent statistiquement significatives à l'exception de la D50. Par contre, dans le sous groupe 2, seule la fraction F5 est significativement augmentée, alors que la fraction F4-F5 chute significativement. Les différences notées sont statistiquement très significatives, ( $p < 1\%$ ), (Tableau n°XV).

**TABLEAU N°:XIV COMPARAISON AU TEST "U" DE MANN WHITNEY DES HEMATOCRITES ET DES INDICES DENSITOMETRIQUES OBTENUS A LA RECUPERATION DE 20 MINUTES DES SUJETS TEMOINS ET DES SUJETS DREPANOCYTAIRES**

	Ht%	F3	F4	F3-F4	F4-F5	F5	D50	R60
<b>HbAA</b>								
<b>n=32</b>	41,3	61,1	6,7	54,4	5,9	0,7	1,1	0,007
<b>E.T</b>	3,8	20,8	4,4	18	3,7	1	0,002	0,001
<b>HbSS</b>								
<b>n=21</b>	24,2	67,1	26,8	40,4	11,4	15,4	1,103	0,017
<b>E.T</b>	4,7	12,7	12,7	7	5,4	8,6	0,003	0,006
<b>M.W</b>	TS	NS	TS	TS	TS	TS	TS	TS



**TABLEAU N°: XV COMPARAISON AU TEST "U" DE MANN WHITNEY DES HEMATOCRITES ET DES INDICES DENSITOMETRIQUES OBTENUS A LA RECUPERATION PASSIVE DE 20 MINUTES DES SOUS- GROUPES DE SUJETS DREPANOCYTAIRES**

	Ht	F3	F4	F3-F4	F4-F5	F5	D50	R60
<b>HbSS</b>								
<b>n=9</b>	<b>24,4</b>	<b>57,6</b>	<b>15,7</b>	<b>41,9</b>	<b>7,3</b>	<b>8,3</b>	<b>1,101</b>	<b>0,012</b>
<b>E.T</b>	<b>5,5</b>	<b>9,1</b>	<b>5,8</b>	<b>6,3</b>	<b>3,4</b>	<b>3,5</b>	<b>0,001</b>	<b>0,005</b>
<b>HbSS</b>								
<b>n=12</b>	<b>23,9</b>	<b>74,3</b>	<b>35,1</b>	<b>39,3</b>	<b>14,4</b>	<b>20,7</b>	<b>1,105</b>	<b>0,022</b>
<b>E.T</b>	<b>4,1</b>	<b>10,1</b>	<b>9,7</b>	<b>7,6</b>	<b>4,6</b>	<b>7,3</b>	<b>0,005</b>	<b>0,006</b>
<b>M.W</b>	<b>NS</b>	<b>TS</b>	<b>TS</b>	<b>NS</b>	<b>TS</b>	<b>TS</b>	<b>TS</b>	<b>TS</b>

## 5- ETUDE DES GAZ DU SANG ARTERIEL

### 5-1- CHEZ LES TEMOINS

Les gaz du sang artériel sont strictement normaux (pH 7,39 ; PaO<sub>2</sub> 90 Torr ; PCO<sub>2</sub> 40 Torr).

L'épreuve d'effort de 20 minutes s'accompagne d'une acidose métabolique modérée (pH = 7,34) avec alcalose gazeuse modérée (baisse de 3 Torr de la PaCO<sub>2</sub>) et normoxémie.

A la 20ème minute de récupération, les gaz du sang retrouvent leur valeur initiale de repos à l'exception de la persistance d'une alcalose gazeuse (Tableau n°XVI).

### 5-2- CHEZ LES DREPANOCYTAIRES

Au repos, le pH est normal mais il existe une hypoxémie modérée (PaO<sub>2</sub> = 89,8 Torr) avec hypocapnie chronique modérée à 31,3 Torr en moyenne.

L'épreuve d'effort entraîne une acidose métabolique minime, (pH passant de 7,39 à 7,36) avec majoration de l'hypocapnie chronique de repos, sans retentissement sur l'oxygénation artérielle (PaO<sub>2</sub> = 88,3 Torr).

La récupération s'accompagne de la persistance de l'acidose métabolique minime et de l'hypocapnie chronique (Tableau n°XVI).

### 5-3- COMPARAISON DES GAZ DU SANG DES 2 SOUS-GROUPES DE DREPANOCYTAIRES

Les gaz du sang sont sensiblement les mêmes chez les 2 sous-groupes à l'exception de la PaO<sub>2</sub> d'effort et de récupération de 20 minutes où, le sous groupe 1 présente des valeurs significativement plus élevées que celles du sous groupe 2. Les différences observées sont statistiquement significatives (p<1 % ; p<5 %) (Tableau n°XVII).

TABLEAU N°XVII COMPARAISON AU TEST "U" DE "MANN WHITNEY", DES GAZ DU SANG ET DE LA SATURATION DE L'HEMOGLOBINE EN OXYGENE SELON LES ETATS PHYSIOLOGIQUES DES SUJETS TEMOINS ET DES SUJETS DREPANOCYTAIRES

<b>HbAA/HbSS</b>	<b>H+</b>	<b>pH</b>	<b>PO2</b>	<b>PCO2</b>	<b>Sa O2</b>
<b>REPOS</b>	mmol/l		mmHg	mmHg	%
n=32	1,145	7,38	97,5	34,3	96,4
E.T	0,0004	0,01	7,1	2	1,3
n=21	1,1449	7,39	89,8	31,3	90,8(n=13)
E.T	0,0005	0,02	4,3	2,5	2,7
<b>M.W</b>	<b>NS</b>	<b>NS</b>	<b>TS</b>	<b>TS</b>	<b>TS</b>
<b>EFFORT20'</b>	<b>H+</b>	<b>pH</b>	<b>PO2</b>	<b>PCO2</b>	<b>Sa O2</b>
	mmol/l		mmHg	mmHg	%
n=32	1,1456	7,34	98,1	31	96,6
E.T	0,0006	0,03	6,9	2,3	1,6
n=21	1,1455	7,36	88,3	28,4	89,9(n=13)
E.T	0,0006	0,03	4,9	2,9	3,4
<b>M.W</b>	<b>NS</b>	<b>S</b>	<b>TS</b>	<b>TS</b>	<b>TS</b>
<b>RECUP20'</b>	<b>(H+)</b>	<b>pH</b>	<b>PAO2</b>	<b>PCO2</b>	<b>SAO2</b>
	mmol/L		mmHg	mmHg	%
n=32	1,145	7,38	96,3	31,6	95,8
E.T	0,0004	0,02	7,7	3,5	2,2
n=21	1,1449	7,37	86,2	31,2	91,02(n=13)
E.T	0,0006	0,03	7,6	3,1	3,6
<b>M.W</b>	<b>NS</b>	<b>NS</b>	<b>TS</b>	<b>NS</b>	<b>S</b>

**TABLEAU N°XVI: COMPARAISON AU TEST "U" DE "MANN WHITNEY," DES GAZ  
DU SANG SELON LES ETATS PHYSIOLOGIQUES DES  
DEUX SOUS- GROUPES DE SUJETS DREPANOCYTAIRES**

HbSS	REPOS	pH	PO2 mmHG	PCO2 mmHG
n=9		7,38	92,4	32,4
E.T		0,03	5,1	2,4
n=12		7,4	89,9	30,6
E.T		0,03	5,1	2,1
M.W		NS	NS	NS
	EFFORT20'	pH	PO2 mmHG	PCO2 mmHG
n=9		7,36	91,1	28,5
E.T		0,03	4,1	3,5
n=12		7,37	85,6	27,9
E.T		0,04	4,2	2,3
M.W		NS	TS	NS
	RECUP20'	pH	PO2 mmHG	PCO2 mmHG
n=9		7,38	89,3	31,2
E.T		0,03	8	3,3
n=12		7,39	85,5	30,7
E.T		0,03	7,7	3
M.W		NS	S	NS

## C H A P I T R E    I V

---

---

### DISCUSSION - CONCLUSIONS

#### 1- LIMITE DE LA METHODE

Les valeurs de densité médiane (D50) et d'écart densitométrique moyen (R60) obtenues dans notre série, chez les témoins et chez les drépanocytaires, sont identiques à celles rapportées par WAHON (1987) dans une étude menée à Abidjan sur du sang veineux chez chacune de ces deux populations.

De même ces valeurs sont retrouvées semblables à celles de RODGERS et al (1985) en ce qui concerne la population à HbAA, et à celle de NOGUCHI et al (1985) en ce qui concerne la population à HbSS.

Par contre, nos valeurs sont plus faibles que celles de BAUDIN et al (1986) et de CHOMEL et al (1989) concernant le groupe témoin, et plus élevées que celles rapportées par RODGERS et al (1985) et BAUDIN et al (1986), concernant le groupe des drépanocytaires. Ces différences, bien que statistiquement significatives, restent très modérées, dans les limites des variations physiologiques.

Certes, chez les drépanocytaires, ces différences pourraient être attribuées à la nature artérielle de nos prélèvements, la plupart des auteurs ayant eu recours à des prélèvements de sang veineux.

De même, la composition exclusivement masculine de nos sujets témoins et drépanocytaires peut rendre compte de la valeur élevée de ces deux indices, BLUMENFELD et al (1988) ayant montré des taux de fractions denses statistiquement plus importants chez les hommes que chez les femmes. Enfin, l'anticoagulant peut être également incriminé, l'héparine, que nous avons utilisée, majore la densité cellulaire par rapport à l'ACD (NAKASHIMA et al 1973).

Toutefois, ces explications ne peuvent être retenues puisque par rapport aux données de la littérature, les témoins présentaient des différences de sens opposés à celles identifiées chez les drépanocytaires. Autrement dit, si la méthodologie était en cause, les variations par rapport à la littérature, surtout par rapport à un même auteur tel que BAUDIN, auraient dûes être de même ordre de grandeur pour les témoins et pour les drépanocytaires.

Ainsi, bien que les différences observées restent statistiquement significatives par rapport à celles rapportées par plusieurs auteurs, elles n'ont pas, à notre avis, de signification biologique.

## 2- A L'ETAT DE REPOS

Le profil moyen de densité globulaire de nos drépanocytaires se différencie de celui des témoins par un étalement plus large de la densité érythrocytaire vers les zones de faible (<1090) et de forte (>1110) densité. Cette observation est en accord avec la description comparative des profils de densité des témoins et des drépanocytaires majeurs retrouvée dans la littérature ODA et al (1978), WEENS et LESSIN (1984), RODGERS et al (1985), FABRY et NAGEL (1982). La comparaison de tous les indices densitométriques confirme cette différence morphologique des profils, les fractions lourdes et les fractions légères étant statistiquement plus élevées chez les drépanocytaires que chez les témoins.

Toutefois ces résultats globaux, obtenus par moyenne des valeurs individuelles, ne se retrouvent pas chez tous les sujets. Les témoins présentaient tous un profil de densité caractérisé par une très forte proportion de cellules de densité identique ou très voisine, la densité du reste de la population globulaire s'écartant peu de cette valeur centrale. Ce faible écart de densité au sein de la population globulaire d'un même sujet témoin s'exprime par la faible valeur de la densité érythrocytaire intra-individuelle. En revanche, la variabilité de la D50 d'un témoin à l'autre, de même que l'étendue relativement large de l'échelle de densité globulaire chez ces mêmes témoins rend compte de l'hétérogénéité inter-individuelle des profils de densité globulaire chez les sujets à Hb normale.

La raison de cette variabilité inter-individuelle de la D50 ne trouve aucune explication dans les corrélations toutes non significatives entre la D50 et les indices hématologiques ou gazométriques.

Chez les drépanocytaires au contraire, l'étude des régressions linéaires simples, révèle une corrélation positive forte ( $r=0,65$  ;  $P<0,001$ ) entre la densité moyenne (D50) et l'écart de densité (R60).

Les quatre sujets ayant les densités les plus faibles présentent des petits écarts de densité. Leurs profils de densité sont tout à fait superposables au profil de densité moyen des témoins (figure n°10). Autrement dit, il est donc possible de confondre un profil de densité d'un sujet témoin avec celui d'un sujet à HbS. Pour préciser les limites de la distinction morphologique du profil de densité entre témoins et drépanocytaires, la sensibilité ( $ss'$ ) et la spécificité ( $sp$ ) de chaque indice densitométrique sont déterminées. Seules la fraction F5 ( $ss'=97\%$ ),  $sp=100\%$ ), la R60 ( $ss'=89\%$ ,  $sp=100\%$ ) et, dans une moindre mesure, l'écart de densité des fractions lourdes D1 ( $ss'=86\%$  ,  $sp=100\%$ ) et la fraction F4 ( $ss'=89\%$  ;  $sp=89\%$ ) se sont révélés discriminants.

En revanche, la D50, pourtant largement utilisée par les différents auteurs pour caractériser les profils de densité, se révèle d'une sensibilité médiocre ( $ss'=67\%$ ). Certes cette faible sensibilité de la D50 ne remet pas en cause l'évidente hétérogénéité des profils de densité chez les drépanocytaires, mais souligne sa relative étendue au sein du groupe témoin (De 1,095 à 1,105 chez les HbAA contre



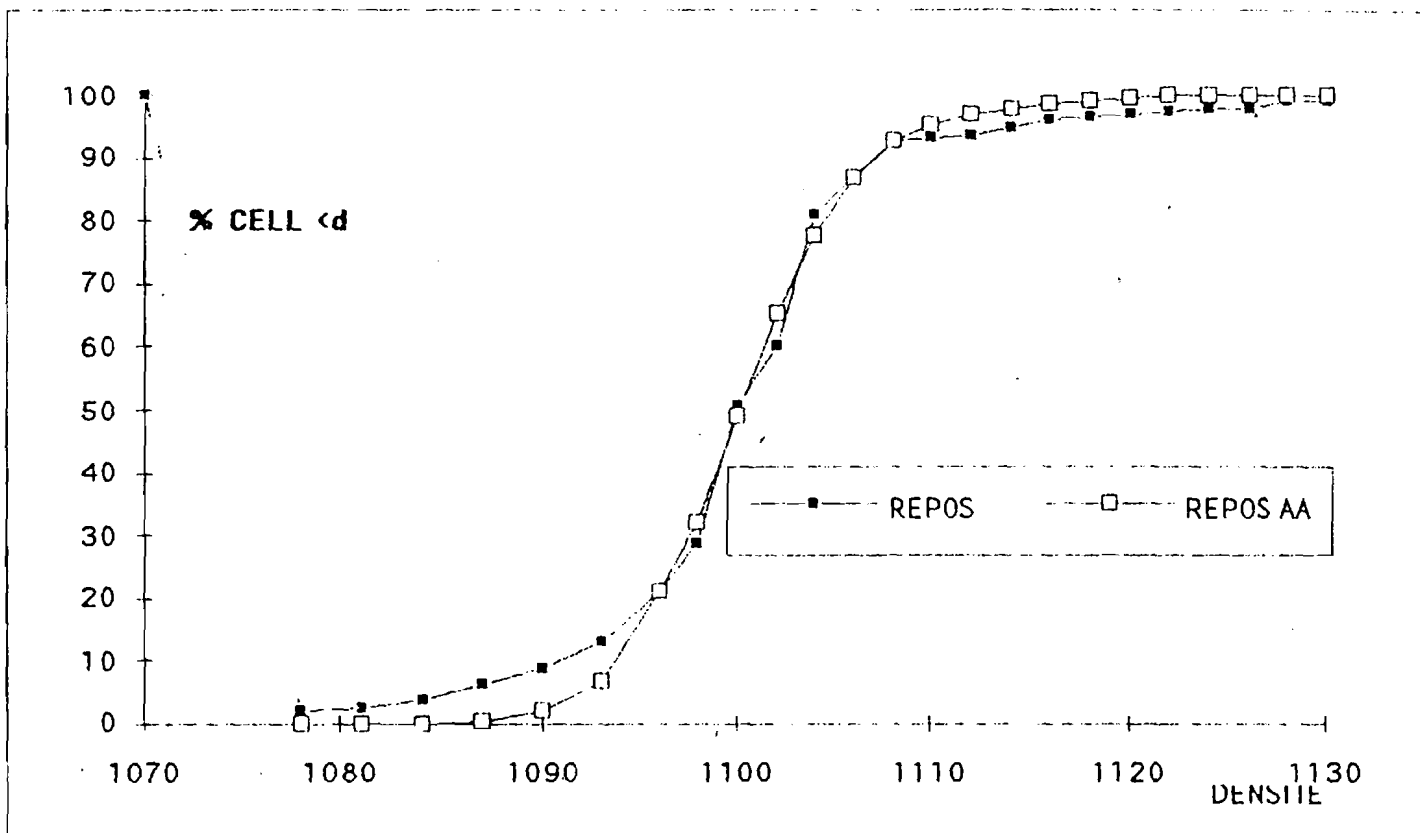


FIGURE No 10: COMPARAISON DU PROFIL MOYEN DE DENSITE DES ERYTHROCYTES DES TEMOINS ET DES DREPANOCTAIRES (n=4) au repos

de 1,098 à 1,108 chez les HbS). De ce fait, la D50 n'apparaît pas devoir être retenue comme index de l'altération du profil de densité globale, comme le suggérait KURANTSIN-MILLS et al (1987).

En revanche, l'élargissement de la R60 chez les drépanocytaires rend compte de l'hétérogénéité intra-individuelle de la densité globulaire.

En effet, le profil de densité des drépanocytaires se distingue de celui des témoins par l'élargissement de l'écart de densité R60 et par la présence d'une fraction de cellules très denses F5. De plus, la R60 est très fortement corrélée à F5 ( $r=0,89$ ,  $p<10^{-3}$ ) et, dans une moindre mesure, à la fraction de cellules denses F4-F5 ( $r=0,69$ ) ;  $p<10^{-3}$ ). Ces résultats suggèrent que l'hétérogénéité de la densité érythrocytaire exprimée par la R60 se reflète de façon particulière à travers la seule fraction F5. (Haute valeur de cette corrélation car les 2 variables sont rigoureusement indépendantes, la R60 excluant la F1 et la F5 WEENS et LESSIN (1984), RODGERS et al (1985) ).

En corollaire, l'exploration de l'hétérogénéité intra individuelle de la densité globulaire peut se limiter à la détermination du fragment F5, ce d'autant que sa sensibilité et sa spécificité sont excellentes.

Une telle détermination est peu onéreuse et facilement réalisable avec des moyens beaucoup moins importants que ceux exigés par l'électrophorèse. De ce fait, elle peut être proposée comme moyen de dépistage de la drépanocytose homozygote.

Néanmoins, la sensibilité et la spécificité de F5 devraient être évaluées dans les autres formes de drépanocytoses afin d'en situer les limites diagnostiques.

En effet, F5 n'étant pas significativement corrélée au taux d'hémoglobine S, sa détermination ne constitue qu'une évaluation indirecte des conséquences d'un taux élevé, supérieur à 80 %, de l'hémoglobine S.

Par ailleurs, LABIE et KRISHNAMOORTHY (1988) indiquent que la sévérité de la drépanocytose homozygote est atténuée par la présence d'HbF.

Pour ces auteurs, la présence d'hémoglobine S diminue la production de cellules denses parce que l'HbF ne copolymérise pas avec l'hémoglobine S et empêche la transformation falciforme des cellules.

Dès lors, un taux élevé d'HbF s'accompagnerait d'un faible taux de fractions denses.

Mais dans notre étude, l'absence de corrélation significative ( $r=0,31$  ;  $p > 0,202$ ) entre les fractions S (moyenne=87,6 +/- 4 %) et les indices densitométriques montre que la sévérité clinique n'est pas forcément liée au pourcentage de fraction S et au faible taux d'HbF (moyenne 8,8 +/- 4 %).

FABRY et NAGEL (1982) indiquent que F5 est constituée de plusieurs types de globules rouges : des drépanocytes irréversibles surtout, mais aussi des drépanocytes réversibles et des sphérocytes très denses. Ces cellules ne sont pas spécifiques de cette fraction puisqu'elles sont identifiées dans des fractions densitométriques moins élevées, équivalentes à notre fraction F4-F5 (moyenne = 12,3 +/- 7,8) .

Cette pluralité des types globulaires et leur manque de spécificité vis-à-vis de la fraction F5 pourrait expliquer l'absence de corrélation significative entre la numération des drépanocytes irréversibles et la fraction F5, dans notre étude, en accord avec les données de la littérature FABRY et NAGEL (1982).

En revanche, l'absence de liaison corrélatrice significative entre R60 et la fraction de faible densité F1 ( $r=0,07$  ;  $p>>5\%$ ) signifie que les cellules légères, composées de réticulocytes surtout mais aussi de globules blancs et de thrombocytes n'induisent pas de façon significative, de modification de la R60. Autrement dit, l'hétérogénéité intra-individuelle de la densité érythrocytaire dans la drépanocytose majeure est indépendante de la fraction de cellules légères. Cette dernière, dominée numériquement par les réticulocytes (35 % selon FABRY et NAGEL (1982) traduirait la réponse érythropoïétique à l'anémie chronique. Contrairement à BILLET et al (1986), LANDE et al (1988) rapportent une corrélation négative étroite entre la concentration sanguine en hémoglobine et la fraction de cellules légères. Mais dans notre travail, la fraction de cellules légères n'est corrélée ni avec la concentration sanguine en hémoglobine, ni avec le taux d'hémoglobine S, ni avec les fractions lourdes F5.

Nos résultats, en opposition totale avec ceux de LANDE sur ce point sont compatibles avec l'extrême hétérogénéité du volume réticulocytaire (et donc de leur densité) soulignée par RODGERS et al (1985). Par ailleurs, il est clairement admis que la stimulation érythropoïétique,

qu<sup>o</sup> reflétant la numération des réticulocytes, pouvait être déclenchée par une baisse de la concentration sanguine en hémoglobine, une hypoxémie artérielle ou simultanément par ces deux facteurs. Dans la drépanocytose majeure, ces deux facteurs coexistent à un degré de sévérité variable et indépendant l'un de l'autre LONSDORFER et al (1983, 1986). En conséquence, toute corrélation positive entre fraction légère et concentration en hémoglobine ne peut être que fortuite.

Si le degré d'anémie n'est pas corrélé au taux de cellules légères, en revanche, la fraction de cellules très denses F5, est inversement liée à la saturation artérielle en O<sub>2</sub> de l'hémoglobine ( $r = -0,79$  ;  $p < 0,2 \%$ ).

Cette corrélation inverse traduit la relative incompétence des cellules à forte densité au transport sanguin de l'oxygène. Mieux, les coefficients de corrélations obtenus à partir des équations de régressions linéaires simples entre la saturation artérielle en O<sub>2</sub> et les fractions de densité croissante F3-F4, F4-F5 et F5 établit la relation inverse entre la saturation en O<sub>2</sub> de l'hémoglobine et la densité érythrocytaire. Ces résultats confirment ceux de FABRY et NAGEL (1982) qui, en étudiant la P50 de chacune des 4 fractions cellulaires de densité croissante, démontre la baisse de l'affinité de l'hémoglobine pour l'O<sub>2</sub> en rapport avec l'augmentation de la densité érythrocytaire. La détermination simultanée du C.C.M.H. lui permet de conclure que les cellules très denses dépassent les concentrations en hémoglobine à partir desquelles survient la cristallisation de l'hémoglobine.

SEAKINS et al (1973), en étudiant in vitro l'affinité pour l'O<sub>2</sub> de solution d'hémoglobines à concentration croissante, ont déjà décrit l'augmentation brutale de la P50 dès que le seuil de polymérisation cellulaire rend compte, du moins en partie, de la désaturation du sang artériel. Quel est alors l'impact des gaz du sang, et singulièrement de la P<sub>O2</sub> et du pH artériel, dans cette désaturation ?

Aucune étude, à notre connaissance n'a abordé cette question. L'hypoxémie de gravité variable retrouvée chez les drépanocytaires par rapport à la PaO<sub>2</sub> de nos témoins (p<1%) est fortement corrélée à la Sat O<sub>2</sub> (r=0,89 ; P<10<sup>-3</sup>) mais n'est pas statistiquement liée à F5 (r=0,41 ; p>5%). De ce fait, hypoxémie et hyperdensité cellulaire se comportent comme deux co-facteurs indépendants susceptibles d'induire respectivement une désaturation artérielle. Au plan physiopathologique, l'hypoxémie apparaît comme un facteur acquis, lié aux séquelles sur la fonction d'hématose des micro-infarctus pulmonaires consécutifs des accidents vaso-occlusifs intra parenchymateux auxquelles s'ajouteraient celles des nombreuses atteintes infectieuses du poumon qui émaillent l'enfance chez le drépanocytaire BEGUE (1984).

Enfin, les corrélations négatives entre le pH artériel et la saturation artérielle en O<sub>2</sub> d'une part (r = -0,647 p<2%) et entre le pH artériel et la PaO<sub>2</sub> d'autre part (r= -0,58 ; p<5%) suggèrent que l'alcalose mixte chronique résulte d'un mécanisme de compensation rénal, et ventilatoire en réponse à l'hypoxémie artérielle, réduisant aussi l'élévation importante de la P50.

En résumé, les données biologiques au repos indiquent que les drépanocytaires présentent une anémie chronique de sévérité moyenne importante, associée à une hypoxémie d'importance minime. L'évaluation des profils de densité érythrocytaire retrouve la classique hétérogénéité densitométrique dont la sévérité variable d'un drépanocytaire à l'autre s'exprime par la valeur de l'écart densitométrique R60 ou mieux par la fraction densitométrique F5. Cette dernière grandeur F5 se révèle discriminative entre témoins et drépanocytaires homozygotes lorsque sa valeur est supérieure à 2%. L'étude des corrélations linéaires entre grandeurs densitométriques et gazométriques permet de reconnaître dans l'hypoxémie artérielle et dans le taux de cellules très denses (F5) les deux principaux déterminants de la désaturation artérielle en O<sub>2</sub>, par ailleurs non liée à la sévérité de l'anémie chronique.

C'est dans cet état biologique de repos que les drépanocytaires ont subi leur épreuve d'effort afin d'évaluer les éventuelles modifications des profils de densité globulaire au cours ou au décours d'une activité physique d'intensité modérée soutenue pendant 20 minutes. Une semaine auparavant, les drépanocytaires ont exécuté sur bicyclette ergométrique une épreuve d'effort exhaustive à charge croissante qui a révélé une puissance maximale tolérée abaissée en moyenne de 43% par rapport à la P.M.T. moyenne du groupe témoin.

Cette faible P.M.T a été pressentie à l'analyse première des données biométriques, lesquelles ont objectivé un déficit pondéral franc chez l'ensemble des drépanocytaires, en moyenne abaissé de 20% par rapport au poids moyen des témoins.

Ce déficit pondéral est interprété comme la conséquence d'un comportement d'économie d'effort acquis par le drépanocytaire pendant son enfance. En effet, les expériences multiples de fatigabilité rapide et prolongée dues à l'anémie chronique, et de déclenchement de crise vaso-occlusive au cours et au décours d'une activité ludique et physique importante ont dû apaiser les tempéraments même les plus vigoureux. Cette inaptitude physique aérobie relative, déjà rapportée dans les travaux antérieurs du laboratoire LONSDORFER et al (1983, 1986), BOGUI et al (1989) impose de rapporter l'intensité de l'effort au poids corporel afin d'en exclure la composante liée au déficit pondéral.



### 3- A L'ETAT D'EFFORT MODERE DE 20 MINUTES

La relation effort physique-crise drépanocytaire est subjective puisque aucune preuve expérimentale ne l'a démontrée clairement.

Par ailleurs, les travaux antérieurs de notre laboratoire dont le protocole d'étude ont utilisé des efforts exhaustifs de longue durée ne se sont pas soldés par l'éclosion d'une crise à de rares exceptions près. En conséquence, la relation entre effort physique et crise mérite d'être élucidée.

BALLAS et SMITH (1992) ont montré, dans une étude réalisée au repos, que la crise vaso-occlusive est précédée, 1 à 3 jours, d'une augmentation de la fraction F4 dont l'amplitude de variation est de 6 à 13 % .

Notre travail a permis de mettre en évidence, chez les témoins à HbAA, une augmentation globale de toutes les densités cellulaires, à l'exception du pourcentage de cellules de densité inférieure à (1090). Cette augmentation concerne les cellules de densité comprise entre 1,100 et 1,110 ; puis du pourcentage de cellules denses (F4) dont l'amplitude de variation est de 50 % . Mais cette élévation de densité apparait essentiellement localisée au niveau de la fraction (F3-F4) (zone de densité normale) en raison de sa prédominance.

Chez l'ensemble des drépanocytaires, l'effort entraîne une augmentation des fractions F4 ou F5 susceptibles de provoquer des crises vaso-occlusives dont les amplitudes de variation sont respectivement de 9 et de 12 % .

Mais, l'étude des effets de l'effort chez les deux sous groupes de drépanocytaires définis montre clairement que tous les drépanocytaires ne réagissent pas de la même façon au stress physiologique.

Le sous-groupe 1 augmente ses fractions F4 et F5 respectivement de 31 % et de 15 % alors que ces fractions sont respectivement de 3 et 9 % dans le sous-groupe 2.

Nous remarquons donc que l'augmentation du pourcentage de cellules denses observées à l'effort sont au moins équivalentes sinon supérieures à celles rapportées par BALLAS et SMITH (1992).

Par ailleurs, il a été prouvé que l'acidose, l'hypoxémie, l'hémoconcentration, favorisent l'augmentation de la concentration corpusculaire moyenne de l'hémoglobine S et sa polymérisation, ce qui entraînerait donc l'élévation de la densité cellulaire BEGUE (1984).

Or, dans notre travail, l'absence de corrélation significative entre ces différents paramètres ci-dessus cités, suggère que les augmentations de densité cellulaire observées seraient dues à une déshydratation des globules rouges.

Le cytoplasme des érythrocytes humains est riche en  $K^+$ .

Le globule rouge étant entouré d'un milieu pauvre en  $K^+$  (le plasma), il en résulte l'existence d'un gradient électro-chimique substantiel qui favorise le flux de  $K^+$  de la cellule vers l'extérieur. Dans les conditions normales cette tendance à la perte de  $K^+$  est empêchée par la membrane qui possède une assez faible perméabilité aux cations monovalents et une pompe à ATP, qui ramène le  $K^+$  du milieu extracellulaire vers l'intérieur.

Supposons que l'effort provoque une augmentation substantielle de la perméabilité spécifique de la membrane aux ions  $K^+$ .

Si le flux de  $K^+$ , qui en résulte, est supérieur à la capacité de la pompe de ramener les ions  $K^+$  à l'intérieur de la cellule, le globule rouge va subir une perte nette de ces ions.

Bien entendu, l'ion chlore sortira en même temps pour assurer la neutralité électrique. Cette perte de  $K^+Cl^-$  s'accompagne d'une fuite d'eau qui maintiendrait constante la pression osmotique à l'intérieur de la cellule, mais qui entrainerait la déshydratation.

Il y a eu jusqu'à présent une accumulation considérable de résultats expérimentaux qui suggèrent que la déshydratation des globules rouges se fait par perte de  $K^+$  et d'eau ORRINGER (1980). Il est aussi généralement accepté que les drépanocytes irréversibles sont déshydratés. Ces cellules retiennent leur forme même après réoxygénation.

Les études ont montré que la production des I.S.C. in vitro peut être inhibée par des manipulations qui préviennent la perte de l'eau pendant une déoxygénation prolongée ORRINGER (1980).

Ces résultats suggèrent qu'une perte d'eau est nécessaire pour produire la déformation globulaire.

Ces études montrent aussi qu'une telle déshydratation n'est pas limitée aux I.S.C seulement et que même les hématies discocytes bien oxygénées contiennent une quantité d'eau insuffisante pour le maximum de la déformabilité cellulaire ORRINGER (1980).

Mais, le mécanisme par lequel s'effectue la déshydratation du globule rouge est encore mal connu. Il est possible que les cycles répétés de falciformation, tels qu'ils adviennent dans la microcirculation, puissent endommager la membrane de façon permanente.

De nombreux chercheurs ont montré à ce sujet que pendant la déoxygénation la membrane des hématies à hémoglobine S devient de plus en plus perméable aux cations. ORRINGER (1980). Si ce changement de perméabilité (qui serait le résultat des dégâts de la membrane due à la falciformation) est sélectif pour les ions  $K^+$ , l'énorme gradient électrochimique favorable au flux de  $K^+$  à l'extérieur de la cellule provoquerait une rapide déshydratation. Le fait que les globules rouges falciformés perdent l'eau au cours de la déoxygénation et augmentent leur densité est en faveur de cette hypothèse.

#### 4- A L'ETAT DE RECUPERATION DE 20 MINUTES

Les augmentations des indices densitométriques qui sont prolongées au cours de la récupération passive de 20 minutes ont toutes des caractères réversibles (les valeurs de la récupération de 20 mn se rapprochent de celles observées au repos).

Ce qui s'oppose au caractère aggravant décrit par BALLAS et SMITH (1992). Et si elles s'aggravent chez les drépanocytaires à HbS, cela signifierait-elle l'évolution vers une crise vaso-occlusive ?

Autrement-dit l'intensité de l'effort imposée engendrerait-elle un état pré-critique ?

Mais en somme, l'augmentation de densité telle qu'elle a été observée après un effort de 20 minutes ; mais réversibles (retour aux valeurs de repos) pendant la phase de récupération passive de 20 minutes) montre que ce phénomène est lié à une déshydratation des hématies.

CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES

Notre travail s'est proposé, à partir de la méthode des gradients de densité en ester de phtalate, de déterminer les profils de densité de globules rouges sur du sang artériel de sujets drépanocytaires originaires de la sous-région ouest-africaine en période non critique, et de comparer cette distribution à celle des sujets témoins sédentaires à hémoglobine normale de la même sous-région.

Les indices densitométriques classiques (F4, F5, D50 et R60) et autres (F3, F3-F4, F4-F5, D1, D2) des profils de densité ainsi que les gaz du sang ont été analysés.

Ces indices densitométriques et gaz du sang mesurés au repos sont ensuite évalués à l'effort modéré de 20 minutes sur bicyclette en position couchée.

Les résultats retenus ont permis de :

- 1) Confirmer par la liaison entre la densité moyenne (D50) et l'écart de densité (R60) ( $r = 0,65$  ;  $p < 0,001$ ), l'hétérogénéité du profil de densité globulaire chez les sujets drépanocytaires homozygotes en période non critique au repos.
- 2) Mettre en évidence l'existence d'une faible hétérogénéité du profil globulaire chez les témoins à HbAA par la densité moyenne (D50).

3) Montrer que la fraction F5 densité supérieure à 1,120 est spécifique de la drépanocytose.

4) Montrer que l'affinité de l'hémoglobine S pour l'oxygène est fortement diminuée pour les taux de cellules très denses (F5) au repos et à l'effort ( $r = 0,79$  ;  $P < 0,001$ ) ;  $r = 0,75$  ;  $P < 0,001$ ).

5) D'objectiver les augmentations variables mais réversibles des indices densitométriques notamment, ceux qui sont susceptibles de provoquer une crise vaso-occlusive (F4 ou F5) en fonction du profil de densité globulaire de repos.

6) Rattacher ces augmentations de densité à une déshydratation cellulaire, liaison supposée mais non établie.

Toutefois, l'effort tel que conçu, dans notre travail n'a pas engendré de crises vaso-occlusives chez nos drépanocytaires même une semaine après le test.

Nous espérons poursuivre ce travail en approfondissant :

- La relation entre les intensités de l'effort et le degré de polymérisation de l'hémoglobine S.

- La caractérisation, à partir des critères cliniques, biologiques et fonctionnels des trois phases pré, per et post critiques. Ce qui nous permettrait de sélectionner le ou les critères les plus évocateurs de l'imminence d'une crise vaso-occlusive afin d'établir, éventuellement, un score biologique prédictif de la survenue des crises vaso-occlusives.

## B I B L I O G R A P H I E



- 1- ALTER B.P. (1979) : Prenatal diagnosis of hemoglobinopathies and other hematologic diseases.  
J. Pediatr. 95 (4) : 501-513.
  
- 2- ALTER B.P. (1981) : Prenatal diagnosis of hemoglobinopathies a status report.  
Lancet, 2 : 1152-1155.
  
- 3- BALENTINE R. et BURFORD D.D. (1960). Differential density separation of cellular suspension  
Anal. Biochem, 1 : 263-267.
  
- 4- BALLAS SAMIR K. et SMITH EUGENE D. (1992). Red blood cell changes during the evolution of the sickle cell painful crisis.  
Blood 79 : 2154-2163.
  
- 5- BAUDIN V, PAGNIER J, LABIE D., GIROT R., et WAJCMAN H. (1986). Heterogeneity of sickle cell diseases as shown by density profiles : Effect of fetal hemoglobin and alpha thalassemia.  
Haematologia 19 (3) : 177-184.
  
- 6- BEGUE P. (1984). La maladie drépanocytaire.  
SANDOZ, 180 - 22-24, 137, 14-47, 240-246.



- 7- BESSIS M, MOMARSKYI G, TIERRY J.P and BRETON GORIUS  
(1958) : Etude de la falciformation des globules rouges  
au microscope polarisant et au microscope électronique II  
l'intérieur du globule rouge, comparaison avec les  
cristaux intra-globulaires.  
Rev. Hemat., 13, 249.
- 8- BEUZARD Y. (1985). Le sang drépanocytaire : aspects  
rhéologiques.  
Nouvelle revue française d'hématologie, 28, (4):  
195-196.
- 9- BILLET HENNY H, FABRY MARY E. et NAGEL RONALD L. (1988)  
Hemoglobin distribution with : a rapid assesment of  
dense red cells in the steady state and during painful  
crisis in sickle cell anemia.  
J. Lab. Clin. Med. 1 : 339-344.
- 10- BILLET HENNY H., KIM KENNET, FABRY MARY E. et  
NAGEL RONALD L. (1986). The percentage of dense red  
cells does not predict incidence of sickle cell painful  
crisis.  
Blood, 68 : 301-303.
- 11 - BLUMENFIELD N. , FABRY M.E. , THYSEN B. et  
NAGEL RONALD L. (1988). Red cell density is sex and  
race dependant in the adult  
J. Lab. Clin. Med., 112 : 333-338.

- 12- BOGUI P., LAMPERT E., BOGUI A., TUO N., PETITJEAN P.H.,  
DAH C., QUATTARA S., AMBOFO Y. et LONSDORFER J. (1989)  
Adaptation cardio-respiratoire du drépanocytaire  
homozygote à un effort à intensité croissante.  
Communication au 1er Symposium International Drépano-  
cytose et Sport, ABIDJAN.
- 13- BRITTENHAM G., LOZOFF B., HARRIS J.W., SHARMA V.S.,  
NARASINHAM S (1977) : Sickle cell anemia and trait in a  
population of southern India.  
Am. J. Hematol, 2, 25-32.
- 14- BURSEAU E. et POYART C (1983) Altérations structurales  
et fonctionnelles de la membrane érythrocytaire dans la  
drépanocytose.  
Clinical Respiratory Physiology, 19: 345-350.
- 15- CABANNES R, SENDRAIL A, PENE F, SANGARE A, SOMBO M.F,  
KPLE-FAGET P. (1979). Etude de l'hématologie des  
populations de l'Afrique de l'Ouest. Référence  
particulière aux populations ivoiriennes et aux peulhs.  
Ann. Univ. Abidjan, série B (Médecine) Tome XIII,  
105-135.
- 16- CHARACHE S. (1983). One view of the pathogenesis of  
sickle cell diseases  
Clinical Respiratory Physiology, 19 : 361-366.
- 17- CABANNES R., SANGARE A., GARNIER E., KPLE-FAGET P.,  
ABISSEY S. (1981) : Physiologie de la drépanocytose.  
Médecine d'Afrique Noire, Volume 28, 277-284.

- 18- CABANNES R., LONSDORFER J., SANGARE A. (1986) :  
Le point sur la drépanocytose.  
Population et Santé Tropicales, 21s, 1-4.
- 19- CHOREMIS C., ZERVOS N., CONSTANTINIDES V., ZANNAS L.  
(1951)  
Sickle cell anaemia in Greece.  
Lancet 1 : 1147-1149.
- 20- CHIEN S., USAMIS S., and BERLLES J.F. (1970). Abnormal  
rheology of oxygenated blood in sickle cell anemia.  
J. Clin. Invest. 49 : 623-634.
- 21- COSSU G., MANCA M., GAVINA P.M., BULLITA R.,  
BLANCHI BOSISIO A., GIANAZZA E., RIGHETTI P.G. (1982)  
Neonatal screening of thalasseмии by thin layer iso-  
electric focusing.  
Am. J. Haematol; 13 : 149-157.
- 22 - CHOMEL J.C.K. CHERARA , VANHAEKE , M-R. PERGIER ,  
BONNET-GAJDOS et GIROT R.(1989). Etablissement d'une  
gamme de densité de phtalate pour l'étude de profils  
de densité érythrocytaire.  
Ann. Biol., 47 : 187-191.
- 23- DANON D. et MARIKOVSKY Y. (1964). Determination of  
density distribution of red cell population.  
J. Lab. Clin. Med ; 64 : 668-674.
- 24- DREYFUS B. (1984). Hématologie Edition Flammarion.  
Médecine-Science 71 : 269-279.

- 25- EDINGTON G.M., LEHMANN H. (1955) : Expression of the sickle cell gene in Africa.  
Br. Med. J. I, 1308-1311.
- 26- FABRY MARY E. et FINE E. (1992). Demonstration of endothelial adhesion of sickle cells in vivo : A distinct role for deformable sickle cell discocytes.  
Blood, 79 (6) : 1602-1611.
- 27- FABRY MARY E., BENJAMIN L., LAWRENCE C. et NAGEL R.L. (1984). An objective sign in painful crisis in sickle cell anemia is the concomitant reduction of high density red cells.  
Blood, 64 : 559-563.
- 28- FABRY M.E. et NAGEL R.L. (1982). Heterogeneity of red cells in the sickler : a characteristic with practical clinical and pathophysiological implications  
Blood Cells, 8 : 9-15.
- 29- FABRY MARY E, ROMERO JOSE R. et EUCHANAN IRIS D, (1991). Rapid increase in red blood cell density driven by Kcl cotransport in a subject of sickle cell anemia reticulocytes and discocytes.  
Blood, 78 (1) : 217-225.
- 30- FISHERT SCHIMID SCHOLEIN (1977) : Tank tread motion of red cell membranes in viscometric flow : behavior of intracellular marker.  
Blood cell 3 : 351-365.

- 31- GELPI A.P (1970) : Sickle cell disease in Saudi Arabs.  
Acta Haematol (Basel) 43 : 89-99.
- 32- HAHN E.V and GILLESPIE E.B (1927) : Sickle cell anemia  
report of case greatly improved by splenectomy experi-  
mental study of sickle cell formation.  
Arch. Intern. Med. 39, 233.
- 33- HARRIS J.W. (1950) : Studies on the destruction of red  
blood cell VIII molecular orientation in sickle cell  
hemoglobin solution.  
Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.) 75, 197.
- 34- HEBBEL R.P, BOOGAERTS P.A.B, EATON J.W, STEINBERG M.H  
(1980) : Erythrocyte adherence to endothelium in  
sickle cell anemia. A possible determinant of disease  
severity.  
N. Engl. J. Med. 302, 992-995.
- 34- HORN Mac Donal (1981) : Sickle cell anemia as a  
rheological disease.  
Am. Journal of Medicine 70 : 288-298.
- 35- HUISMAN T.H.J. (1987). Separation of hemoglobins and  
hemoglobin chains by high-performance liquide  
chromatography.  
Journal of chromatography, 418 : 277-304.

- 36- INGRAM V.M (1956). Specific chemical difference between the globins of normal human and sickle cell anaemia heamoglobin.  
Nature, 178, 792-794.
- 37- KEIDAN A.J , NOGUCHI C.T , PLAYER M.S. et CHALDER S. (1989). Erythrocyte heterogeneity in sickle cell disease : effect of deoxygenation on intracellular polymer formation and rheology of sub-populations.  
British Journal of Haematology, 72 : 254-259.
- 38- KENNY M.W, MEAKIN M, WORTHINGTON D.J, STUART J (1981): Erythrocyte deformability in sickle cell crisis.  
Br. J. Haematol. 49 : 103-109.
- 39- KURANTSIN-MILLS J. , J. M. HELENA et LESSIN L. (1987) Assessment of the hydration state of sickle cells by phtalate ester density distribution.  
J. Lab. Clin. Med., 109 : 487-494.
- 40- LABIE D. (1983). Facteurs génétiques d'atténuation de la drépanocytose.  
Bull. Europ. Physiopath. Resp., 19 : page 372.
- 41- LABIE D. et KRISHNAMOORTHY R. (1988). Activation des gènes de l'hémoglobine au cours du développement.  
Médecine Sciences, 7 : 427-434.

42- LANDE by WILLIAM M. et ANDREWS L.D. (1988).

The incidence of painful crisis in homozygous sickle cell disease : correlation with red cell deformability. *Blood*, 6 : 2056-2059.

43- LEHMANN H., HUNTSMAN R.G. (1974) : Man's haemoglobins (revised edition).

Oxford, North Holland Publ. Co, Amsterdam.

44- LEVINGSTONE F.P. (1967) : Abnormal hemoglobins in human populations:

Chicago (Illinois), Adline Publishing Company, pp 76-84.

45- LONSDORFER J., BOGUI P. et LAMPERT E. (1986). Cardiac adjustment and O<sub>2</sub> delivery during incremental exercise in normal subjects and two types of anemic patients. *Bull. Europ. Physiopath. Resp.*, 22 : 319.

46- LONSDORFER J, BOGUI P. et OTAYECK A.(1983). Modification du débit cardiaque dans les hémoglobinopathies HbS *Bull. Europ. Physiopath. Resp.* 19, 374-375.

47- LONSDORFER J., BOGUI P, OTAYECK A, BURSAUX E, POYART C et CABANNES R.(1983) : Cardio-respiratory adjustments in chronic sickle cell anemia. *Bull. Europ. Physiopath. Resp.* 19, 339-344.

- 48- LONSDORFER J., BOGUI P., OTAYECK A., PIGEARIAS B.,  
BOUTROS-TONI F., CABANNES R. (1983). Les explorations  
fonctionnelles respiratoires dans la drépanocytose.  
Ann. Univ. Abidjan, Tome 17, série B, 157-161.
- 49- LONSDORFER J., BOGUI P., BOUTROS-TONI F., DOSSO Y.,  
CABANNES R. (1986). : Physiopathologie cardio-  
respiratoire dans les hémoglobinopathies à HbSS.  
Programme scientifique VIèmes Journées Médicales  
d'Abidjan, p 31-44.
- 50- LONSDORFER J, BOGUI P, LAMPERT E, PETIT JEAN Ph, DAH C,  
PIGEARIAS B., LONSDORFER A., MEUNIER-CARUS (1986) :  
Cardiac adjustment and O2 delivery during incremental  
exercise in normal subjects and two types of anemic  
patients.  
Bull. Europ. Physiopath. Resp. Vol. 22, Supplément n°8,  
n°319, p495.
- 51- LONSDORFER J., BOGUI P., LE GALLAIS D., LONSDORFER A.,  
SOFO I. (1990) : Aptitude des drépanocytaires à  
l'effort physique.  
Médecine d'Afrique NOire, 2, (11) 636-641.
- 52- MURUYAMA M. (1966) : Molecular mechanism of red cell  
sickling.  
Science 153, 145.
- 53- NAKASHIMA, ODA SUSSEMA et ULE MIWA (1973). Red cell  
density in various blood disorders.  
J. Lab. Clin. Med., 82 (2) : 297-303.



- 54- NASH G.B. et MEISLMAN (1991). Effect of deshydration on the viscoelastic behavior of red cells.  
Blood Cells ; 17 : 517-552.
- 55- NOGUCHI C.T, DOVER GEORGE J, RODGERS, et GRIFFIN P. (1985). Alpha thalassemia changes erythrocyte heterogeneity in sickle cell diseases.  
The Journal of clinical Investigation, 75: 1632-1637.
- 56- NOGUCHI C.T., TORCHIA D.A. et SCHECHTERAN N. (1980). Determination of deoxyhemoglobins polymer in sickle erythrocytes upon deoxygenation.  
Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 77 : 5487-5491.
- 57- ODA S., ODA E. et TANAKA R.R. (1978). Kinase of density distribution and pyruvate kinase electrophoretic pattern of erythrocytes in sickle cell disease and others disorders.  
Acta Haematology 6 : 201-209.
- 58- ORRINGER E.P. (1983) Contribution des anomalies de la membrane des globules rouges à la physiopathologie de la drépanocytose.  
Bull. Europ. Physiopath. Resp., 19 : 377-378.
- 59- ORRINGER E.P. , ROE R.M.E.S. et PARKER J.C. (1980). Cell density profile as a measure of erythrocyte cell hydration : therapeutic alteration of salt and water content in normal and SS red blood cells.  
Blood cells, 6 : 345-353.

- 60- PANPIT P., KLUG, LAWRENCE MD, LESSIN S, PETER RADICE ND  
WASHINGTON DC (1974) : Rheological aspects of sickle  
cell diseases.  
Arch. Intern. Med., Vol. 113 : 577-590.
- 61- PAJOT N., MAIER+REDELSPERGER M., DODE C., LABIE D. et  
GIROT R. (1988) Density distribution of red cells and  
prognostic significance in 50 patients with homozygous  
sickle cell disease.  
Haematologia, 4 : 1989-197
- 62- PHILIP A., BROMBERG and WALLACE N. (1967) : Arterial  
oxygen unsaturation in sickle cell disease.  
Am. Rev. Resp. Dis. 96, 400-407.
- 63- POYART C. (1985). Transport de l'oxygène et  
drépanocytose.  
Nouvelle revue française d'hématologie, 28, (4) :  
196-198
- 64- POYART C, BURSEAU E., MARTIN J.L., GALACTEROS F. (1983)  
Analyse dynamique des courbes de déoxygénation des  
globules rouges contenant de l'HbSS.  
Bull. Europ. Physiop. Resp. 19, 378-379.
- 65- RODMAN T., CLOSE H.P., CATHCART R. and PURCELL M.R.  
(1959) : The oxyhemoglobin dissociation curve in the  
common hemoglobinopathies.  
Am. J. Med., 27, 588.

- 66- RICHARDSON S.G.N., MATTHEWS K.B., STUART J. (1979) :  
Serial changes in coagulation and viscosity during  
sickle cell crisis.  
Br. J. Haematol. ; 41, 95-103.
- 67- RODGERS G.P. , SCHECHTER A.N. et NOGUCHI C.T. (1985)  
Cell heterogeneity in sickle cell disease :  
quantitation the erythrocyte density profile.  
J. Lab. Clin. Med, 106 ; 30-37.
- 68- ROTH E.F., SCHILIRO G. and NAGEL R.L. (1980) : Sickle  
cell disease in sicily.  
J. Med. Genet., 17, 34-38.
- 69- SCHIMID-SCHOBEIN (1980) : Blood rheology and oxygen  
transport to tissue.  
In Advances in Physiological. Sciences Vol 25 : Oxygen  
transport to tissue.
- 70- SCHIMID-SCHOBEIN H, and WELL (1968) : Fluide drop-like  
transition of erythrocytes undr stress.  
Science 165 : 288-291.
- 71- SCHMIDT R.G. (1980) : Review of hemoglobin variant  
studied in South Western U.S.A  
Hemoglobin, 4, 363-371.

- 72- SEAKIN M., GIBBS W.N., MILNER P.F, et BERTLE J.F (1973)  
Erythrocyte HbS concentration. An important factor in  
the low oxygen affinity of blood in sickle cell anemia.  
J. Clin. Invest 52 : 422-432.
- 73- WAHON GRATTIE L. (1987). Distribution de la densité  
érythrocytaire dans la drépanocytose (HbSS ; HbSC)  
évaluation en diverses situations physiopathologiques.  
Thèse de Doctorat de Pharmacie, Faculté de Pharmacie  
d'Abidjan, n°33.
- 74- WAJCMAN H. et LABIE D. (1981). Aspects actuels de la  
biologie de la drépanocytose.  
Annales de Médecine Interne, 8 : 568-594.
- 75- WAJCMAN H et LANTZ G (1992) Les maladies du globule  
rouge.  
Editions INSERM, p. 12.
- 76- WEEMS B. et LESSIN S. (1984). Erythrocyte density  
distribution in sickle cell anemia  
Acta haematology, 71 : 361-370.