

UNIVERSITE DES ANTILLES
Faculté des Sciences Exactes et Naturelles

THESE

Pour l'obtention du grade de

Docteur de l'Université des Antilles

Spécialité : Santé publique, Recherche et Innovation

Marie-Laure LALANNE-MISTRIH

Caractérisation des profils lipidiques plasmatiques
des patients drépanocytaires guadeloupéens
SS et SC à l'état stable

Profil lipidique et hémorhéologique des complications du sous-phénotype
hyperhémolytique/vasculopathie et hypervisqueux/vaso occlusif

Soutenue le 20 décembre 2019

Jury

Pr. Martine Laville	Rapporteur
Pr. Rémi Rabasa-Lhoret	Rapporteur
Pr. Philippe Connes	Examineur
Pr. Annie Lannuzel	Examineur
Dr. Marc Romana	Directeur de thèse

SOMMAIRE

Remerciements.....	8
Avant-propos.....	11
Glossaire.....	14
Figures	17
Tableaux.....	20
A- REVUE DE LA LITTERATURE– LA DREPANOCYTOSE	21
I- Epidémiologie de la drépanocytose : d’antan lointain à nos jours	21
I-1. Histoire et drépanocytose	21
I-1.a. Découvertes historiques.....	21
I-1.b. Une distribution géographique particulière.....	23
I-2. D’une politique de dépistage au diagnostic clinique	25
I-2.a. Un dépistage aux modalités diverses	27
I-2.b. Aspects techniques du diagnostic de drépanocytose.....	28
I-3. Incidences françaises de la drépanocytose.....	29
II- Définition de la drépanocytose : de l’hémoglobine humaine à ses variants...29	
II-1. L’hémoglobine humaine normale.....	29
II-1.a. L’hémoglobine.....	29
II-1.b. Ontogénie de l’hémoglobine.....	30
II-2. Les syndromes drépanocytaires majeurs	32
II-2.a. La forme homozygote SS.....	33
II-2.b. Les hétérozygotes composites.....	33
III- Mécanismes physiopathologiques de la drépanocytose.....	36
III-1. Le processus de polymérisation	36

III-2. Conséquences de la polymérisation de l'HbS.....	38
III-3. Le drépanocyte irréversible.....	39
III-4. De la falciformation à la vaso-occlusion.....	40
III-4.a. Un délai de traversée vasculaire.....	41
III-4.b. Interactions cellulaires et endothéliales.....	43
III-4.b.1. Rôle des polynucléaires.....	43
III-4.b.2. Rôle des plaquettes et de l'endothélium activé....	45
III-4.b.3. Rôle de l'hétérogénéité de population des drépanocytes.....	45
IV- La vasculopathie drépanocytaire et ses hypothèses mécanistiques.....	47
IV-1. Régulation du tonus vasculaire.....	47
IV-1.a. Le système NO/ET-1	48
IV-1.b. Le système nerveux autonome	51
IV-2. L'hémolyse.....	53
IV-2.a. L'hémolyse extravasculaire et ses conséquences	53
IV-2.b. L'hémolyse intravasculaire et ses conséquences.....	54
IV-2.b.1. Le stress oxydatif.....	56
IV-2.b.2. Un endothélium vasculaire proinflammatoire.....	59
IV-2.b.3. L'activation des facteurs de la coagulation.....	62
V- Modulateurs de l'HbS de la drépanocytose.....	64
V-1. Modulateurs environnementaux.....	64
V-1.a. Facteurs empêchant la polymérisation.....	64
V-1.b. Facteurs favorisant la polymérisation.....	65
V-2. Les modulateurs génétiques T^{aies} de la drépanocytose.....	68
V-2.a. L'hémoglobine fœtale.....	68

V-2.b. Les haplotypes et QTL.....	70
V-2.c. L'α-thalassémie.....	73
V-3. Une physiopathologie encore incomplètement élucidée.....	74
VI- Hémorhéologie et drépanocytose	75
VI-1. Définition de l'hémorhéologie.....	75
VI-1.a. Ecoulement des fluides	75
VI-1.b. Propriétés biophysiques du sang	76
VI-1.c. Viscosité sanguine	78
VI-1.c.1. Définition de la viscosité sanguine.....	78
VI-1.c.2. Modulateurs de la viscosité sanguine.....	79
VI-2. Propriétés rhéologiques des globules rouges.....	82
VI-3. Hémorhéologie et complications de la drépanocytose.....	88
VI-3.a. Complications à profils à plus forte hémolyse.....	88
VI-3.a.1. Baisse de déformabilité des globules rouges	88
VI-3.a.2. Plus grande déformabilité des globules rouges....	89
VI-3.a.3. Variations de l'agrégation érythrocytaire.....	90
VI-3.b. Complications à profils visqueux et vasoocclusifs prédominants.....	90
VI-3.b.1. Baisse de déformabilité/élasticité membranaire des globules rouges.....	90
VI-3.b.2. Plus grande déformabilité/élasticité membranaire des globules rouges.....	90
VI-3.b.3. Variations de l'agrégation érythrocytaire.....	92
VII- Une maladie polymorphe à l'expression clinique variée.....	93
VII-1. Les complications en fonction des génotypes SS et SC.....	94

VII-1.a. Le phénotype visqueux/vaso occlusif.....	95
VII-1.a.1. Les crises vaso-occlusives	95
VII-1.a.2. Le syndrome thoracique aigu.....	97
VII-1.a.3. L'ostéonécrose.....	100
VII-1.b. Le phénotype hémolytique/dysfonction endothéliale..	102
VII-1.b.1. L'hypertension artérielle pulmonaire	102
VII-1.b.2. Le priapisme.....	103
VII-1.b.3. Les ulcères de jambe.....	104
VII-1.b.4. L'hypertension artérielle systémique.....	104
VII-1.b.5. Insuffisance rénale chronique et glomérulopathie	105
VII-1.b.6. Les accidents vasculaires cérébraux.....	106
VII-1.c. Les complications non encore parfaitement classées...	108
VII-1.c.1. La rétinopathie.....	108
VII-1.c.2. La surdité.....	110
VIII- Traitements / Prise en charge d'aujourd'hui et de demain.....	110
VIII-1. A l'échelle de l'individu.....	110
VIII-2. A l'échelle des équipes spécialisées.....	111
VIII-3. Les traitements de demain.....	116
IX- Espérance et qualité de vie.....	116
B- REVUE DE LA LITTERATURE– LES LIPIDES	117
I- Généralités et seuils lipidiques	117
II- Profil lipidique : de quoi parle-t-on ?.....	120
III- Origine des lipides dosés et vue générale du métabolisme lipidique.....	121
IV- Physiologie du métabolisme lipidique.....	123

IV-1. La voie exogène du métabolisme lipidique.....	123
IV-1.a. Du chyme à la bordure en brosse du grêle.....	123
IV-1.b. De l'intestin grêle au sang veineux portal.....	125
IV-1.c. Les chylomicrons.....	126
IV-1.d. L'apolipoprotéine B48.....	128
IV-1.e. La LPL.....	129
IV-2. La voie endogène du métabolisme lipidique.....	131
IV-2.a. Les VLDL.....	132
IV-2.b. Les IDL.....	134
IV-2.c. Les LDL.....	134
IV-2.d. Les apolipoprotéines CII, CIII, E, B100.....	135
IV-3. La voie de retour du cholestérol : des cellules au foie.....	136
IV-3.a. Les lipoprotéines HDL.....	136
IV-3.b. L'ApoAI et l'ApoAII.....	138
IV-3.c. Les enzymes associées à la voie endogène.....	140
IV-3.c.1. La CETP.....	140
IV-3.c.2. La PLTP et la Lipase hépatique.....	141
IV-3.d. De la qualité à la fonctionnalité du HDL.....	143
V- Profils lipidiques, hypoHDLémie, et hypertriglycéridémies.....	144
V-1. Profils lipidiques et complications de la drépanocytose.....	144
V-2. HypoHDLémie drépanocytaire.....	145
V-3. Hypertriglycéridémies.....	147
V-3.a. TG et alimentation.....	148
V-3.b. TG, insulino-résistance et activité physique	148
V-3.c. TG, tabac, hormones, sexe et âge.....	149

C-	LES ETUDES	151
	I- Objectifs.....	151
	II- Population.....	151
	III- Méthodes.....	152
	IV- Résultats.....	153
	IV-1. Article 1.....	156
	IV-2. Article 2.....	165
	IV-3. Résultats complémentaires non publiés.....	171
D-	DISCUSSION.....	174
E-	PERSPECTIVES.....	193
F-	REFERENCES.....	196
	Résumé – Abstract.....	218

Remerciements

Doctorante sur mon bateau coquille de noix, malmenée par les courants, parfois sans vent, parfois radeau de la méduse, j'ai fixé au loin l'horizon, aveuglée au sens propre par les brûlures de sels amers, et cherchant intensément dans le ciel, à mesurer la distance qui me séparait des rayons du soleil

A toi, mon Dieu, pour ton amour et soutien indéfectibles

A toutes celles et ceux qui ont cherché à m'abriter, ont soufflé sur mes voiles lorsqu'il n'y avait plus de brise, m'ont aidé à les recoudre lorsque les tempêtes les avaient déchirées, ont écopé avec moi, m'ont sortie de l'eau, ont tenu le gouvernail, et ont silencieusement serré les dents à mes côtés, sous la pression des grains et des tempêtes, afin que je puisse arriver, de l'autre côté de la rive.

Merci à tous ceux qui m'ont donné de leur temps, de leur amitié et de leur patience, dans la réalisation ou la correction de ce travail.

Au Pr. Martine Laville, qui m'a honorée d'avoir accepté de juger ma thèse.
Vous êtes un phare de lumière pour toutes les femmes,
débordante toujours de paix et de bienveillance
Merci pour l'exemple à suivre que vous êtes.

Au Pr. Rémi Rabasa-Lhoret, qui m'a honorée d'avoir accepté de juger mon travail.
Le destin m'a remise sur votre route. Merci d'avoir accepté ce nouveau challenge.
Merci pour votre exemple en enseignement et recherche et pour votre don aux étudiants.

Au Pr. Annie Lannuzel, qui m'a honorée d'avoir accepté de juger ce travail.
Merci pour ton aide au développement du service UTDN-CSO, en tant que chef de pôle.

Au Pr. Philippe Connes, pour ta pétulance, ton exemple organisationnel et ta facilité d'écriture. Je suis encore loin du compte de tes capacités, mais j'y travaille.
Merci pour ton soutien, tes corrections, ta générosité et ton amitié.

Au Pr. Marc Romana, cher ami et directeur de thèse, support indéfectible de mon parcours personnel de santé et de thèse. Merci pour ton amitié et pour ta patience dans ton encadrement à ma thèse. Merci de m'avoir amenée au bout.

A l'unité INSERM qui m'a premièrement accueillie en son sein et en particulier au Pr. Jacques Elion, qui a choisi mon sujet de thèse : « lipides et drépanocytose » et au Pr. Yves Collin, qui m'a permis de poursuivre avec l'équipe.

A Marie-Dominique Hardy-Dessources, longtemps au gouvernail du laboratoire et de ses projets, pour son amitié et sa confiance.

A tous les chercheurs et doctorants du laboratoire qui m'ont précédée,
et à tous ceux qui vont me succéder.

A tous les professionnels de l'Unité Transversale de la Drépanocytose,

A toi en particulier, Nathalie Lemonne, merci pour ton amitié, pour ton investissement de cœur et ta participation dynamique dans tous les projets pour les patients drépanocytaires, avec Danielle Mougenel, Marie Petras, Lydia Doumbdo, Vanessa Tarer et la grande capitaine à la barre de l'UTD, Maryse Etienne Julan. A vous toutes, Marie, Vanessa, Nathalie, Maryse, Mille merci ! pour avoir permis les premières inclusions d'HDL2.

Aux patients drépanocytaires et à leurs familles, vers qui tous nos efforts et affection se tournent. A ceux partis hier, qui ne seront jamais oubliés, à ceux d'aujourd'hui et encore de demain, qui font que médecins et chercheurs continueront à travailler ensemble.



A tous les malades qui luttent pour leur vie et leur avenir professionnel.
A Mme Abaul et à M.Vaillant, qui ont permis la prolongation de mes années de thèse.

Au Dr. Jacques Salin pour m'avoir choisie et fait confiance au poste de médecin délégué au CIC 802 Inserm, aujourd'hui CIC 14 24, où j'ai connu la drépanocytose et le laboratoire Inserm, qui m'a accueillie comme doctorante.

A mes équipiers du CIC 14 24, pour leur support et amitié.

A toi en particulier, Benoît Tressières, qui a porté tous mes sacs lorsque je ne le pouvais plus, support amical et dévoué. Merci de ton aide à tous niveaux, de ton amitié et de ta confiance.

A tous les jeunes et moins jeunes nouveaux au CIC, qui y entreront et continueront après moi, et à ses futurs doctorants.



A Jenny, Daphnée, Mme Chenilco, Sylvie, Henry, Henri, Denise, Véronique, père Nicolas, qui m'ont soutenue de leur amitié et m'ont aidée à me relever. Merci de vos bons soins, de votre support, de vos prières et amitié.

A Annicet et à tous les autres à KCWAB, à Muriel, Marie-Hélène, Yvette et Véronique, qui ont supporté un éloignement du fait de ma réclusion pour cette thèse. Merci pour votre amitié sincère et votre soutien.



Enfin, à mes proches, qui ont tout supporté, ou presque, pour me laisser du temps pour ce travail de thèse

A mes parents et beaux-parents, pour leur amour, leur soutien, et leurs prières.
A mon frère Jean-François et ma sœur Sylvie, pour leur soutien et affection.

A mon mari, pour tout ce que tu as supporté, pour ton amour véritable et ton soutien à ce projet sans fin pour nous tous. Merci ! Merci de ta bonne cuisine.

A mes enfants Mathilde et Mathieu, pour leur affection et leur soutien à ce projet, qui souhaitent à leur tour s'engager sur les chemins de la médecine.

Courage mes enfants ! Il faudra travailler !! Ken ben raid, pas molli !

A Joy, merci pour ta joie et ton affection !

Avant-Propos

La drépanocytose a été déclarée priorité de santé publique en France en 2004. Puis fut créé, en Guadeloupe, en 2006, le premier Centre français de Référence de prise en charge de la maladie drépanocytaire. Déployé encore aujourd'hui sur Pointe-À-Pitre (Guadeloupe), Fort-de-France (Martinique) et Cayenne (Guyane), il comprend également les centres de compétence de ces trois régions. La drépanocytose affecte en effet environ une sur deux cent soixante naissances aux Antilles-Guyane, contre moins de 0.5 sur mille en France hexagonale. Elle est caractérisée par une grande diversité au niveau de son expression clinique, non expliquée seulement par la diversité des nombreux syndromes drépanocytaires majeurs (SDM) qui la définissent. Elle s'exprime en effet différemment, à la fois au sein d'un même SDM et pour un même individu, au cours des divers âges de sa vie. La drépanocytose résulte de la mutation unique du gène β -globine, responsable de la synthèse d'une hémoglobine S (HbS) à la place d'une hémoglobine A (HbA) chez l'adulte. Les deux SDM les plus fréquemment rencontrés aux Antilles-Guyane correspondent au cas d'homozygotie du gène β^S et au cas d'hétérozygotie composite de ce même gène β^S et d'un autre gène anormal codant pour un autre variant de l'hémoglobine, l'hémoglobine C, respectivement SS et SC. L'HbS est à l'origine de la fragilisation de la membrane des globules rouges (GR), lui imposant, en situation hypoxique, des cycles répétés de déformations membranaires intermittentes, jusqu'à une falciformation définitive. Il s'ensuit alors une hémolyse et l'obstruction de vaisseaux de plus petits calibres, responsables des douloureuses crises vaso-occlusives (CVO), qui constituent la principale mais non exclusive manifestation clinique de la maladie drépanocytaire. Les CVO ont donc pour corollaire une anémie aiguë sur fond d'anémie chronique, plus sévère chez les sujets SS que chez les sujets

SC, et de nombreuses autres complications affectant *in fine* l'espérance de vie des patients. Il n'existe pas à ce jour de traitement curatif de la maladie, même si se développe la greffe de cellules souches de moelle osseuse. Le seul traitement disponible diminuant la récurrence ou la sévérité de certaines complications de la maladie est l'hydroxyurée et/ou l'entrée dans des programmes d'échanges transfusionnels. Au quotidien, la qualité de vie de ces patients et de leur famille est altérée, avec une morbi-mortalité supérieure des patients homozygotes SS comparativement aux patients SC, comme après apparition d'une hypertension artérielle pulmonaire, complication redoutée potentiellement mortelle dans les 4 ans après diagnostic. L'étude de cette complication particulièrement sévère a permis de mettre en évidence un lien entre sa plus grande prévalence et le niveau de certains lipides plasmatiques (apolipoprotéine A, HDL-cholestérol et triglycérides plasmatiques), cibles de notre intérêt. Le bilan lipidique des patients drépanocytaires était jusqu'alors peu décrit, exploré surtout sur le versant d'une athérogénicité non avérée, et concernait surtout le génotype SS. Quelques études ont analysé le profil lipidique de patients présentant un autre SDM que la forme SS mais généralement les paramètres lipidiques de ces patients étaient amalgamés à ceux de la forme SS dans le traitement des données expérimentales. Chez les patients SS, les taux du cholestérol total, du LDL-cholestérol et de l'apolipoprotéine B publiés, sont décrits être plus bas que ceux des sujets contrôles, tandis que le taux de triglycérides, lui, reste encore à ce jour mal précisé et le bilan lipidique du génotype SC peu décrit.

La recherche de bio-marqueurs éventuels des complications de la maladie drépanocytaire reste toutefois bien une priorité, parce que la physiopathologie de la maladie n'est toujours pas totalement élucidée. Cette recherche débute le plus souvent par une approche épidémiologique avant de pouvoir aborder un aspect translationnel.

L'objectif principal de notre travail de thèse a été de caractériser sur le plan épidémiologique le profil lipidique des patients SS et SC, de le comparer à la population générale guadeloupéenne et à la littérature. Dans un deuxième temps, nous avons testé l'implication potentielle de ce profil lipidique dans les différentes complications associées à la maladie drépanocytaire, en ciblant celles reposant sur l'hypothèse physiopathologique d'un phénotype visqueux/occlusif, tel que proposée par Kato chez les patients SS. Des anomalies rhéologiques du sang, différentes selon les génotypes SS ou SC, sont en partie responsables et/ou associées à la diversité de l'expression clinique observée chez les patients drépanocytaires. Notre travail précisera également les éventuelles particularités rhéologiques rencontrées lors des complications étudiées, en fonction de ces deux génotypes.

GLOSSAIRE

AG	<i>Acides gras</i>
AGL	<i>Acides gras libres</i>
AGCL	<i>Acides gras à longue chaîne</i>
Apos	<i>Apolipoprotéines</i>
AP	<i>Activité physique</i>
AVC	<i>Accident vasculaire cérébral</i>
CE	<i>Ester de cholestérol</i>
CL	<i>Cholestérol libre</i>
CM	<i>Chylomicron</i>
CV	<i>Cardiovasculaire</i>
CVO	<i>Crise vaso-occlusive</i>
DNN	<i>Dépistage néonatal</i>
eNOS	<i>Oxyde nitrique synthase des cellules endothéliales et des globules rouges</i>
iNOS	<i>Oxyde nitrique synthase inductible des polynucléaires neutrophiles</i>
nNOS	<i>Oxyde nitrique synthase des cellules neuronales</i>
ERO	<i>Espèces radicalaires de l'oxygène</i>
ET-1	<i>Endothéline 1</i>
γ	<i>Vitesse de cisaillement</i>
GB	<i>Globules blancs</i>
GPIHBP1	<i>Glycosylphosphatidylinositol anchoring HDL binding protein 1</i>
GR	<i>Globule rouge</i>

HAS	<i>Haute autorité de santé</i>
Hb	<i>Hémoglobine</i>
HbA	<i>Hémoglobine A</i>
HbC	<i>Hémoglobine C</i>
HbF	<i>Hémoglobine fœtale</i>
HbF-QTL	<i>Locus à caractère quantitatif de l'hémoglobine foetale</i>
HbS	<i>Hémoglobine S</i>
HDL	<i>HDL-cholestérol</i>
HTA	<i>Hypertension artérielle</i>
HTAP	<i>Hypertension artérielle pulmonaire</i>
HTG	<i>Hypertriglycéridémie</i>
HU	<i>Hydroxyurée</i>
IDL	<i>Lipoprotéine de densité intermédiaire</i>
LDL	<i>LDL-cholestérol</i>
Lp(a)	<i>Lipoprotéine a</i>
LPL	<i>Lipoprotéine lipase</i>
LRP-1	<i>Récepteur hépatique des LDL</i>
MP	<i>Microparticules</i>
η_{pl}	<i>Viscosité plasmatique</i>
η_{sg}	<i>Viscosité sanguine</i>
NFS	<i>Numération formule sanguine</i>
NEFA	<i>Acide gras non estérifié (= acide gras libre)</i>
OTN	<i>Ostéonécrose</i>
OMS	<i>Organisation mondiale de la santé</i>
NO	<i>Oxyde nitrique</i>

NOS	<i>Oxyde nitrique synthase</i>
PL	<i>Phospholipide</i>
PS	<i>Phosphatidylsérine</i>
RE	<i>Réticulum endoplasmique</i>
S1P	<i>Sphingosine 1 phosphate</i>
SAA	<i>Protéine sérum amyloïde A</i>
SDM	<i>Syndrome drépanocytaire majeur</i>
SNA	<i>Système nerveux autonome</i>
STA	<i>Syndrome thoracique aigu</i>
TAG	<i>Triacylglycérol</i>
TG	<i>Triglycérides</i>
TGL	<i>Niveau de triglycérides plasmatiques</i>
TRLs	<i>Lipoprotéines riches en triglycérides</i>
UDJ	<i>Ulcère de jambe</i>
UTD	<i>Unité transversale de la drépanocytose</i>
VEGF	<i>Facteur de croissance endothélial vasculaire</i>
VLDL	<i>Lipoprotéine de très faible densité</i>
VRT	<i>Vitesse de régurgitation tricuspидienne</i>

FIGURES

<i>Figure 1</i> : Distribution géographique de la malaria et de l'allèle HbS.....	24
<i>Figure 2</i> : Enquêtes, moyenne et incertitude de la fréquence allélique d'HbS prédite par modèle Bayésien.....	26
<i>Figure 3</i> : Promotion du dépistage néonatal de la drépanocytose	27
<i>Figure 4</i> : L'hémoglobine humaine	30
<i>Figure 5</i> : Activation des gènes de l'hémoglobine au cours de l'ontogénèse.....	31
<i>Figure 6</i> : Loci des gènes α et β globine.....	32
<i>Figure 7</i> : Cristaux d'HbC.....	34
<i>Figure 8</i> : Formation d'une fibre d'hémoglobine S.....	37
<i>Figure 9</i> : Altérations membranaires lors de la polymérisation de l'HbS.....	37
<i>Figure 10</i> : Différents stades du drépanocyte au drépanocyte irréversible	40
<i>Figure 11</i> : Différences morphologiques et conséquences vasculaires en situation hypoxique pour les GR AA et SS.....	42
<i>Figure 12</i> : Interactions et rôles des polynucléaires neutrophiles dans le processus de vasoocclusion.....	44
<i>Figure 13</i> : Interactions des cellules circulantes du sang entre elles et avec l'endothélium activé	45
<i>Figure 14</i> : Structure d'un vaisseau sanguin.....	47
<i>Figure 15</i> : Mécanismes de la diminution de la biodisponibilité du NO et ses conséquences	49
<i>Figure 16</i> : Composantes ET-1 dépendantes et indépendantes de la pression artérielle, sous l'action d'inhibiteurs de la NO Synthase.....	51

<i>Figure 17</i> : Facteurs modulant la réponse vasculaire sous l'effet d'une application localisée de froid.....	53
<i>Figure 18</i> : Contribution de l'hémolyse intravasculaire dans la vasculopathie et la vasoocclusion	55
<i>Figure 19</i> : Mécanismes contribuant au stress oxydatif intra-cellulaire (Figure A) et mécanismes protecteurs (Figure B).....	58
<i>Figure 20</i> : Molécules permettant l'adhérence des GR à l'endothélium vasculaire.....	60
<i>Figure 21</i> : Adhérence des GR dans les veinules et vasoocclusion.....	61
<i>Figure 22</i> : Implication des facteurs de la coagulation de l'état stable à la crise vaso-occlusive.....	63
<i>Figure 23</i> : Voies de déshydratation des GR drépanocytaires.....	66
<i>Figure 24</i> : Répartition géographique des différents haplotypes du gène bêta S.....	71
<i>Figure 25</i> : Du profil physiopathologique à l'expression clinique dans la drépanocytose	75
<i>Figure 26</i> : Différence d'index thixotropique en fonction du génotype SS par rapport au génotype AA et en fonction de l'hématocrite.....	78
<i>Figure 27</i> : Effets de la vitesse de cisaillement sur la viscosité sanguine, et en fonction des génotypes SS et AA et de l'hématocrite	78
<i>Figure 28</i> : Effets de la vitesse de cisaillement et des propriétés rhéologiques des GR sur la viscosité sanguine et en fonction du système vasculaire.....	79
<i>Figure 29</i> : Cercle vicieux de la pathogénie du syndrome thoracique aigu, impliquant la falciformation des GR, l'adhérence cellulaire, l'hémolyse et la vasoocclusion.....	98
<i>Figure 30</i> : Ulcères de jambes de patient drépanocyttaire.....	104
<i>Figure 31</i> : De la vasculopathie à la vasoocclusion.....	107

<i>Figure 32</i> : Caractéristiques des effets du traitement par hydroxyurée sur la physiopathologie de la drépanocytose.....	115
<i>Figure 33</i> : Vue d'ensemble du métabolisme lipidique.....	122
<i>Figure 34</i> : Distribution des divers composants lipidiques au sein des 3 types de micelles.....	123
<i>Figure 35</i> : Digestion des acides gras, cholestérol et lécithine.....	124
<i>Figure 36</i> : Absorption des acides gras et du cholestérol au niveau de la bordure en brosse intestinale.....	126
<i>Figure 37</i> : Structure d'un chylomicron.....	127
<i>Figure 38</i> : Coupes d'entérocytes et étapes constitutives des chylomicrons et gouttelettes lipidiques vues en microscopie électronique.....	127
<i>Figure 39</i> : Contrôle enzymatique et rôle de l'insuline sur le métabolisme lipidique.....	130
<i>Figure 40</i> : Génèse des VLDL hépatiques et sécrétion.....	133
<i>Figure 41</i> : Hétérogénéité des particules d'HDL.....	137
<i>Figure 42</i> : Métabolisme de l'apolipoprotéine A-I et des HDL.....	138
<i>Figure 43</i> : Remodelage anormal et dysfonctionnement des HDL, face au stress oxydant et à l'inflammation, dans les dyslipidémies athérogènes des maladies métaboliques.....	146

TABLEAUX

<i>Tableau n°1</i> : Distribution des syndromes drépanocytaires majeurs de la drépanocytose du début du dépistage jusqu'en 2015 aux Antilles-Guyane.....	36
<i>Tableau n° 2</i> : Classification des HDL.....	137
<i>Tableau n° 3</i> : Composition lipido-protéique des différentes HDL.....	143
<i>Tableau n°4</i> : Composants lipidiques majeurs impliqués dans les activités biologiques des HDL.....	144
<i>Tableau n°5</i> : Taux des lipides tous génotypes confondus ou en fonction des génotypes	171
<i>Tableau n°6</i> : Bilan lipidique des patients drépanocytaires SS et SC en fonction du sexe.....	172
<i>Tableau n°7</i> : Corrélations du taux des lipoprotéines des patients drépanocytaires en fonction de l'âge et des données anthropométriques chez les patients SS.....	173
<i>Tableau n°8</i> : Corrélations du taux des lipoprotéines des patients drépanocytaires en fonction de l'âge et des données anthropométriques chez les patients SC.....	173

A- REVUE DE LA LITERATURE – LA DREPANOCYTOSE

I- Epidémiologie de la Drépanocytose : d’antan lontan... à nos jours

I-1. Histoire et drépanocytose

I-1.a. Découvertes historiques

Le Pr. James Bryan Herrick (1861-1954), médecin interniste de Chicago, rapporta le premier cas de drépanocytose en 1910 (Herrick, 2001). Ce cas fut identifié par son interne, Ernest Irons (1877-1959), après examen du frottis sanguin d’un de ses patients : Walter Clement Noël (1884-1916). M. Noël, originaire de Grenade (West Indies), était venu à l’âge de 20 ans à Chicago pour y suivre des études pour devenir dentiste. Une fois diplômé, il revint s’installer chez lui et fut perdu de vue. Le Dr. Irons suivra médicalement jusqu’à la fin de ses études M. Noël. Il rapportera au Pr. Herrick son antécédent d’ulcère à la cheville, présenté lors de son voyage aller en bateau pour venir étudier en Amérique, ainsi que ses très nombreux syndromes infectieux pulmonaires et épisodes d’ictères conjonctivaux (Herrick, 2001)(Steensma et al., 2010). Le Pr. Herrick sera celui qui, le premier, publiera sur la modification particulière des GR drépanocytaires rapportée par Dr. Irons, accentuée au moment où M. Noël présentait des accès de fièvre ou de fatigue. Les GR étaient décrits comme étant très nombreux, filiformes et allongés, en forme de « faucilles » ou de « croissants de lune », et de coloration rouge sombre. A contrario, après guérison, le nombre de ces GR sombres diminuait sans disparaître, avec retour d’une majorité de population de GR aux couleurs habituelles. Le Pr. Herrick essaiera expérimentalement avec d’autres collègues de reproduire avec des solutés hypertoniques (sucre de canne) ces modifications de forme des GR, sans y parvenir et ne crut pas vraiment à une réelle découverte (Herrick, 2001). Il sera rapporté plus tard le décès prématuré à 32 ans de M. Noël, d’un

vraisemblable syndrome thoracique aigu (STA) survenu dans les suites d'un nouvel épisode infectieux pulmonaire (Steensma et al., 2010), consécutif à un refroidissement après un bain succédant à un long et épuisant trajet à cheval.

La maladie drépanocytaire décrite à partir de cette publication fut longtemps d'abord appelée syndrome de Herrick, avant d'être nommée pour la première fois « Sickle cell anemia » par Vernon Mason dans les années vingt, en raison de la forme de faucille (« Sickle » en anglais) des GR drépanocytaires et de l'anémie chronique constatée consécutive à leur hémolyse (Mason, 1985). L'hémoglobine S pour « Sickle cell hemoglobin » fut elle, identifiée en 1949 par Linus Pauling (1901-1994), révélée par une migration anormale lors de l'électrophorèse de l'hémoglobine (Pauling and Itano, 1949). Ce dernier contribua à faire de la drépanocytose la première maladie moléculaire. Beet, en 1949 (Beet, 1949) puis Neel en 1951, émettront de façon indépendante l'hypothèse d'une origine génétique, autosomique récessive de cette maladie grâce à l'observation de familles sur plusieurs générations. Ce n'est qu'en 1957 qu'Ingram démontrera enfin que la drépanocytose était due à la substitution d'un acide glutamique par une valine au niveau protéique, résultant d'une mutation ponctuelle d'une adénine remplacée par une thymine sur le premier exon du 6^{ème} codon du gène de la chaîne β -globine localisé sur le bras court du chromosome 11 (Ingram, 1957). A ce jour, le traitement de la drépanocytose repose encore sur des mesures essentiellement préventives des CVO et autres complications connues de la maladie, apprises par les patients et leur famille en éducation thérapeutique et sur la prise en charge symptomatique de ces complications. L'arsenal thérapeutique comprend les protocoles transfusionnels ou un traitement par hydroxyurée au long court (Lanzkron et al., 2008). Mais cet ensemble de soins ne peut être réalisé qu'après avoir fait le diagnostic de la maladie. Dès 1977, Yuet Wai Kan a montré la faisabilité de ce dépistage en anté-natal,

par ponction de sang au cordon. Mais ce diagnostic est surtout fait après la naissance, par prélèvement d'une goutte de sang sur le nouveau-né, ou malheureusement lors d'une complication inaugurale révélatrice, en l'absence de dépistage. Ce dernier est en effet, pour l'individu atteint, indispensable à sa prise en charge précoce et préventive des complications possibles de la maladie. Ces dernières peuvent altérer la qualité de vie voire la survie d'une personne drépanocytaire. Ce diagnostic de la drépanocytose, selon un dépistage à couverture partielle ou universelle des populations, met en lumière respectivement, les fréquences observées ou les prévalences de la maladie aujourd'hui. Quoi qu'il en soit, la répartition géographique des patients drépanocytaires repose avant tout sur l'histoire des hommes, directement impactée par leurs comportements envers et au sein de leur propre espèce.

I-1.b. Une distribution géographique particulière

La mutation responsable de la production d'hémoglobine S (HbS) est apparue dans des régions du monde où sévissait préalablement l'infection palustre. Le *plasmodium falciparum* a joué un grand rôle dans l'extension épidémique de la drépanocytose, en exerçant une pression de sélection sur les individus (Lederberg, 1999). Cette mutation a eu pour conséquence une meilleure survie des enfants hétérozygotes porteurs du trait drépanocytaire (AS), sur une tranche d'âge habituellement frappée par une surmortalité inhérente au paludisme : c'est l'avantage sélectif des hétérozygotes (Allison, 1954). Il en résulte une superposition des cartes géographiques de la distribution du paludisme et de l'allèle de l'HbS (*cf. Figure 1*).

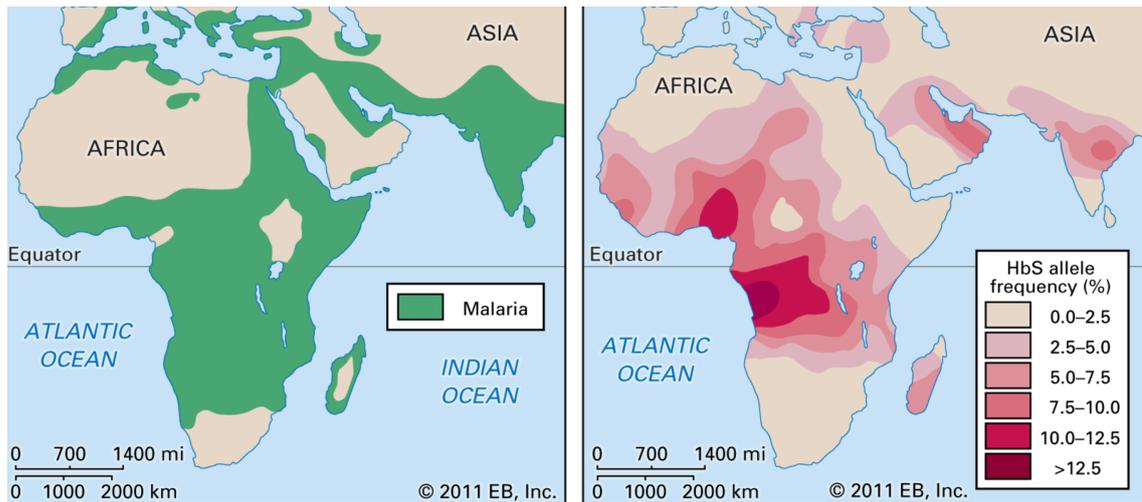


Figure 1 : Distribution géographique de la malaria et de l'allèle HbS :

Légende : malaria = paludisme ; images issues d'Encyclopædia Britannica

Les migrations forcées de populations esclaves sur des territoires géographiques particuliers ont entraîné la dispersion de cette maladie et expliquent que la drépanocytose s'est retrouvée ensuite plus prégnante dans les régions d'Amérique du Nord, du Brésil et des Caraïbes. Il est aussi à noter l'existence d'un autre foyer situé entre l'Arabie Saoudite et l'Inde.

Plus récemment, les flux migratoires du XX^{ième} siècle, cette fois-ci pour raisons économiques ou géopolitiques, ont pu contribuer à étendre la dispersion du gène morbide, et *in fine* celle de la maladie dans de nouvelles régions. Ainsi, en dehors du continent africain, la maladie drépanocytaire s'est étendue à l'Europe (Brozović and Anionwu, 1984) (France, Angleterre,...), mais aussi aux pays du pourtour méditerranéen.

I-2. D'une politique de dépistage au diagnostic clinique

La couverture du dépistage prénatal ou néonatal (DNN), reste en effet, encore à ce jour très variable à l'échelle mondiale, dépendant directement de la décision politique de financer ou non ce DNN. Lui seul permet de connaître la prévalence de la maladie, avec comme bénéfice direct pour les patients une prise en charge précoce préventive des complications. Le Bénin a en effet ainsi montré que le DNN était la première pierre angulaire de la survie des patients, avec, pour corolaire associé à la prise en charge thérapeutique des enfants dépistés, une augmentation de la prévalence des malades et un abaissement de la mortalité constatée des enfants de moins de 5 ans à 15,5/10 000, comparativement au taux mondial dix fois plus élevé sur cette même tranche d'âge. (Rahimy et al., 2009). Tous les pays ne bénéficiant pas du DNN de la drépanocytose, d'autres approches, comme les modèles Bayésiens, ont été aussi développées, permettant l'estimation de la distribution mondiale des AS (Piel et al., 2013) (*cf. Figure 2*).

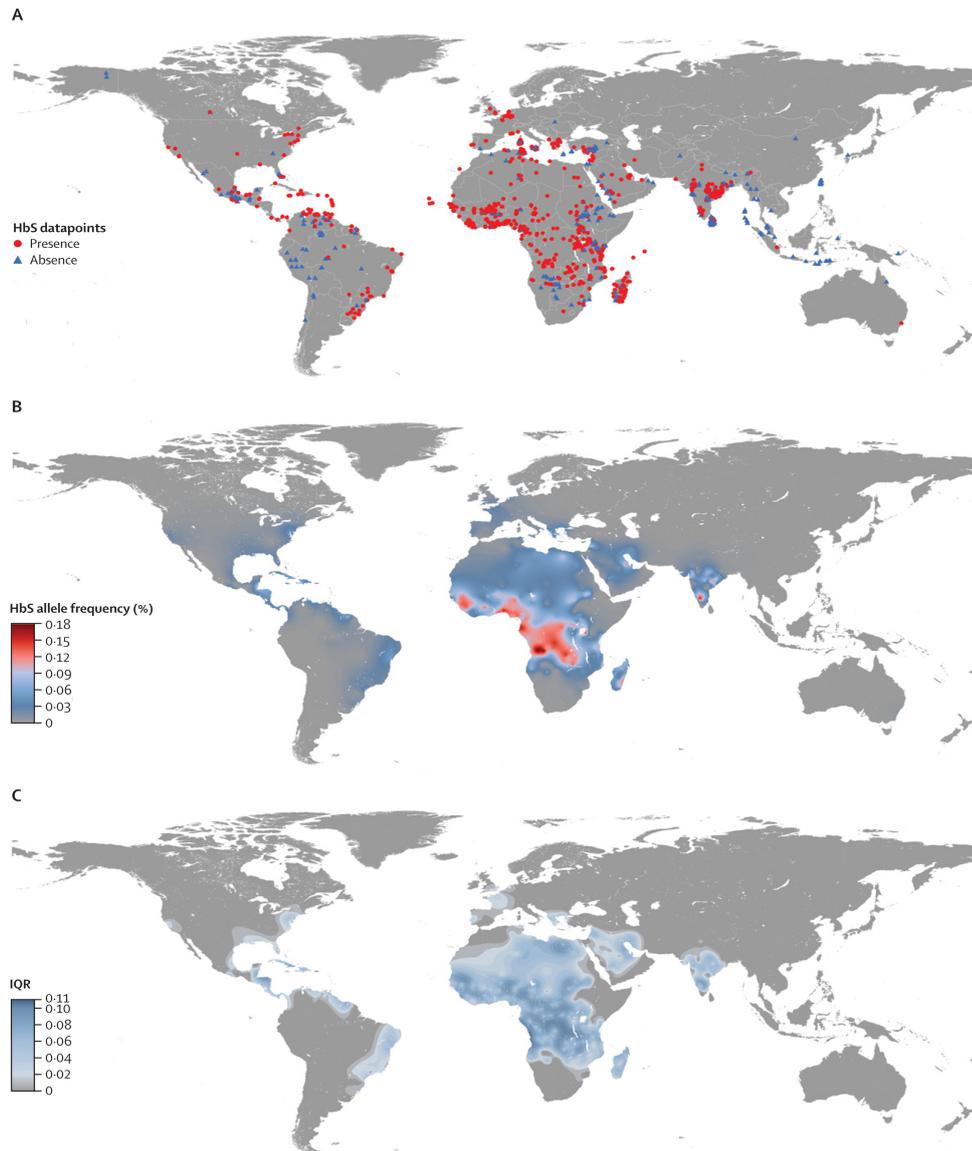


Figure 2 : Enquêtes, moyenne et incertitude de la fréquence allélique d'HbS prédite par modèle Bayésien :

Légende : (A) Répartition des points de données : les cercles rouges et triangles bleus indiquent la topographie des enquêtes réalisées, montrant la présence et l'absence de HbS, respectivement. (B) Moyenne de la distribution prédictive postérieure. (C) Modèle bayésien de prédiction d'incertitude géostatistique (écarts-types postérieurs) de la fréquence de l'allèle HbS ; Figure issue de (Piel et al., 2013).

I-2.a. Un dépistage aux modalités diverses

Deux états furent historiquement pionniers dans le DNN systématisé de la drépanocytose: les Etats-Unis et l'Angleterre (Vichinsky et al., 1988). Ils furent suivis par les Pays-Bas en 2007, et continuent à offrir et à promouvoir un dépistage de la drépanocytose précoce pour tous les nouveaux-nés, (cf. Figure 3), considérant que tout individu peut être porteur du gène β^S .



Figure 3 : Promotion du dépistage néonatal de la drépanocytose :

Légende: image issue de (Steensma et al., 2010)

A contrario, pour la majorité des continents et pays, le DNN est resté le plus souvent réalisé dans des sous-populations ciblées dites « à risque » de la maladie drépanocytaire, comme pour la France métropolitaine où le DNN reste sélectif, réalisé uniquement sur les nouveau-nés identifiés comme étant à risque drépanocytaire majeur (Bardakdjian-Michau et al., 2009), du fait de la moindre fréquence de la drépanocytose dans les régions de l'hexagone. Il persiste ainsi un risque que 2,1% des enfants avec SDM échappent à ce dépistage dans des maternités non sensibilisées en France hexagonale (Thuret et al., 2010).

En revanche, dans les régions françaises caribéennes en outremer, le DNN de la drépanocytose a été systématisé dès 1984, d'abord en Guadeloupe, puis en Martinique (1984), et enfin en Guyane (1992) (Saint-Martin et al., 2013). Pour les autres pays de la Caraïbe, la situation reste à ce jour très diversifiée (Knight-Madden et al.,

2016). A Cuba, il s'agit d'un dépistage prénatal de l'enfant mis en place en 1983, à partir d'un dépistage ciblé des couples à risque de la maladie et identifiés lors de la grossesse. Pour Tobago, ce dépistage est néonatal, systématisé en 2009, et traité par le laboratoire des hémoglobinopathies du centre de référence de la Drépanocytose de la Guadeloupe. En Jamaïque, ce dépistage est néonatal, mais ne couvre que 40% de sa population générale. La Jamaïque a été le premier état à systématiser le DNN en Caraïbes (Serjeant and Serjeant, 1979). Au Brésil, il a été systématisé à partir de 2001.

I-2.b. Aspects techniques du diagnostic de drépanocytose

Le DNN de la drépanocytose est réalisé à partir d'une goutte de sang prélevée au talon des nouveaux-nés et déposée sur un carton spécifique à leur 3^{ème} jour de vie. Une fois séché à l'air libre, ce carton est adressé à un centre régional de référence de la drépanocytose. Le DNN est réalisé simultanément aux autres dépistages systématiques en vigueur (phénylcétonurie, hypothyroïdie congénitale, hyperplasie congénitale des surrénales et mucoviscidose). En cas de dépistage par isoélectrofocalisation, le diagnostic devra être confirmé par électrophorèse en gel d'agar à pH acide ou chromatographie liquide de haute performance (Bardakdjian-Michau et al., 2003). Le résultat sera communiqué aux parents en consultation d'annonce dans un centre de référence de la drépanocytose.

Il existe deux centres de référence de la drépanocytose en France. Le premier, dirigée par le Dr. Maryse Etienne Julan, est constitué, en 2019, à la fois de l'Unité Transversale de la Drépanocytose (UTD), située à l'Hôpital Ricou, au CHU de la Guadeloupe et des services du CHU de la Martinique, dirigés par le Dr. Gylna Loko, associés à l'unité guyanaise de Cayenne, dirigée par le Dr. Narcisse Elenga. Les centres de compétences associés à ces centres de références sont dirigés au CH de Basse-Terre pour la Guadeloupe, par le Dr. Corinne Charneau, au CHU de la Martinique par le Dr.

Gisèle Elana (partie pédiatrique) et par le Dr. Jérôme Clouzau au centre hospitalier Franck Joly - ouest Guyanais à Saint Laurent du Maroni.

Le 2^{ème} centre de référence français de la drépanocytose, coordonné par le Pr. Frédéric Galactéros, est localisé au niveau de la région île de France au CHU Henri Mondor. Il est associé à la fois à de très nombreux centres de référence constitutifs, ainsi qu'à divers centres de compétence de l'hexagone.

I-3. Incidences françaises de la drépanocytose

Selon le bilan d'activité de 2015 de l'association française pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant, sur 335 360 nouveaux-nés ayant bénéficié de ce DNN en France, dont 39 409 en départements d'outre-mer, l'incidence de la drépanocytose en 2015 est de 1/245 naissances pour la Guadeloupe, 1/243 pour la Guyane, 1/263 pour la Martinique, contre 1/765 pour la région île de France (et toujours pour cette dernière, de 1/561 pour les nouveau-nés testés pour la drépanocytose), soit pour cette même année, 79 patients diagnostiqués drépanocytaires dans les DOM-TOM et 387 pour la métropole.

II- Définition de la drépanocytose : de l'hémoglobine humaine à ses variants

II-1. L'hémoglobine humaine normale

II-1.a. L'hémoglobine

Elle est constituée de 4 chaînes de globines : 2 chaînes de type α globine et 2 chaînes de type β globine, liées ensemble pour constituer un tétramère sur lequel sont fixés 4 groupements prosthétiques, appelés hème (*cf. Figure 4*). L'hème est un noyau porphyrrique contenant du fer (Fe^{2+}), qui véhicule l'oxygène (O_2). Chaque molécule d'hémoglobine (Hb) peut porter 4 molécules d' O_2 . L'Hb est constitutivement une

métalloprotéine, qui change de conformation pour accomplir sa fonction principale : la délivrance d'O₂ aux tissus. Elle se charge en O₂ au niveau des veines pulmonaires, puis le transporte jusqu'aux différents organes, pour une délivrance terminale aux cellules. La libération de l'O₂ depuis l'hème nécessite une baisse du gradient de pression partielle en O₂, qui va à son tour abaisser l'affinité de Hb pour l'O₂ et permettre sa délivrance. La pression partielle en O₂ est ainsi plus importante dans les gros vaisseaux (100 mm Hg) et devient plus faible au fur et à mesure de la diminution de leur calibre, comme au niveau des capillaires, où elle est la plus faible (40 mmHg). Une fois l'O₂ libéré au niveau des tissus cibles, Hb passe de sa forme oxygénée HbO₂ (GR rouge vif), à sa forme désoxygénée Hb (GR sombre) et le GR repart pour un nouveau cycle de réoxygénation du sang périphérique au niveau pulmonaire.

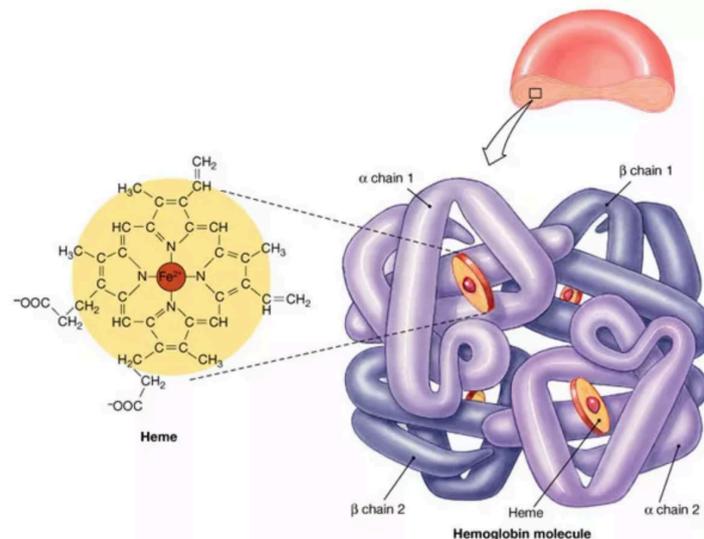


Figure 4 : L'hémoglobine humaine

II-1.b. Ontogénie de l'hémoglobine

Depuis le début de la vie embryonnaire jusqu'à après la naissance d'un individu, une succession de gènes s'active et s'inactive selon une chronologie précise, génétiquement déterminée, qui permet d'abord de synthétiser des chaînes

embryonnaires, avant de faire place aux chaînes α et β définitives de l'adulte qui constituent l'hémoglobine A (HbA).

Au cours du développement humain, l'ordre d'activation des gènes codant pour les chaînes de globines de type β est le suivant (cf. Figure 5):

- un gène epsilon ϵ , exclusivement actif pendant la vie embryonnaire,
- deux gènes gamma γ : $^G\gamma$ et $^A\gamma$, actifs pendant la vie fœtale,
- un gène β , dont l'expression débute à la fin du premier trimestre de la grossesse, qui donnera les chaînes β définitives et un gène δ responsable de la production d'une forme mineure de l'hémoglobine adulte.

Le remplacement des chaînes γ par des chaînes β se fait progressivement jusqu'à l'âge d'un an chez le sujet normal, pour donner l'hémoglobine adulte, ($\alpha_2\beta_2$) ou HbA. Après la naissance, un gène δ est lui aussi activé et son expression se poursuit toute la vie (Tchernia, 1989).

Concernant les gènes de type α -globine, le gène ζ zêta est celui qui précèdera pendant la période embryonnaire l'activation du gène α .

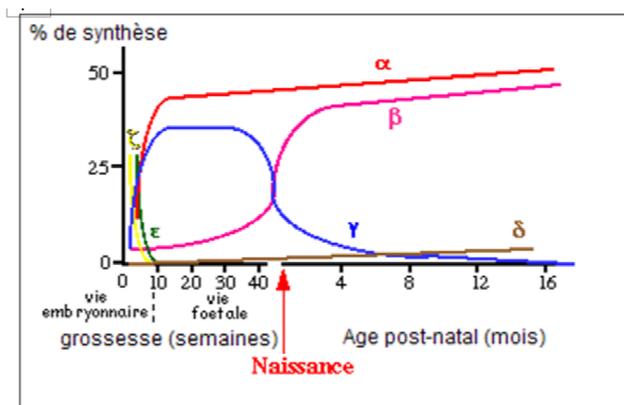


Figure 5 : Activation des gènes de l'hémoglobine au cours de l'ontogénèse

L'hémoglobine fœtale (HbF) apparaît, dès le 37^e jour de vie fœtale, et restera l'hémoglobine majoritaire jusqu'à la naissance. HbF ($\alpha_2\gamma_2$) est formée de l'association de

deux chaînes α et de deux chaînes γ . Ainsi, à 30 semaines de vie fœtale, moins de 5 % de l'hémoglobine est de l'HbA, contre environ 10 % à la naissance pour un bébé né à terme, et 75 % vers l'âge de trois mois. Le taux d'HbF est souvent inférieur à 1 % vers l'âge d'un an, mais il peut décroître plus tardivement. Après l'âge d'un an, comme chez l'adulte, l'Hb humaine est constituée d'environ 97 % d'HbA et de 2 à 3 % d'HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$), avec moins d'1% d'HbF ($\alpha_2\gamma_2$).

Les gènes codant pour ces globines sont organisés en clusters détaillés ci-dessous : pour le chromosome 16, pour les gènes des chaînes de type α -globine et pour le chromosome 11, pour les gènes de type β -globine (*cf. Figure 6*).

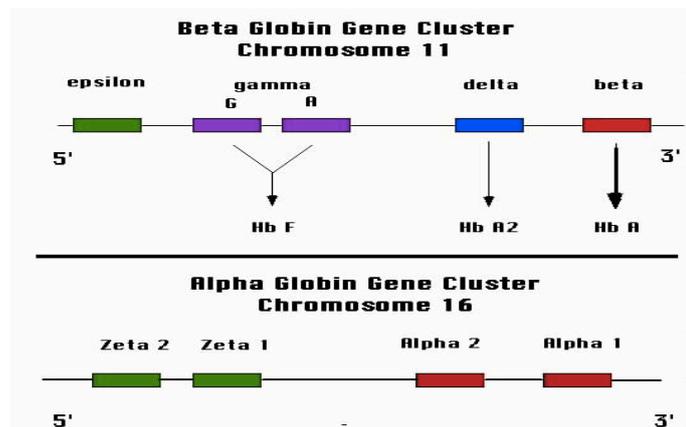


Figure 6 : Loci des gènes α et β globine

II-2. Les syndromes drépanocytaires majeurs

La drépanocytose est une maladie autosomique récessive monogénique du gène de la β globine. Les patients drépanocytaires présentent donc toujours un allèle β^S à l'origine de la synthèse de l'HbS. Son 2^{ème} allèle muté, pour que la maladie drépanocytaire s'exprime, est soit, pour la forme homozygote, un nouvel allèle β^S , soit un autre allèle anormal. Cette diversité d'association génétique est regroupée sous l'appellation « syndromes drépanocytaires majeurs » (SDM). Leur définition comprend

donc la forme homozygote de la maladie et les autres formes hétérozygotes composites, qui elles, résultent de l'association d'un allèle β^S , associé à un allèle différent, variant qualitatif (β^C , $\beta^{DPunjab}$, etc.), ou quantitatif du gène β -globine (β -thalassémies)(Saraf et al., 2014).

II-2.a. La forme homozygote SS

En Guadeloupe, c'est la forme la plus fréquemment retrouvée de la maladie (>50% des SDM). L'allèle β^S correspond à une mutation ponctuelle (transversion d'une adénine en thymine, rs334) au niveau du 6^{ème} codon de la protéine. Si la forme SS est généralement considérée comme la forme la plus sévère de la maladie drépanocytaire, cette dernière ne s'exprime pas de façon identique d'un individu à un autre, ni au sein d'un même SDM (Weatherall et al., 2005). Son expression clinique varie aussi en fonction des différents âges de la vie, mettant en évidence l'existence de facteurs modulateurs, aggravant ou protecteurs, vis-à-vis des complications de la maladie (Serjeant et al., 2009).

II-2.b. Les hétérozygotes composites

Lorsqu'ils associent l'allèle β^S avec un variant qualitatif, ils définissent les génotypes suivants (Saraf et al., 2014):

- ✚ le génotype SC (allèle β^S et β^C), qui est le 2^{ème} génotype le plus fréquemment rencontré après la forme homozygote (un peu moins de 30% des SDM en Afrique sub-saharienne et 35 à 40% des SDM en Guadeloupe). Le gène β^C , responsable de l'HbC anormale, résulte de la transition d'une guanine en une adénine et entraîne au niveau du codon 6 du gène β -globine, le remplacement d'un acide glutamique par une lysine.

Contrairement à l'HbS, l'HbC ne polymérise pas mais cristallise en condition oxygénée, de façon réversible, d'autant plus fortement que la concentration d'HbS augmente dans le GR.

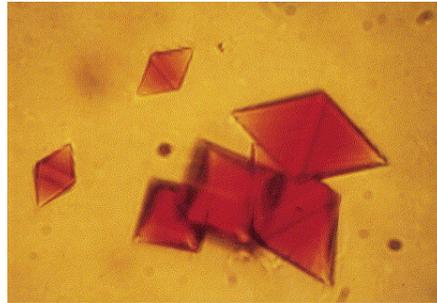


Figure 7 : Cristaux d'HbC

Légende : image issue de (Nagel et al., 1993)

- ✚ le génotype SD^{Punjab} (allèle β^S et $\beta^{D^{Punjab}}$), où la mutation D Punjab résulte du remplacement de l'acide glutamique par la glutamine à la position 121 de la chaîne.
- ✚ le génotype SO^{Arab} (allèle β^S et $\beta^{O^{Arab}}$), lorsque le codon 121 est remplacé par une lysine à la place de l'acide glutamique.

Les hétérozygotes composites associant un allèle β^S avec un variant quantitatif, définissent eux, les génotypes suivants :

- ✚ $S\beta^0$ thalassémie : absence totale de synthèse de chaîne β et donc absence de production d'HbA.
- ✚ $S\beta^+$ thalassémie : synthèse de chaîne β diminuée mais présente, avec des degrés divers de synthèse d'ordre croissant du type I à III : respectivement 3 à 5%, 8 à 14%, 18 à 25%.

Il existe aussi des associations génotypiques du gène β^S avec des variants entraînant la production d'une Hb anormale associée à un phénotype thalassémique tels que SE ou encore SLe pore.

Parmi les SDM figurent aussi les syndromes drépanocytaires dominants, rares et caractérisés par une double mutation sur le gène β^S , permettant l'expression de la maladie même à l'état hétérozygote :

- ✚ *Allèle S Oman* : changement par une lysine à la place d'un acide glutamique en position β^{121} .
- ✚ *Allèle S Antilles* : changement d'une isoleucine par une valine en position β^{23} .
- ✚ *Allèle S Jamaïca Plain* : changement d'une leucine en position β^{68} par une phényl-alanine.

La proportion des divers SDM n'est pas toujours connue dans les différentes régions du monde (Saraf et al., 2014). Aux Antilles-Guyane, selon le rapport 2015 de l'association française pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant, la distribution des formes majoritaires des différents SDM dépistés, est la suivante :

Tableau 1 : Distribution des syndromes drépanocytaires majeurs de la drépanocytose, du début du dépistage jusqu'en 2015, aux Antilles-Guyane :

Dépistage systématisé					
Régions	Nb NN testés	SS	SC	Sβ thal	autres
Guadeloupe	199 363	542	124	24	1
Martinique	143 111	296	96	22	6
Guyane	128 449	340	209	13	0

Légende : Nb NN : nombre de nouveaux-nés ; autres : SOArab, SDPunjab, ASAntilles.

Tableau constitué à partir des données du rapport 2015 de l'Association française pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant

III- Mécanismes physiopathologiques de la drépanocytose

III-1. Le processus de polymérisation

Le passage de la forme oxygénée à la forme désoxygénée de l'Hb s'accompagne d'un changement de conformation de la protéine. Dans le cas de l'HbS, la valine (acide aminé hydrophobe) en position 6, va pouvoir interagir avec une poche hydrophobe constituée de la leucine en position 88 et de la phénylalanine en position 85 lorsque l'Hb sera sous sa forme désoxygénée (Murayama, 1966). Ces interactions entre différentes molécules d'HbS modifient les propriétés de l'HbS en situation hypoxique, par rapport à l'HbA, en rendant *in fine* l'HbS insoluble. Ces liens hydrophobes permettent d'abord la constitution de monomères de desoxy HbS, qui vont ensuite s'associer entre eux, et après une succession de 10 à 18 réactions défavorables, formeront un premier noyau stable (Kuypers, 2014). La poursuite de l'agrégation verticale et selon une hélice, de nouveaux monomères d'HbS à partir de ce noyau permettra la constitution d'une fibre ou tubule d'HbS. Cette agrégation se fait dans les 2 sens depuis le noyau de départ (nucléation homogène).

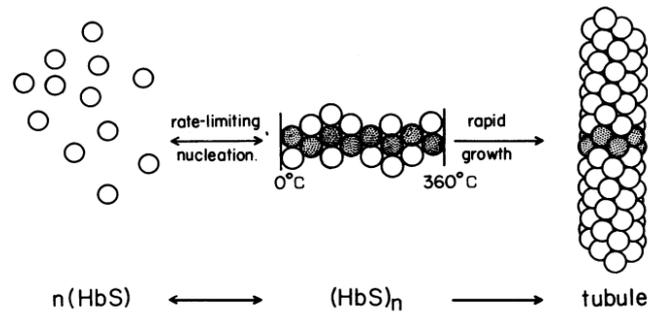
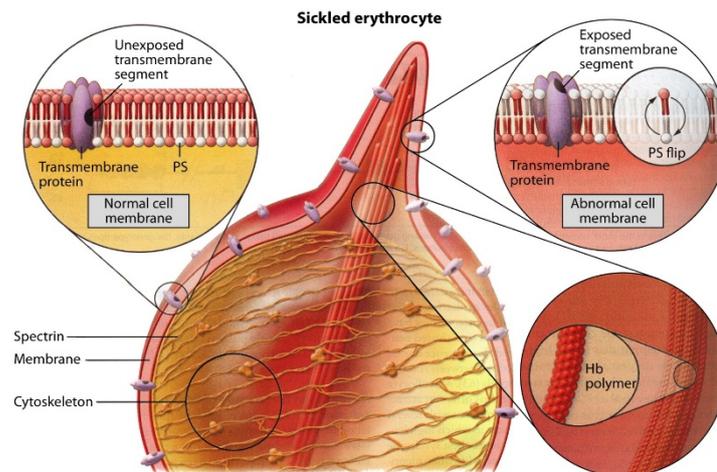


Figure 8 : Formation d'une fibre d'hémoglobine S
Légende : ce modèle de microtubule est extrait de (Josephs et al., 1976).

Les fibres ainsi constituées se regrouperont pour former des amas, sous la forme de faisceaux de fibres ou tubules d'HbS rectilignes, sur lesquels d'autres tubules peuvent également être reliés en latéral, en « X », ou en « Y » (nucléation hétérogène) (Agarwal et al., 2002).

Cette polymérisation engendre une poussée physique de ces assemblages internes depuis le cytosol cellulaire vers les feuillettes de la membrane interne du GR, induisant sa déformation, tout en modifiant la texture du cytosol du GR, qui passe de la forme liquide à un gel, au fur et à mesure de l'extension de cette polymérisation de fibres insolubles (cf. Figure 9).



Barabino GA, et al. 2010.
 Annu. Rev. Biomed. Eng. 12:345–67

Figure 9 : Altérations membranaires lors de la polymérisation de l'HbS

Légende : schéma issu de (Barabino et al., 2010)

III-2. Conséquences de la polymérisation de l'HbS

La polymérisation de l'HbS va entraîner des modifications à la fois de la forme mais aussi de la déformabilité et de la stabilité du GR. Ces modifications résultent d'altérations moléculaires au niveau du GR drépanocytaire. Il se produit :

- ✚ Une oxydation des molécules d'HbS, conduisant à la formation d'hémichromes réversibles puis irréversibles, qui vont se placer contre la face interne de la membrane des GR (Asakura et al., 1977). Ils vont aussi se fixer sur la protéine de la bande 3, en formant des agglomérats ou corps de Heinz. Des immunoglobulines G vont alors se fixer sur ces agglomérats, entraînant leur reconnaissance et destruction par la rate. Plus le nombre d'hémichromes augmente dans un GR et plus sa probabilité d'être identifié et présenté pour sa destruction augmente. Les corps de Heinz sont de plus le lieu d'une séquestration de lipides et protéines membranaires internalisés (Liu et al., 1996).
- ✚ Une réorganisation structurelle des lipides membranaires du GR. La membranaire cellulaire des GR est en effet constituée de deux feuillettes (interne et externe), asymétriques par leur composition en lipides. La membrane interne contient davantage de phosphatidyl-éthanolamine et de phosphatidyl-sérine (PS), ainsi que le phosphatidyl-inositol, tandis que la membrane externe contient davantage de phosphatidyl-choline et de sphingomyéline (Mohandas and Gallagher, 2008). Dans les drépanocytes falciformés, la PS va être transloquée vers le feuillet externe de cette membrane (Lubin et al., 1981), par des mécanismes non encore parfaitement élucidés impliquant (Weiss et al., 2012) :

- une flippase (aminophospholipid translocase-ATP dépendante), qui transfère la PS du feuillet externe de la membrane du GR vers le feuillet interne
- une floppase (qui déplace en sens inverse la PS : du feuillet interne vers le feuillet externe et qui est activée par l'entrée intracellulaire de Ca^{2+})
- et une scramblase (qui déplace indifféremment la PS d'un feuillet à l'autre grâce à une forte entrée de Ca^{2+} intracellulaire).

Cette extériorisation de la PS est déclenchée entre autres par l'hypoxie, le stress oxydatif membranaire (Weiss et al., 2012) et par l'entrée de calcium intracellulaire qui favoriserait la formation de complexes favorables à cette translocation (Lubin et al., 1981). Par voie de conséquence, la PS externalisée procure au GR de nouvelles propriétés : pro-coagulantes vis-à-vis de l'endothélium vasculaire activé (Setty and Betal, 2008) mais aussi signalétiques permissives d'élimination (Zwaal and Schroit, 1997), en accélérant la destruction de ces GR altérés par facilitation de leur adhérence auprès des autres cellules ou organes émonctoires de l'organisme (macrophages, rate)(Zwaal and Schroit, 1997).

III-3. Le drépanocyte irréversible

De très nombreux cycles de polymérisation/dépolymérisation de l'HbS se produiront au cours de la vie d'un drépanocyte. Ils seront responsables de falciformation/défalciformation, jusqu'à une certaine limite, où la dépolymérisation ne se fera plus (*cf. Figure 10*).

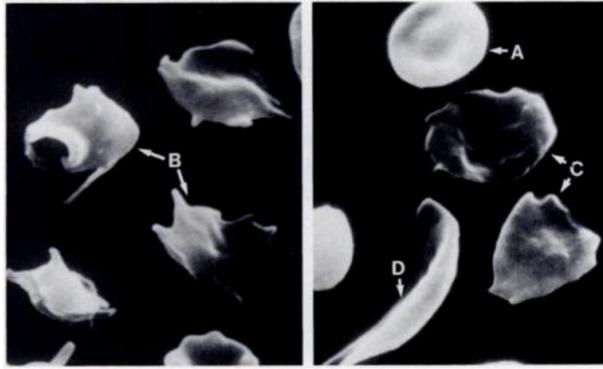


Figure 10 : Différents stades évolutifs du drépanocyte

Légende : A : GR avec forte concentration en HbF ; B : drépanocytes à déformation réversible ;

C : drépanocytes denses non déformables ; D : drépanocytes irréversibles

d'après (Kaul et al., 1986)

Ce GR gardera alors une structure définitivement rigide et sera appelé drépanocyte irréversible (Lux et al., 1976) (*cf. Figure 10*). Par voie de conséquence, il perdra ses capacités à modifier ses contours membranaires pour son passage dans les petits vaisseaux et capillaires. Il restera alors en forme de croissant de lune, plus foncé, car avec moins de cytoplasme et avec une concentration en HbS plus élevée, même en situation normoxique (*cf. Figure 10*). Liu et al expliquent la perte de surface membranaire et l'aspect spiculé des drépanocytes irréversibles par des extractions répétées des complexes lipido-protéiques-corps de Heinz précédemment décrits, reconnus et « prélevés » quasi chirurgicalement des drépanocytes par les macrophages du système réticulo-endothélial (Liu et al., 1996). Ce manque de souplesse pour se déplacer dans la microcirculation favorisera le processus de vaso-occlusion.

III-4. De la falciformation à la vaso-occlusion

Si la polymérisation de l'HbS est l'évènement moléculaire qui va conduire en condition hypoxique à la falciformation du GR, différents processus, autres que ceux

vus précédemment, vont favoriser la falciformation des GR et impacter considérablement leurs propriétés et fonctions.

III-4.a. Un délai de traversée vasculaire

Le temps mis par un GR pour traverser un microvaisseau ou « delay time », est normalement inférieur à celui nécessaire au déclenchement de la polymérisation de l'HbS. Par ailleurs, la déformation des drépanocytes consécutive à la chute du niveau d'O₂ intra-capillaire, nécessite, elle aussi, pour se mettre en place, un temps de latence normalement supérieur à celui de la traversée de ces capillaires, de sorte que les drépanocytes peuvent être déjà passés en post-capillaire avant que cette déformation n'ait eu lieu.

Par voie de conséquence, toute cause, mécanique, cellulaire, hormonale ou autre qui allongera ce temps de traversée, favorisera la falciformation des GR SS, et ce, d'autant plus qu'elle augmentera le temps de résidence des GR en milieu hypoxique défavorable (*cf. Figure 11*). Les GR bloqués derrière un obstacle, déjà falciformés ou non, vont s'accumuler et contribuer à leur tour à obstruer davantage la lumière d'un vaisseau. Une ischémie sera initiée à la fois au niveau du réseau vasculaire d'aval où les GR seront retenus en milieu hypoxique, mais aussi finira par toucher les GR bloqués en amont de l'obstacle et favorisera leur falciformation. Certains de ces GR SS subiront alors une lyse intra-vasculaire qui sera à l'origine de production de cytokines inflammatoires et de phénomènes en cascade, renforçant le processus de vaso-occlusion (Kato et al., 2017). C'est un vrai cercle vicieux.

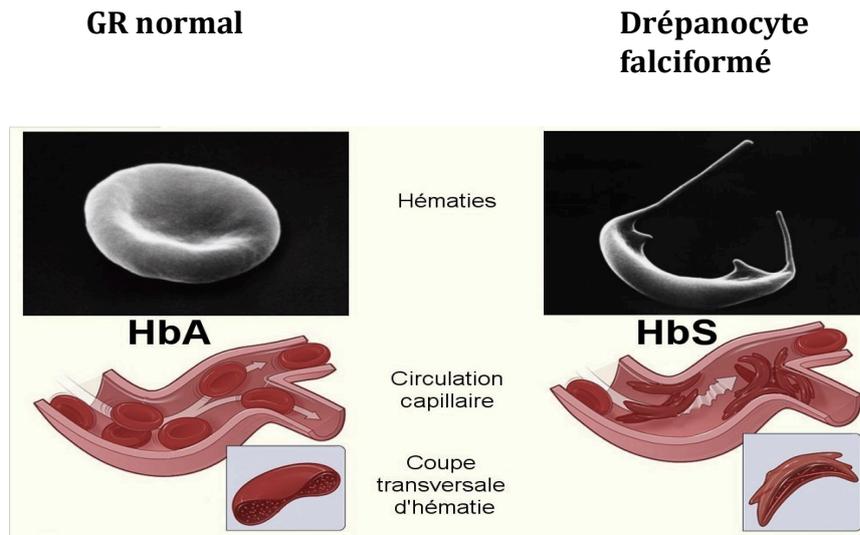


Figure 11 : Différences morphologiques et conséquences vasculaires en situation hypoxique pour les GR AA et SS

Légende : photos Inserm/Féo, Claude : GR normal (gauche) et falciformé (droite)

Les drépanocytes se comportent par ailleurs différemment, fonction de leurs stades évolutifs, particulièrement hétérogènes. Il a été observé que :

- ✚ Les GR drépanocytaires les plus légers, falciformés ou non, étaient essentiellement retardés au niveau des veinules post-capillaires (Barabino et al., 1987a)(Kaul and Fabry, 2004). Ils interagissent préférentiellement avec leur endothélium, par des phénomènes de plus grande adhérence à ses parois, notamment lorsqu'ils vont circuler au sein de vaisseaux porteurs d'endothéliums activés, exprimant alors diverses molécules d'adhérences vasculaires, liées au contexte pro-inflammatoire et pro-oxydant caractéristique de la drépanocytose (Kaul et al., 2009). Les jeunes GR immatures et les réticulocytes, aux propriétés plus pro-adhésives, sont surexposés à ce phénomène (Barabino et al., 1987a)(Barabino et al., 1987b)(Kaul et al., 2009).

- ✚ Les GR drépanocytaires irréversiblement falciformés, plus rigides et plus denses, obturent eux, préférentiellement, les vaisseaux au niveau pré-capillaire, au niveau de la microcirculation (Ballas and Mohandas, 2004), majorant l'hypoxie déjà présente. Mais ils sont retrouvés aussi dans les veinules post-capillaires (Kaul and Fabry, 2004), où ils contribuent également aux vasoocclusions, plus facilement piégés de façon rétrograde au circuit du flux sanguin, comparativement aux drépanocytes les plus légers, qui peuvent, eux, les ralentir (Kaul et al., 2009)(Barabino et al., 1987a). Comparativement aux drépanocytes les plus légers, ils n'ont en effet qu'une faible capacité d'adhérence à l'endothélium vasculaire (Mohandas and Evans, 1985).

Il est à noter que des données récentes ont mis en évidence la participation d'autres éléments figurés du sang dans ce processus vaso-occlusif, avec notamment la participation des polynucléaires neutrophiles (PNN) et des plaquettes, dont nous allons détailler le mécanisme (*cf. Figure 12 et 13*)(Zhang et al., 2016).

III-4.b. Interactions cellulaires et endothéliales

III-4.b.1. Rôle des polynucléaires

Une élévation importante du nombre des PNN est reconnue être associée à une expression plus sévère de la maladie drépanocytaire et notamment certaines complications telles que les CVO, STA et accident vasculaire cérébral (AVC) (Ohene-Frempong et al., 1998). Cette polynucléose est également directement rattachée à une surmortalité des patients drépanocytaires (Platt et al., 1994). Il en découle que l'usage d'une thérapeutique comme les GM-CSF (immunostimulateurs), qui a pour

conséquence la stimulation de cette polynucléose, est contre-indiquée chez eux. Koehl et al ont révélé la présence de récepteurs ET_B pour l'endothéline 1 (ET-1) sur la membrane des PNN, favorisant à la fois leur recrutement et leur adhérence aux veinules enflammées (Koehl et al., 2017). Ces neutrophiles sont également capables de sécréter eux-mêmes ET-1, induisant une action auto et paracrine grâce à la présence de ces récepteurs ET_B membranaires, favorisant ainsi les phénomènes de vasoocclusion (*cf. Figures 12 et 13*). L'adhérence des PNN à l'endothélium est effectivement diminuée par des antagonistes des récepteurs d'ET_B (Koehl et al., 2017), et constitue une piste de recherche pharmacologique.

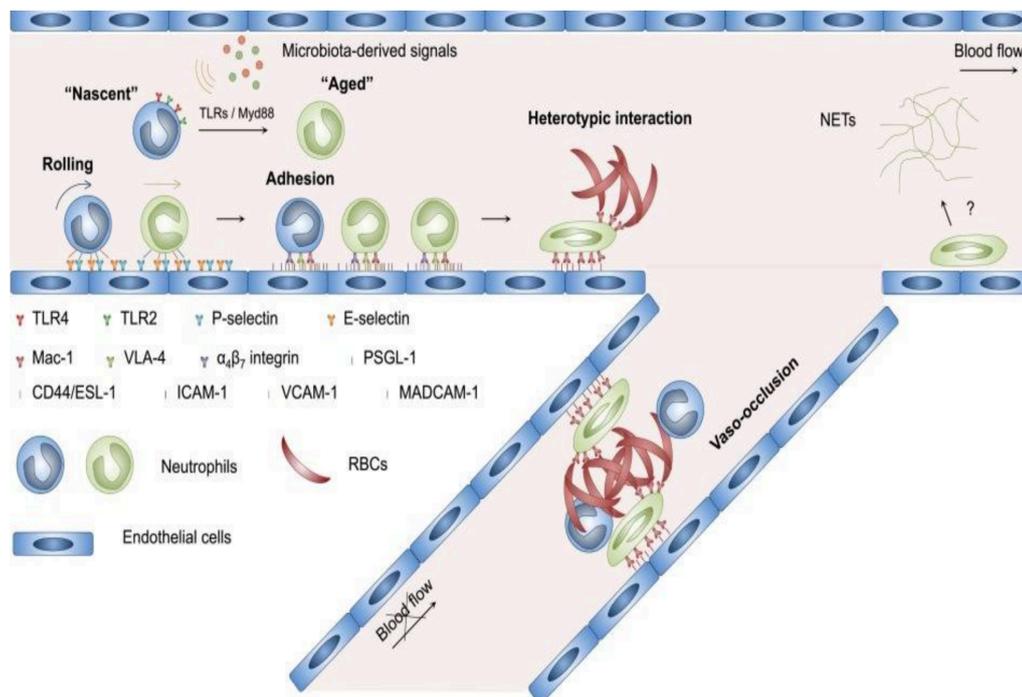


Figure n°12 : Interactions et rôles des polynucléaires neutrophiles dans le processus de vaso-occlusion

Légende : Figure issue de (Zhang et al., 2016)

III-4.b.2 Rôle des plaquettes et de l'endothélium activé

Les plaquettes interviennent également dans le processus de vaso-occlusion, en activant comme illustré en *Figure 13*, l'endothélium vasculaire et certains éléments figurés du sang : monocytes et polynucléaires. Toutes ces cellules sont responsables à leur tour de réactions délétères en cascade au niveau des drépanocytes (*cf. Figure 13*), favorisant ce processus.

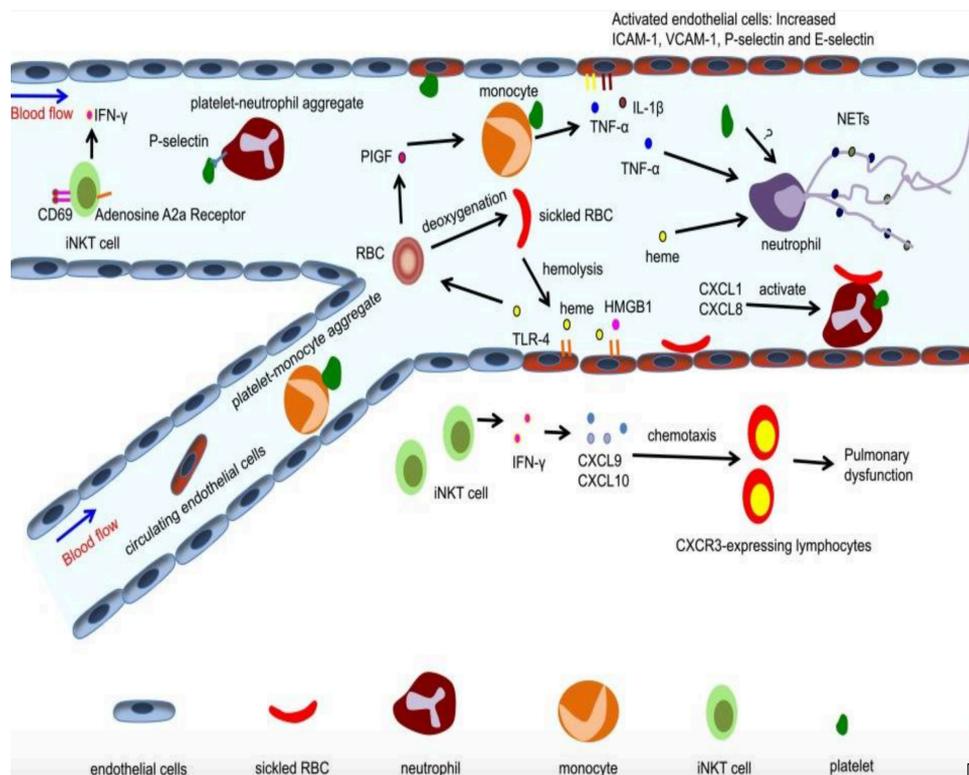


Figure n°13 : Interactions des cellules circulantes du sang entre elles et avec l'endothélium activé

Légende : Figure issue de (Zhang et al., 2016)

III-4.b.3 Rôle de l'hétérogénéité de population des drépanocytes

Une autre conséquence de la falciformation des GR est une plus grande fragilité de ces cellules pouvant aller jusqu'à une rupture membranaire, ou hémolyse, contribuant à l'anémie chronique des patients.

La durée de vie des GR normaux est de 120 jours (Mohandas and Gallagher, 2008). Celle des GR drépanocytaires est raccourcie à 15 jours (McCurdy and Sherman, 1978), car ils sont prématurément détruits par hémolyse, ou via le système des émonctoires vu précédemment.

Au total, le sang des patients drépanocytaires contient donc des GR d'âges différents, ayant subi un nombre de cycles de polymérisation/dépolymérisation variable, ainsi que de jeunes GR immatures appelés réticulocytes de stress, issus de la stimulation de l'érythropoïèse dite aussi de stress, déclenchée par l'anémie. Ces derniers ont également des propriétés plus pro-adhésives que les GR matures car ils portent encore sur leur membrane des récepteurs tels que CD36 ou $\alpha 4\beta 1$, favorisant leur adhérence cellulaire à l'endothélium et aux autres cellules circulantes, à l'origine d'un ralentissement du flux sanguin et pouvant occasionner une augmentation du délai de traversée des capillaires par le GR.

La drépanocytose repose non seulement sur une anomalie moléculaire affectant l'Hb, mais aussi sur des relations pathologiques entre les drépanocytes, des cellules diverses de l'immunité, le système de la coagulation et l'endothélium vasculaire. Ce dernier se comporte physiologiquement comme une surface d'échanges et d'interactions complexes. Activé par des processus divers inflammatoires et oxydants caractérisant la drépanocytose et ses complications, il participera aux processus vaso-occlusifs par ces atteintes, selon une authentique vasculopathie drépanocytaire.

IV- La vasculopathie drépanocytaire et ses hypothèses mécanistiques

Elle se développe sur des vaisseaux de natures différentes (artérioles et artères), impliquant les différents mécanismes de contrôle de la vasomotricité. Cette dernière est physiologiquement permise grâce à un système vaso-actif sécrétoire intrinsèque à l'endothélium vasculaire, lui-même modulé par l'action du système nerveux autonome (SNA), notamment le système nerveux sympathique, via ses différentes terminaisons nerveuses réparties sur les multiples composantes structurelles vasculaires (cf. *Figure 14*).

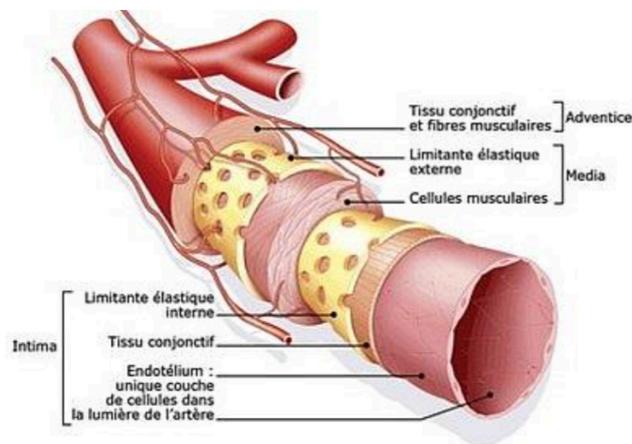


Figure n°14 : Structure d'un vaisseau sanguin

Légende : d'après Sanofi-Aventis France

La vasculopathie drépanocytaire relève des conséquences endothéliales à court, moyen et long terme de l'hémolyse aiguë et chronique, que nous détaillerons, après un bref rappel de la physiologie du contrôle de la vasomotricité vasculaire.

IV-1. Régulation du tonus vasculaire

Les différents niveaux de contrôle seront décrits en suivant l'anatomie vasculaire : depuis l'intima vers la média et l'adventice vasculaire (cf. *Figure 14*).

IV-1.a. Le système NO/ET-1 :

L'endothélium vasculaire sécrète deux antagonistes essentiels au contrôle de sa vasomotricité : le monoxyde d'azote (NO) et l'ET-1. Ils agissent selon un équilibre dynamique.

➤ Le NO :

Le NO est un gaz, produit de façon locale par les enzymes NO synthases (NOS) détaillées plus loin, à partir d'un précurseur plasmatique : la L-arginine. (Kato et al., 2007)(Kato et al., 2017) (*cf. Figure 15 et 18*). Le NO a de nombreux rôles, qui s'exercent à proximité de son lieu de production, selon une action autocrine et paracrine, du fait de sa demi-vie de quelques secondes. Il est :

- Vasodilatateur, par action sur les fibres musculaires lisses des vaisseaux ; action renforcée par son inhibition d' ET-1
- Anti-aggrégant plaquettaire
- Anti-adhésif vis-à-vis des parois vasculaires et des cellules du sang
- Anti-oxydant

Il a été constaté une activation majorée de l'enzyme NO synthase des GR drépanocytaires (eNOS) par rapport à des GR de sujets sains ainsi qu'une production accrue de NO d'origine érythrocytaire (Grau et al., 2015). De plus, il a été montré une sur-expression de la eNOS dans l'endothélium de souris drépanocytaires par rapport à des souris contrôles (Kaul et al., 2000). Cependant, ce surplus de NO produit est antagonisé par les effets de l'hémolyse, aigue et chronique, caractéristiques de la maladie drépanocytaire. L'hémolyse

intravasculaire relargue également une diméthylarginine, qui inhibe la eNOS (Kato et al., 2007)(cf. Figure 15).

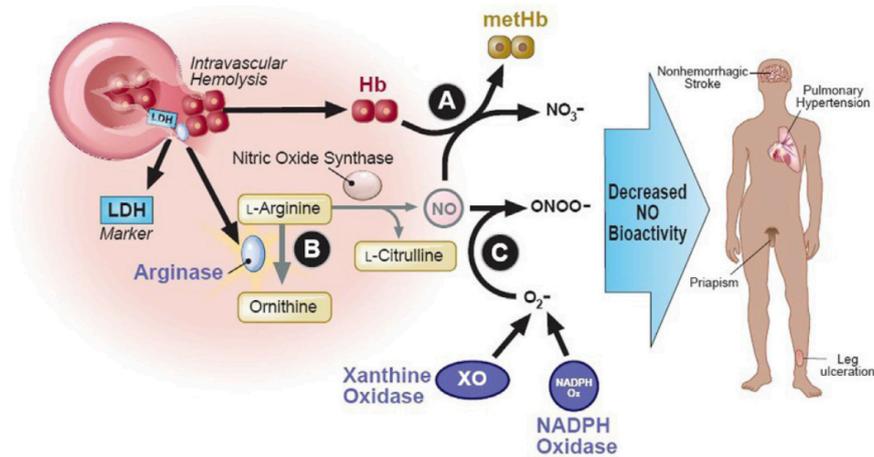


Figure 15 : Mécanismes de diminution de la biodisponibilité du NO et ses conséquences

Légende: image issue de (Kato et al., 2007)

Il existe 3 types de NOS (Cortese-Krott and Kelm, 2014):

- ✚ la nNOS ou NOS1, constitutive, présente dans les neurones
- ✚ la iNOS ou NOS2, inductible, présente dans les macrophages et les PNN, activée après induction par des cytokines pro-inflammatoires (Interleukine-1, Facteur de nécrose tumorale, Interféron γ et lipopolysaccharides)
- ✚ la eNOS ou NOS3, constitutive, présente dans les cellules endothéliales, dont l'expression est régulée par divers stimuli, parmi lesquels la contrainte de cisaillement ou force de frottement, exercée par le sang lors de son écoulement sur les cellules endothéliales. Elle est également retrouvée dans la membrane des GR (Cortese-Krott and Kelm, 2014).

➤ **L'endothéline 1 :**

Ce peptide est principalement synthétisé par les cellules endothéliales vasculaires sous la dépendance du système nerveux sympathique, mais aussi en réponse : à une hypoxie, à la libération de l'hème lors de l'hémolyse (*cf. Figure 18*), sous l'action de l'angiotensine II, et secondairement : aux contraintes de cisaillement (shear stress), à l'activation de la thrombine et à la sécrétion de cytokines inflammatoires (Heimlich et al., 2016). Deux types de récepteurs ont été identifiés à ce jour, qui médient ses effets vasoconstricteurs : ET_A et ET_B, que nous avons vu aussi impliqué au niveau des PNN.

La stimulation des récepteurs ET_A à l'ET-1 induit la production d'espèces radicalaires oxygénées responsables de dysfonction endothéliale chez des souris drépanocytaires (Heimlich et al., 2016).

Différentes études ont également rapporté que la concentration plasmatique de l'ET-1 était augmentée chez les patients drépanocytaires (Rybicki and Benjamin, 1998)(Tharaux et al., 2005). Il a été montré la participation d'ET-1 dans la progression de la glomérulopathie (Heimlich et al., 2016) et de l'insuffisance rénale chronique des patients drépanocytaires, chez qui le taux d'ET-1 urinaire était trouvé positivement corrélé au taux d'albuminurie (Tharaux et al., 2005).

➤ **La balance NO/ET-1 :**

L'effet conjugué de la diminution de la biodisponibilité du NO et celui de l'augmentation plasmatique de l'ET-1, conduisent à des modifications du tonus vasculaire. Même si l'action vasodilatatrice du NO s'oppose à son antagoniste

naturel ET-1, la synthèse d'ET-1 reste toutefois aussi soumise au **rétrocontrôle négatif** du NO (Rapoport, 2014) et inversement. En effet, ET-1 réduit la biodisponibilité du NO, à la fois par son interférence sur l'expression et l'activité de la eNOS (Ramzy et al., 2006), mais aussi via la formation d'espèces radicalaires de l'oxygène (ERO)(*cf. chapitre IV-2.b.1*).

Par ailleurs, le système NO/ET-1 n'exerce qu'un contrôle partiel sur la vasomotricité, tel que démontré par les inhibiteurs de la eNOS (*cf. Figure 16*).

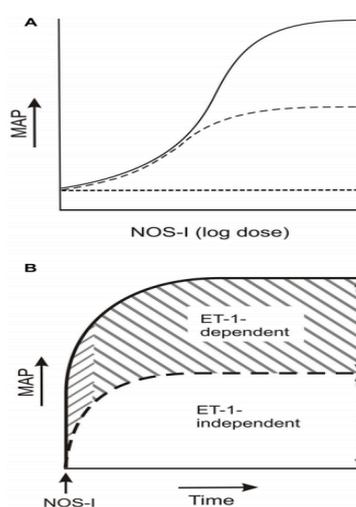


Figure 16 : Composantes ET-1 dépendantes et indépendantes de la pression artérielle, sous l'action d'inhibiteurs de la NO Synthase

Légende : moyenne de pression artérielle (MAP) ; NO Synthase (NOS)

Figure issue de (Rapoport, 2014)

IV-1.b. Le système nerveux autonome :

Le SNA exerce ses effets vasoconstricteurs/vasodilatateurs, via ses terminaisons nerveuses, qui contrôlent l'action des fibres musculaires lisses vasculaires,

situées dans la media et l'adventice vasculaire (*cf. Figure 14*). Il interfère aussi avec le système ET-1/NO.

Il est dichotomisé en système nerveux sympathique (*cf. Figure 14*), qui contrôle la sécrétion d'ET-1 et parasympathique, qui contrôle, via la sécrétion d'acétylcholine, la production de NO. Ces deux systèmes fonctionnent en opposition : la baisse du tonus du système parasympathique cholinergique déplace le tonus vasomoteur vers la vasoconstriction, régie alors par le système nerveux sympathique, et inversement.

Le SNA est altéré dans la drépanocytose SS. Nebor et al ont montré une moindre activité du SNA chez les patients SS présentant des CVO fréquentes, comparativement à des phénotypes cliniques moins sévères (Nebor et al., 2011). Charlot et al, ont plus tard et pour la première fois, démontré une altération de l'activité du SNA également au cours des CVO, comparativement à l'état stable (- 49%), prédictive du temps d'hospitalisation des patients (Charlot et al., 2017).

Le SNA est également physiologiquement stimulé par le froid, qui active le système nerveux sympathique, déclenchant une vasoconstriction via un neurotransmetteur : la noradrénaline. L'hypersensibilité au froid et son déclenchement des CVO sont connus, chez les patients drépanocytaires. La survenue des CVO au froid pourrait découler à la fois d'un hyper relargage de noradrénaline, mais également en partie d'une inhibition du système nerveux parasympathique, qui induit à son tour une inhibition de la eNOS, responsable d'une baisse du NO (Hodges et al., 2006) (*cf. Figure n°17*).

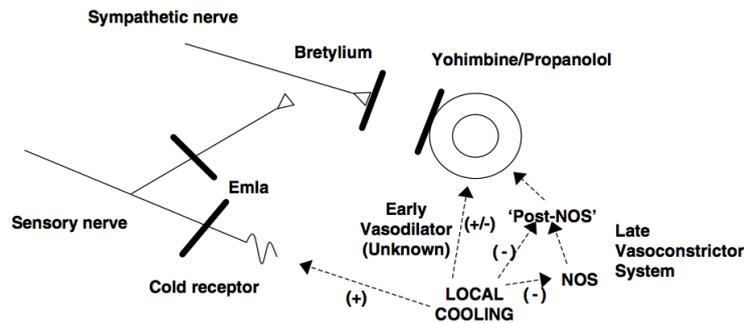


Figure n°17: Facteurs modulant la réponse vasculaire sous l'effet d'une application localisée de froid

Légende : Figure issue de (Hodges et al., 2006)

La vasculopathie drépanocytaire résulte également d'agressions chroniques, consécutives aux épisodes aigus d'hémolyse répétés et de sévérité variable, intra ou extravasculaires, sur fond d'hémolyse chronique, via une cascade de réactions inflammatoires et par le biais de cytokines diverses (Frenette and Atweh, 2007).

IV-2. L'hémolyse

IV-2.a. L'hémolyse extravasculaire et ses conséquences

Elle prend place dans un secteur extra-vasculaire constitué du foie, de la rate et des macrophages. La rate est un organe lymphoïde secondaire. Avec les macrophages, elle est également physiologiquement responsable de la destruction des GR âgés et des drépanocytes irréversibles. Ces derniers viennent sélectivement s'accumuler dans ses petits capillaires fenêtrés, de sorte qu'avec le temps et les micro-occlusions répétées, la rate deviendra moins efficace. On parle alors d'hyposplénisme (Brousse et al., 2014). Il est à terme responsable d'une part d'une plus grande sensibilité des patients face aux infections bactériennes et d'autre part d'une thrombocytose secondaire, car la rate est également le lieu de stockage de 30% des plaquettes circulantes. Cet hyposplénisme

s'installe dès les premières années de vie chez les enfants SS. A cinq ans, leur rate évolue du fait des micro-vasoocclusions répétées, vers une véritable fibrose et atrophie (autosplénectomie). Toutefois, dans cet intervalle, cette composante extra-vasculaire participe à l'hémolyse chronique et peut également se sur-dimensionner par rapport à la physiologie (splénomégalie) en devenant une cause d'anémie aigüe. C'est la complication très anxiogène de séquestration splénique aigüe, qui touche surtout les enfants (Brousse et al., 2014). Le foie lui aussi peut également s'hypertrophier (hépatomégalie) et être source d'une séquestration hépatique aiguë à l'origine aussi d'anémie aiguë. Les macrophages, quant à eux, viennent régulièrement à la rencontre des GR falciformés, qu'ils phagocytent après reconnaissance du signal PS exposé sur leur membrane externe (Setty and Betal, 2008).

Le raccourcissement de la durée de vie et la plus grande fragilité des drépanocytes (McCurdy and Sherman, 1978) est source d'une hémolyse érythrocytaire intravasculaire. Le drépanocyte rompt alors sa membrane et libère ses molécules d'Hb dans le plasma, ainsi que ses autres constituants cytoplasmiques dont l'arginase et l'hème, qui vont également avoir des répercussions fonctionnelles importantes sur la régulation du tonus vasculaire (*cf. Figures n°15 et 18*).

IV-2.b. L'hémolyse intravasculaire et ses conséquences

L'Hb libre est immédiatement captée par l'haptoglobine, mais les capacités de cette dernière sont vite saturées, de sorte que le taux d'Hb libre plasmatique augmente alors rapidement. Très fortement affine au NO, elle va le fixer et l'inactiver (*cf. Figure 18*)(Kato et al., 2017). L'hème libéré est captée par l'hémopexine, glycoprotéine sanguine d'origine hépatique chargée de le neutraliser. Elle forme avec lui un complexe,

qui sera éliminé par les récepteurs hépatiques des lipoprotéines de basse densité (LDL) appelés (LRP-1) (Tolosano et al., 2010). Une fois l'hémopexine saturée, l'hème libre déclenche la synthèse et libération de l'antagoniste du NO : l'ET-1. L'hème activera aussi le système immunitaire naïf en se fixant sur le récepteur TLR4 (cf. Figure 18) (Kato et al., 2017). Cette activation conduit à la production d'ERO, ainsi qu'à l'activation des PNN extracellulaires, et à la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-1beta et IL-18 notamment) et d'autres médiateurs qui vont promouvoir les interactions des éléments figurés du sang à l'origine de vasoocclusion (cf. Figure 18). Par ailleurs, l'arginase libérée dans le plasma lors de l'hémolyse va diriger le substrat L-arginine vers une autre voie que celle de la formation de NO, diminuant d'autant sa biodisponibilité (cf. Figure 15)(Kato et al., 2007). Enfin, l'hémolyse intravasculaire relargue des nucléotides de l'adénine, qui prolongent l'activation des plaquettes (cf. Figure 18).

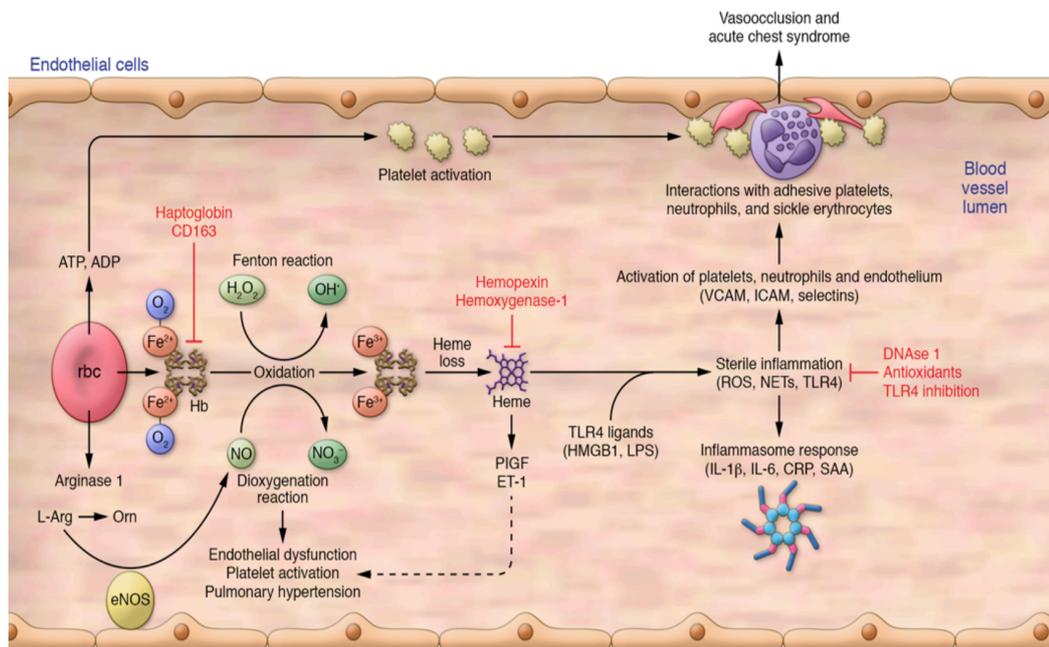


Figure 18 : Contribution de l'hémolyse intravasculaire dans la vasculopathie et la vasoocclusion

Légende : Figure issue de (Kato et al., 2017)

Ainsi, l'hémolyse intravasculaire est directement responsable de la vasculopathie drépanocytaire, par le biais du stress oxydatif et de l'inflammation qu'elle génère. Un excès d'oxydation, comparativement aux capacités d'un organisme à se réparer, définit le stress oxydatif, particulièrement impliqué dans la physiopathologie de la drépanocytose (*cf. Figure 19*) (Voskou et al., 2015).

IV-2.b.1. Le stress oxydatif

L'HbA présente la capacité à s'auto-oxyder en méthémoglobine, de l'ordre de 0.5 à 3% par jour, même à l'état oxygénée où elle est considérée comme stable. Cette auto-oxydation consomme du NO qu'elle transforme en nitrates NO₃⁻, diminuant encore la quantité de NO intravasculaire (*cf. Figure 15*) (Kato et al., 2007).

L'HbS, plus instable, s'auto-oxyde elle aussi en méthémoglobine comme l'HbA. Ce phénomène est majoré en situation hypoxique, notamment dans la microcirculation (Rifkind et al., 2014) et a pour conséquence de générer la production de ERO particulièrement agressives pour les protéines et lipides des membranes cellulaires (Rifkind et al., 2014) (*cf. Figure 18 et 19*).

Cette oxydation fait ainsi perdre à l'Hb son affinité avec ses 4 hèmes, déstructurant l'ensemble. Hème et fer sont alors libérés de leur poche hydrophobe, et passent dans le cytosol du GR, et dans le plasma circulant. Ils sont extrêmement toxiques, car ces deux molécules sont des agents hautement oxydants, participant à la réaction de Fenton, et au cycle de Haber-Weiss, qui vont conduire à la production du radical hydroxyl OH⁻, composé très réactif, ainsi que l'anion superoxyde (O₂[°]) (Rifkind et al., 2014) (*cf. Figure 19*). Au contact du NO, O₂[°] formera du peroxynitrite ONOO⁻,

diminuant également encore davantage la biodisponibilité du NO et participant au stress nitrosatif, lui aussi délétère pour les cellules (*cf. Figures 15, 18, 19*).

Les ions OH^- sont difficilement éliminés par voie enzymatique et engendrent des altérations oxydatives de la mb des GR, avec notamment une peroxydation lipidique. Les ERO sont normalement antagonisées dans l'organisme par un système anti-oxydant complexe composé de vitamine C, de vitamine E, de glutathion, de catalase, de superoxyde dismutase et de peroxyredoxine2, chargés de protéger la membrane du GR (Voskou et al., 2015). Mais comment se fait le lien entre ces ERO et l'atteinte vasculaire ?

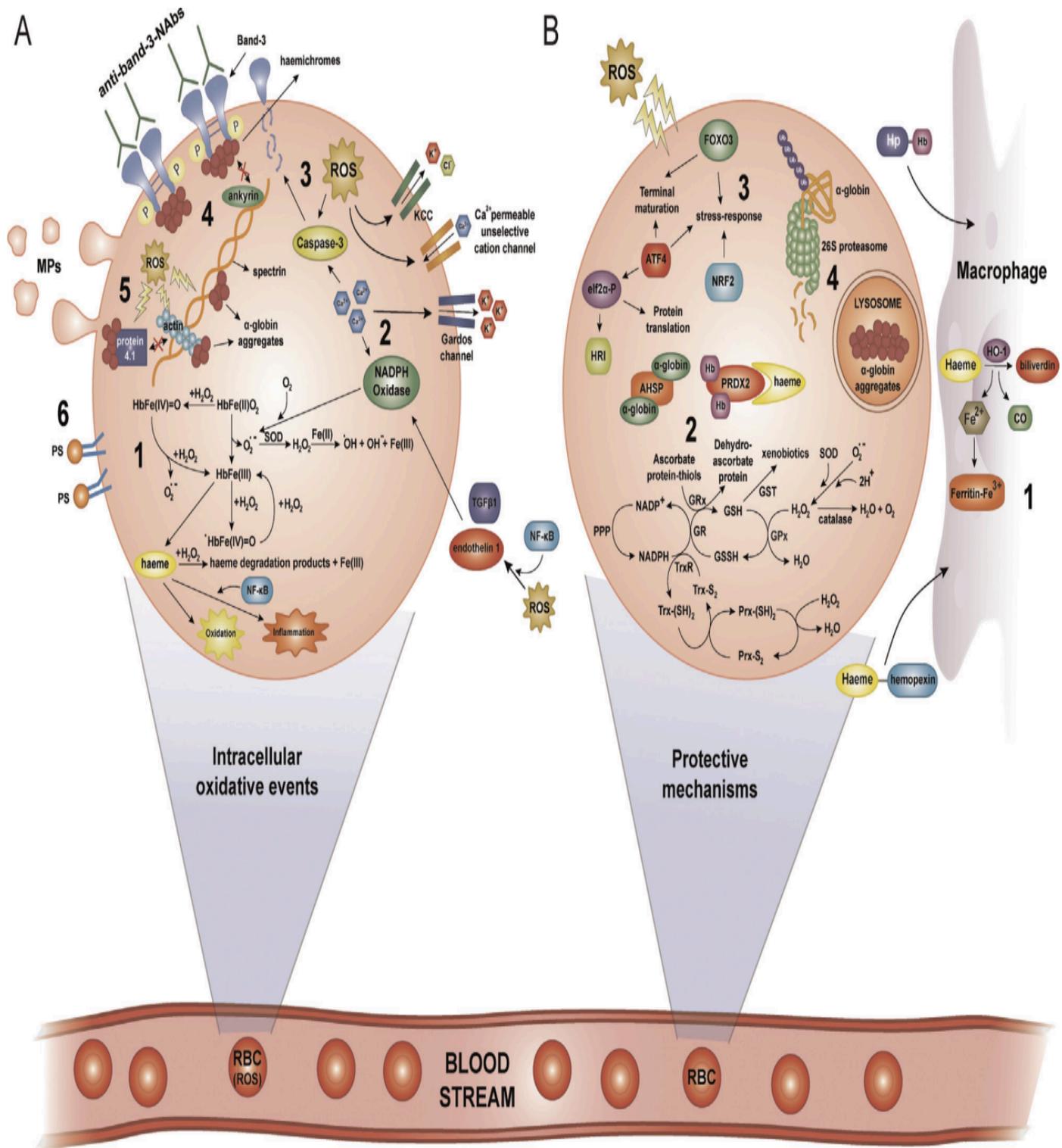


Figure 19 : Mécanismes contribuant au stress oxydatif intra-cellulaire (Figure A)

et mécanismes protecteurs (Figure B)

Légende : Figure issue de (Voskou et al., 2015)

Möckesch et al ont montré que l'augmentation de ce stress oxydatif était positivement corrélée à une diminution de la capacité vasculaire des micro-vaisseaux à se vasodilater sous l'effet de la chaleur, reliant donc le stress oxydatif à la vasculopathie dans la drépanocytose chez des enfants SS (Möckesch et al., 2017). Cet effet n'a pas été démontré chez les enfants SC, peut-être du fait d'une moindre hémolyse dans le génotype SC et donc d'une insuffisante production d'ERO pour déclencher ce retentissement (Möckesch et al., 2017). Il est à noter qu'une moindre vasculopathie chez les patients SC est cohérente avec une moindre fréquence observée de CVO, STA, AVC chez ces patients, comparativement aux patients SS.

IV-2.b.2. Un endothélium vasculaire pro-inflammatoire

L'endothélium des cellules vasculaires drépanocytaires est de plus constitué de cellules anormalement activées, comparativement aux sujets non drépanocytaires, avec un nombre de cellules endothéliales circulantes également plus élevé que chez les patients non drépanocytaires, même à l'état stable, et qui augmentent encore plus au moment d'une CVO (Solovey et al., 1997). L'état pro-inflammatoire favorise l'activation des GB qui vont plus facilement interagir avec l'endothélium vasculaire, comme nous l'avons vu et activer à leur tour GR, plaquettes et réticulocytes (*cf. Figure 13*)(*Zhang et al., 2016*).

Parmi les différentes populations de GB, les monocytes, une fois activés, sécrètent des cytokines inflammatoires. Il a été démontré chez le patient drépanocyttaire qu'ils contribuent à maintenir activé l'endothélium par leur sécrétion de TNF- α , Interleukine 1-béta et qu'ils peuvent déclencher directement la translocation du facteur de transcription NF- kappa B (Belcher et al., 2000). Ce facteur de transcription et ces interleukines sont responsables de l'augmentation de l'expression de CD40 à la surface

des cellules endothéliales. Les ligands de CD40 (ex : antigène activant les lymphocytes T CD4+) augmentent alors l'expression des molécules d'adhérence leucocytaire : E-sélectine, VCAM-1,... (Karmann et al., 1995). Ce processus est impliqué dans la présentation des antigènes aux cellules de l'immunité, notamment des cellules T.

Les principaux acteurs moléculaires impliqués dans ces interactions anormales ont été identifiés et sont illustrés ci-dessous (*cf. Figure 20*) (Telen, 2016).

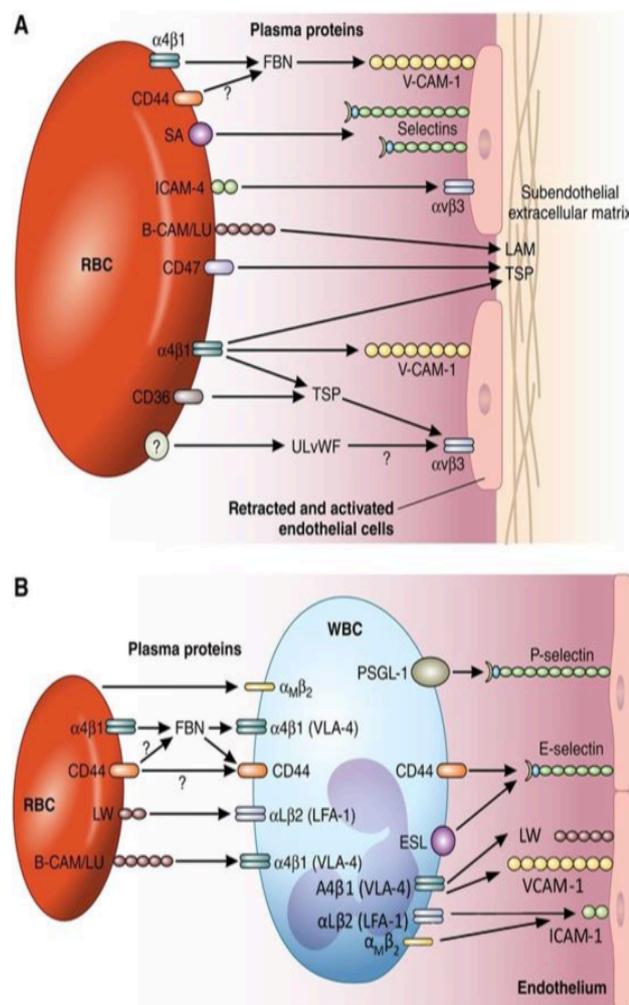


Figure 20 : Molécules permettant l'adhérence des GR à l'endothélium vasculaire
Légende : Figure issue de (Telen, 2016)

L'encombrement stérique de toutes ces cellules dans la circulation sanguine concourt à augmenter le temps de transit des GR dans la microcirculation, leur arrêt, et favorise la polymérisation de l'HbS, la falciformation de ces GR et *in fine* la survenue des épisodes vaso-occlusifs, comme illustré *Figure 21*.

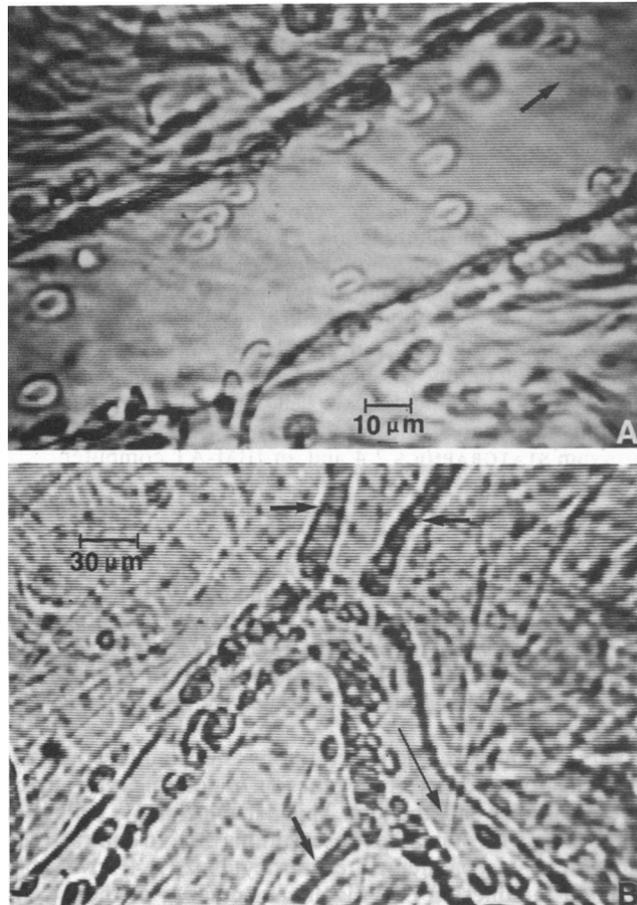


Figure 21 : Adhérence des GR dans les veinules et vasoocclusion

Légende : (A) Drépanocytes adhérents à la paroi endothéliale d'une veinule, alignés dans la direction du flux sanguin (grande flèche). (B) Augmentation de l'adhérence des drépanocytes dans les courbes des veinules et à la jonction des veinules post-capillaires. A ce stade, les vaisseaux post-capillaires (petites flèches) sont totalement obturés

Figure issue de (Kaul et al., 1989)

Au final, que les lésions de l'endothélium vasculaire activées proviennent du stress oxydatif ou de processus inflammatoires, elles vont être aussi responsables d'une activation des facteurs de la coagulation.

IV-2.b.3. L'activation des facteurs de la coagulation

Les processus d'ischémie-reperfusion, de stress oxydatif et d'inflammation, l'hème libéré lors de l'hémolyse, sont à l'origine de phénomènes d'hypercoagulabilité dans la drépanocytose. Il existe en effet une augmentation du taux de prothrombine et du complexe thrombine-antithrombine chez les patients drépanocytaires, marqueurs biologiques de synthèse de la thrombine (Sparkenbaugh and Pawlinski, 2017), sans que l'augmentation du taux de thrombine ne soit corrélée au degré d'exposition de la PS qui déclenche l'érythrophagocytose des macrophages (Whelihan et al., 2016).

D'autres facteurs de la coagulation sont aussi augmentés, comme les D-Dimères, les fibrinopeptides, et les complexes plasmines-antiplasmines, qui reflètent la fibrinolyse et le clivage de la thrombine.

D'autres études ont rapporté un rôle des microparticules (MPs) dans l'activation des voies de la coagulation. En effet, des concentrations plus élevées en MPs sont retrouvées chez les patients drépanocytaires (Shet et al., 2003). Ces MPs sont des débris membranaires issus de cellules de natures diverses (GR, plaquettes, PNN, ...), émises par les cellules activées ou en apoptose, de taille comprise entre 100nm et 1µm et présentant des propriétés pro-coagulantes (Sinauridze et al., 2007). Ces vésicules peuvent activer les processus de coagulation grâce à l'externalisation de la PS au niveau

du feuillet externe de leur membrane, mais aussi via l'expression membranaire du facteur tissulaire de MPs provenant des monocytes (Shet et al., 2003).

Une activation des plaquettes peut aussi découler de la diminution de la biodisponibilité du NO en lien avec la présence de l'Hb libre plasmatique. Une fois activées, elles initient un thrombus blanc, qui sera renforcé par un maillage de GR piégés par de la fibrine pour donner un thrombus rouge sur lequel d'autres cellules du sang vont adhérer. Les voies de la coagulation extrinsèque et intrinsèques sont mobilisées par les différentes cellules du sang, en cascade, selon la *Figure 22*.

L'implication de l'activation de la voie de la coagulation dans la survenue des épisodes vaso-occlusifs a été montrée dans un modèle murin de la drépanocytose (souris Townes) (Sparkenbaugh and Pawlinski, 2017).

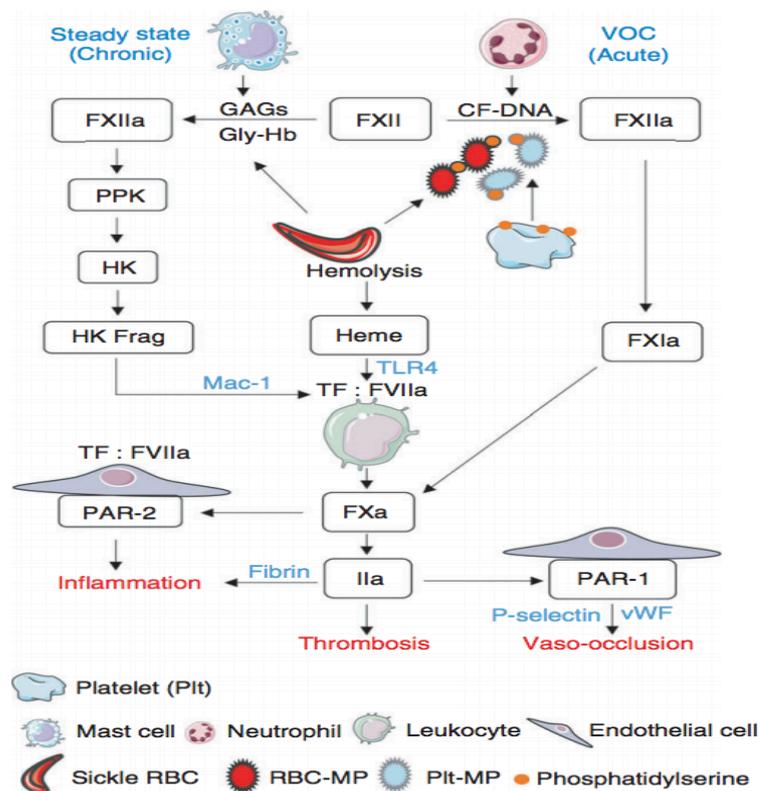


Figure 22 : Implication des facteurs de la coagulation de l'état stable à la crise vaso-occlusive

Légende : Figure issue de (Sparkenbaugh and Pawlinski, 2017)

Il est également démontré la présence d'embols dans la microcirculation pulmonaire, coexistants avec des thromboses retrouvées *in situ* au niveau de la veine porte, dans des séries autopsiques de patients drépanocytaires. L'incidence cumulée de ces troubles thromboemboliques serait de 25% chez les patients drépanocytaires, avec augmentation du risque de mortalité (Novelli et al., 2012). Le risque le plus élevé serait celui d'embolie pulmonaire, deux fois plus élevé que celui de thrombose, mais l'un et l'autre ont été retrouvés plus fréquemment associés chez les patients porteurs de la complication d'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) (Ataga et al., 2008).

V- Modulateurs de la polymérisation de l'HbS de la drépanocytose

Les facteurs influençant la polymérisation de l'HbS sont appelés des modulateurs primaires de la drépanocytose, parmi lesquels ont été isolés des facteurs environnementaux et des facteurs génétiques : l'HbF, les haplotypes et l' α -thalassémie. Il est à noter que ces facteurs génétiques n'ont pas de valeur pronostique. Tous modulent l'expression clinique des SDM et la fréquence de survenue de leurs complications cliniques.

V-1. Modulateurs environnementaux

V-1.a. Facteurs empêchant la polymérisation

Cette polymérisation est un processus initialement réversible qui cesse, rétrocede ou ne se produit pas lorsque :

- ✚ le GR porte une Hb sous sa forme oxygénée (oxy-hémoglobine)
- ✚ la concentration en O₂ augmente dans le GR

- ✚ la concentration en HbS du GR baisse, ce qui est obtenu avec une faible augmentation de volume, si le GR est initialement déshydraté (Eaton and Bunn, 2017)

V-1.b. Facteurs favorisant la polymérisation

Les facteurs physicochimiques internes favorisant la polymérisation de l'HbS décrits à ce jour (Noguchi and Schechter, 1981) sont les suivants :

- une hypoxie, quelle que soit sa cause (altitude, ...)
- une acidose métabolique (ex: un pH sanguin acide par élévation de l'acide lactique diminue l'affinité de l'Hb pour l'O₂, ce qui renforce l'hypoxie)
- une élévation de la température, qui favorise la déshydratation
- le dépassement d'un seuil de concentration d'HbS intra-GR d'approximativement 16g/dl, qui est un starter au déclenchement de la polymérisation (Eaton and Hofrichter, 1987), le plus souvent atteint par déshydratation. Ainsi, toute circonstance amenant à une hémococoncentration, traduite par un hémocrite élevé, quels que soient les mécanismes de déshydratation : sudation élevée, fièvre, diarrhée, vomissements.

Les drépanocytes ont en effet la particularité d'avoir spontanément une propension à la déshydratation (*cf. Figure 23*)(Odièvre et al., 2011).

Trois voies permettent aux GR de rester normalement hydratés afin de garder une concentration en Hb intraglobulaire stable. Elles sont défaillantes dans la drépanocytose SS ou SC. Elles ont toutes en commun de permettre une fuite potassique hors des GR, qui majore encore la déshydratation et favorise ainsi le processus de polymérisation.

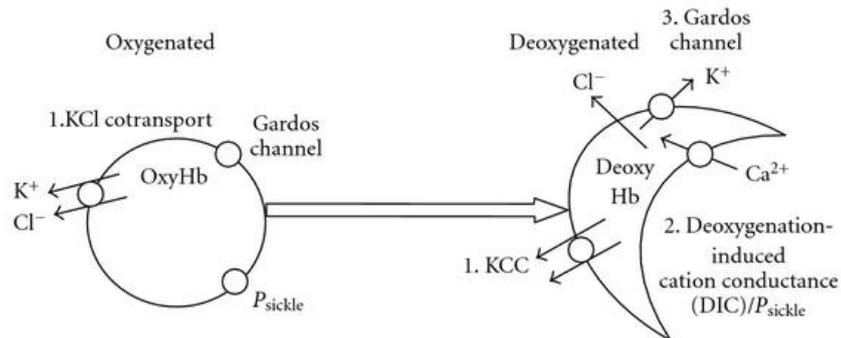


Figure 23 : Voies de déshydratation des GR drépanocytaires

Les 3 voies responsables de cette propension à la déshydratation reposent sur les mécanismes suivants (Brugnara, 2018):

- ✚ **Les co-transporteurs K^+/Cl^-** des GR drépanocytaires présentent une activité élevée de +10% au cours d'une phase d'hypoxie, au lieu d'être inactivés en cette circonstance chez les GR non drépanocytaires. Cette augmentation d'activité anormale est à l'origine d'une fuite de potassium hors du GR. Le co-transporteur K^+/Cl^- est également surexprimé sur les réticulocytes de stress décrits plus loin.
- ✚ **La voie P_{sickle}** : la falciformation du GR en milieu hypoxique induit une entrée anormale de cations, dont le Ca^{2+} , augmentant sa concentration intra

érythrocytaire et induisant la sortie d'ions K^+ par activation du canal Gardos.

- ✚ **L'activation des canaux Gardos K^+/Ca^{2+}** : l'entrée du Ca^{2+} dans le drépanocyte par la voie P_{sickle} stimule l'activation des canaux Gardos qui vont à leur tour permettre la sortie passive des ions K^+ .

Certaines circonstances ou facteurs exogènes, physiologiques ou non, favorisent également la polymérisation, puis la falciformation des GR :

- les conditions climatiques (Tewari et al., 2015) (température trop fraîche ou trop élevée, vitesse du vent élevée, haute altitude, pollutions aériennes), tandis que d'autres restent encore discutés : degré d'hygrométrie, pics d'ozone, ou sont déclarés comme favorables : NO, monoxyde de carbone.
- l'activité physique (AP) (Tewari et al., 2015). Elle doit de fait être conduite avec prudence chez les patients drépanocytaires, pour éviter de déclencher une CVO, car elle cumule tous les facteurs favorisant physico-chimiques vus précédemment. Les patients doivent absolument éviter de pratiquer une AP trop intense et prolongée, qui plus est dans des environnements difficiles (chaleur trop importante, ...). L'absence simple de compensation des pertes hydriques après sudation, génère l'élévation des électrolytes intracellulaires tels que le calcium et le magnésium, ce qui induira à

terme une perte en K^+ , soulignant l'importance de l'hydratation du quotidien et au cours de l'AP.

Des précautions et conseils particuliers entourent depuis longtemps la pratique de l'AP des patients drépanocytaires afin d'en réduire les risques. L'attitude médicale, portée antérieurement vers sa restriction, souligne dorénavant ses effets bénéfiques, lorsqu'elle reste légère à modérée (Martin et al., 2018).

- les stress infectieux (Serjeant, 2013). Ils induisent une élévation de la température du corps, une tendance à la déshydratation, une possible acidose et un degré variable d'hypoxie, secondaire à une surconsommation en O_2 du fait de l'infection, jusqu'à une hypoxémie marquée en fonction des situations. De surcroît, les stress infectieux partagent avec les stress psychologiques, le fait de provoquer une démargination des leucocytes, notamment des PNN, favorisant les processus de falciformation des GR via, cette fois, un ralentissement du flux sanguin, entre autres.

- la prise en charge clinique et thérapeutique, fondamentale quant à l'issue de cette maladie, que nous aborderons séparément chapitre VIII.

V-2. Les modulateurs génétiques I^{aires} de la drépanocytose

V-2.a. L'hémoglobine fœtale

L'HbF décroît physiologiquement de la naissance d'un individu jusque vers l'âge de 5 ans, pour être ensuite normalement remplacée par l'hémoglobine adulte $\alpha_2\beta_2$.

Mais il est constaté de grandes disparités dans son taux d'expression chez l'enfant et ensuite chez l'adulte drépanocytaire, où il varie de 1 à 30%. Le nouveau-né drépanocytaire qui possède un taux élevé d'HbF reste en général protégé des manifestations cliniques de la maladie jusque vers l'âge de 6 mois (Serjeant, 2013). L'HbF joue un rôle important dans cette modulation. Il a été constaté chez les nourrissons ou les enfants chez qui elle persistait davantage, une expression clinique moindre de certaines complications cliniques de la maladie (CVO, ulcères de jambe (UDJ), STA, et dans une moindre mesure, les AVC et la rétinopathie (Fatunde and Scott-Emuakpor, 1992).

Chez le patient drépanocytaire, cette action modulatrice positive d'HbF est illustrée dans une hémoglobinopathie composite hétérozygote très rare, définie par la persistance anormale d'expression de l'HbF à l'âge adulte associée à un gène β^S . Ces sujets pour lesquels un taux d'expression pan-cellulaire d'HbF a été démontré, sont totalement asymptomatiques (Ngo et al., 2012). De manière générale, plus le taux d'expression de l'HbF est élevé, moins le patient présentera de complications de la maladie.

Cet effet est expliqué de nos jours par 2 mécanismes. L'HbF s'intercale entre 2 molécules d'HbS pour stopper la polymérisation en cours. De plus, la synthèse d'HbF est en compétition avec celle d'HbS, abaissant la synthèse d'HbS et donc sa concentration intra-érythrocytaire, modulant ainsi le processus de polymérisation.

Un taux élevé d'HbF jusqu'à 30% améliore le phénotype clinique des patients adultes drépanocytaires, avec moins de complications (CVO, STA) et une diminution de leur mortalité (Platt et al., 1994).

V-2.b. Les haplotypes et QTL

Il existe différents polymorphismes du cluster du gène β -globine qui définissent les différents haplotypes. Cinq haplotypes du gène β^S ont été définis. Ils ont été initialement différenciés par la présence de sites de restriction enzymatiques révélant ainsi des fragments de longueurs différentes, propres à chaque haplotype. La présence de ces 5 haplotypes majeurs dans la drépanocytose, traduit très probablement le fait que la mutation est survenue cinq fois. Ils ont été nommés à partir des régions géographiques où ils sont prépondérants : Bantou ou CAR (Central African Republic), Bénin, Sénégal et Cameroun pour l'Afrique de l'Ouest, tandis qu'un autre haplotype a été isolé pour les régions comprenant l'Inde et l'Arabie Saoudite : l'haplotype Arabo-Indien. Ces haplotypes se sont développés et étendus selon les flux migratoires historiques des populations (*cf. Figure 24*) (Lindenau et al., 2016).

Dans le bassin Caribéen, les haplotypes du gène β^S sont diversement distribués en fonction des régions. Cette distribution varie en fonction des origines géographiques des populations lors de la traite et du commerce des esclaves, respectant la distribution des réseaux de commerce propres à chaque puissance coloniale (Jones-Lecointe et al., 2008).

Ainsi, pour la Guadeloupe, l'haplotype du gène β^S le plus fréquent est l'haplotype Bénin (75%), situation semblable à la Jamaïque (Ndugwa et al., 2012), tout comme à Trinidad et Tobago (Jones-Lecointe et al., 2008). Cuba est en situation intermédiaire avec 51% d'haplotype Bénin, tandis qu'au Brésil, c'est l'haplotype Bantou qui est majoritaire à 66.2%.

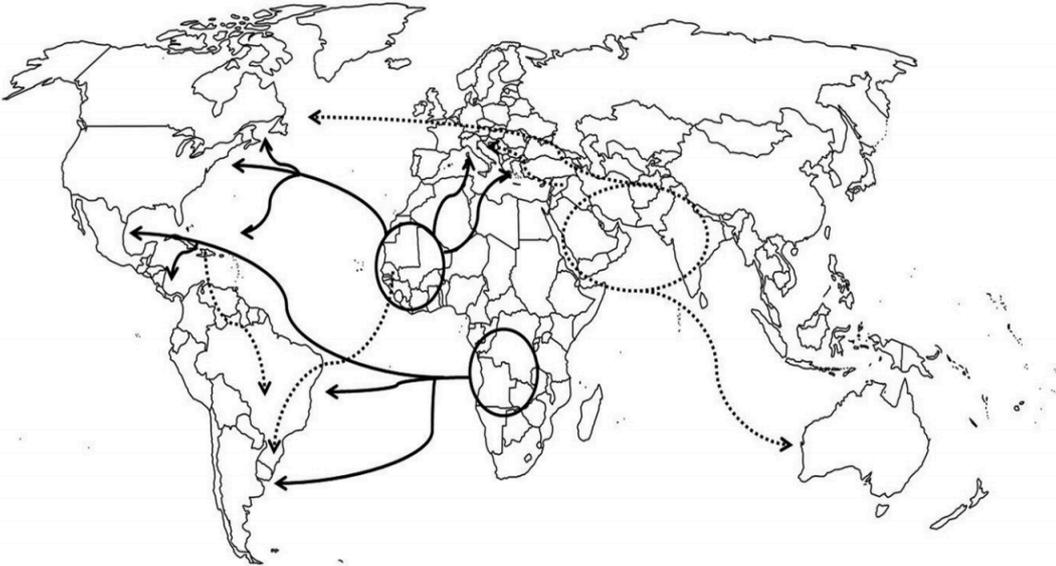


Figure 24 : Distribution des différents haplotypes du gène β^S en fonction des flux migratoires

Légende : pointillés : flux récents ; traits pleins : flux anciens

Figure issue de (Lindenau et al., 2016)

Certains haplotypes sont également associés à une plus grande sévérité de l'expression de la maladie drépanocytaire. Pour les haplotypes africains, c'est l'haplotype Bantou ou CAR qui est associé à l'expression la plus grave de la maladie tandis que l'haplotypes Sénégal est associé à une expression plus modérée (Powars, 1991). L'haplotype Arabo-Indien est celui qui est rattaché au phénotype le plus modéré de la maladie et c'est aussi celui qui exprime les taux d'HbF les plus importants comparativement aux autres haplotypes (Miller et al., 1987).

En effet, la différence essentielle entre ces différents haplotypes réside dans leur expression différente du taux d'HbF dont nous avons vu précédemment l'importance. Le gradient décroissant de production d'HbF se fait de l'haplotype Arabo-Indien à l'haplotype Sénégal, puis Bénin, puis enfin Bantou ou CAR (Powars, 1991). Il a été démontré que cette production d'HbF était sous la dépendance d'un site polymorphe dans le promoteur du gène γ^G -globine (C→T) (rs7482144), associé à une

augmentation significative du taux d'HbF et du nombre de cellules exprimant l'HbF appelées cellules-F lorsque l'allèle «T» est présent (Labie et al., 1985). Cette association statistique a été mise en évidence pour les haplotypes Sénégal et Arabo-Indien porteurs de l'allèle « T » au rs7482144 (Lu and Steinberg, 1996), mais le mécanisme régulateur explicatif de ce fort taux d'expression d'HbF rattaché aux porteurs de l'allèle « T » n'a pas été identifié à ce jour.

La synthèse quantitative d'HbF est ainsi sous le contrôle de QTL (quantitative trait loci) (HbF-QTL), localisés en dehors du gène de la β globine et dépendant eux-mêmes de gènes différents. La découverte du locus BCL-11A, rs1427407 a montré qu'il avait un rôle majeur en contrôlant le switch de l'Hb et la synthèse de l'HbF (Bauer and Orkin, 2015).

Parmi les différents HbF-QTL connus, 3 d'entre eux : *XmnI*, rs7482144, BCL-11A, rs1427407 et la région *HBSIL-MYB*, rs28384513, ont été étudiés, en présence ou absence d' α -thalassémie. Il a ainsi été montré une interaction réciproque, modulatrice, entre ces HbF-QTL et la synthèse d'HbF. Leur présence diminue la fréquence du nombre d'hospitalisations des patients pour VOC, d'autant plus qu'ils sont nombreux chez un individu, mais uniquement en l'absence d' α -thalassémie (Gueye Tall et al., 2019). En effet, a contrario, en cas d' α -thalassémie homozygote concomitante, quand au moins 3 allèles sur 6 d' HbF-QTL sont présents, il est constaté une augmentation de la fréquence des hospitalisations pour VOC, comparativement aux cas où seulement 0 à 2 allèles sont présents (Gueye Tall et al., 2019). Par ailleurs, si l' α -thalassémie contient une ou deux délétions, la présence de 3 allèles sur 6 de ces 3 Hb-QTL, retarde positivement l'âge de survenue de la 1^{ère} manifestation clinique de la maladie drépanocytaire (Gueye Tall et al., 2019). L' α -thalassémie influence en effet elle aussi l'expression de la maladie drépanocytaire. Sa présence est protectrice, ou au contraire

délétaire, nous le verrons, en fonction des différentes complications de la drépanocytose.

V-2.c. L' α -thalassémie

Il n'existe pas une α -thalassémie mais des α -thalassémies. Elles sont définies par un défaut de synthèse partiel ou total de chaînes α -globine. En fonction du nombre de gènes α manquant, l'écriture de l' α -thalassémie est la suivante :

L'absence d'un seul gène α s'écrit $- \alpha / \alpha \alpha$, c'est une α^+ -thalassémie dite hétérozygote correspondant à 3 gènes α fonctionnels.

L'absence de 2 gènes α , de type homozygote, s'il manque une chaîne α sur chaque chromosome s'écrit $- \alpha / - \alpha$ et s'appelle une α^+ -thalassémie. Deux gènes α sont fonctionnels. L'absence de 2 gènes α , de type hétérozygote, s'il manque 2 gènes α sur un même chromosome, s'appelle α^0 -thalassémie et s'écrit $-- / \alpha \alpha$. Deux gènes α sont fonctionnels.

L'absence de 3 gènes α s'écrit : $-- / - \alpha$ et définit l'hémoglobinose H.

L'absence totale de gènes α s'écrit : $-- / --$ et est létale : c'est l'hydrops foetalis.

De nombreuses mutations responsables de l' α -thalassémie, essentiellement par délétions, ont été décrites (Falusi and Olatunji, 1994).

L' α -thalassémie intervient comme modulateur primaire de la drépanocytose, car une diminution de synthèse de chaîne α -globine s'accompagne d'une diminution de la concentration érythrocytaire en HbS, atténuant la polymérisation de l'HbS (Embury et al., 1984). Cette diminution de polymérisation a ainsi pour conséquence directe une diminution de l'hémolyse des GR et donc *in fine* une anémie moins marquée et une moindre diminution de la biodisponibilité du NO. Dans un contexte de moindre hémolyse, l' α -thalassémie diminue aussi le stress oxydatif chez les enfants SS,

comparativement à ceux sans α -thalassémie, mais les enfants SS ont un niveau de stress oxydatif plus élevé en base que les enfants AA et S/ β^+ (Renoux et al., 2018b).

La connaissance actuelle par les chercheurs de ces modulateurs environnementaux et génétiques de la polymérisation de l'HbS, reste partielle et incomplète. Et en effet, la variabilité d'expression clinique de la maladie à l'échelle individuelle au sein d'un même génotype reste toujours non parfaitement comprise. Les équipes de recherche formulent toutefois des hypothèses, dont on sait qu'elles nécessiteront d'être complétées et affinées par les découvertes de demain.

V-3. Une physiopathologie encore incomplètement élucidée

En 2007 il a été proposé par Kato deux hypothèses physiopathologiques pour tenter d'expliquer la maladie drépanocytaire, qu'il propose de partager entre les mécanismes d'hémolyse et les mécanismes vaso-occlusifs/hypervisqueux (Gladwin and Vichinsky, 2008). Ces deux mécanismes peuvent coexister à des degrés divers, sans être exclusifs l'un de l'autre (Kato et al., 2009). Il a ainsi proposé de regrouper comme indiqué dans la Figure 25 des complications drépanocytaires et il a constitué deux sous-phénotypes, à savoir un sous-phénotype « hémolytique » comprenant les UDJ, le priapisme, l'HTAP et à un moindre degré les AVC ischémiques, en opposition à un sous-phénotype « hypervisqueux/vaso-occlusif », qui incluerait les CVO, les STA et les OTN.

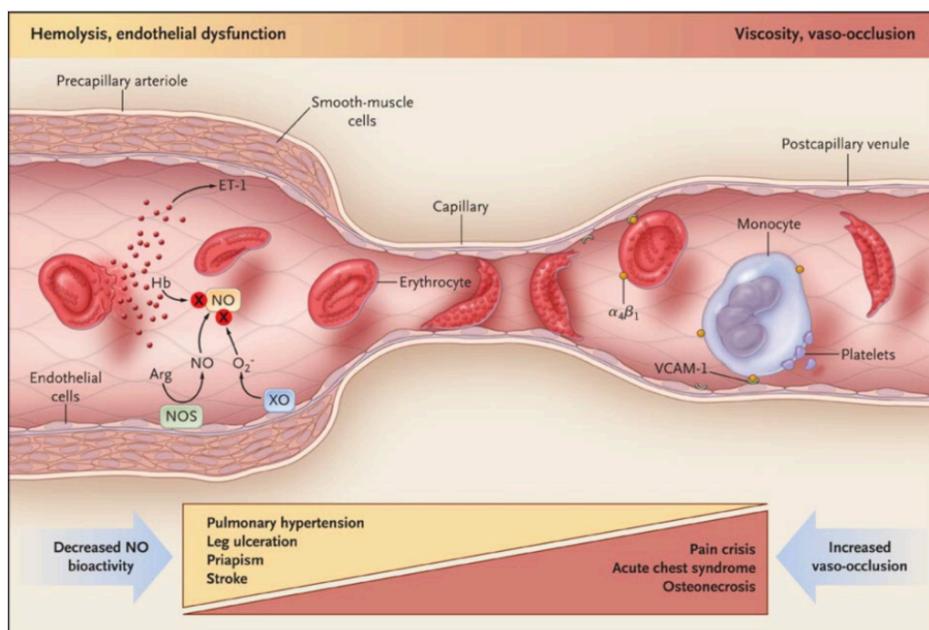


Figure 25 : Du profil physiopathologique à l'expression clinique dans la drépanocytose

Légende : schéma issu de (Gladwin and Vichinsky, 2008)

Cette classification reste débattue pour les patients drépanocytaires SS au niveau de la communauté scientifique (Hebbel, 2011) et n'a pas été testée chez les patients SC. Par ailleurs, elle a été récemment enrichie d'apports novateurs issus de l'hémorhéologie, apportant un nouvel éclairage sur certaines des complications de la maladie drépanocytaire.

VI- Hémorhéologie et drépanocytose

VI-1. Définition de l'hémorhéologie

Il s'agit de la science qui étudie les différents mécanismes qui régissent l'écoulement et les propriétés biophysiques du sang.

VI-1.a. Ecoulement des fluides

En physique, le débit d'écoulement des fluides (Q) dépend de la loi de Poiseuille. Cette loi est valide pour les fluides Newtoniens, comme le plasma ou l'eau

(c'est-à-dire à viscosité constante, quelle que soit la force ou la durée de la force appliquée sur eux).

$$Q = \frac{\Delta P \cdot \pi \cdot r^4}{8 \cdot L \cdot \eta}$$

Q (débit du fluide) ; ΔP (variation de pression entre entrée et sortie du tube)
r (rayon du tube) ; L (longueur du tube) ; η (la viscosité du fluide)

Mais le sang se comporte différemment. Ses différentes propriétés biophysiques sont étudiées par analyses spécifiques, selon une méthodologie de référence (Baskurt et al., 2009).

VI-1.b. Propriétés biophysiques du sang

Le sang est un fluide (Baskurt et al., 2009) :

- ✚ **Non Newtonien** : c'est-à-dire : à viscosité variable, modifiée par l'amplitude de la force exercée sur lui et/ou de la durée pendant laquelle cette force est exercée.
- ✚ **Rhéofluidifiant** : la viscosité sanguine (η_{sg}) diminue avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement (γ) et inversement. A faible γ , η_{sg} augmente du fait de la présence d'agrégats de GR. Quand γ augmente, ces agrégats se rompent, ce qui fait baisser η_{sg} (Lanotte et al., 2016). Si γ augmente encore, les GR vont alors se déformer pour limiter les résistances au flux sanguin et ainsi diminuer encore η_{sg} . Le sang est aussi dit pseudo-plastique.
- ✚ **Viscoélastique** : le sang est capable, après cessation des contraintes exercées sur lui, et après un long temps de repos, de revenir (élasticité), à un état visqueux (visco-élasticité), modifié cependant par rapport à l'état

initial, car dépendant de la totalité des déformations qu'il a subies au cours de son histoire. L'élasticité est imparfaite, l'état initial n'est pas retrouvé à 100%.

✚ **Thixotrope** : c'est la propriété par laquelle la structuration des éléments composant le sang est capable de se modifier dans le temps, de façon réversible, en fonction de la mise en œuvre ou de l'arrêt de contraintes spécifiques exercées sur lui, mais elle dépend aussi de l'historique des déformations passées qu'il a déjà subies. Le caractère thixotrope du sang s'exprime lorsqu'à γ fixe, η_{sg} diminue avec le temps. Cette propriété dépend des propriétés intrinsèques des GR : à la fois de la force d'agrégation des GR entre eux et de leur capacité à se déformer, à une γ donnée.

- A γ élevée, les GR sont déformés et s'alignent dans le sens du flux sanguin (Connes et al., 2016)
- A faible γ , les GR gardent leur forme biconcave et perdent leur alignement avec le flux sanguin, augmentant les contraintes à l'écoulement du sang (Connes et al., 2016)

Ainsi, à hémocrite natif (c'est-à-dire en conditions physiologiques), les patients SS présentent une propriété thixotropique du sang très diminuée, comparativement aux patients AA, du fait de leur anémie, traduite par un hémocrite plus bas, qui ne favorise pas les contacts inter GR pour leur permettre de reconstituer la microstructure du sang (*cf. Figure 26*). Cette différence d'index thixotropique entre sujets SS et AA disparaît presque totalement lorsque l'hémocrite des patients AA est corrigé à 25% par

hémodilution (cf. Figure 26), la viscosité sanguine η_{sg} des patients AA se rapprochant alors de celle des patients SS (Figure 26 et 27).

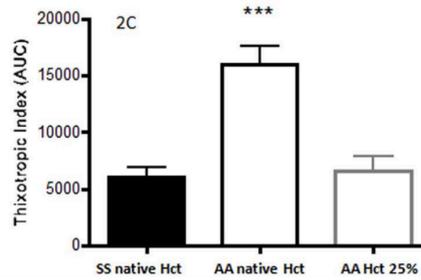


Figure 26 : Différence d'index thixotropique en fonction des génotypes SS et AA, et en fonction de l'hématocrite

Légende : Figure issue de (Vent-Schmidt et al., 2014)

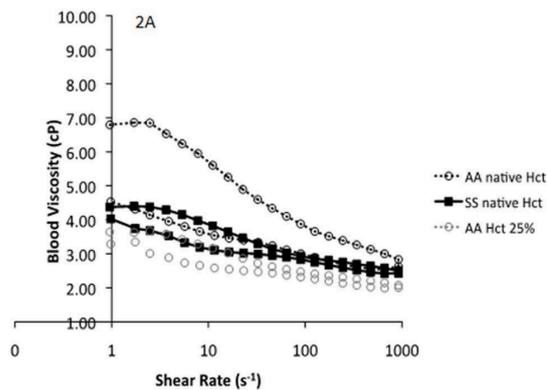


Figure 27 : Effets de la vitesse de cisaillement sur la viscosité sanguine, et en fonction des génotypes SS et AA et de l'hématocrite

Légende : Figure issue de (Vent-Schmidt et al., 2014)

VI- 1.c. Viscosité sanguine

VI-1.c.1. Définition de la viscosité sanguine

Elle est définie selon l'équation ci-dessous :

$$\eta_{sg} = \frac{\tau}{\gamma} \quad \eta_{sg} (\text{mu}) : \text{viscosité sanguine}$$

τ (tau) : contraintes de cisaillement = forces tangentielles de frottement qui s'exercent entre les différentes couches de fluides parallèles du sang (dont celle au contact direct des cellules endothéliales vasculaires) : Pascal (Pa)

γ (gamma) : vitesse de cisaillement : vitesse de déformation du fluide : s^{-1}

$$\gamma = \frac{4 \cdot Q}{\pi \cdot r^3}$$

Q (débit du fluide) (unité : m/s^{-1})
 r (rayon du vaisseau) (unité : mm)

La vitesse de cisaillement γ , croît avec la diminution du diamètre des vaisseaux.

VI-1.c.2. Modulateurs de la viscosité sanguine

η_{sg} varie en fonction des facteurs ci-dessous :

La vitesse de cisaillement γ et le territoire vasculaire

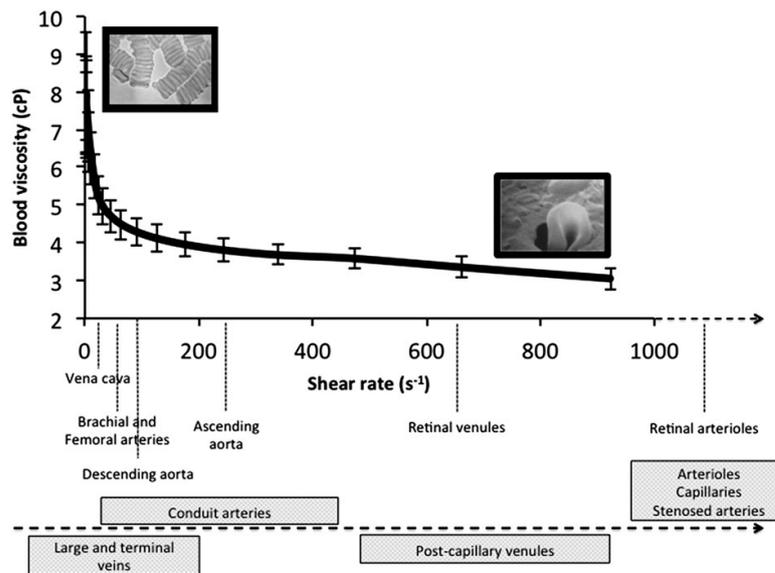


Figure 28 : Effets de la vitesse de cisaillement et des propriétés rhéologiques des GR sur la viscosité sanguine et en fonction du territoire vasculaire

Légende : shear rate = γ , blood viscosity = viscosité sanguine ; figure issue de (Connes et al., 2016) ; photographies (permission de Dr. Max R Hardeman): à gauche : agrégats de GR; à droite : GR en train de se déformer pour passer au travers d'un micropore de 5 μm .

Le schéma précédent illustre le fait que :

- η_{sg} varie de façon inverse avec γ appelée encore « shear rate »
- les propriétés rhéologiques des GR ont un impact sur η_{sg}

Ainsi :

- A basse γ , η_{sg} est élevée et les propriétés d'agrégation des GR jouent le rôle le plus important dans l'écoulement du flux sanguin,
- A γ élevée, η_{sg} diminue et la capacité de déformation du GR devient alors le facteur majoritairement limitant.
- γ varie également en fonction de la nature des vaisseaux, car ils ne se comportent pas comme des conduits inertes, nous l'avons vu. Leur endothélium interagit fortement avec tous les éléments qui les traversent, fonction de la force de cisaillement appliquée sur la rangée de leurs cellules endothéliales, qui est un facteur très important de contrôle de ce tonus vasomoteur, en lien avec le contrôle de la balance du SNA. γ est plus faible dans les artères de gros calibre et augmente au fur et à mesure de la diminution du diamètre artériel, ainsi que des veines vers les veinules post-capillaires (*cf. Figure 28*).

L'hématocrite

C'est le facteur qui a la plus grande influence sur η_{sg} (*Figure 27*), que ce soit au niveau des artères, comme des veines. Il correspond au volume occupé par les éléments figurés du sang (essentiellement les GR, mais aussi les GB et les plaquettes) et est exprimé en pourcentage du volume qu'ils occupent comparativement au volume sanguin total. Il est physiologiquement de l'ordre de 40 à 45% chez les sujets avec Hb normale AA et dépend du niveau d'hydratation de l'individu. Il est de l'ordre de 20-25% chez les patients SS et est de 30-35% chez les patients SC. Aussi, à hémocrite natif, les patients SS

ont une moindre η_{sg} que les patients AA, et que les patients SC (Renoux et al., 2016), grâce à une anémie compensant la moindre déformabilité membranaire de leurs GR. A partir de l'âge de 40 ans, la η_{sg} des sujets SS devient supérieure à celle des sujets AA, mais jamais des sujets SC (Renoux et al., 2016). A contrario, les patients SC ont une η_{sg} supérieure aux patients AA, à partir de l'âge de 20 ans, car présentant une anémie moins profonde, qui ne compense pas la rigidité de leurs drépanocytes (Tripette et al., 2009).

L'hématocrite :

- augmente avec la déshydratation de l'individu (hémococoncentration par perte de plasma) ou par augmentation pathologique du nombre des cellules figurées du sang (exemple : hyperleucocytose et thrombocytose en situation d'infection, de syndrome inflammatoire, ou de démargination des GB avec polynucléose, lors de stress ou prise de corticoïdes). L'augmentation de l'hématocrite est responsable d'une augmentation de η_{sg} . Cette dernière est en général compensée par adaptations vasomotrices, lorsque la réserve vasomotrice est intacte (Baskurt et al., 2004). Mais nous avons précédemment vu que cette réserve vasomotrice est vite altérée dans la drépanocytose (Nebor et al., 2011)(Charlot et al., 2017).
- a une influence moindre lorsque γ est modérée
- diminue lors des saignées ou via des hémodilutions provoquées par apport de solutés isotoniques.
- diminue aussi avec l'âge chez les patients SS, mais pas chez les SC, tandis que η_{sg} augmente de son côté avec l'âge des patients, qu'ils

soient SS ou SC (Renoux et al., 2016), témoignant de l'implication d'autres facteurs de régulation.

Le sang comprend en effet une phase cellulaire, mais aussi une phase liquide, appelée plasma, dont la viscosité propre (η_{pl}) dépend des fluctuations de sa concentration en diverses protéines plasmatiques.

La viscosité plasmatique :

Les valeurs de η_{pl} varient en fonction de facteurs susceptibles de modifier le taux ou le profil des protéines plasmatiques suivantes : l'albumine, les immunoglobulines, les lipoprotéines plasmatiques et le fibrinogène. Le fibrinogène est le plus important d'entre elles. Leur synthèse et dégradation dépendent du fonctionnement du couple hépato-rénal.

A 37°C, la η_{pl} normale est comprise entre 1.1 et 1.3cP. Elle augmente jusqu'à 1.95 cP en cas d'inflammation ou lorsque la synthèse du fibrinogène est stimulée : une hyperviscosité a été démontrée en dehors de toute infection, de toute modification d'hématocrite, lors de valeurs croissantes du fibrinogène, comme observé au moment de CVO chez les enfants SS (Richardson et al., 1976).

VI-2. Propriétés rhéologiques des globules rouges

Les GR sont des corpuscules biconcaves de 2 microns d'épaisseur, capables de réduire leur diamètre initial de 8 à 2.7 microns, pour leur permettre de traverser de minuscules capillaires, sans rupture, comme les capillaires fenêtrés de la rate (Mohandas and Gallagher, 2008). Tenus de les traverser en une durée de temps précise

ou « delay time » (Mozzarelli et al., 1987) pour éviter de rester piégés à leur niveau, les GR utilisent leurs propriétés intrinsèques (Mohandas and Gallagher, 2008).

Ils ont :

- ✚ **la capacité de s'agréger entre eux**, différemment en fonction de γ , mesurée par l'index d'agrégation des GR : il concerne à la fois la quantité des agrégats formés et la vitesse de formation de ces agrégats de GR, abaissée chez les patients SS et SC (Connes et al., 2016), du fait de la moindre capacité à s'agréger des drépanocytes irréversiblement falciformés (Chien et al., 1970). Les agrégats de GR peuvent être de taille plus ou moins importantes et sont en général 2 à 3 fois plus robustes, une fois formés, chez les patients SS et SC versus AA (Tripette et al., 2009)(Waltz et al., 2015). Cette propriété est évaluée via la mesure de γ minimale nécessaire pour dissocier les agrégats de GR ou seuil de désagrégation érythrocytaire.
- En cas d'hyperagrégation, les GR peuvent s'aligner en rouleaux (*Figure 28*), préférentiellement en compartiment artériel ou artériolaire et concentrer ainsi la force des contraintes de cisaillement selon un axe médian au sein du fluide sanguin, que l'on peut modéliser en multicouches parallèles, mais aussi en biphasé. Cette dernière est constituée d'un plasma écrémé de ses cellules par endroits, responsable d'une modification localisée de l'hématocrite qui peut avoisiner les 100% sur cet axe médian, tandis qu'il diminue d'autant avec le nombre de GR dans la lame périphérique tangentielle s'exerçant elle, sur la couche des cellules endothéliales

vasculaires. Cette dernière lame peut être essentiellement plasmatique avec un hémocrite parfois nul, faisant alors chuter la force de cisaillement exercée sur l'endothélium. Il y a alors une moindre activation de la eNOS, une diminution de production de NO, ce qui va diminuer la vasodilatation du vaisseau et induira un ralentissement possible du sang et possiblement une plus forte η_{sg} de ce dernier (Baskurt and Meiselman, 2008) à l'entrée même des capillaires, où le débit sanguin est faible.

- La force des agrégats de GR varie en fonction de la concentration de certaines molécules du plasma : elle augmente avec la présence de macromolécules telles que les immunoglobulines ou le fibrinogène surtout, tandis que leur diminution l'inhibe (Larcan et al., 1981). Elle augmente aussi avec la chute de l'albuminémie (Larcan et al., 1981). D'autres facteurs intraplasmatiques interviennent encore. Il a également été montré in vitro que la mise en contact de GR normaux avec le plasma de sujets drépanocytaires, augmentait la force d'agrégation de ces GR normaux entre eux, tandis qu'inversément, la mise en contact de GR drépanocytaires avec du plasma de sujets non drépanocytaires abaissait celle de ces derniers (Nader et al., 2017). La force d'agrégation des GR drépanocytaires a donc ensuite été explorée pour tester l'effet sur elle de 3 composants plasmatiques : le fibrinogène, le facteur Von Willebrand et la thrombospondine 1, capables pour ces 2 derniers, de se lier à des récepteurs membranaires des GR. Le rajeût dans un plasma autologue, de GR drépanocytaires prélevés à l'état stable, mis en

contact isolément, de chacune de ces 3 molécules, a ainsi montré pour chacune d'entre elle, une augmentation de la force d'aggrégation de ces GR, comparativement à celle observée chez eux dans le seul plasma de contrôle (Nader et al., 2017).

- Le contenu membranaire en acide sialique des GR module également la formation des agrégats de GR (augmentation de la répulsion GR-GR quand il y a beaucoup d'acides sialiques à la surface cellulaire).

✚ **La déformabilité des GR**, qui dépend de 3 facteurs intrinsèques des GR:

- **Le rapport surface/volume des GR** : du fait de leur absence de noyau, les GR présentent physiologiquement un excès de surface qui permet leur déformation membranaire en forme de parachute ou de pantoufle, pour passer dans ces capillaires plus étroits qu'eux (*Figure 28*). Ce rapport surface/volume des GR augmente, en cas d'excès de surface pour un même volume sphérique. Il s'altère physiologiquement avec l'âge des GR (Mohandas and Gallagher, 2008), ou expérimentalement, par la lysolécithine, qui induit une vésiculation membranaire qui diminue alors la surface membranaire globale du GR (Renoux et al., 2019).
- **La viscosité interne des GR** : la viscosité intra-cytoplasmique des GR est plutôt faible (elle augmente avec la concentration corpusculaire en Hb et dépend aussi du type d'Hb : elle augmente donc en cas d'HbS et lors de déshydratation). La polymérisation de

l'HbS, quelle qu'en soit la cause, est donc un premier frein à cette déformation utile des GR pour leur déplacement. Elle est expérimentalement altérable par la Nystatine en condition hypertonique, qui l'augmente (Renoux et al., 2019).

- **L'élasticité/déformabilité de la membrane des GR :** elle joue un rôle important sur la déformabilité globale des GR. Cette élasticité/déformabilité dépend à la fois des propriétés de la bicouche phospholipidique et de celles du cyto-squelette protéique membranaire erythrocytaire (Mohandas et al., 1983). Ainsi, une perte de l'intégrité de la membrane des GR causée par exemple par un ou des déficits en ses protéines d'ancrage vertical (α et β -spectrine, actine, bande 3, bande 4.1, ...), s'exprime par la perte de la forme primitive biconcave des GR. La mb sera déformée selon un nouveau contour, qui a souvent donné son nom à la maladie membranaire du GR ainsi identifiée (elliptocytose, sphérocytose, acanthocytose, etc...). Cette déformation peut entraîner aussi une diminution de la déformabilité membranaire des GR, responsable à son tour d'une non possibilité de traversée des capillaires les plus étroits, tout comme de points de faiblesse, au sein du réseau géométrique régulier protéique du cytosquelette des GR, avec des répercussions directes diverses in vivo, notamment sur la survie de ces GR, éliminés prématurément au niveau des émonctoires (Hassoun et al., 1997).

L'élasticité membranaire des GR peut être aussi étudiée et altérée par l'incorporation de Diamide qui rigidifie la membrane (Renoux et al.,

2019). Il a été montré que l'élasticité des GR SS n'est pas plus forte que celle des GR AA, mais qu'elle s'exprime plus précocément comparativement à celle de ces derniers (Vent-Schmidt et al., 2014), du fait de leur plus grande rigidité. Par ailleurs, leur déformabilité membranaire augmente avec l'augmentation de γ , mais reste toujours inférieure à celle des GR AA pour une même γ (Vent-Schmidt et al., 2014). Cette déformabilité dépend encore également d'interactions des GR avec le milieu dans lequel ils baignent. Ainsi, il a été montré in vitro que la mise en suspension de GR normaux dans le plasma de sujets drépanocytaires, diminuait aussi leur déformabilité membranaire, tandis qu'inversément, la mise en suspension de GR drépanocytaires dans du plasma de sujets non drépanocytaires augmentait leur capacité à se déformer (Mohandas and Evans, 1984)(Nader et al., 2017).

La déformabilité globale des GR est donc constituée de l'association des propriétés de ces 3 facteurs intrinsèques modifiables. Elle est plus importante pendant les premières années de vie des patients SS et SC, principalement du fait de la persistance de l'HbF, puis dans l'enfance et à l'âge adulte, est modulée par le genre (elle est plus importante chez les filles), le niveau d'HbF et par le seul traitement existant à ce jour de la drépanocytose : l'hydroxy-urée (HU) (Renoux et al., 2016). Le traitement par HU agit, chez les patients SS en augmentant le niveau d'HbF et en améliorant aussi l'état d'hydratation des GR : il augmente le volume cellulaire moyen des GR et leur contenu en K^+ ; il diminue la concentration corpusculaire moyenne en Hb, et améliore

la déformabilité globale des GR (Ballas et al., 1989). Il diminue par ailleurs le nombre de cellules denses et augmente celui de réticulocytes du sang (Ballas et al., 1989).

Pour explorer la déformabilité globale des GR SS, différentes combinaisons de blocage des précédents facteurs intrinsèques des GR ont été essayées. Ces expérimentations ont montré qu'à $\gamma > 3$ Pa, n'importe lequel de ces 3 facteurs pouvait expliquer, isolément, ou de façon associée, une baisse de cette déformabilité globale érythrocytaire. En revanche, si $\gamma < 3$ Pa, seule la déformabilité/élasticité de la membrane du GR était alors responsable d'une diminution de la déformabilité érythrocytaire globale (Renoux et al., 2019).

C'est ainsi que tout élément de rigidification érythrocytaire sera un obstacle pour assurer un flux sanguin correct. Que ce soit à faible ou en particulier à plus grande γ , où les GR nécessitent de s'aligner dans le sens du flux sanguin, il constituera un élément de ralentissement des GR et in fine une cause possible de vaso-occlusion, s'accompagnant secondairement d'une plus grande hémolyse des GR des patients SS, ultérieurement responsable d'une vasculopathie (Connes et al., 2016).

VI-3. Hémorhéologie et complications de la drépanocytose

L'étude de l'hémorhéologie a ainsi contribué à permettre de nouvelles avancées dans la compréhension de la physiopathologie de certaines complications de la drépanocytose, en fonction de leur profil hémolytique ou vasoocclusif, et des modifications des propriétés intrinsèques de leurs GR.

VI-3.a. Complications à profils à plus forte hémolyse

VI-3.a.1. Baisse de déformabilité des GR

Elle est constatée :

- ✚ Chez les patients SS, au cours :
 - des UDJ (Bowers et al., 2016)(Connes et al., 2013), associé à un rapport hémocrite sur η_{sg} plus bas (Connes et al., 2013), et plus de drépanocytes denses et déshydratés (Bartolucci et al., 2012),
 - des épisodes de priapisme (Cita et al., 2016), avec aussi plus de drépanocytes denses et déshydratés (Bartolucci et al., 2012),
 - de la glomérulopathie (Lamarre et al., 2014b), où sont retrouvés là encore, plus de drépanocytes denses et déshydratés (Bartolucci et al., 2012),
- ✚ Chez les patients SC :

Ils ont une moindre capacité à déformer leurs GR comparés aux $S\beta^+$ -thalassémiques (Renoux et al., 2018b) et aux sujets sains (Tripette et al., 2009).

VI-3.a.2. Plus grande déformabilité des GR

- ✚ Chez les patients drépanocytaires avec α -thalassémie :

Ces patients présentent moins de complications du phénotype hémolytique : HTAP, priapisme, UDJ, néphropathie (macroprotéinurie) comparativement à ceux sans (Embury et al., 1984)(Nolan et al., 2005) (Lamarre et al., 2014b) conjointement à une plus grande déformabilité érythrocytaire (Lamarre et al., 2014b) et à une moindre quantité de GR denses et déshydratés (Bartolucci et al., 2012). L' α -thalassémie s'accompagne en effet d'une moindre hémolyse, et par voie de conséquence d'un moindre stress oxydatif, pouvant aussi expliquer la diminution des complications de type hémolytique (Renoux et al., 2018a).

VI-3.a.3. Variation de l'agrégation erythrocytaire



Chez les patients SS :

- UDJ : pas de modification de la force d'agrégation erythrocytaire ni de la η_{sg} (Connes et al., 2013)(Bowers et al., 2018).
- Priapisme : augmentation de la force d'agrégation des GR relevée chez les patients à risque de priapisme (Cita et al., 2016).
- Néphropathie : la néphro-protection associée à l' α -thalassémie s'accompagne d'une moindre force d'agrégation des GR (Lamarre et al., 2014b).

VI-3.b. Complications à profils visqueux et vasoocclusif prédominants

VI-3.b.1. Baisse de déformabilité/élasticité membranaire des globules rouges



Chez les patients SS et SC :

- STA : cette baisse de déformabilité est observée de façon similaire chez des enfants SS et SC (Lamarre et al., 2012).

VI-3.b.2. Plus grande déformabilité/élasticité membranaire des globules rouges



Chez les patients SS et SC :

- CVO : les crises s'accompagnent de façon surprenante d'une plus grande déformabilité membranaire des GR, mais aussi d'une plus grande concentration en Hb des GR, elle, attendue. Ces 2 éléments sont prédictifs et indépendants de l'incidence des CVO chez les enfants SS (Lande et al., 1988). Cette plus grande déformabilité des GR au cours des CVO a été observée chez les enfants (Lamarre et

al., 2012) comme chez les adultes SS (Ballas et al., 1988), mais pas chez les enfants SC (Lamarre et al., 2012). Elle est associée à une plus forte capacité d'adhérence des GR les plus jeunes et les plus légers, à l'endothélium vasculaire déjà rapportée (Mohandas and Evans, 1984). La fréquence et la sévérité des CVO ont été effectivement montrées être positivement corrélées à cette plus grande déformabilité des GR, et inversement corrélée aux pourcentages de GR denses et GR irrémédiablement falciformés (Ballas et al., 1988). Ces derniers restent associés à un taux plus bas d'Hb chez les patients (Hebbel and Miller, 1984). Par ailleurs, lors d'une CVO, après la phase de diminution des cellules denses et GR irrémédiablement falciformés, une 2^{ème} vague de GR jeunes et plus facilement déformables issus de la moelle osseuse semble être à l'origine d'une augmentation de cette déformabilité globale des GR, pouvant être à son tour à l'origine des récurrences de VOC, particulièrement observées dans le mois suivant la VOC initiale, constituant un facteur de risque potentiel de récurrence des VOC (Ballas and Smith, 1992).



Patients avec α -thalassémie :

- CVO : il a également été retrouvé plus d'antécédents de CVO chez ces patients, comparativement à ceux sans α -thalassémie (Lemonne et al., 2013), rattachés à cette plus grande déformabilité des GR, qui facilite l'adhérence erythrocytaire à l'endothélium vasculaire (Renoux et al., 2017)(Connes et al., 2018).

- OTN : l'augmentation de déformabilité des GR a également été retrouvée par notre équipe chez les adultes SS présentant cette complication comparativement à ceux indemne de cette dernière (Lemonne et al., 2013), et serait ici encore, à l'origine d'une plus grande adhérence des GR à l'endothélium vasculaire, favorisant l'encombrement de la lumière des vaisseaux et, in fine, les vasoocclusions.

✚ Patients avec S/ β^+ thalassémie

- CVO : les enfants avec antécédents de CVO présentent une plus grande déformabilité de leurs GR que les enfants SC (Renoux et al., 2018b).

VI-3.b.3. Variations de l'agrégation érythrocytaire :

✚ Chez les patients SS et SC :

- CVO : les enfants SS avec antécédents de CVO présentent une plus grande force d'agrégation érythrocytaire que les enfants SC (Renoux et al., 2018a).
- STA : à faible γ , le seuil de désagrégation érythrocytaire est identique entre enfants SS et SC, mais à forte γ , il est plus élevé chez les enfants SC que SS. Dans le groupe des enfants avec STA, le seuil de désagrégation érythrocytaire est significativement plus élevé, chez les garçons SS uniquement, et pas chez les filles, par rapport au groupe sans STA. Il est aussi plus élevé chez les enfants SC, chez ceux avec STA, comparativement à ceux sans STA (Lamarre et al., 2012), sans différence entre sexe. Nous avons précédemment vu l'importance d'un éventuel syndrome inflammatoire plasmatique au

cours des STA sur ce seuil de désagrégation érythrocytaire des sujets drépanocytaires SS (Nader et al., 2017).

Pour d'autres complications, non classées entre les 2 phénotypes hémolytiques ou vasoocclusifs, les choses sont moins claires : les mécanismes aboutissant aux lésions semblent différer en fonction du génotype.

 Patients SS et SC :

- rétinopathie (Lemonne et al., 2014) : la rétinopathie proliférative est associée à un hémocrite et un taux d'Hb plus élevé chez les patients SC vs. SS, notamment chez les hommes (Serjeant et al., 1986), mais avec un taux de GB plus élevé chez les patients SS. Une moindre déformabilité membranaire des GR a été observée chez les patients SC avec rétinopathie, versus ceux sans, sans différence sur la force d'agrégation sur cette complication (Lemonne et al., 2014).
- surdité : +9.1% de viscosité sanguine μ_{sg} a été retrouvée chez les patients SC, sans anomalie constatée de déformabilité membranaire des GR ni de leur force d'agrégation (Lemonne et al., 2014).

L'état actuel des connaissances des anomalies hémorhéologiques chez les patients SS et SC (Connes et al., 2018)(Connes et al., 2016) permet de comprendre leur implication dans la physiopathologie des complications de la drépanocytose, que nous allons maintenant détailler sur leur versant clinique.

VII- Une maladie polymorphe à l'expression clinique variée

La vie des patients drépanocytaires est en effet émaillée de complications aiguës et chroniques réduisant encore de nos jours leur espérance de vie de 30 ans dans tous les pays et plus encore dans les pays en difficultés socio-économiques (Tewari et al., 2015). Ces complications varient en fréquence d'un génotype à l'autre mais également au cours de la vie d'un même individu et au sein d'un même génotype, modulées, nous l'avons vu, par des facteurs génétiques tels que l'HbF, les haplotypes et l' α -thalassémie. Mais de nombreux facteurs environnementaux interviennent aussi (existence d'un DNN, mise en place de soins préventifs ou curatifs, les stress divers, l'activité physique, la température). La prévalence de ces complications est également différente d'une zone géographique à une autre et d'un pays à l'autre, rendant difficile l'isolement de biomarqueurs de ces complications.

VII-1. Les complications en fonction des génotypes SS et SC

L'expression clinique de la drépanocytose SC a depuis longtemps été distinguée de la drépanocytose SS (Serjeant, 2013). Toutefois, les équipes de Lionnet et al (Lionnet et al., 2012) et Lemonne et al (Lemonne et al., 2014) considèrent que le génotype SC n'est pas qu'une simple forme atténuée de l'expression des complications du génotype SS. Elles considèrent qu'il s'agit d'une entité à part entière, partageant certes avec le génotype SS des complications communes, mais qui présenterait aussi d'autres complications, reposant sur une physiopathologie préférentielle vaso-occlusive, telles que la rétinopathie et les problèmes otologiques (Lionnet et al., 2012).

Nous suivrons la classification par phénotypes visqueux/vasoocclusifs et hémolytiques proposée par Kato (Kato et al., 2007)(Gladwin and Vichinsky, 2008), incrémentée maintenant des apports de l'hémorhéologie, pour détailler ainsi les complications qui émaillent la vie du patient drépanocytaire et débuterons par celles rassemblées sous l'égide d'une plus grande η_{sg} , qui ont constitué notre population d'étude particulière.

VII-1.a. Le phénotype visqueux/vaso-occlusif

VII-1.a.1. Les crises vaso-occlusives

Ce sont les manifestations les plus fréquentes et les plus connues de la maladie drépanocytaire. Elles se produisent à tout âge pour le patient, et peuvent survenir dans la petite enfance dès l'âge de 3 mois de vie, au fur et à mesure du remplacement de l'HbF par l'HbS. Il s'agit de douleurs d'ischémie très importantes pouvant toucher tous les territoires vasculaires, voire certains organes, situés en aval des territoires occlus.

Dans la petite enfance, les CVO peuvent se présenter comme une manifestation clinique particulière au niveau des mains et des pieds, qui se mettent à gonfler, avec un aspect inflammatoire de la peau et sont très douloureux. A cet âge est spécifiquement utilisé le nom de syndrome Main-Pied ou dactylites (Serjeant, 2013).

Le symptôme de la douleur osseuse ou viscérale, est toujours au premier plan pour l'individu touché par la CVO, nécessitant une prise en charge rapide dès l'arrivée du patient aux urgences. Certains patients décéderont de crises plus sévères, souvent associées à des comorbidités (asthme, STA, HTAP, ...) avec un taux de mortalité de 0,48% (Nourai et al., 2013). Les CVO sont la première cause d'hospitalisation qui altèrent la qualité de vie des patients, avec un nombre moyen de 5,9 jours d'hospitalisation et un taux de réhospitalisation pour CVO à 30 jours de 39,6% (Nourai

and Gordeuk, 2015). Il est à noter que certains patients expérimentent de nombreuses CVO dans certaines périodes de leur vie seulement, tandis que d'autres n'en auront pas, sans qu'il n'ait été identifié de facteur discriminant, après avoir écarté les facteurs connus de déclenchement de CVO déjà vus (Tewari et al., 2015). Le patient apprend à prévenir les CVO en se protégeant de ces facteurs déclenchant avec l'aide de ses parents dès son plus jeune âge. Puis il apprendra à les gérer seul ou avec son équipe médicale. Les CVO reposent sur le plan physiopathologique sur des phénomènes complexes associant des facteurs indépendants chez les patients drépanocytaires (Charlot et al., 2016), avec :

- ✚ Une plus grande η_{sg} (Nebor et al., 2011)(Lamarre et al., 2012)(Charlot et al., 2016).
- ✚ Une moindre réactivité vasculaire (perte de réserve vasodilatatrice) (Charlot et al., 2016). Cette altération de la réserve vasculaire au niveau de la microcirculation a été rattachée au stress oxydatif en population d'enfants SS, mais pas chez les enfants SC (Möckesch et al., 2017).
- ✚ Une surproduction d'ERO génératrice de dégradations membranaires, de surconsommation de NO, et d'activation endothéliale chez les patients SS (Möckesch et al., 2017), chez qui le niveau de stress oxydatif, est supérieur sans être toutefois rattaché à la fréquence des CVO (Renoux et al., 2018a). Les enfants SS ont un niveau de stress oxydatif supérieur à celui des enfants AA et S/ β^+ (Renoux et al., 2018b), mais chez les enfants S/ β^+ toutefois, un gradient de stress oxydatif est présent, chez ceux avec le plus d'antécédents de CVO dans les 2 ans (Renoux et al., 2018a).

- ✚ Il est également retrouvé plus d'antécédents de CVO chez les patients avec α -thalassémie que chez ceux sans (Renoux et al., 2017).

VII-1.a.2. Le syndrome thoracique aigu

Il s'agit d'une complication aiguë, particulièrement dangereuse, à l'origine de décès brutal possible des patients. Elle se manifeste par un tableau d'infection pulmonaire fébrile accompagné sur le plan symptomatique de fièvre, d'une douleur rétro-thoracique et de signes respiratoires (toux, dyspnée (gêne à la respiration), tachypnée (respiration rapide)) (Wang et al., 2018). Son évolution peut être cataclysmique avec œdème aigu pulmonaire dans un tableau de détresse respiratoire aiguë sur insuffisance ventriculaire gauche, pouvant amener rapidement à un décès. Les STA sont responsables de 25% des décès chez les patients drépanocytaires (Gray et al., 1991), avec un taux de mortalité globale par STA chez les adultes de 4.3% dont 1.6% par événement chez les SC et 1.9% chez les SS (Vichinsky et al., 1997). Ils se compliquent également d'atteintes neurologiques diverses dans 11% des cas (Vichinsky et al., 1997). Chez l'enfant, le STA est rapporté être avec les infections, la 1^{ère} cause de décès (Serjeant et al., 2018).

Au niveau radiologique (radiographie thoracique), le diagnostic repose obligatoirement sur la présence d'un infiltrat pulmonaire, de la simple nouvelle opacité localisée à l'atteinte d'un segment ou lobe pulmonaire entier, uni ou bilatérale, précisant bien une condensation et non une atélectasie (Paul et al., 2011). Ce tableau radio-clinique s'accompagne de la présence d'un syndrome inflammatoire avec élévation du nombre des GB (hyperleucocytose avec polynucléose) (Wang et al., 2018)(cf. *Figure 29*).

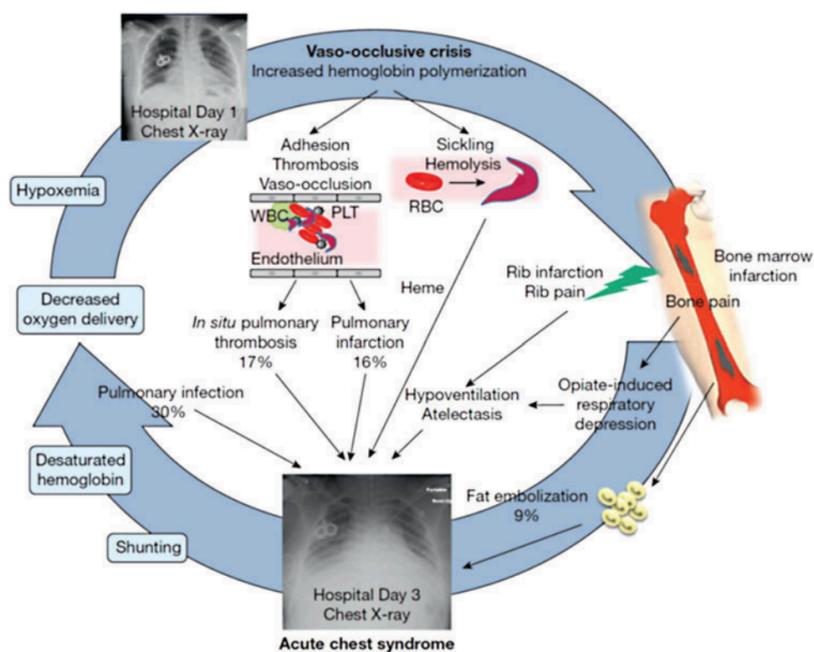


Figure 29: Cercle vicieux de la pathogénie du syndrome thoracique aigu, impliquant la falciformation des GR, l'adhérence cellulaire, l'hémolyse et la vasoocclusion

Légende : Figure issue de (Novelli and Gladwin, 2016)

Il existe de nombreuses causes aux STA. Dans la moitié des cas, ils surviennent alors que le patient est déjà hospitalisé pour une complication de la drépanocytose. La 1^{ère} cause en est la CVO, mais sont aussi fréquemment retrouvées une anesthésie générale, ou une chirurgie (Paul et al., 2011), car la période directement post-opératoire est une période à risque de thromboses, favorisant les STA. L'ablation fréquente de la vésicule biliaire chez les patients drépanocytaires, du fait de cholécystites aiguës consécutives à plus de lithiases vésiculaires et de sludge biliaire, déclenche un STA chez 15 à 20% des patients SS ou SC opérés.

Parmi les autres causes sont également retrouvées : l'embolie graisseuse (embolie lipidique issue de la moelle, ou directement d'un morceau de moelle osseuse), les infections pulmonaires, à caractère saisonnier (plus de STA l'hiver que l'été), à

germes préférentiels sur terrain fragilisé (Paul et al., 2011) : pic de STA surtout chez les enfants entre 2 et 4 ans, en phase avec la sensibilité de l'enfant avec certains germes spécifiques, puis décroissance jusqu'à 20 ans où se reproduit un nouveau pic. Ainsi une bactériémie à streptocoque pneumoniae (58%) et haemophilus influenzae (18%) est le plus souvent retrouvée, aggravant le pronostic du STA. Cette bactériémie accompagne 3,5% des STA de l'enfant, surtout s'il a moins de 2 ans, contre 1.8% des STA chez l'adulte (Paul et al., 2011).

Sont également retrouvés : les infarctus pulmonaires et une hypoventilation (Jain et al., 2017) mais le plus souvent, la cause reste inconnue, même si ont été identifiés certains facteurs de risque: le bronchospasme (Paul et al., 2011), l'asthme et le tabagisme, de surcroît à l'origine pour ces derniers, d'un sur risque de décès lors d'un STA (Knight-Madden et al., 2013).

Au niveau biologique, l'incidence du STA est également inversement corrélée au taux d'HbF et au degré d'anémie (Castro et al., 1994), de même qu'elle est positivement corrélée au nombre de GB à l'état de base (Paul et al., 2011) ; l' α -thalassémie n'a pas d'effet sur l'incidence des STA (Paul et al., 2011)(Lamarre et al., 2012).

D'autres marqueurs du stress oxydatif ont par ailleurs été aussi retrouvés en cas de STA : l'augmentation des leucotriènes E4 urinaires. Ils sont le reflet de leucotriènes cystéines, médiateurs inflammatoires produits par les GB et ils accompagnent l'augmentation de la douleur et du risque de STA chez l'adulte (Field et al., 2009).

Enfin, l'usage de la morphine versus l'usage du Nubain pour le traitement de la douleur favoriserait le STA (Paul et al., 2011).

VII-1.a.3. L'ostéonécrose

Il s'agit d'une complication chronique, invalidante pour les patients, à terme responsable d'une perte de l'articulation concernée et d'un handicap. Les OTN débutent souvent dans l'enfance, et leur prévalence augmente avec l'âge du patient. Les os longs les plus touchés sont le fémur et l'humérus. Elles sont volontiers bilatérales (Mukisi-Mukaza et al., 2000)(Mukisi-Mukaza et al., 2011) et multifocales, localisées plus sur les épiphyses (partie supérieure des os) qu'au niveau des diaphyses (partie médiane des os), sauf pour le tibia. Le diagnostic est évoqué le plus souvent sur la clinique, lors d'accès douloureux, parfois lors d'une boiterie et est confirmé par l'aspect radiologique de l'articulation concernée (opacité au niveau de la tête du cotyle femoral de la hanche).

L'atteinte la plus fréquemment retrouvée est l'OTN de hanche. Les lésions d'OTN, quand c'est possible, sont traitées par un traitement conservateur de décompression de l'os par forage, afin de retarder au maximum le moment de mise en place d'une prothèse de hanche, dont la vie artificielle est de 10 ans seulement, imposant de nombreuses ré-interventions, qui ne sont pas sans risque. En effet, sur le plan épidémiologique, au sein d'une cohorte californienne de 6237 patients drépanocytaires suivie pendant 22 ans, 22% ont développé une OTN de hanche à un âge moyen de 27 ans, dont 23% furent opérés avec pose de prothèse totale de hanche à un âge moyen de 36 ans. Parmi ces derniers, 27% ont été réhospitalisés majoritairement pour CVO, dans les 30 jours après l'intervention (Adesina et al., 2017). Par ailleurs, l'incidence cumulée d'OTN à l'âge de 30 ans sur ces 22 ans, est passée de 8% pour le groupe des OTN les moins sévères, à 23% pour celui des plus sévères, avec association

plus marquée, en cas d'antécédent de STA : 18% versus 8% dans le groupe des OTN les moins sévères (Adesina et al., 2017), illustrant bien le support physiopathologique commun et récurrent dans ces deux complications. L'articulation de la hanche est particulièrement touchée par comparaison aux autres articulations, en raison de la fragilité de l'artère nourricière de la tête fémorale, qui est particulièrement sensible à l'hypoxie (Mukisi-Mukaza et al., 2000)(Mukisi-Mukaza et al., 2011). Lorsque ces phénomènes passent inaperçus ou récupèrent mal, il se produit un remodelage de la tête fémorale avec asymétrie responsable du développement d'une usure prématurée de la tête, puis d'une arthrose responsable d'une gêne articulaire, d'une boiterie et de douleurs.

D'autres os peuvent être touchés. Les douleurs associées aux crises d'OTN sont extrêmement douloureuses et nécessitent un traitement antalgique symptomatique.

Une anémie modérée et un taux élevé d'HbF ont été associés à un risque moindre de survenue de cette complication. Même si des taux plus élevés d'Hb ont été retrouvés, il n'a pas été montré une plus grande η_{sg} chez les patients SS avec OTN comparativement aux autres, sans OTN, et ceci, très probablement en lien avec une meilleure déformabilité des GR (Lemonne et al., 2013), à l'origine d'une plus grande adhérence aux cellules endothéliales vasculaires.

A contrario, l' α -thalassémie est elle, un facteur de risque indiscutable d'OTN pour les patients SS, démontré par Milner en 1991 (21.2 vs. 8% sans, respectivement) (Milner et al., 1991), résultat corroboré par notre équipe (56.7 vs. 37.3% sans) (Lemonne et al., 2013).

VII-1.b. Le phénotype hémolytique/dysfonction endothéliale

VII-1.b.1. L'hypertension artérielle pulmonaire

Cette complication chronique est abordée en premier car elle est de mauvais pronostic lorsqu'elle apparaît dans la vie d'un patient, avec décès de ce dernier dans les 4 ans en moyenne après son apparition (Gladwin et al., 2004). Sa mortalité chez les patients drépanocytaires en France est de 2% contre 5.3% aux Etats-Unis pour un suivi de 26 et 18 mois respectivement (Parent et al., 2011). Elle est définie par l'élévation chronique des résistances pulmonaires pré-capillaires en l'absence de dysfonction du ventricule gauche ou de maladie thromboembolique pulmonaire (Parent et al., 2011). L'HTAP est une complication dégénérative qui s'installe à bas bruit, au fur et à mesure du temps, du fait d'une moindre biodisponibilité du NO, secondaire à l'hémolyse chronique et à la production de cytokines pro-inflammatoires. L'élévation des résistances pulmonaires est responsable d'une insuffisance ventriculaire droite traduite par une dysfonction diastolique initialement. Puis elle se poursuit par une insuffisance cardiaque globale, même si une dysfonction systolique préalable peut être aussi parfois rencontrée du fait de résistances post-capillaires et d'une HTA. Le risque d'HTAP est dépisté de façon annuelle chez les patients par une méthode non invasive : l'échographie cardiaque, via la mesure de la vitesse de régurgitation tricuspидienne (VRT). Il se met en place une alerte médicale dès que $VRT \geq 2.5 \text{ m/s}$, mais il y a surtout une augmentation concrète de la probabilité de présence d'HTAP, dès que $VRT \geq 2.8 \text{ m/s}$ (Parent et al., 2011). Cette HTAP ne peut être confirmée en effet que par cathétérisme cardiaque, geste beaucoup plus invasif, réalisé en service cardiologique interventionnel spécialisé. Des traitements médicamenteux relativement lourds existent, pour tenter d'en freiner l'évolution, sans y arriver parfaitement à ce jour.

VII-1.b.2. Le priapisme

Il s'agit d'une érection anormalement prolongée, non déclenchée par une excitation sexuelle et extrêmement douloureuse (Montague et al., 2003). La cause en serait une diminution de la biodisponibilité du NO (Kato et al., 2007b), ce qui induit une activité moindre de l'enzyme phosphodiesterase 5 (Champion et al., 2005). Cette dernière permet l'inhibition de la relaxation des fibres musculaires lisses responsables de la vasodilatation à l'origine de l'érection. Cette vasodilatation doit donc être stoppée pour permettre une cessation de l'érection.

Le pronostic de cette complication dépend du nombre d'heures pendant lesquelles le priapisme est maintenu. Les cliniciens distinguent les situations de priapisme intermittent ou permanent. Il s'agit d'une urgence médicale. Le traitement d'urgence est injectable, par voie sous-cutanée, directement dans le corps caverneux. Il est exceptionnellement complété, en cas d'échec du traitement médical, d'une intervention chirurgicale de décompression, pour éviter une nécrose ischémique de la verge.

VII-1.b.3. Les ulcères de jambe

Il s'agit d'une ou plusieurs ulcérations, c'est-à-dire de perte de substance, de tailles diverses, le plus souvent circulaires, de la taille d'un confetti à une pièce de plusieurs centimes d'euros ou oblongue, de profondeur variable (de l'épiderme, à des plans plus profonds), localisée(s) à proximité des malléoles externes des chevilles (Minniti and Kato, 2016)(cf. *Figure 30*). Leur début est annoncé par des prodromes (prurit, dyesthésie, ...), avec ou sans facteur déclenchant retrouvé (lésion de grattage, piqûre d'insecte, ...). Ils sont extrêmement douloureux et sources de suintement et de surinfection possible. Leur cicatrisation est très longue (mois, années, ou parfois

jamais), avec une peau fine, très fragile, qui après cicatrisation recouvre l'ancien ulcère. Leur évolution est souvent marquée par un très fort taux de récurrence (25 à 50% des cas), croissant avec l'âge du patient, sur la même zone ou à proximité.



Figure 30 : Ulcères de jambes de patient drépanocytaire

Légende : Figure issue de (Minniti and Kato, 2016)

En dehors des troubles hémorhéologiques et du taux plus important de GR denses et déshydratés (Bartolucci et al., 2012) détaillés (*cf. chapitre VI*), une moindre biodisponibilité du NO a également été rapportée dans les UDJ (Kato et al., 2007).

Toutefois, la très forte prévalence d'UDJ (40%) en Jamaïque, plaide également pour l'existence de facteurs de prédisposition. Chez les patients α -thalassémiques drépanocytaires, la délétion de 2 gènes α -globine est un élément protecteur vis-à-vis des UDJ comparativement à une α -thalassémie hétérozygote $-\alpha/\alpha\alpha$ (Higgs et al., 1982).

VII-1.b.4. L'hypertension artérielle systémique

Le NO produit par les cellules endothéliales participe à hauteur de 25% dans le maintien du débit sanguin basal. Il est expérimentalement montré que l'inhibition de sa production génère une hypertension artérielle (HTA) systémique (Aisaka et al., 1989).

L'évolution naturelle d'une HTA non traitée est la dégradation progressive des organes vascularisés. Parmi eux se trouve le rein. Son atteinte, par glomérulopathie peut être aussi le fruit de l'évolution d'une HTA insuffisamment contrôlée (Gordeuk et al., 2008), les objectifs tensionnels valables pour la population générale pouvant être non adaptés à la population des patients SS, qui auraient besoin d'objectifs ajustés à la baisse, comme suggéré par Gordeuk (Gordeuk et al., 2008). Il a en effet été démontré que cette HTA relative non traitée pouvait faire se développer autant une HTAP, qu'une glomérulopathie dans ses suites, avec pour résultante, une plus grande mortalité (Gordeuk et al., 2008). On ne connaît pas bien les facteurs à l'origine de cette HTA relative chez les patients drépanocytaires, dans une maladie à priori non concernée par l'athérosclérose, ce qui nous invitera lors de notre travail, à l'exploration et à la recherche d'éventuelles associations avec cette HTA relative.

VII-1.b.5. Insuffisance rénale chronique et glomérulopathie

L'évaluation de la fonction rénale est très difficile chez le patient drépanocytaire. Pendant de nombreuses années, du fait de l'anémie chronique, est constatée une hyperfiltration glomérulaire, qui s'installe très tôt dans la vie des jeunes enfants drépanocytaires. Ce premier stade contribue avec le temps à une fragilisation rénale avec survenue de l'apparition d'une néphropathie, débutant par une microalbuminurie (dès que micro albuminurie $\geq 30\text{mg}/24\text{Heures}$ ou $20\text{mg}/\text{L}$), et évoluera avec le temps et les années vers une macro albuminurie (dès que microalbuminurie $\geq 300\text{mg}/24\text{Heures}$) (Allon, 1990). Même si cette glomérulopathie est dans sa compréhension actuelle le fruit du stress oxydatif rattaché à hémolyse aigue ou chronique tel que nous l'avons vu précédemment, cette glomérulopathie est également majorée à terme du fait d'épisodes d'occlusions répétés au niveau rénal, les GR

falciformés venant possiblement encombrer et altérer le filtre glomérulaire rénal, d'où le chevauchement non tranché des phénomènes d'hémolyse et de vasoocclusions du schéma intégratif physiopathologique de Kato (Gladwin and Vichinsky, 2008) (*cf. Figure 25*).

Des traitements existent, mis en place dès l'apparition d'une micro albuminurie, afin de la freiner (Foucan et al., 1998): les inhibiteurs de l'enzymes de conversion, mais qui à plus long terme n'ont pas été trouvés suffisamment concluants, à contrario des agonistes des récepteurs de l'angiotensine II. Ces derniers réduisent l'albuminurie sans réduction du débit de filtration glomérulaire chez le patient drépanocytaire (Yee et al., 2018). Notre équipe a montré que la présence d'une α -thalassémie aurait un effet protecteur contre l'apparition de la glomérulopathie macroprotéïnurique chez des patients SS (Nebor et al., 2010), via une diminution de la force d'agrégation des GR et une augmentation de leur déformabilité (Lamarre et al., 2014a).

VII-1.b.6. Les accidents vasculaires cérébraux

Ils se produisent chez des patients de tout âge, et chez les enfants surtout, très tôt dans leur vie, avec des tableaux cliniques divers, dépendant du territoire cérébral concerné (Ohene-Frempong et al., 1998).

Trois processus sont en jeu :

- ✚ **L'occlusion vasculaire**, processus majoritaire qui concerne 70% des AVC, le plus souvent les enfants de moins de 15 ans (Switzer et al., 2006). Cette occlusion se fait le plus souvent par le biais d'une plus grande adhérence cellulaire à l'endothélium vasculaire activé de cellules qui deviennent obstructives. Ainsi une analyse multivariée a isolé comme

facteur de risque d'AVC, un plus fort taux de réticulocytes, dont on sait qu'ils sont plus particulièrement pro-adhésifs (Silva et al., 2011). Les mécanismes de cette occlusion vasculaire sans dépôt d'athérome restent encore à éclaircir.

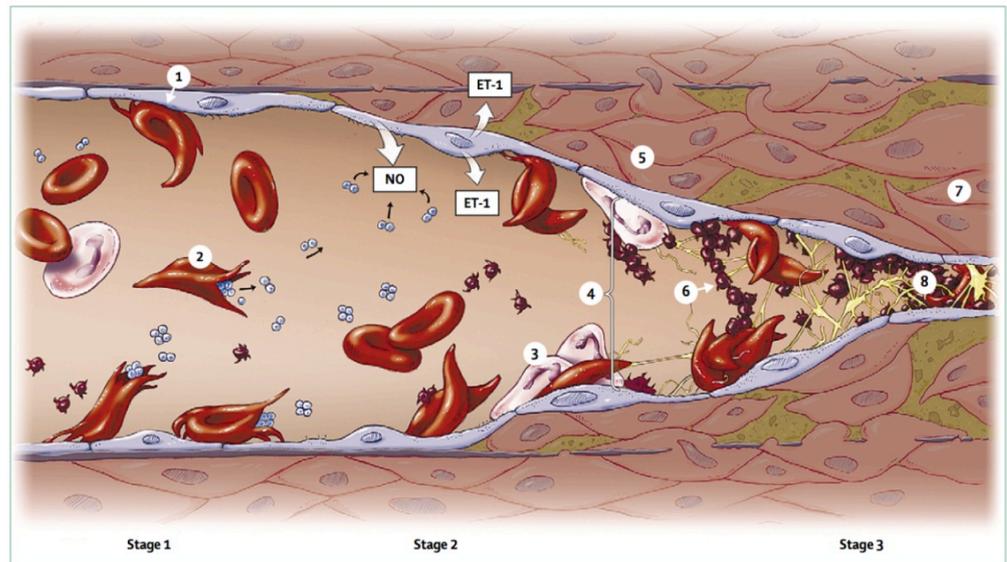


Figure 31 : De la vasculopathie à la vasoocclusion

Légende : Figure extraite de (Switzer et al., 2006)

- ✚ **L'hémorragie**, secondaire à une rupture d'anévrisme cérébral : ce phénomène est moins fréquent et concerne surtout les adultes entre 20 et 30 ans. Un tableau particulier d'AVC de type ischémiques ou hémorragiques, dû à des sténoses progressives des artères intracrâniennes, associé au développement de circulation collatérale, est appelé syndrome de Moya-Moya. Il touche les enfants comme les adultes (Díaz-Díaz et al., 2014).
- ✚ **L'embol lipidique**, intervenant dans le cadre des OTN ; une partie de la moelle osseuse sous pression peut sortir de la zone osseuse infarctée pour passer dans la circulation générale. L'embol lipidique rend impossible la

progression du sang en aval de lui, dans les vaisseaux (Horton et al., 1995).

Ainsi, le patient peut présenter une hémiplégie (paralysie d'un hémicorps), complète, dite proportionnelle (membre inférieur et supérieur) ou partielle (l'un des deux seulement). Elle sera associée ou non, en fonction du territoire cérébral concerné, de paralysies oculomotrices ou faciales, de troubles visuels, de la déglutition, de dysarthrie ou de troubles des fonctions supérieures. On distingue parmi ces derniers : l'aphasie (incapacité à retrouver ou à prononcer les mots), l'anosognosie (non reconnaissance de son trouble), des troubles mnésiques et autres altérations des capacités cognitives. Le tribut est ainsi lourd pour les patients souvent très jeunes, avec séquelles motrices et/ou intellectuelles et psychiques, génératrices de handicaps, ainsi que pour leur famille.

La rétine est une partie du cerveau, également affectée au cours de la drépanocytose, et de façon différente en fonction des génotypes. Elle n'apparaît pas classée dans le modèle intégratif physiopathologique de Kato (*cf. Figure 25*).

VII-1.c. Les complications non encore parfaitement classées

VII-1.c.1. La rétinopathie

De toutes les structures de l'œil pouvant être atteintes dans la drépanocytose, la rétine est celle qui sera le plus touchée, avec un pronostic immédiat sur la vue. Elle présentera des modifications des vaisseaux rétiniens, diagnostiquées au fond d'œil, puis classées selon la description d'un stade de rétinopathie pré-proliférative ou proliférative (classification de Goldberg et Penman). La rétinopathie concerne les enfants comme les adultes, avec une prévalence de 40% chez les patients SC versus 20% des patients SS, dans une série américaine parmi lesquels 33% des patients SC présentent une

rétinopathie proliférative, versus 3% des patients SS (Menaar et al., 2017). Le pic de plus haute prévalence est plus précoce chez les hommes SC (15–24 ans) par rapport aux femmes SC (20–39 ans) comparativement aux patients SS (entre 25 and 39 ans pour les 2 sexes)(Menaar et al., 2017). A noter une plus fréquente association de rétinopathie chez les patients SC avec OTN (38% versus 18% sans OTN, $p < 0.05$) (Lemonne et al., 2014). La rétinopathie proliférative se traduit par une baisse de l'acuité visuelle, perçue seulement de façon tardive par le sujet par rapport à l'extension déjà de ses lésions, car elle est asymptomatique dans les stades précoces, d'où l'intérêt d'un dépistage régulier annuel par fond d'œil afin de pouvoir prendre en charge précocement des lésions. Une fois en place, ces lésions s'aggravent par prolifération de néo vaisseaux, et si rien n'est fait pour les stabiliser, elles sont responsables de complications telles que décollement de rétine, hémorragie intra-vitréenne, ..., pouvant aller jusqu'à la cécité. Le développement de la néovascularisation de la rétinopathie drépanocytaire est sous le contrôle de facteurs de croissance appelés Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) et Fibroblast Growth Factor. VEGF augmente l'expression des molécules d'adhérence VCAM-1 et ICAM-1 et la perméabilité vasculaire. Toute raison d'hypoxie augmente la sécrétion de VEGF. Le risque de rétinopathie est inversement associé au niveau d'HbF, avec plus de rétinopathie proliférative chez les enfants, quel que soit le génotype, si $HbF < 15\%$. Serjeant et al ont également montré dès 1986, qu'un plus fort taux d'hémoglobine était retrouvé chez les hommes SC présentant une rétinopathie proliférative (Serjeant et al., 1986).

Le traitement de cette complication reste toujours à ce jour non satisfaisant pour les patients. De nos jours encore, comme dans les années 1980, il consiste en la stabilisation et arrêt de la progression de la rétinopathie proliférative par

photocoagulation laser des zones ischémiques ou des néovaisseaux (Hrisomalos et al., 1987) associé parfois à des injections intra-vitréennes d'anti-VEGF. Les zones traitées par laser ne permettent plus la vision. Une vitrectomie peut toutefois s'avérer nécessaire, du fait d'hémorragies secondaires. Le traitement par HU permet en complément une amélioration de l'oxygénation rétinienne via une augmentation du taux d'HbF et une diminution des facteurs angiogéniques à l'origine de la néovascularisation.

La vision n'est pas le seul sens atteint dans la drépanocytose, et les patients sont parfois également atteints de troubles auditifs, qui peuvent aller jusqu'à la surdité.

VII-1.c.2. La surdité

Elle est souvent précédée d'acouphènes (sons, bruits dans les oreilles, entendus seulement par le sujet) et concerne les patients SC le plus souvent. On lui prête plus volontiers un lien avec les phénomènes vaso-occlusifs, qui se produiraient préférentiellement au niveau cochléaire chez les patients SC (Jovanovic-Bateman and Hedreville, 2006), mais ces troubles qui affectent très peu les patients SS, ont une physiopathologie très peu étudiée et encore non élucidée.

VIII-Traitements/Prise en charge d'aujourd'hui et de demain

VIII-1. A l'échelle de l'individu

La prise en charge des patients aujourd'hui comprend :

- 1- La prévention (apprentissage basé sur la non exposition ou la maîtrise des facteurs de risque de situations déclenchant la polymérisation) ; la prise de traitement antibiotique prophylactiques (pénicilline A), la vaccination antipneumocoque, la prise régulière d'acide folique (pour faciliter la production

de GR du fait de sa surconsommation par anémie chronique). Les parents apprennent à dépister certaines complications telles qu'une splénomégalie qui peut être responsable d'une anémie aiguë par hypersplénisme (la rate peut ainsi doubler ou tripler de volume). Ils apprendront à suivre la cinétique de la croissance ou régression de cette splénomégalie par l'apprentissage de sa palpation par éducation thérapeutique ; une splénectomie peut rester parfois in fine indiquée, lorsque cette séquestration splénique récidive trop fréquemment.

- 2- Le traitement symptomatique des complications qui surviennent, avec prise (s) d'antalgiques dès le domicile selon une titration apprise, poursuivie aux urgences, lors des complications aiguës d'un protocole gradé de prise en charge de la douleur, avec oxygénation et réhydratation parentérale, afin de favoriser l'arrêt du processus de polymérisation. Le bilan et la prise en charge des complications aiguës est débuté dès les urgences, toujours en lien avec une équipe médicale spécialisée, qui poursuivra la prise en charge et le suivi, une fois le patient hospitalisé(e).
- 3- Un bilan annuel régulier à vie, de dépistage des complications de la maladie, effectué le plus souvent en hospitalisation de jour et des consultations externes régulières de suivi auprès de médecins spécialisés

VIII-2. A l'échelle des équipes spécialisées

Le traitement débute en secteur spécialisé hospitalier, dès le diagnostic de la maladie posé. Les cliniciens ont ensuite à disposition :

- 1- Un grand volet de prévention et de mise à la portée du patient (ou de ses parents pendant sa petite enfance), de connaissances de sa maladie via l'éducation thérapeutique, pour développer chez lui des capacités d'autosoins et d'autogestion des premiers symptômes de ses complications possibles. Cet apprentissage est réalisé au sein de consultations externes, d'hospitalisations de jour, ou en dehors de l'hôpital, relayées par des soirées d'information grand public et des liens forts avec le monde associatif.

- 2- Des transfusions ou des saignées, fonction de l'hématocrite, du génotype, de la situation clinique, complétées de la gestion symptomatique du facteur déclenchant de la complication si possible, avec un soin particulier pour l'hydratation, l'oxygénation et la sédation du patient ; l'usage de chélateurs du fer, pour lutter contre son accumulation et toxicité dans les différents organes émonctoires du corps, du fait des transfusions répétées.

- 3- Le recours aux spécialistes d'organes ou au service de réanimation pour des prises en charges complémentaires ou des surveillances sur des périodes critiques.

- 4- Un traitement par hydroxycarbamide ou hydroxyurée (HU), ou d'autres molécules, ou l'entrée dans un protocole transfusionnel, avec leur surveillance, à court, moyen et long terme.
 - L'hydroxyurée (HU) est un agent cytotoxique utilisé dans la drépanocytose pour prévenir certaines complications de la maladie, lorsque leur récurrence devient trop importante ou associée à un

risque vital fort encouru par le patient (Platt, 2008)(Nader et al., 2018). Cette molécule agit en augmentant le taux d'expression d'HbF, par la stimulation de l'expression du gène de la chaîne γ -globine, de façon compétitive envers la synthèse de la globine β^S , qu'il diminue d'autant, par inhibition de la ribonucleotide reductase. L'HU est également un donneur de NO, renforçant l'action combinée d'HbF (Platt, 2008)(Nader et al., 2018), ce qui a un effet protecteur contre le processus vaso-occlusif.

Platt et al. ont ainsi montré une diminution des CVO, des STA et des transfusions nécessitées chez les patients traités par HU, avec diminution de 40% de la mortalité de ces complications sur un suivi de 9 ans, comparativement aux patients sans HU (Platt, 2008).

Il est intéressant de noter que l'hydroxycarbamide restaure la fonction splénique, mais sans éviter les complications de séquestration splénique.

- D'autres molécules (Fard et al., 2013) sont à l'étude pour induire l'augmentation de l'expression d'HbF afin d'améliorer le phénotype clinique des patients, mais elles ont des effets carcinologiques et mutagènes. Seule l'hydroxyurée, utilisée en clinique sur du long terme avec un recul de maintenant 17 ans, a montré à ce jour sa sécurité carcinologique et mutagène (Steinberg et al., 2010). Par ailleurs, tous les phénotypes cliniques ne bénéficient pas d'une amélioration de l'expression clinique de la maladie par l'activation de l'expression de l'HbF sous HU, et les facteurs prédictifs de

l'amélioration clinique du phénotype de la maladie ne sont toujours pas identifiés à ce jour.

- Les indications actuellement reconnues pour HU dans la drépanocytose sont:
 - la récurrence de plus de trois crises de CVO annuelles
 - un épisode de STA
 - une anémie majorée et/ou de cause inexplicée
 - laissées à l'appréciation du clinicien : la présence ou récurrence de certaines autres complications, après pesée de la balance des risques/bénéfices pour le patient.

- Une synthèse des actions du HU est apportée par la *Figure 32*.
- Considérant l'effet bénéfique du HU sur les complications, mais en pesant la balance du bénéfice d'une amélioration de la qualité de vie, versus une myélotoxicité acceptable pour les patients, les cliniciens visent lorsque c'est possible, et de façon dose dépendante, une augmentation de 15 à 20% d'HbF. En cas d'effets secondaires non acceptables, il est simplement recherché d'atteindre la dose maximale tolérée par le patient.

5- Le patient peut également être dirigé directement vers des protocoles d'échanges transfusionnels

6- Une allogreffe de moelle osseuse peut être envisagée, avec tous ses risques, rattachés essentiellement à une immunodépression définitive, solution peu choisie à ce jour par les patients et leur famille. C'est le seul traitement curatif disponible à ce jour.

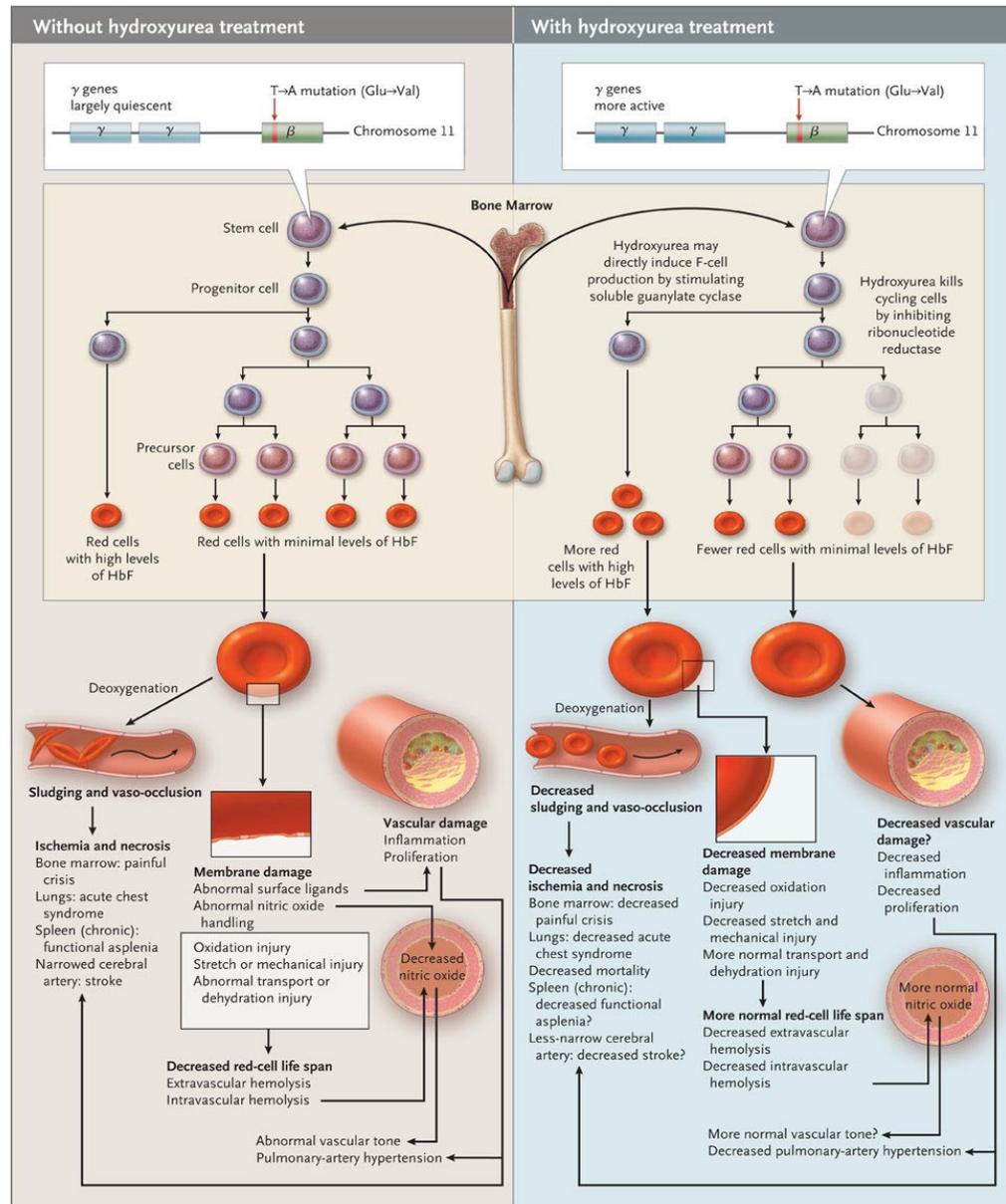


Figure 32 : Caractéristiques des effets du traitement par hydroxyurée sur la physiopathologie de la drépanocytose

Légende : Figure issue de (Platt, 2008)

VIII-3. Les traitements de demain

Ils dépendent de l'état de l'avancée de la recherche, si difficile par compétition des équipes sur les moindres moyens dédiés aux maladies rares. Actuellement, en dehors du traitement par HU (Siklos[®]), les autres traitements généraux n'ont pas fait la preuve de leur innocuité sur le plan carcinologique (Steinberg et al., 2010).

L'expression clinique de la maladie drépanocytaire est à ce jour mieux connue, mais reste non parfaitement élucidée.

Les essais cliniques généraux en cours sur clinical trials ciblent les complications les plus sévères (<https://clinicaltrials.gov/>). Les récentes thérapeutiques ciblées sont développées sur des cibles issues de la compréhension des études physiopathologiques :

- La vasoconstriction, avec les anti récepteurs de l'endothéline-1B.
- Le NO et donneurs de NO : essai de phase 1 d'injection de citrulline IV (8 patients), en CVO.
- Les cellules progénitrices de l'érythropoïèse : essai de phase 1 avec le Plerixafor.
- Les thérapeutiques péri-allogreffes avec Flu 150/Bu 3.2/Cy 29/ATG 30(Fresenius)/TBI 200- Cy/Sirolimus thérapie combinée.
- L'inhibition de la polymérisation d'HbS avec le Voxelotor.

IX- Espérance et Qualité de vie

La qualité de vie des patients est altérée du fait de la morbi-mortalité des complications de la drépanocytose. Elles sont effectivement responsables d'une franche

réduction de leur espérance de vie (Tewari et al., 2015), estimée pour des cohortes d'américains drépanocytaires à 56 ans, contre 76 ans dans des cohortes appariées sans drépanocytose (Lubeck et al., 2019). Toutefois, ce décès prématuré touche de façon hétérogène les patients au sein d'un même génotype, et à des âges différents, démontrant les imperfections persistantes dans la compréhension de la physiopathologie de la drépanocytose SS et SC et de leurs complications. La recherche de nouveaux biomarqueurs et de nouvelles compréhensions de la physiopathologie reste donc un enjeu de taille et d'actualité pour les équipes de recherche, afin de permettre de nouvelles approches diagnostiques et thérapeutiques.

Parmi les complications rattachées au syndrome hémolytique, nous avons détaillé l'HTAP, dont l'apparition dans la vie du patient engage son pronostic vital à court terme (Gladwin et al., 2004). L'étude de cette complication particulièrement sévère a permis de mettre en évidence un lien entre sa plus grande prévalence et sévérité et le niveau de certains lipides plasmatiques. Plus d'HTAP étaient observées en cas d'augmentation d'ApoAII, d'ApoB, dans les quartiles les plus bas pour l'ApoAI et le HDL, et dans le quartile le plus haut du rapport ApoB/ApoA (Lubeck et al., 2019). Zorca a ensuite démontré que les taux de triglycérides (TG) élevés (HTG)(TG>1.50g/L) restaient indépendamment et positivement corrélés à l'élévation de la vitesse de régurgitation tricuspидienne (critère de dépistage de l'HTAP), faisant retenir l'HTG comme un facteur de risque potentiel d'HTAP (Zorca et al., 2010). Ce constat nous a amené à poser l'hypothèse de recherche que les lipides pourraient peut-être servir de biomarqueurs dans les complications de la drépanocytose, et que le champ du profil lipidique des patients drépanocytaires nécessitait d'être exploré.

B- REVUE DE LA LITTÉRATURE – LES LIPIDES

I- Généralités et seuils lipidiques

Les lipides plasmatiques sont quantitativement mesurés afin d'évaluer le niveau de risque cardiovasculaire (CV) d'un individu donné et ils sont contrôlés à la baisse dans le but de le protéger de l'apparition d'événements CV. La fraction lipidique jugée responsable de ces lésions rattachées à l'athérosclérose, est le LDL-cholestérol, et en 2^{ème} intention : les TG, le Non-HDL-cholestérol et l'ApoB (Chapman et al., 2011). Malgré l'obtention d'un taux de LDL très bas grâce à des statines ou fibrates, en cas de taux d'HDL < 0.40g/L ou de TG > 1.50g/L, persiste un risque d'atteinte CV résiduel (Cziraky et al., 2008). Ces seuils lipidiques sont reconnus être des facteurs de risque CV indépendants (Cziraky et al., 2008). En fonction de la situation de risque primaire ou secondaire d'événement CV et des diverses sociétés savantes consultées, le seuil de LDL, de TG, d'ApoB et de Non-HDL-cholestérol à atteindre pour se protéger de l'événement ou de sa récurrence sera différent (European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation et al., 2011)(Stone et al., 2014). Les objectifs lipidiques retenus en Europe sont : TG < 1.50g/L, Non-HDL-cholestérol < 1.30g/L en cas de risque CV élevé, ou < 1g/L si risque CV très élevé (Chapman et al., 2011).

L'absence de dépôts vasculaires athéromateux observée chez les patients drépanocytaires (Zorca et al., 2010), n'empêche pas ces patients de partager certaines complications classiquement rencontrées au cours du développement de l'athérosclérose : HTA, insuffisance rénale chronique, néphropathie, AVC ischémiques ou hémorragiques (Lionnet et al., 2012)(Lemonne et al., 2014). Il pourrait toutefois être objecté que l'émergence clinique de complications dégénératives athéromateuses

pourrait ne pas se produire, du fait de décès prématurés de ces patients (Tewari et al., 2015). Malgré tout, leur espérance de vie augmente régulièrement grâce à une prise en charge clinique efficace des centres de référence, sans que de nouvelles publications ne contredisent ce constat d'absence d'athérosclérose. Les processus conduisant à ces complications dans la drépanocytose, diffèrent en effet des processus dégénératifs athéromateux, la plupart des AVC se produisant dès la petite enfance (Switzer et al., 2006). Ceci implique donc d'autres voies que celles générées par un taux de LDL cumulé sur des années. Corroborant cela, le profil lipidique des patients adultes drépanocytaires, même si imparfaitement décrit, est rapporté être plutôt hypocholestérolémique : taux de Cholestérol total (CT), LDL et HDL bas (Rahimi et al., 2006), ainsi que le taux de leurs Apos A et B, comparativement aux sujets AA contrôles (Sasaki et al., 1986). Le taux des TG plasmatiques décrit, reste, lui, encore débattu dans la littérature : plus élevé, même si restant dans les normes, comparativement à des sujets de même origine ethnique (Erasmus et al., 1990)(Ozturk et al., 2013), ou à des sujets contrôles (Buchowski et al., 2007), avec des exceptions (taux identique à celui de contrôles AA, non représentatifs d'une population générale, (inclus au cours d'hospitalisations)(Shores et al., 2003), ou à des sujets de même origine ethnique (el-Hazmi et al., 1987)(Rahimi et al., 2006). Ceci rapproche ces patients SS de la situation de risque CV résiduel pouvant persister en population générale (Cziraky et al., 2008), où à taux de LDL bas, ils présentent plus fréquemment un HDL<0.40g/L et peuvent présenter des TG>1.50g/L. Zorca a montré chez des adultes drépanocytaires, que les taux des TG plasmatiques étaient positivement corrélés aux marqueurs d'inflammation, d'hémolyse et d'activation endothéliale. Elle a démontré l'association entre un rapport TG/HDL élevé et la dysfonction endothéliale ($p<0.05$), attestée par une diminution de l'activité vasodilatatrice endothéliale dépendante, sans diminution de l'activité

vasodilatatrice non endothéliale dépendante, caractéristiques également partagées par de nombreuses maladies, parmi lesquelles l'athérosclérose.

II- Profil lipidique : de quoi parle-t-on ?

Un profil lipidique est défini par des combinaisons diverses du taux de ses différentes fractions lipidiques plasmatiques et comprend :

- Le CT : il intègre le cholestérol alimentaire absorbé au niveau digestif, mais aussi celui synthétisé par le foie. Ce dernier est essentiellement réparti dans des lipoprotéines, classées en fonction de leur densité.
- Celles de la voie endogène pour les 3 premières, et de la voie de retour du cholestérol pour la dernière, respectivement les suivantes :
 - VLDL (lipoprotéine de très basse densité),
 - IDL (lipoprotéine de densité intermédiaire),
 - LDL (lipoprotéine de faible densité),
 - HDL (lipoprotéine de forte densité)
- les TG, issus à la fois de l'alimentation, via les chylomicrons (voie exogène du métabolisme lipidique), mais également ceux sécrétés par le foie (voie endogène du métabolisme lipidique), transportés par les VLDL (Kobayashi et al., 2015).

Les lipoprotéines ne sont pas strictement indépendantes entre elles, car elles partagent des interactions enzymatiques entre leurs voies métaboliques (*cf. Figure 33*).

Elles sont reliées par la formule de Friedwald suivante :

$$CT \text{ (g/l)} = LDL \text{ (g/l)} + HDL \text{ (g/l)} + TG \text{ (g/l)}/5$$

Le LDL ne peut être calculé, que si $TG < 4 \text{ g/L}$ (seuil récemment abaissé à 3.40 g/L par les experts de la Haute Autorité de Santé en France).

Ce profil lipidique peut être complété par le taux de l'apolipoprotéine A (ApoA), et de l'Apolipoprotéine B (ApoB), pour lesquels, en routine, seules les ApoAI et ApoB100 sont respectivement dosées.

Le taux de Non-HDL-cholestérol est calculé ($= CT \text{ (g/L)} - HDL \text{ (g/L)}$). Il complète ce profil de fractions lipidiques en regroupant les lipoprotéines athérogènes. Selon le NCEP ATPIII, il est constitué des VLDL, IDL, LDL et de la lipoprotéine a (Lpa) (Cziraky et al., 2008).

III- Origine des lipides dosés et vue générale du métabolisme lipidique

La voie exogène débute par une première phase de traversée de la bordure en brosse entérocytaire par les lipides alimentaires (*cf. Figure 36*). Ils sont ensuite sécrétés par le pôle basal de ces entérocytes dans les chylifères via des lipoprotéines spécifiques qui leur servent de véhicules : les chylomicrons (CM) (*cf. IV-1.c.*). Ces derniers seront ensuite déversés, via le canal thoracique, du système lymphatique vers le système veineux, où ils subiront des digestions successives, devenant des remnants de CM, qui reviendront via la veine porte au foie, pour y être internalisés. Leurs lipides y seront ensuite métabolisés. L'ApoB48 (Kane et al., 1980), identifiant spécifique de la voie exogène, signe l'origine digestive des CM et remnants de CM. Chez l'homme, à chaque ApoB48 correspond un seul CM (D'Aquila et al., 2016).

La voie endogène du métabolisme lipidique comprend la distribution du cholestérol par le foie aux différentes cellules de l'organisme (ou efflux hépatique du cholestérol), via des lipoprotéines dérivant les unes des autres : VLDL, IDL, puis LDL (cf. Figure 33). L'ApoB100 est le marqueur hépatique des VLDL, IDL et LDL. Il n'existe qu'une seule ApoB100 par VLDL, par IDL et par LDL (Fisher, 2012).

La voie de retour du cholestérol permet le renvoi au foie du cholestérol excédentaire des cellules, via les HDL (efflux cellulaire du cholestérol). L'ApoAI est elle, le marqueur majoritaire des lipoprotéines HDL, même si elle existe aussi également en partie associée à l'ApoAII (Duriez and Fruchart, 1999).

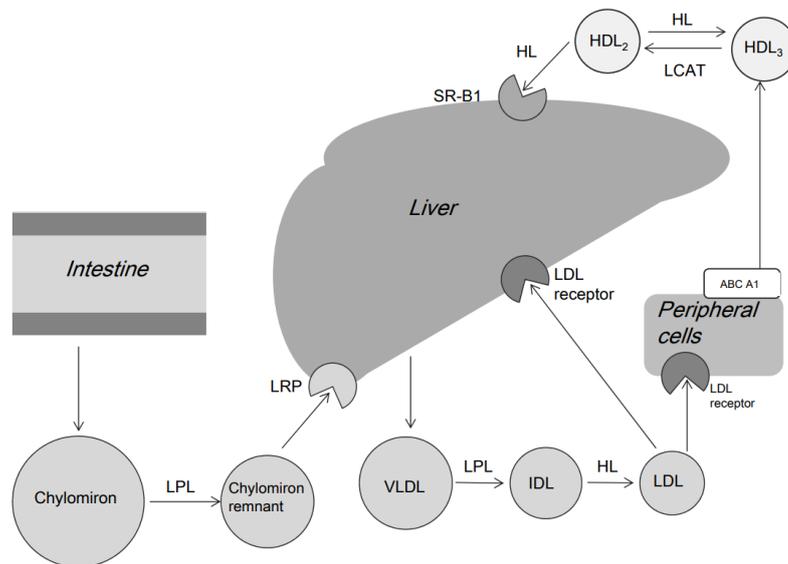


Figure n° 33 : Vue d'ensemble du métabolisme lipidique

Légende : Figure issue de (Kobayashi et al., 2015) ; LPL : enzyme lipoprotéine lipase ; HL : enzyme lipase hépatique ; L-CAT : enzyme Lécithine Cholesteryl Ester Acyl Transférase ; SR-B1 : récepteur ; ABCA1 : récepteur ; LRP : récepteur.

Nous allons maintenant voir plus en détail ce métabolisme lipidique en population non drépanocytaire, ainsi que les données connues à ce jour dans la drépanocytose.

IV- Physiologie du métabolisme lipidique

IV-1. La voie exogène du métabolisme lipidique

IV-1.a. Du chyme à la bordure en brosse du grêle

La nature des lipides du chyme (bouillie alimentaire post-digestion gastrique) présents dans la lumière de l'intestin grêle est la suivante : triacylglycérol (TAG), phospholipides (PL), cholestérol, stérols végétaux et acides biliaires (AB). Ces lipides alimentaires sont hydrophobes et liposolubles, impossibles à transporter tels quels dans un milieu aqueux, et ne seront absorbés par les cellules de l'intestin grêle, que si préalablement émulsifiés par les AB (Wang et al., 2009a). Les AB sont synthétisés par le foie, sous la forme de micelles lipidiques, plus ou moins complexes. Les micelles simples permettent le transport du cholestérol libre (CL) et les micelles unilamellaires et mixtes (4 à 8 nm de diamètres), celui du cholestérol estérifié (CE) et de divers PL, tels que la phosphatidyl-choline (appelée encore lécithine)(*cf. Figure 34*).

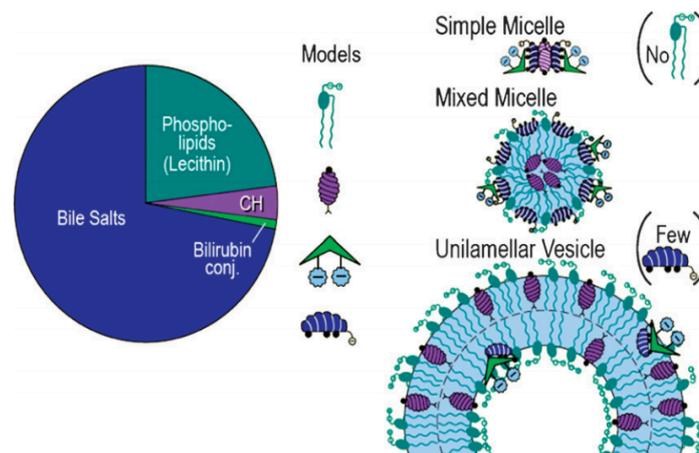


Figure 34 : Distribution des divers composants lipidiques au sein des 3 types de micelles

Légende : Figure issue de (Wang et al., 2009a) ; CH= cholestérol.

La digestion des acides gras (AG) sera réalisée grâce à l'aide indispensable d'une procolipase pancréatique. Activée en co-lipase lors de son entrée dans l'intestin grêle, elle facilite l'accès des lipases aux micelles multilamellaires, lorsqu'elles sont en difficulté pour atteindre leur cœur hydrophobe (Wang et al., 2013). Les différentes lipases pancréatiques (Wang et al., 2013) travaillent uniquement à l'interface entre les phases aqueuse et lipidique du chyme (*cf. Figure 35*). Elles sont libérées via le canal de Wirsung, passent le sphincter d'Oddi et rejoignent le 2^{ème} duodénum au niveau de l'ampoule de Vater, lieu de rencontre avec la bile et les AB.

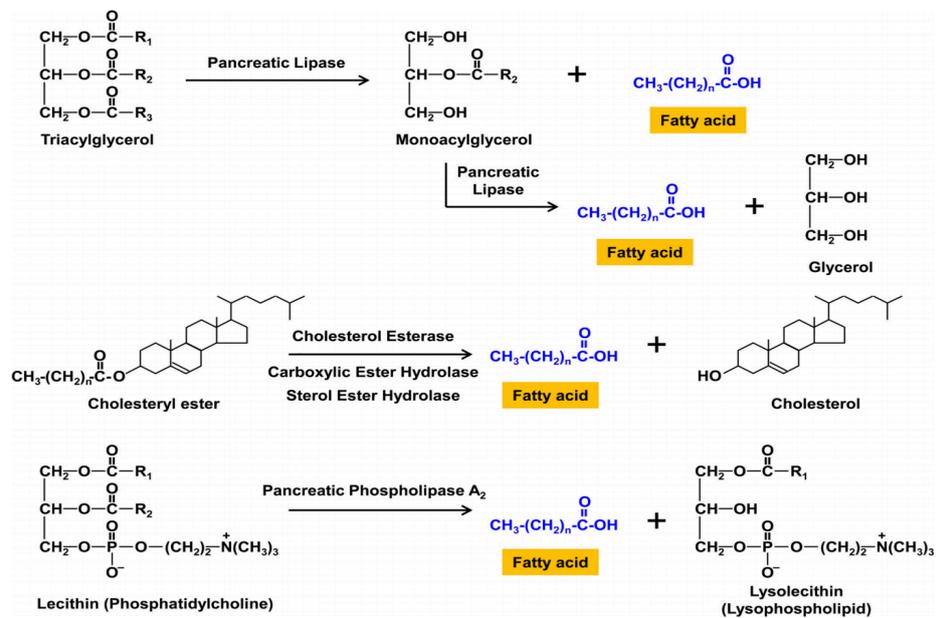


Figure 35 : Digestion des acides gras, cholestérol et lécithine

Légende : schéma issu de (Wang et al., 2013).

La bile contient majoritairement du cholestérol, des PL et les AB (acide cholique et chénédoxycholique). Elle est relarguée via le canal cystique, puis cholédoque, grâce à l'action de la cholécystokinine, sécrétée lors de l'arrivée des AG au contact des récepteurs CD36 de la bordure en brosse intestinale (*cf. Figure 36*). La cholécystokinine est responsable du déclenchement de la contraction de la vésicule

biliaire. Les AB sont fabriqués dans le foie sous l'action de la CYP 7A, à partir du cholestérol de la voie exogène et endogène. Ils seront transformés par l'enzyme 7 α -déshydroxylase en acide lithocholique et désoxycholique, dont seulement 5% seront éliminés dans les fèces. Précieux, ils sont en effet réabsorbés à 90% au niveau du tiers distal de l'iléon (5% approximativement au niveau du colon), puis via la veine porte regagnent le foie, pour y être réutilisés. Ce cycle entéro-hépatique est d'autant plus stimulé en cas de cholécystectomie. Les actions conjuguées de la bile et des enzymes pancréatiques libéreront ainsi les acides gras libres (AGL), le monoacylglycérol et le CL, qui pourront alors se présenter au contact de la bordure en brosse intestinale (*cf. Figure 36*).

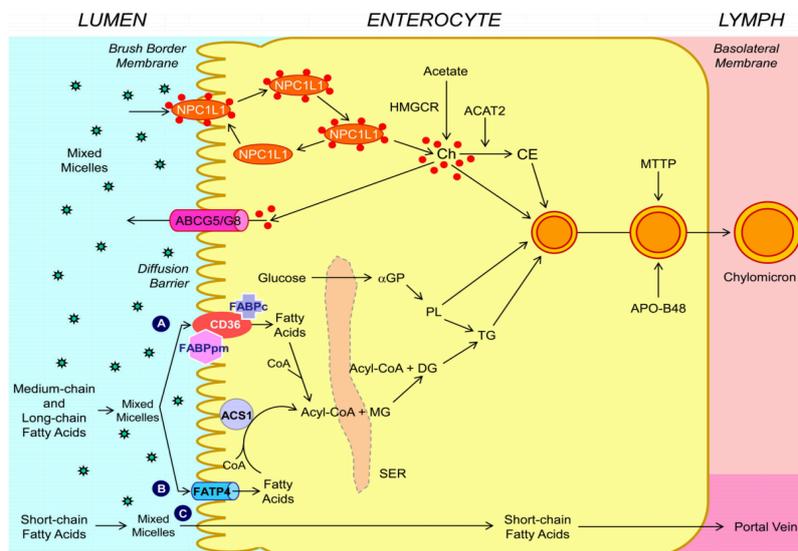
IV-1.b. De l'intestin grêle au sang veineux portal

L'entrée de ces lipides à l'intérieur des entérocytes va se faire à l'aide de transporteurs différents, selon la nature et la longueur du nombre d'atomes de carbone (C) du lipide concerné (*cf. Figure 36*) par un mécanisme passif (pour les AG à chaîne courte (<8C)), ou grâce à des transporteurs actifs spécifiques, s'adressant (Wang et al., 2013) :

- aux AG à chaînes moyenne (8 à 12C), longue (AGCL >12C) ou très longue (> 22C) : le CD36 (Cluster Determinant 36, ou Fatty acid translocase), la FABP2 (Fatty acid Binding Protein 2), la FATP4 (Fatty acid Transport Protein 4) et la CAV1 (Caveolin-1) pour les AGCL
- au cholestérol : la protéine de Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1), la CAV1

IV-1.c. Les chylomicrons

A l'intérieur des entérocytes, les différents éléments déconstruits pour passer la membrane de l'entérocyte sont reconstruits dans le réticulum endoplasmique (RE) (*cf. Figure 36*). A partir des monoacyl-glycérol, du CL et des AGL, le diacyl-glycérol sera d'abord synthétisé, grâce à l'action de la monoacylglycérol-CoA transférase. Puis il sera ensuite converti en TAG par la diacylglycérol acylCoA transférase, pour arriver à la structure finale du CM (*cf. Figures 36 et 37*). L'assemblage se poursuivra, pour créer par rajouts successifs, un cœur de TG et de CE. D'autres lipides (des PL et une petite quantité de CL) seront associés en surface, ainsi que des Apos : B48, A-IV (ApoAIV) et A-I (ApoAI). L'enzyme clé permettant cet assemblage dans le RE est la microsomal triacylglycerol transfer protein (MTTP ou MTP), associée aux FATP (*cf. Figure 35*). Puis, le pré-CM ainsi formé mûrira dans l'appareil de Golgi, où il acquerira les apolipoprotéines CII (ApoCII) et CIII (ApoCIII) (*cf. Figure 37*).



*Figure 36 : Absorption des acides gras et du cholestérol
au niveau de la bordure en brosse intestinale*

Légende : d'après (Wang et al., 2013)

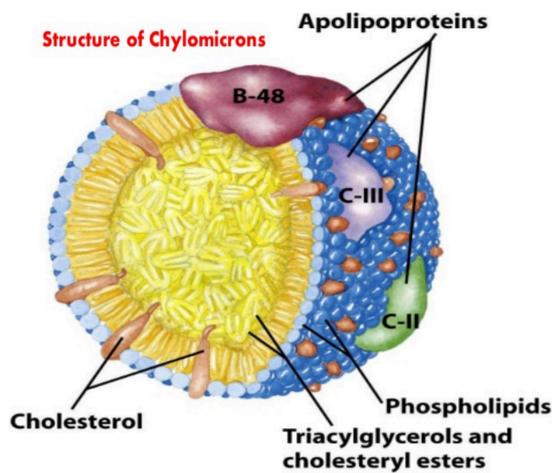


Figure 37 : Structure d'un chylomicron

Les CM natifs seront ensuite stockés dans le cytosol entérocytaire sous forme de gouttelettes lipidiques (*cf. Figure 37*), puis seront ensuite exportés via le pôle basal des entérocytes dans les chylifères.

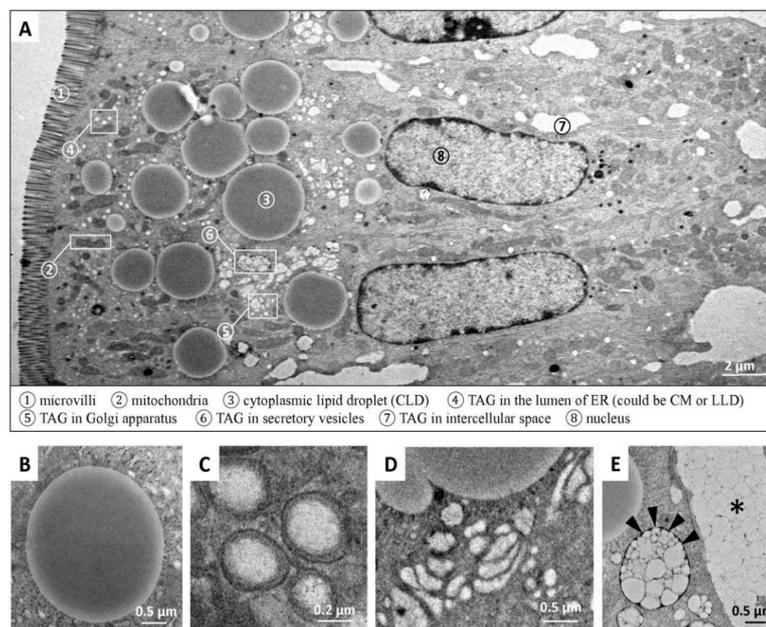


Fig. 1. Transmission electronic micrographs of enterocytes during active dietary fat absorption. (A) An ultrastructural overview of enterocytes from the jejunum section of a wild-type C57BL6 male mouse, 2 h after an oral gavage of 200 μ l olive oil. At this time, TAG is directed to one of the subcellular pools and either stored in CLDs ③ or packaged in CMs for secretion. CMs are synthesized and enlarged in the lumen of ER ④, then transported to the cis-Golgi ⑤ and Golgi-derived secretory vesicles ⑥ for secretion from enterocytes ⑦. (B) CLDs have cores of neutral lipids (TAGs and CEs) surrounded by a phospholipid membrane monolayer. (C) TAG is present within a phospholipid membrane bilayer of smooth ER. (D) TAGs are present within the Golgi apparatus. (E) CMs are carried by secretory vesicles (black arrows) and eventually secreted into the intercellular space (asterisk).

Figure 38 : Coupes d'entérocytes et étapes constitutives des chylomicrons et gouttelettes lipidiques vues en microscopie électronique

Légende : d'après (D'Aquila et al., 2016).

Les CM sont physiologiquement présents en phase post-prandiale, où leur taux augmente. Le matin, près 12 heures de jeûne (état post-absorptif), ils sont normalement absents du plasma, et sont quasi-absents en phase inter-prandiale. Toutefois, un relargage plasmatique des CM a été observé, en population générale, en phase interprandiale, à partir des stocks de gouttelettes lipidiques cellulaires, lorsque le repas a été trop chargé en lipides (Beilstein et al., 2016). Il existe un lien direct entre qualité de l'alimentation et taux de CM.

Une étude comparant des sujets non drépanocytaires et 7 patients drépanocytaires (SS et SC confondus), a observé ces 2 états (post-absorptif et post-prandial), après infusion de nutrition parentérale de composition équilibrée (Beilstein et al., 2016). Chez les sujets drépanocytaires, à l'état post-absorptif, il a été décrit une altération du profil lipidique plasmatique : augmentation des AGL à longue chaîne, (+58%), des TG (+16%) et des PL (+8%), par rapport aux sujets non drépanocytaires (Buchowski et al., 2007). En post-prandial, une élévation identique des TG a été notée dans les 2 groupes et seule des PL, chez les patients drépanocytaires.

IV-1.d. L'apolipoprotéine B48

La synthèse de l'ApoB48 par l'intestin est continue, toutefois, le processus de lipidation de l'ApoB48 dépend de la disponibilité des lipides et se produit donc le plus souvent en phase post-prandiale. L'ApoB48 est une forme tronquée de l'ApoB100 (Young, 1990).

La phase post-prandiale est une situation pro-inflammatoire. Les apoB48 et leucocytes activés augmentent, mais les TG post-prandiaux ne sont pas corrélés aux leucocytes activés, plaidant plutôt pour un lien possible des remnants des CM dans l'inflammation observée après un repas chargé en graisses (de Vries et al., 2015).

Toutefois, à jeun aussi, cet état pro-inflammatoire a été identifié, où l'ApoB48 et les TG ont été retrouvés plus élevés chez les patients présentant une coronaropathie, que chez ceux sans (de Vries et al., 2015). Toujours à jeun, il a été également démontré que les taux de CM, d'ApoB48, et l'expression des leucocytes et neutrophiles activés, étaient aussi positivement corrélés (de Vries et al., 2015). Ces associations n'ont pas été étudiées dans la drépanocytose.

Par ailleurs, hors drépanocytose, après un repas gras, il a été montré une augmentation de près de 82+/-4% de l'ApoB48 et de 3 à 27% d'ApoB100 des lipoprotéines riches en TG (TRLs), et du taux d'ApoB100, qui augmente à hauteur de celui de l'ApoB48, 2, 4 et 6 heures après le repas, montrant que les CM ne sont pas les seuls à porter les TG en phase post-prandiale (Cohn et al., 1993). Dans la drépanocytose SS, une augmentation des VLDL a été décrite dès l'état stable, à jeun (Ozturk et al., 2013). Les explorations post-prandiales n'ont pas encore été réalisées sur une cohorte, et la seule étude de Buchowski n'a concerné que 7 patients (Buchowski et al., 2007).

IV-1.e La LPL

La Lipoprotéine lipase (LPL) est une enzyme clé du métabolisme des TG. Elle est rattachée par une de ses extrémités à la surface endoluminale des cellules endothéliales vasculaires. Elle est présente aussi dans la plupart des cellules musculaires, cardiaques ou du tissu adipeux. Elle joue un rôle majeur dans la clairance des CM, en hydrolysant les TAG grâce à la glycosylphosphatidylinositol anchoring HDL binding protein 1 (GPIHBP1), qui constitue son indispensable attache protéique endothéliale (Goulbourne et al., 2014). GPIHBP1 est une plateforme qu'elle utilise pour libérer les AGCL lors de son hydrolyse, dans la circulation sanguine et aussi comme transporteur interne : sans GPIHBP1, localisée dans les capillaires, la LPL s'accumule

dans les espaces interstitiels des cellules endothéliales, sans pouvoir en sortir pour atteindre la lumière capillaire. Son déficit est directement responsable d'une sévère hypertriglycéridémie (HTG). GPIHBP1 sert aussi à marginaliser les molécules riches en TAG le long de la paroi des capillaires pour faciliter l'action de la LPL (Goulbourne et al., 2014), et enfin à stabiliser l'action de la LPL en préservant son activité catalytique, qu'elle rend résistante même à des antagonistes. Elle permet ainsi aux CM, au fur et à mesure de son action, de baisser progressivement en diamètre, jusqu'à devenir des remnants de CM, qui seront captés par le foie via leurs récepteurs LRP (cf. Figure 39).

La LPL est sous le contrôle de l'insuline qui stimule directement son action (cf. Figure 39), augmentant la clairance des CM et abaissant le taux des TG plasmatiques. L'insuline inhibe directement la production hépatique des VLDL et stimule l'expression membranaire, ainsi que la synthèse des récepteurs hépatiques des LDL qui captent les remnants de CM. C'est par ce biais, qu'en cas de carence insulinique, non seulement la glycémie à jeun mais aussi les TG plasmatiques augmentent.

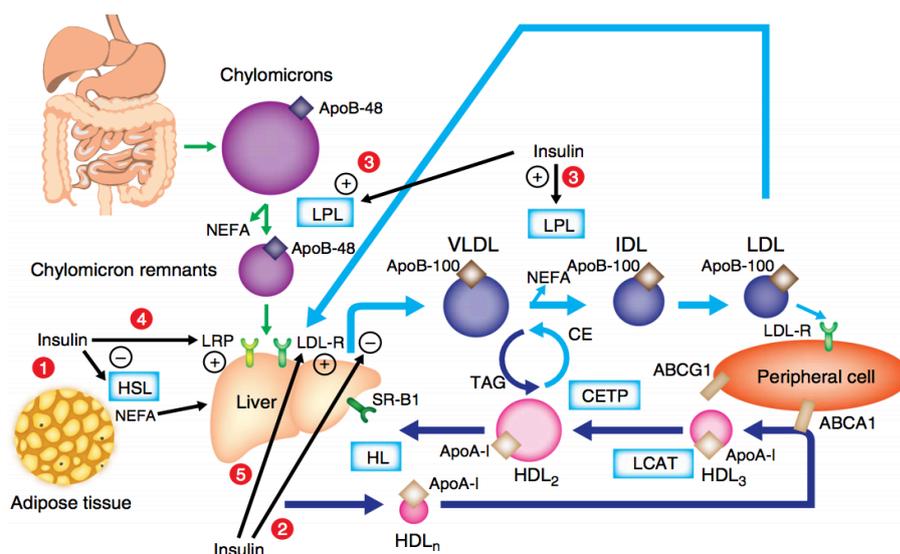


Figure 39 : Contrôle enzymatique et rôle de l'insuline sur le métabolisme lipidique

Légende : d'après (Vergès, 2015)

La LPL hydrolyse les TRLs, en libérant les AGL ou NEFA (Non esterified fatty acid) sur la *Figure 39*, qui vont être captés par les tissus. Les AG portés par les TAG sont de plusieurs natures, identiques, ou non : en position sn1 et sn3, ce sont plus souvent des AG saturés, tandis qu'en position sn2 ils sont plus volontiers mono ou polyinsaturés (AGPI). Le déficit membranaire en AGPI essentiels (DHA (acide docosahexaénoïque) et EPA (acide eicosapentaénoïque)) diminue le système de défense antioxydant des GR drépanocytaires SS et SC (Ren et al., 2008) ; DHA et EPA sont insuffisamment consommés à l'échelle de la population française.

IV- 2. La voie endogène du métabolisme lipidique

L'objectif premier de la voie endogène, via ces lipoprotéines spécifiques, est de véhiculer et délivrer depuis le foie vers les tissus, le cholestérol dont ont besoin toutes les cellules de l'organisme. Le foie synthétise du cholestérol, grâce à une enzyme clé, cible thérapeutique des statines : la HMG-CoA réductase (3-Hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A réductase) (Sharpe and Brown, 2013). Le cholestérol est en effet l'unité structurelle indispensable à la synthèse d'hormones glucocorticoïdes et sexuelles, d'AB, mais aussi des vitamines liposolubles A, D et E. Ces dernières, aux rôles antioxydant et de protection des membranes cellulaires (Tesoriere et al., 2001)(Tao et al., 2018), utilisent les lipoprotéines de la voie exogène puis endogène pour leur circulation plasmatique jusqu'à leurs tissus cibles (Iqbal and Hussain, 2009).

L'équilibre d'une ration alimentaire journalière a été fixé par le Plan National Nutrition Santé (PNNS) à 30-35% de lipides, 50 à 55% de glucides et 15% de protéines. Toutefois, même en l'absence d'excès d'apports lipidiques alimentaires dépassant ces recommandations, le foie, sous l'action de l'enzyme HMG-CoA réductase (Sharpe and

Brown, 2013), est capable d'augmenter tout seul exagérément sa propre synthèse de cholestérol et sa sécrétion de VLDL. Les causes d'augmentation des VLDL sont extrêmement diverses (Liu et al., 2012). Dans la drépanocytose, chez des enfants SS, il a été rapporté que l'élévation des TG constatée à jeun, s'accompagnait de celle des VLDL, associée à un taux d'IDL et de LDL bas (Ozturk et al., 2013), posant la question non encore éclaircie du devenir des VLDL et de leur clairance. Plus récemment, il a été montré chez des patients SS, que le taux de métabolites élevés de NO était associé à ceux des TG ($p=0.008$) et des VLDL ($p<0.003$) (Aleluia et al., 2017), et toujours chez les patients SS, il a été constaté, comparativement à des sujets non drépanocytaires, une diminution du contenu en hémopexine de leurs LDL et HDL (Vendrame et al., 2018). L'hémopexine est une protéine chargée d'éliminer l'hème libre, source de stress oxydatif membranaire des cellules endothéliales (Vinchi et al., 2008)(*cf. Figure 18*). Le complexe hémopexine-hème est éliminé via les récepteurs LRP hépatiques des LDL (LDL Related Protein), également présents au niveau des cellules de l'organisme (Tolosano et al., 2010)(*cf. Figure 33*). De plus, chez ces patients SS, les LDL étaient qualitativement plus oxydés comparativement aux sujets sains, avec un contenu en hème plus important, et moins d'hémopexine, que dans les HDL (Vendrame et al., 2018), renforçant l'intérêt de la compréhension à venir des interactions des HDL avec la physiopathologie aujourd'hui connue de la drépanocytose.

La voie endogène commence donc par la synthèse des VLDL, dont nous allons maintenant aborder la présentation.

IV-2.a. Les VLDL

Les enzymes clés de la naissance des VLDL réalisent la lipidation de l'ApoB100 (Olofsson et al., 2000), unité de départ du VLDL, en pré-VLDL, grâce à la

MTP et à la protéine Cideb (Sirwi and Hussain, 2018). Les niveaux hépatiques de certains lipides comme la phosphatidylcholine, les CE, les AG et les TAG, affectent la synthèse des VLDL. En l'absence de possibilité de lipidation suffisante d'un cœur de CE et TAG pour le VLDL, l'ApoB est détruite par le complexe ubiquitine/protéasome (Vergès, 2015)(Sirwi and Hussain, 2018).

Si la lipidation se poursuit jusqu'au stade de VLDL₂, son transfert par vésiculation est organisé hors du RE, avec entrée dans le Golgi grâce à la vésicule Sar1/Coat Protéine II (*Figure 40*). La maturation se poursuit ensuite dans le Golgi en VLDL₁ sous l'action combinée du signal ERK2 et de la phospholipase D1. Au stade de VLDL₂, la maturation peut encore être stoppée et le VLDL₂ dégradé par la voie de la PERPP (protéolyse pré-sécrétrice post-RE). Les VLDL sont ensuite excrétés dans le sang, où leur durée de vie est de l'ordre de quelques minutes. Ils vont être rapidement dégradés et transformés en IDL. Le taux de VLDL dans le sang n'est pas régulé par la capacité de synthèse des VLDL, mais par le niveau de leur catabolisme (Fisher, 2012).

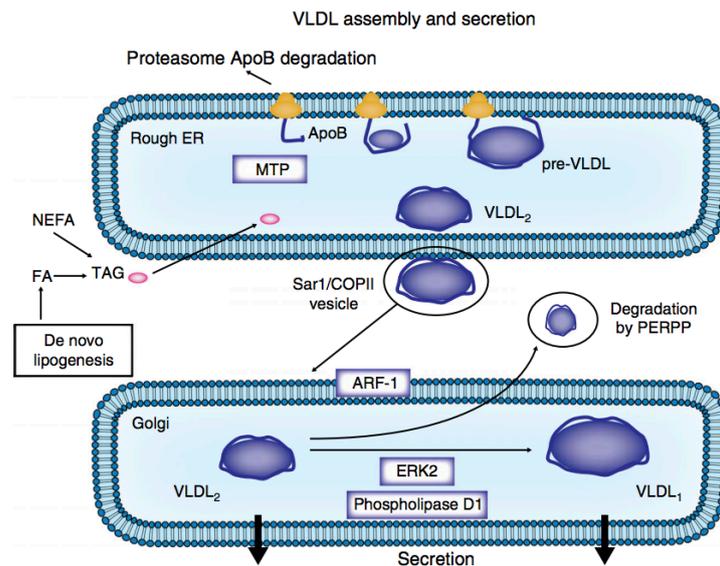


Figure 40 : Génèse des VLDL hépatiques et sécrétion

Légende : d'après (Vergès, 2015)

IV- 2.b. Les IDL

Le passage des VLDL aux IDL, dont la durée de vie est de quelques secondes, et des IDL aux LDL, se fait encore sous l'action de la LPL et de la lipase hépatique (*cf. Figure 39*).

IV- 2.c. Les LDL

Les LDL sont les lipoprotéines qui amènent le cholestérol aux cellules et aux tissus par excellence (Vergès, 2015). Ils sont faits d'un coeur de CE, dans une enveloppe externe de PL et de CL, associée à une ApoB100 par laquelle ils sont reconnus et se fixent sur les récepteurs des LDL du foie et des autres tissus. Puis, ce complexe sera internalisé par endocytose et fusionnera avec les lysosomes (Lin et al., 2018). Leur durée de vie dépend de leur facilité à être captés par les récepteurs membranaires des organes vers lesquels ils sont distribués. La Proprotéine convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) régule le devenir des LDL-recepteurs en se liant à eux et en les dirigeant, soit vers la surface membranaire, soit vers les voies lysosomales cataboliques (Lin et al., 2018).

En cas de prolongation du temps de résidence intravasculaire, les LDL sont oxydés (Chapman et al., 1998) et vont alors avoir une moindre affinité avec leurs récepteurs hépatiques et cellulaires périphériques (*cf. Figure 33*). Ils pourront alors s'accumuler dans les parois endothéliales, ou être phagocytés par les macrophages, contribuant à la génèse d'une athérosclérose, absente dans la drépanocytose. Toutefois, une absence surprenante de différence de taux de LDL oxydés entre enfants drépanocytaires SS et sujets contrôles (Ozturk et al., 2013), voire une augmentation de ce taux, a été reportée (Vendrame et al., 2018).

IV-2.d. Les apolipoprotéines CII, CIII, E, B100

L'ApoCII est une protéine de 79 acides aminés, dont le rôle principal est d'être l'activateur physiologique de la LPL, afin de permettre l'hydrolyse des molécules riches en TG (Miller and Smith, 1973). Elle est principalement sécrétée par le foie pour être incorporée aux VLDL naissantes, mais à un moindre degré, également aux CM, par les cellules intestinales. Elle est indispensable au fonctionnement de la LPL : son déficit, malgré la présence de la LPL, induit une HTG sévère.

L'ApoCIII est un inhibiteur de la LPL (Kohan, 2015). L'inhibition de l'ApoCIII induit une augmentation des TG plasmatiques de +49%, ainsi qu'une diminution de l'obésité viscérale abdominale de 18%, chez des hommes avec syndrome métabolique (van der Ham et al., 2009).

L'ApoE est une glycoprotéine de 299 acides aminés, synthétisée surtout par le foie, mais également par les macrophages, les astrocytes et les adipocytes (Tudorache et al., 2017). Il existe plusieurs Apos E (E₂, E₃, E₄), issues des produits d'allèles ϵ_2 , ϵ_3 and ϵ_4 , dont la distribution respective, est, en population caucasienne (Bu, 2009): 77%, 8% et 15% vs. 70%, 8% et 22% en PGG (Larifla et al., 2017). L'ApoE₃ a des propriétés plus favorables comparativement à l'ApoE₂ (associées aux dys- β lipoprotéïnémies), et surtout à l'ApoE₄ (plus fréquemment associée à la maladie d'Alzheimer). L'ApoE₄ ne peut contrebalancer le stress oxydatif (Dose et al., 2016), et est retrouvée plus fréquemment associée à des infections bactériennes, assurant moins bien les propriétés immuno-modulatrices et protectrices contre les sepsis à bacille Gram négatifs (Van Oosten et al., 2001). L'ApoE₃, isoforme la plus prévalente dans une population normolipidique, en plus d'un effet anti-athéromateux, a aussi une forte action anti-inflammatoire (Baitsch et al., 2011) et des propriétés anti-oxydantes (Graeser et al.,

2011), modulant les niveaux des Nrf2, des métallothionines et des paraoxonases. L'expression de Nrf2 et de ses gènes cibles, tels que la glutathion-S-transferase, la NADPH deshydrogenase et l'hème oxygenase-1, est plus basse, en cas d'expression d'ApoE₄ plutôt qu'ApoE₃ (Graeser et al., 2011).

L'ApoB100 est une grande protéine synthétisée par le foie, qui comprend 4 536 acides aminés, dont nous avons vu le rôle crucial dans la construction des VLDL (Young, 1990)(*cf. Figure 39*). Si sa sécrétion est constante, sa dégradation dépend de la clairance hépatique et tissulaire des lipoprotéines VLDL, IDL et LDL, via les récepteurs hépatiques et tissulaires aux LDL, et de 3 voies intra-hépatiques, qui déclencheront sa catalyse, soit du fait d'une lipidation insuffisante de la MTP, via le complexe ubiquitine/protéasome (Vergès, 2015), ou du fait de l'oxydation de l'ApoB100, via ce même complexe, ou via la voie de la PERPP (*cf. Figure 39*), stimulable par les oméga 3 (DHA ou l'EPA) (Pan et al., 2004), ou enfin via un processus d'autophagie. A l'inverse, la surexpression de PCSK9 est capable d'inhiber la dégradation intracellulaire de l'ApoB100, en inhibant la voie d'autophagie/lysosome (Sun et al., 2012) ; PCSK9 peut être porteuse de mutations activatrices ou inhibitrices.

IV- 3. La voie du retour du cholestérol : des cellules au foie

IV- 3.a. Les lipoprotéines HDL

Le dosage du HDL cholestérol réalisé par un laboratoire présente une valeur unique, mais il n'existe pas une, mais plusieurs lipoprotéines HDL, différenciables entre elles selon leur densité, leur taille, ou encore classées en fonction de leur forme et charge isoélectrique sur gel d'agarose ou électrophorèse bidimensionnelle, ou enfin en fonction de leur composition en protéines (*cf. Tableau n°2 et Figure 41*).

Dans tous ces sous-groupes, ce sont les HDL3b et 3c, petits et denses qui sont surtout jugés défavorables sur le plan CV (Kontush et al., 2013).

<i>Density (ultracentrifugation)</i>
HDL2 (1.063–1.125 g/mL)
HDL3 (1.125–1.21 g/mL)
<i>Size (GGE)</i>
HDL2b (9.7–12.0 nm)
HDL2a (8.8–9.7 nm)
HDL3a (8.2–8.8 nm)
HDL3b (7.8–8.2 nm)
HDL3c (7.2–7.8 nm)
<i>Size (NMR)</i>
Large HDL (8.8–13.0 nm)
Medium HDL (8.2–8.8 nm)
Small HDL (7.3–8.2 nm)
<i>Shape and charge (agarose gel)</i>
α -HDL (spherical)
Pre β -HDL (discoidal)
<i>Charge and size (2D electrophoresis)</i>
Pre β -HDL (pre β_1 and pre β_2)
α -HDL (α_1 , α_2 , α_3 and α_4)
Pre α -HDL (pre α_1 , pre α_2 , pre α_3)
<i>Protein composition (electroimmunodiffusion)</i>
LpA-I
LpA-I:A-II

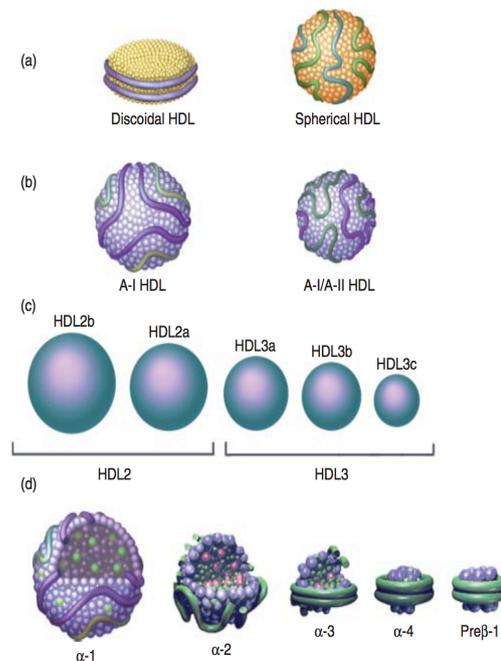


Tableau n°2 : Classification des HDL : Fig. 41 : Hétérogénéité des particules HDL

Légende : d'après (Kontush and Chapman, 2006)

Ozturk a décrit les différentes sous-fractions du HDL chez des enfants drépanocytaires SS (Ozturk et al., 2013), et plus récemment Soupene dans une population pédiatrique drépanocytaire hétérogène sur le plan génétique (Soupene et al., 2017). Toutes les fractions des HDL (grands, moyens, petits) sont significativement plus basses comparativement à celles des enfants contrôles (Ozturk et al., 2013), ce qui aura des implications sur leurs fonctionnalités connues (Soran et al., 2012).

Le métabolisme du HDL débute avec celui de sa protéine structurale majoritaire : l'ApoAI (cf. Figure 42).

IV- 3.b. L'ApoAI et l'ApoAII

Les AposAI, tout comme les AposAII, également structurelles des HDL, sont sécrétées par l'intestin grêle et le foie. Les AposAI constituent plus de 70% de l'équipement protéique des HDL-cholestérol, dont une moitié en tant que ApoAI seule et l'autre moitié associée à l'ApoAII (Asztalos et al., 1993).

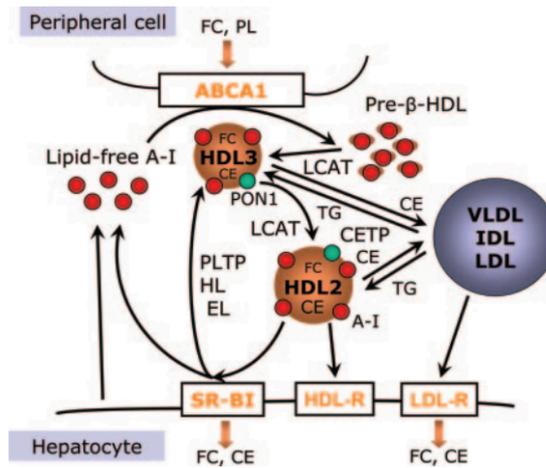


Figure 42 : Métabolisme de l'apolipoprotéine A-I et des HDL

Légende : d'après (Kontush and Chapman, 2006)

L'ApoAI est une particule libre, composée de 8 domaines amphipathiques de 22 acides aminés en α -hélice, et de 2 répétitions de 11 acides aminés, qui se déplace facilement entre toutes les lipoprotéines et est également retrouvée dans les CM et les VLDL (Kontush, 2014). Elle est lipidée grâce à la cassette ATP binding-ABCA1, qui gère l'efflux des PL et du CL des cellules périphériques (Oram, 2002). Elle peut être remplacée dans les HDL par la SAA (Protéine Sérum Amyloïde A), protéine de l'inflammation (*cf. Figure 42*), déjà identifiée par étude protéomique dans la drépanocytose, en présence de la complication d'HTAP (Yuditskaya et al., 2009). L'ApoAI a pour rôle de stimuler l'activité de l'enzyme clé de la synthèse du HDL cholestérol : la L-CAT (Lécithine-Cholestérol Acyl Transférase), dont elle est le plus puissant co-facteur, tandis que la SAA a la propriété d'inhiber l'activité de la L-CAT

(Steinmetz et al., 1989). L'ApoAI a également un rôle crucial de protection des cellules endothéliales vasculaires et des macrophages de l'apoptose et nécrose induites par les LDL oxydés pro-inflammatoires et pro-athérogènes (Salvayre et al., 2002)(de Souza et al., 2010)(*cf. Figure 43*). Les ApoAI isolées sont majoritaires à la fois dans les HDL3 et HDL2 (Duriez and Fruchart, 1999).

L'ApoAII représente 15 à 20% du contenu protéique des HDL (Duriez and Fruchart, 1999) et est retrouvée dans la moitié des HDL restants, associés à l'ApoAI. Plus hydrophobe que l'ApoAI, elle se présente sous la forme d'un homodimère composé de 2 chaînes de polypeptides identiques reliées par un pont disulfure. L'association ApoAI/ApoAII se retrouve dans les HDL3 (Duriez and Fruchart, 1999). La synthèse des HDL dépend de l'activité de la L-CAT (*cf. Figure 42*), dont le rôle est d'estérifier le CL des pré β -HDL (et les autres lipoprotéines HDL), dont elle enrichit ensuite le cœur en CE, lui permettant de passer de particules discoïdes et plates, en particules plus sphériques HDL3, puis HDL2. Emokpae a été le premier à rapporter une activité basse de la L-CAT dans la drépanocytose (Emokpae et al., 2011), constat reconfirmé plus récemment par Ozturk chez des enfants SS (Ozturk et al., 2013).

La voie endogène et de retour du cholestérol, communiquent entre elles par des échanges de lipides divers, grâce à l'action essentielle des enzymes CETP (cholesteryl ester transfer protein) (Chowaniec and Skoczyńska, 2018), PLTP (phospholipide transfer protein) (Jiang, 2018) et de la lipase hépatique (LH) (Kobayashi et al., 2015) (*cf. Figure 33*).

IV-3. c. Les enzymes associées à la voie endogène

IV-3. c.1. La CETP

Elle est responsable du remodelage des HDL, et régule à la fois leur taille et leur taux plasmatique, via l'enrichissement des formes HDL2 et HDL3 en TG, issus des VLDL, IDL et LDL, en échange de CE, en l'absence d'autres molécules pouvant accepter des TG (CM, VLDL) (Rye et al., 1995). La CETP est responsable de plus de 80% du transfert du CE vers les lipoprotéines porteuses de l'ApoB chez l'homme. Les HDL2 reviennent alors au foie pour lui délivrer le CE excédentaire des cellules périphériques. Un enrichissement excessif du HDL en TG induit une accélération de son catabolisme et est responsable d'un taux de HDL bas. Physiologiquement, l'activité de la CETP est déterminée par le taux de LDL et HDL (Chowaniec and Skoczyńska, 2018). En cas de taux de VLDL normaux, le CE est transporté vers les LDL, mais en cas de VLDL élevés, les CE sont transférés par la CETP vers les VLDL, favorisant la formation de LDL petits et denses et leur oxydation (Chowaniec and Skoczyńska, 2018). L'activité de la CETP augmente après les repas et est plus élevée chez les patients avec dyslipidémies, comme les diabétiques. Une alimentation riche en cholestérol et en graisses augmente son activité. Ozturk vient de montrer le premier que son activité n'est pas différente chez les enfants SS comparativement à des sujets contrôles (Ozturk et al., 2013).

IV-3.c.2. La PLTP et la Lipase hépatique

La PLTP existe sous deux formes: l'une inactive (80%), qui sert de pool de réserve, et une PLTP active. Elle a de très nombreux rôles (Jiang, 2018), qui peuvent intéresser la physiopathologie de la drépanocytose, parmi lequel celui de promouvoir l'externalisation de la phosphatidylsérine plaquettaire, et d'accélérer la coagulation plaquettaire -ADP ou -collagène induite (Zhao et al., 2018). Toutefois, nous ne développerons ici que ceux de ses aspects intéressant le métabolisme lipidique. La PLTP est l'enzyme clé qui maintient le niveau de Sphingosine-1-phosphate (S1P) des HDL. Le S1P est un lipide important et bioactif qui joue un rôle critique dans de nombreux processus cellulaires physiologiques. Il est un constituant important des HDL, pour le compte de qui il médie, par le biais de sa liaison à l'ApoM, de très nombreux effets physiologiques concernant les cellules endothéliales. Il leur confère une protection contre l'apoptose et l'inflammation (Blaho and Hla, 2014). Il est démontré que le contenu en sphingomyéline baisse inversement à celui du S1P, avec l'augmentation de la densité des HDL (spécifique des HDL3 petits et denses) (Kontush et al., 2007). La sphingomyéline a un impact négatif sur la fluidité et sur l'activité de la LCAT. Le ratio S1P/sphingomyéline est positivement corrélé aux capacités des sous-populations de HDL à atténuer l'apoptose cellulaire des cellules endothéliales (Kontush et al., 2007). La PLTP transfère le S1P des GR aux HDL, mécanisme par lequel la PLTP contrôle le contenu en S1P du plasma et des HDL. Toutefois il a été montré une augmentation des taux intra GR en S1P chez la souris drépanocytaire, du fait de l'absence physiologique en enzyme Sphingosine kinase 1 des GR, qui servent de stock de S1P (Zhang et al., 2014). Cette augmentation, via la SP1 kinase 1 chez la souris drépanocytaire, s'accompagnait de plus de falciformation et de progression de la maladie drépanocytaire, tandis que l'inhibition de cette enzyme permettait par ailleurs,

une diminution du taux de GB, d'interleukine 2, 6, 7A, de l'hémolyse, des réticulocytes et plus globalement de l'inflammation (Zhang et al., 2014).

Au niveau du métabolisme lipidique, le rôle de la PLTP est de permettre la transformation des grands HDL en petits HDL, en transférant les PL des TRLs (principalement la phosphatidylcholine) dans les HDL. Elle est donc ainsi impliquée dans la formation des remnants des CM et des VLDL (Chowaniec and Skoczyńska, 2018). Le niveau d'activité de la PLTP augmente avec l'âge, l'IMC et le taux plasmatique des TG, avec qui il est fortement corrélé, ainsi qu'avec le contenu en TG des lipoprotéines HDL.

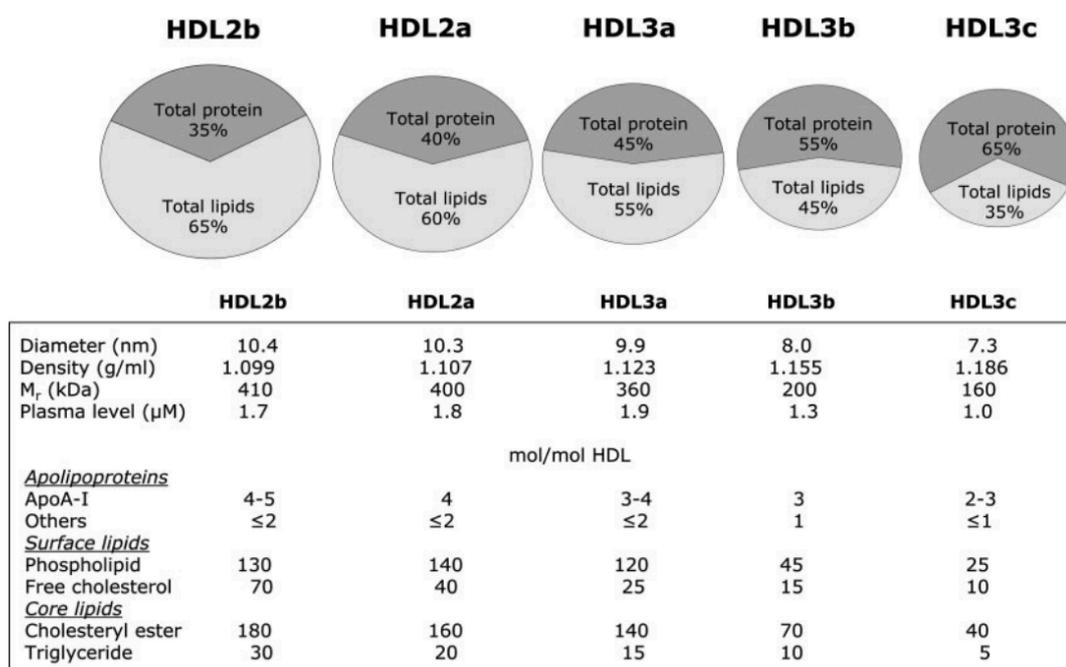
La LH est sécrétée à la surface du foie et à une moindre mesure par les macrophages (Quiroga and Lehner, 2012). Son rôle est d'hydrolyser les TG et les PL dans de nombreuses lipoprotéines. Elle remodèle ainsi les remnants, les LDL, HDL et les LDL petits et denses, avec un rôle préférentiel dans la conversion des IDL en LDL et des HDL riches en TG (HDL2) en HDL appauvris en TG (HDL3) (*cf. Figures 33 et 42*). Elle permet la formation et la rétention dans l'espace sous-endothélial des vaisseaux artériels, des remnants de VLDL, des IDL et des LDL petits et denses (Zambon et al., 2003). Son déficit, rare chez l'homme, est responsable de complications CV précoces, et d'une augmentation de toutes les fractions du profil lipidique. Sa surexpression chez l'animal induit une baisse des taux de HDL et d'IDL. Son niveau d'activité augmente en cas d'insulinorésistance ou de diabète, ou en cas d'augmentation de la graisse viscérale abdominale (Cedó et al., 2017). Les oestrogènes dépriment son activité tandis que les stéroïdes et les progestatifs avec propriétés androgéniques l'augmentent.

Le jeu enzymatique de la PLTP et de la LH enrichit les HDL2 en PL, leur permettant de retourner à la forme HDL3, qui amènera à nouveau aux cellules périphériques le cholestérol nécessaire.

IV-3.d. De la qualité à la fonctionnalité du HDL

Ces différentes enzymes modifient structurellement la qualité des différentes molécules d'HDL, d'où une composition physiologique en sous-groupes hétérogènes :

Tableau n° 3 : Composition lipido-protéique des différentes HDL :



Légende : d'après (Kontush and Chapman, 2006)

Les lipoprotéines HDL sont porteuses d'autres Apos en sus de l'ApoAI et AII. Il s'agit des ApoA-IV (rôle structurel), ApoC-I (modulateur de l'activité de la LPL et activateur de la L-CAT), ApoC-II (activateur de la LPL), Apo-CIII (inhibiteur de la LPL, ApoC-IV (régulateur du métabolisme des TG), ApoD (liant les petites particules hydrophobes), ApoE (à la fois structurelle du HDL et ligand des LDL-récepteurs et récepteurs LRP hépatiques), Apo F (inhibiteur de la CETP), ApoH (liant les particules chargées négativement), ApoJ (liant les molécules hydrophobes des récepteurs cellulaires), ApoL-I (facteur trypanolytique présentant un rôle protecteur contre le

trypanosome responsable de la maladie de Chagasse qui sévit encore en Guyane), ApoM (liant les molécules hydrophobes)(Kontush and Chapman, 2006).

A ce jour, les études lipidomiques ont permis de préciser, hors drépanocytose, la qualité des lipides des différentes lipoprotéines HDL (Kontush et al., 2013), à laquelle sont directement rattachées des activités biologiques différentes (*cf. Tableau 4*). Les propriétés anti-oxydantes concernent toutes les sous-fractions des HDL, avec un ordre décroissant des HDL3c aux HDL2b (de Souza et al., 2010).

Tableau n°4 : Composants lipidiques majeurs impliqués dans les activités biologiques des HDL

Activity	Component	Role
Cholesterol efflux	PL	Incorporation of cellular lipids
	PL fatty acid moieties, SM, FC	Modulation of surface lipid fluidity
Protection from oxidative damage	PL fatty acid moieties, SM, FC	Modulation of surface lipid fluidity
	Lipophilic antioxidants	Scavenging of ROS
Anti-inflammatory activities	PL fatty acid moieties	Modulation of surface lipid fluidity
Cytoprotective activities	SIP	Activation of intracellular signaling through SIP receptors
Vasodilatory activities	SIP	Activation of intracellular signaling through SIP receptors
Antithrombotic activities	Cardiolipin, PS, PI	Inhibition of platelet activation

Légende : PL : phospholipides, SM : sphingomyéline, FC : cholestérol libre, PS : phosphatidyl sérine, PI : Phosphatidyl inositol, SIP : sphingosine 1 phosphate, ROS : espèces radicalaires oxygénées. D'après (Kontush et al., 2013)

V- Profils lipidiques, hypoHDLémie et hypertriglycémie

V-1. Profils lipidiques et complications de la drépanocytose

Parmi toutes les complications du phénotype hyperhémolytique, seule l'HTAP a été étudiée sous l'angle de son profil lipidique, observant un taux d'ApoAI et HDL plus bas que l'état stable, avec une élévation de l'ApoAII et surtout une HTG présente chez les patients avec une HTAP, d'autant plus forte que leur forme était sévère (Yuditskaya et al., 2009)(Zorca et al., 2010).

Si l'on regarde le profil visqueux vaso-occlusif, seules les CVO ont été étudiées, avec, en phase aiguë, une majoration de la diminution du taux d'ApoA1, comparativement à son taux de base (Monnet et al., 1996a) et un ratio SAA/ApoA1 augmenté (Tumblin et al., 2010). L'analyse du profil lipidique est donc à poursuivre, complication par complication, en débutant par celles du phénotype vaso-occlusif en priorité, beaucoup moins étudiées que le phénotype hyper hémolytique, afin d'espérer établir de nouvelles voies de compréhension de leur physiopathologie, pour aborder une potentielle thérapeutique plus ciblée.

V-2. HypoHDLémie drépanocytaire

Les patients drépanocytaires SS ont la particularité de présenter à l'état stable une hypoHDLémie comparativement aux sujets AA, avec baisse de l'ApoA1, qui s'aggrave lors de complications de type CVO (Monnet et al., 1996a), sans association à une hypercholestérolémie, ni hyperLDLémie.

Dans la drépanocytose SS, des essais cliniques avec la niacine ou des ApoA1 mimétiques n'ont pas obtenu de résultats probants en explorant le seul aspect quantitatif des fractions lipidiques (Scoffone et al., 2013). Ces études n'ont toutefois pas analysé les données du point de vue d'un gain ou perte de fonctionnalité du HDL, à l'état stable, ni au cours des complications de la maladie drépanocytaire.

En effet, une série de fonctionnalités du HDL a été récemment identifiée grâce aux études de protéomiques (Shah et al., 2013) et de lipidomiques (Kontush et al., 2013), qui vont de la protection immunitaire, antibactérienne et parasitaire de l'individu, à des effets anti-inflammatoires, anti-oxydants, antiagrégants et vasodilatateurs, ne

pouvant qu'intéresser les voies physiopathologiques de la drépanocytose. Toutes modifications, telles que celles engendrées par l'inflammation et le stress oxydatif, auront des répercussions sur leurs rôles fonctionnels (cf. Figure 43):

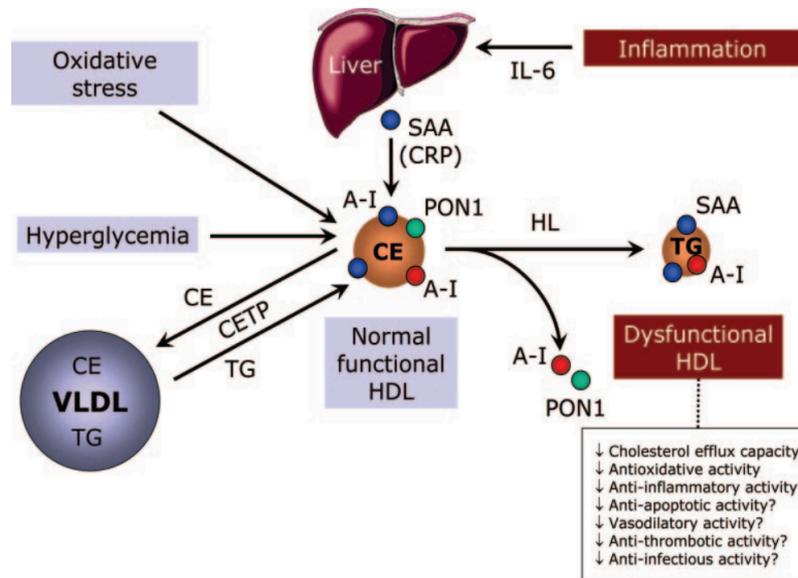


FIG. 5. Abnormal metabolism and deficient biological activities of HDL in atherogenic dyslipidemias of metabolic disease. Chronic inflammation characteristic of metabolic disease, such as MetS and type 2 diabetes, is associated with elevated plasma levels of IL-6. As a result, the liver produces SAA, which replaces apoA-I and PON1 in HDL. Oxidative stress, hyperglycemia, and elevated activity of CETP are other important modulators of HDL function. Oxidative stress modifies specific amino acids in apoA-I, whereas hyperglycemia results in apoA-I glycation. CETP exchanges CE and TG between HDL and TG-rich lipoproteins, such as VLDL; as a result, HDL become enriched in TG. Such enrichment in TG induces conformational changes in apoA-I, which becomes less accessible for the interaction with other lipoproteins, including LDL, and cannot eliminate oxidized lipids from LDL. Subsequent HDL hydrolysis by HL produces small, dense HDL that are enriched in TG and in SAA and contain apoA-I in an incorrect conformation; such HDL possess deficient functionality compared with normal HDL particles.

Figure 43 : Remodelage anormal et dysfonctionnement des HDL, face au stress oxydatif et à l'inflammation, dans les dyslipidémies athérogènes des maladies métaboliques

Légende : d'après (Kontush and Chapman, 2006)

Cette perte de fonctions des HDL passe en effet potentiellement par la perte de ses ApoAI (Soupene et al., 2017), dont il a été montré le rôle crucial dans la protection des cellules endothéliales vasculaires contre le stress oxydatif (de Souza et al., 2010). Il a par ailleurs été montré que la perte des propriétés anti-oxydantes des HDL était accompagnée d'une augmentation de la formation des produits d'oxydation avancés sériques, marqueurs du stress oxydatif (Holzer et al., 2013). Soupene a montré pour un ensemble d'enfants de 3 génotypes différents (SS, SC, Sβ), une baisse globale des

HDL3 de cet ensemble de SDM, associée à une augmentation de ses HDL2 et du ratio HDL2/HDL3, 1,4 fois plus élevé que celui de sujets AA. Ce ratio HDL2/HDL3 se majore ensuite, entre l'état de base et le J1 d'une CVO hospitalisée (Soupene et al., 2017).

V-3. Hypertriglycémidémies

Le taux des TG plasmatiques a été fortement incriminé dans l'HTAP dans la drépanocytose. Ce TGL ne dépend pas du contenu en TAG d'une unique lipoprotéine, mais majoritairement de celui des CM et VLDL. Il dépend donc directement de l'activité enzymatique de la LPL, qui peut, par mutations, être totalement ou partiellement inhibée (Hegele et al., 2014), mais aussi de la synthèse et surtout vitesse de catalyse des VLDL, qui régit leur taux (Fisher, 2012). Il est ainsi extrêmement sensible à un ensemble de facteurs environnementaux nutritionnels, car la voie exogène du métabolisme lipidique dépend d'abord de l'alimentation et du comportement alimentaire d'un individu, modulé aussi par ses origines ethniques (Goff et al., 2016) (Donin et al., 2010). L'industrie agroalimentaire participe pleinement, via ses recettes, à la modulation des TGL des personnes. Un enrichissement en fructose (+20%), d'une alimentation initialement équilibrée, potentialise la glycémie post-prandiale et induit une augmentation des TG plasmatiques à 24H (Tran et al., 2010), contexte actuel de recettes plus sucrées, en région Caraïbes, comparativement à la France hexagonale.

Le profil lipidique favorable ancestral des sujets d'origine africaine (Zoratti, 1998)(Zoratti et al., 2000) a ainsi évolué chez leurs descendants, avec la westernisation de leur alimentation, pour ne plus être différent entre jeunes hommes d'origine caribéenne ou caucasienne (Donin et al., 2010)(Goff et al., 2016). Ce TGL dépend par ailleurs de multiples autres facteurs endogènes : anthropométriques, hormonaux, du sexe, mais aussi d'autres composantes nutritionnelles telles que l'AP, la sédentarité, et

d'autres facteurs environnementaux, tels qu'un tabagisme associé. Nous allons brièvement détailler certains de ces facteurs, ayant un intérêt chez les patients drépanocytaires.

Il convient aussi au préalable de préciser qu'une HTG peut être secondaire à des états physiologiques ou pathologiques, pouvant être aussi d'origine iatrogène : grossesse, syndrome métabolique, diabète, hypothyroïdie, stéatose hépatique, insuffisance rénale chronique, lupus érythémateux disséminé, et les thérapeutiques, i.e. oestrogènes, tamoxifène, thiazidiques, bêtabloquants non cardiosélectifs, inhibiteurs des protéases et antipsychotiques de 2^{ème} génération (Catapano et al., 2011).

V-3.a. TG et alimentation

Un excès d'alcool et/ou glucidolipidique (d'autant plus si les AG sont saturés), sont des causes fréquentes d'HTG plasmatique (Yuan et al., 2007)(Hegele et al., 2014). En effet, lorsque les capacités enzymatiques d'oxydation des glucides ont atteint leur vitesse maximale, que la glycémie plasmatique est correcte, les glucides sont alors orientés vers un stockage hépatique puis musculaire, sous forme de glycogène. A saturation de ces systèmes de stockage, les glucides non oxydés seront ensuite dirigés vers un stockage adipocytaire (sous forme de TAG), source d'obésité.

V-3.b. TG, insulino-résistance et activité physique

L'action directe de l'insuline sur la LPL, illustrée *Figure 39*, régule les TGL. Une insulino-pénie, ou une insulino-résistance (Reaven et al., 1967)(Tobey et al., 1981), induisent une HTG en post-prandial, parfois très à distance du repas, et que l'alimentation soit enrichie (Teff et al., 2009) ou non, en glucose ou en fructose. Cette

insulinorésistance est également positivement corrélée à l'adiposité, viscérale et sous-cutanée, en population afro-américaine (Tulloch-Reid et al., 2004), à l'IMC, et au déficit en vitamine D (chez les adolescents, en Guadeloupe) (Rambhojan et al., 2016). Une faible AP et une sédentarité sont des facteurs indépendants de plus grande insulinorésistance, quels que soient le degré d'IMC, mais sont aussi des facteurs de risque d'élévation glycémique et des TG, de baisse du HDL (Crichton and Alkerwi, 2015), de hausse du LDL et de surmortalité (Crichton and Alkerwi, 2015). Modérée à intense, l'AP est une véritable thérapie nutritionnelle qui diminue à la fois l'insulinorésistance et, à jeun : les TGL, les remnants des VLDL, les petits HDL, et, en post-prandial le taux des grands IDL et LDL (Sabaka et al., 2013). Toutefois, l'AP modérée à intense peut aussi déclencher des CVO sévères nécessitant un encadrement de sa pratique chez le patient drépanocytaire (Martin et al., 2018).

V-3.c. TG, tabac, hormones, sexe et âge

Un tabagisme, même passif, augmente le CT, LDL, les TG, et diminue le HDL (Bizoń and Milnerowicz, 2017). Les oestrogènes, physiologiques ou artificiels, influencent fortement le métabolisme lipidique: élévation des TGL (Hegele et al., 2014), VLDL, ApoB100, et LDL. Les hommes ont des valeurs de CT, LDL, plus élevées, à âge égal, que les femmes non ménopausées, tandis que les valeurs de ces dernières les rejoignent sans les atteindre, après la ménopause (Anagnostis et al., 2015). L'effet de la ménopause est plus fort que celui de l'âge, avec des TGL plus élevés en post-ménopause. Enfin, les paramètres lipidiques augmentent avec l'âge, puis redescendent en fin de vie selon une courbe en U (Iribarren et al., 1995). Le vieillissement s'accompagne aussi d'une altération qualitative des HDL : augmentation du taux de SAA, baisse du taux d'ApoE, pas de modification du taux d'ApoCIII, et

diminution des capacités anti-oxydantes du fait d'une baisse de l'activité de la para-oxonase 1 (Holzer et al., 2013).

Au moment du début de notre travail, les deux seules études rapportant un lien entre profil lipidique et une complication de la drépanocytose (HTAP), concernaient les taux de TG, d' HDL, d'ApoAI, ApoAII (Yuditskaya et al., 2009) (Zorca et al., 2010), orientant notre réflexion vers l'exploration de ce profil lipidique, à l'état stable, en fonction des génotypes SS et SC et de l'antécédent de certaines complications du phénotype vaso-occlusif, non encore étudiées.

C- LES ETUDES

I- Objectifs

La thématique générale de ma thèse : « lipides et drépanocytose », m'a conduite à poursuivre les objectifs suivants :

1. Caractériser aux Antilles françaises le profil lipidique des patients drépanocytaires SS et SC ; comparer ces profils aux données de la littérature scientifique et à leur population générale.
2. Rechercher l'existence potentielle de candidats biomarqueurs lipidiques au sein de certaines complications de la maladie drépanocytaire, attachées au phénotype visqueux/vasoocclusif et en fonction du génotype SS et SC.
3. Rechercher l'existence d'un lien potentiel entre les anomalies hémorhéologiques, le profil lipidique et l'hypertension artérielle dans la drépanocytose SS.

II- Population

Les patients desquels sont issues nos données cliniques et biologiques, font partie des cohortes de patients adultes drépanocytaires SS et SC suivis régulièrement à l'Unité transversale de la Drépanocytose (UTD) par des médecins généralistes dédiés et totalement dévoués à ces patients : le Dr. Nathalie Lemonne, le Dr. Marie Billard et le Dr. Maryse Etienne-Julan, qui coordonne le centre de référence au CHU de la Guadeloupe. Le consentement écrit à l'étude des patients a été recherché, après information sur les objectifs de l'étude auprès des médecins investigateurs de l'UTD, lors de leur venue habituelle à l'UTD, au moment de leur bilan annuel, à l'état stable.

III- Méthodes

Mon travail de thèse a été épidémiologique. Il a débuté par :

- 1- L'étude de la caractérisation des lipides des cohortes de patients drépanocytaires SS et SC suivis à l'Unité Transversale de la Drépanocytose du CHU de la Guadeloupe : étude prospective transversale monocentrique « HTA » déclarée au CPP Sud-Ouest-Outremer sous le numéro : 2010-A00244-35.
- 2- La recherche de biomarqueurs lipidiques des complications du phénotype vaso-occlusif : CVO, STA, OTN, chez les patients SS et SC : étude à double recueil : prospectif et rétrospectif, longitudinale monocentrique au sein de l'étude « HTA ».
- 3- La recherche de liens entre paramètres anthropométriques, hémorhéologiques, hématologiques et lipidiques et l'hypertension artérielle chez les patients SS, grâce à une collaboration prospective avec un autre doctorant, Yann Lamarre, dans le cadre de l'étude prospective monocentrique « HTA ».

IV- Résultats

- ✚ Objectif n°1 : Caractériser aux Antilles françaises le profil lipidique des patients drépanocytaires SS et SC et comparer ces profils aux données de la littérature mondiale et à leur population générale.

De 2009 à nos premiers travaux, les données bibliographiques purement centrées sur le profil lipidique des patients drépanocytaires sont restées rares : pas ou peu de données disponibles chez les patients SC, et de nombreuses publications, mais aux conditions n'isolant pas strictement leur profil lipidique, chez les patients SS. Après la réalisation d'un état des lieux critique, épidémiologique, notre étude a cherché en plus à préciser le taux des TG, qui fait toujours polémique dans la drépanocytose SS : élevé, normal ou bas, en fonction des populations étudiées. Nous avons réalisé, au sein de cette première étude HTA, le recueil prospectif de nos données, et conduit, en fin de cette étude, l'analyse des bilans lipidiques ainsi recueillis au sein des cohortes de patients antillais drépanocytaires. L'intégralité de l'analyse des éléments anthropométriques ou biologiques a été prévue et réalisée par génotype, SS et SC, pour identifier et caractériser dans des conditions standardisées, distinctement, ces deux profils lipidiques. Cette étude a fourni à nos équipes, les premières bases indispensables à la connaissance du profil lipidique des patients drépanocytaires des cohortes antillaises, avant d'envisager d'autres études plus centrées sur des aspects mécanistiques.

Les résultats nous ont permis d'isoler 2 profils lipidiques, différents d'un 3^{ème} profil appartenant à la population générale guadeloupéenne (PGG) :

- Le profil des patients adultes SS, en accord avec les données de la littérature, avec une diminution globale de toutes les fractions du cholestérol (TC, LDL, HDL), mais présentant une hypertriglycémie relative, comparativement aux patients SC et à la PGG.
- Le profil des patients SC, non encore décrit chez les adultes, intermédiaire et situé quantitativement entre celui de la PGG pour les fractions du CT, LDL et HDL cholestérol, et celui des patients SS, mais non différent de la PGG, concernant les TG.

Par ailleurs, une spécificité anthropométrique a été mise en évidence par notre étude : un phénotype d'obésité centrale des patients SS, malgré une corpulence normale ou un surpoids, également constatée chez les patients SC, et quasi-exclusivement féminine. Toutefois, il n'a pas été retrouvé, au sein de cette population drépanocytaire, le lien habituel connu entre le taux des TG et cette obésité androïde. Est à rapprocher toutefois de cette obésité centrale des SS et à souligner dans ce contexte, l'absence de différence entre les niveaux d'ApoB des patients SS et SC. Les taux de TG plasmatiques des patients SS ont été également constatés être plus élevés, mais indépendants du sexe des patients, de leur IMC (chez les SS seulement), du tour de taille, de l'hémolyse, de la glycémie à jeun et du traitement par hydroxyurée.

- ✚ Objectif n° 2 : Rechercher l'existence potentielle de candidats biomarqueurs lipidiques au sein de certaines complications de la maladie drépanocytaire attachées au phénotype visqueux/vaso occlusif et en fonction du génotype

La littérature fait état de liens retrouvés en population SS au sein du phénotype hémolytique décrit par Kato en 2007, entre certaines fractions du profil lipidique (si TG élevés, si HDL ou ApoA bas), et une plus grande prévalence et sévérité de la complication d'HTAP, dont l'apparition annonce un risque de décès à court terme. Même si cette dichotomie entre phénotype hémolytique et visqueux/vaso-occlusif reste discutée, notre étude a recherché pour la première fois un lien potentiel entre fractions du profil lipidique et antécédents de complications rattachées au phénotype visqueux/vaso-occlusif, recueillies de façon prospective : CVO hospitalisées sur 1 an, STA et OTN, chez des patients drépanocytaires SS et SC.

Nos résultats n'ont pas permis de conclure en ce qui concerne les CVO et STA chez les patients SC, du fait de l'insuffisance en 1 an d'événements observés. Mais cette étude a, pour la première fois, montré une augmentation de la prévalence des OTN chez les patients SC avec Non-HDL-cholestérol > 1.30g/L (seuil correspondant aux limites à ne pas dépasser chez les patients à haut risque vasculaire) ; le Non-HDL cholestérol est un facteur de risque d'OTN déjà identifié en population générale non drépanocytaire (Zhao et al., 2015). Ces résultats nécessitent d'être confirmés dans d'autres cohortes, et les processus mécanistiques devront être précisés. Concernant les patients SS, nos résultats ont montré plus d'antécédents de CVO et de STA en cas de TG > 1.50g/L, renforçant notre questionnement sur la genèse de cette hypertriglycémie relative.

RESEARCH

Open Access



Lipid profiles in French West Indies sickle cell disease cohorts, and their general population

Marie-Laure Lalanne-Mistrih^{1,2}, Philippe Connes^{1,3,4}, Yann Lamarre¹, Nathalie Lemonne⁵, Marie-Dominique Hardy-Dessources¹, Vanessa Tarer⁵, Maryse Etienne-Julan⁵, Dominique Mougénel⁵, Benoît Tressières² and Marc Romana^{1,6*} 

Abstract

Background: The pathophysiology of sickle cell disease (SCD) and the variability of its clinical expression remain not fully understood, whether within or between different SCD genotypes. Recent studies have reported associations between lipid levels and several SCD complications. If lipid levels have been previously described as low in sickle cell anemia (SCA), few data have been provided for sickle cell SC disease (SCC). We designed our epidemiological study to isolate lipid levels and profiles by genotype in Guadeloupean cohorts of SCA and SCC adult patients, at steady state. We compared SCD lipid levels with those of the Guadeloupean general population (GGP), and analyzed potential associations between lipid levels and SCD complications (vaso-occlusive crises, acute chest syndrome and osteonecrosis).

Methods: Lipids, apolipoproteins, biological variables and anthropometric evaluation, were collected at steady state from medical files for 62 SCC and 97 SCA adult patients. Clinical SCD complications were collected from the clinical files. Analysis was conducted by genotype for all variables.

Results: Different SCC and SCA lipid profiles, both distinct from their GGP's, were identified. Compared to SCC and GGP, higher triglyceride (TG) levels were observed in SCA patients, independent of hydroxyurea, hemolysis, gender, age, body mass index (BMI), abdominal obesity and clinical nutritional status. Our survey highlights also subsequent anthropometrical phenotypes, with an over-representation of abdominal obesity with normal BMI in SCA patients, and affecting almost exclusively females in both genotypes. Moreover, more frequent positive history of acute chest syndrome (ACS) was observed in SCA patients with TG level higher than 1.50 g/l, and of osteonecrosis in SCC patients having non high-density lipoprotein-cholesterol level (Non HDL-C) higher than 1.30 g/l.

Conclusions: This study reveals that SCA and SCC patients exhibit distinct lipid profiles and suggests that high TG and Non HDL-C levels are associated with past histories of ACS and osteonecrosis in SCA and SCC patients, respectively.

Keywords: Genetics, Epidemiology, Triglycerides, Lipoproteins, Apolipoproteins, Sickle cell disease, Body mass index, Abdominal obesity, Non HDL-cholesterol, Osteonecrosis

* Correspondence: marc.romana@inserm.fr

¹Université des Antilles, CHU de Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, Université Sorbonne Paris Cité, Université Paris Diderot, Inserm, INTS, Unité Biologie Intégrée du Globule Rouge UMR_S1134, laboratoire d'Excellence GR-Ex, Paris, France

⁶UMR Inserm 1134, Hôpital Ricou, CHU de Pointe-à-Pitre, 97 157 Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, France

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2018 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

Background

Sickle cell disease (SCD) is a monogenetic disorder resulting from a point mutation in the β -globin gene leading to the synthesis of abnormal hemoglobin S (HbS). Sickle cell anemia (SCA), i.e. the homozygous state of the β^S allele, is the most frequently encountered genotype worldwide, far beyond sickle cell SC disease, i.e. the heterozygous composite state of the β^S and β^C alleles (SCC). The sickling of red blood cells (RBCs), due to polymerization of HbS when deoxygenated, is the main pathophysiological mechanism at the origin of several vaso-occlusive-like events resulting from the entrapment of poorly deformable and fragile sickle red blood cells in small vessels [1]. SCD is characterized by chronic hemolysis, inflammation, exacerbated oxidative stress, frequent vaso-occlusive complications, multiple organ damage and reduced patient survival [1]. There are large variations in the nature and incidence of complications affecting SCA and SCC patients, and the clinical severity of SCC is often considered to be milder than that of SCA [2]. By contrast, it has been recently shown that SCC patients may also frequently experience similar vaso-occlusive-like events than SCA patients, i.e. vaso-occlusive crisis (VOC), acute chest syndrome (ACS) and osteonecrosis (OTN), and may also develop more frequently specific complications such as retinopathy and otologic disorders [3, 4]. The exact pathophysiological mechanisms, which lie at the origin of the heterogeneous clinical severity in SCC and SCA patients, have yet to be fully elucidated.

Lipids have been very recently hypothesized to play a role in the pathophysiological mechanisms of SCA. SCA patients have unique plasma lipid profile characterized both in adults and children, by decreased levels of total cholesterol (TC), high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C), apolipoprotein A (apoA), and apolipoprotein B (apoB), compared to controls or to the general population [5–8]. Contrasting results have been reported regarding the level of triglycerides (TG) in SCA compared to controls [7, 9, 10]. This dyslipidemia has been associated with the severity of hemolysis and would be involved in vascular dysfunction [7, 11, 12]. In addition, it has been also shown that patients with the highest TG levels would be prone to develop complications like pulmonary hypertension [7, 11, 12] and acute chest syndrome [13]. Furthermore, two recent studies showed evidence of an enhanced production of deleterious pro-inflammatory HDL-C that has been associated with endothelial cell injury in SCA patients [14, 15]. Altogether, these data support a deleterious impact of dyslipidemia on endothelial cells function in SCA patients and suggest that alterations in lipids profile could be modulate or reflect the disease severity. Yet, no precise information about lipid profile and their role in the pathophysiology is currently available for SCC adult patients.

Unless recently [14, 16], the rare studies including both SCA and SCC patients did not analyze lipids according to sickle genotypes [7, 9, 10].

The major aim of the present study was to characterize blood lipid profiles in SCA and SCC adult patients, at steady state, and to compare them to those of the Guadeloupean general population (GGP). In addition, we also analyzed, still according to genotypes, the associations between blood lipids, routine clinical parameters and the history of several vaso-occlusive like complications (VOC, ACS and OTN).

Methods

Subjects

One hundred and fifty nine sickle cell adults (62 SCC and 97 SCA) at steady state, regularly monitored and followed up by the sickle cell reference center of Guadeloupe, were included in the present study between May 2010 and December 2011. The SCC/SCA sex ratio (M/F) was 0.67, with a mean age of 36 ± 13 years old.

The inclusion criteria were previously detailed [12]. The steady-state condition was defined as follows: no blood transfusion in the previous three months, and absence of acute episodes (infection, VOC, ACS, stroke, priapism) at least two months before inclusion into the study. Twenty-one of 95 SCA patients (i.e., 22.1%) were undergoing hydroxyurea (HU) therapy. None of SCC patients was under HU treatment. All patients had been informed about the purpose and procedures of this study, for which they had given a written consent in accordance with the guidelines set by the Declaration of Helsinki. The study was approved by the Regional Ethics Committee (CPP Sud/Ouest Outre Mer III, Bordeaux, France, registration number: 2010-A00244-35).

Anthropometric parameters

Patients underwent a complete anthropometric examination. Height (cm) and weight (kg) were measured for all patients and BMI was calculated as the ratio of weight (kg)/height² (m²). Selected BMI classes were BMI < 18.5 kg/m² (underweight), 18-24.9 kg/m² (normal corpulence), ≥ 25 -29.9 kg/m² (overweight), ≥ 30 kg/m² (obesity). The definition of undernutrition or malnutrition was based on the following clinical items: BMI < 18.5 kg/m² in adults of less than 70 years old or of BMI < 21 kg/m² in adults of more than 70 years old. Waist circumference was measured according to the NHANES III protocol [17]. Waist-to-hip ratio (WHR) was calculated from waist and hip circumferences measurement [18]. We chose, as abdominal obesity definition, those following the International Diabetes Federation criteria (waist > 94 cm male; waist > 80 cm female) [19].

Controls

Control values for TC, HDL-C, LDL-C, TG and BMI of the GGP were issued from a previous study [20]. GGP control values of abdominal obesity and BMI classes available for the same period as in our study were issued from Daigre et al. [21].

Biological measurements

Blood samples were collected after 12 h of overnight fasting and analyzed at the University Academic Hospital of Pointe-à-Pitre (Guadeloupe). Hemoglobin concentration (Hb), hematocrit, reticulocytes (RET), red blood cell counts (RBC), platelet counts (PLT), and white blood cell counts (WBC) were determined using a hematology analyzer (Max M-Retic, Coulter, USA). The dosages for fasting glycemia, total bilirubin (BIL), lactate dehydrogenase (LDH) and aspartate amino-transferase (AST) were performed using standard biochemistry. The measurements of TC, HDL-C, LDL-C and TG were performed using a colorimetric method (Integra Cobas Roche) and those of apoA and apoB with a nephelometric method (Behring Nephelometer 2, Siemens). LDL-C was calculated according to the Friedwald formula: $LDL-C (g/l) = TC (g/l) - HDL-C (g/l) - TG/5 (g/l)$. Non-HDL cholesterol (Non HDL-C) was calculated using the following formula: $Non\ HDL-C (g/l) = TC (g/l) - HDL-C (g/l)$.

SCD complications

The previous occurrence of OTN, ACS and hospitalized painful VOC were collected from patients' medical files at the sickle cell reference center of Guadeloupe. The collection of OTN history started with the very first retrospective patient's follow-up at the SCD reference center while for VOC and ACS, it started one year before the annual patients' checkup. OTN, ACS and hospitalized VOC diagnoses were established as previously described [22–25].

Statistical analysis

Results are presented as means \pm Standard deviation (SD) for continuous variables and as frequencies for categorical variables. To compare co-variables between different groups, unpaired Student's t-test was used for continuous covariates, and chi-square-test or exact Fisher Test, for categorical covariates. Pearson test was used to investigate correlations. A principal component analysis was used to derive a hemolytic component value from the four hemolytic markers being investigated (i.e. BIL, LDH, AST and RET), as previously reported [26]. This standard statistical data reduction approach employs conventional clinical measurements to explain the maximum-shared variance among these indirect measures of hemolysis. Following 2011 ESC/EAS European guidelines [27], thresholds of 1.30 g/L for Non HDL-C

and of 1.50 g/L for TGL were chosen, to explore the links with the SCD complications observed.

The significance level was defined as $p < 0.05$. Analyses were conducted using SPSS (v. 20, IBM SPSS Statistics, Chicago, IL).

Results

SCC and SCA corpulence distributions vs. GGP

Results are reported in Tables 1 and 2. SCC and SCA patients presented similar values for the following parameters: sex ratio, age, waist, WHR and abdominal obesity. Mean BMI was not different between SCC patients and GGP, and was lower in SCA vs. SCC patients and GGP ($p < 0.01$). The undernutrition class was significantly over-represented in SCA patients compared to GGP ($p < 0.01$) (Table 2), with no difference detected between SCC patients and GGP. If overweight was less frequently encountered in SCA patients compared to GGP and SCC patients ($p < 0.01$ for both), obesity remained low and similar between SCA and SCC

Table 1 Lipid levels and biological characteristics in SCC and SCA cohorts versus Guadeloupean general population^a

	GGP ^b N = 1010	SCC N ₁ = 62	SCA N ₂ = 97
Sex ratio (M/F)	0.66	0.51	0.80
Age (years)	39.5 \pm 13.3	37.5 \pm 13.3	34.6 \pm 12.9**
BMI (Kg/m ²)	25.7 \pm 5.3	24.5 \pm 4.5	21.5 \pm 3.3***
Waist (cm)	88.9 \pm 16.6	81.6 \pm 10.2**	79.0 \pm 7.1**
WHR (cm/cm)	0.81 \pm 0.91	0.85 \pm 0.07	0.86 \pm 0.05**
Systolic arterial tension (mmHg)	127.8 \pm 18.1	120.2 \pm 14.6**	114.4 \pm 10.6**
Diastolic blood pressure (mmHg)	81.9 \pm 12.8	74.5 \pm 7.4**	67.1 \pm 7.4***
Hb (g/dl)	–	11.3 \pm 1.2	8.4 \pm 1.3 [–]
Hemolytic Component	–	-0.880 \pm 0.189	0.556 \pm 0.712 [–]
TC (g/L)	1.90 \pm 0.43	1.40 \pm 0.32**	1.21 \pm 0.29***
HDL-C (g/L)	0.48 \pm 0.13	0.44 \pm 0.12*	0.37 \pm 0.10***
Apo A (g/l)	–	1.24 \pm 0.20	1.11 \pm 0.20 [–]
LDL-C (g/L)	1.26 \pm 0.39	0.79 \pm 0.24**	0.66 \pm 0.23***
Apo B (g/l)	–	0.66 \pm 0.19	0.60 \pm 0.18
Non HDL-C (g/l)	1.41 \pm 0.41	0.96 \pm 0.30**	0.85 \pm 0.26***
TG (g/L)	0.79 \pm 0.45	0.80 \pm 0.43	0.97 \pm 0.39**
TC / HDL-C	4.1 \pm 1.3	3.31 \pm 0.98**	3.46 \pm 0.86**
TG / HDL-C	–	2.11 \pm 1.96	2.93 \pm 1.79 [–]
Fasting glycemia (g/l)	0.90 \pm 0.31	0.75 \pm 0.17**	0.72 \pm 0.11**

Values represent mean \pm standard deviation; comparison with GGP (Guadeloupean general population): * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; comparison with SCC population: $p < 0.05$; * $p < 0.01$; [–]Data issued or calculated (Non HDL-C) from reference (18)

Table 2 BMI classes and abdominal obesity in SCC and SCA cohorts versus Guadeloupean general population^a

	GGP ^a	SCC	SCA
	N = 602	N ₁ = 62	N ₂ = 97
BMI < 18.50 (kg/m ²) Undernutrition class	23 (3.8)	3 (4.9)	15 (15.5)**
BMI ≥ 25 (kg/m ²)	329 (54.7)	26 (42.6)	14 (14.4)***
BMI ≥ 30 (kg/m ²)	138 (22.9)	6 (9.8)**	3 (3.1)**
Abdominal Obesity	319 (53.0)	11 (28.2)**	19 (26.0)**
male AO distribution	196 (32.6)	1 (6.7)*	0 (0.0)**
female AO distribution	423 (70.4)	10 (41.7)**	19 (48.7)**

Data are expressed as n (and proportion); comparison with GGP (Guadeloupean general population): *p < 0.05; **p < 0.01; comparison with SCC population: †p < 0.01; ††GGP data issued from reference (19); AO (abdominal obesity) if waist > 94 cm for males or > 80 cm for females

patients, and much lower than in GGP ($p < 0.01$ for both, Table 2). Abdominal obesity affected exclusively females (with the exception of one SCC male), with a lower prevalence for both genotypes than in GGP ($p < 0.01$ for both, Table 2), and was undetected in the undernutrition class in both genotypes (data not shown).

Biology

Lipid profiles

SCC patients exhibited intermediate mean values for TC, LDL-C, HDL-C and Non HDL-C, higher than those detected in SCA patients ($p < 0.01$ for all, except for Non HDL-C, $p < 0.05$), but lower than those detected in GGP ($p < 0.01$) (Table 1). SCC patients also had higher apoA level ($p < 0.01$) than SCA patients, without any difference

observed for apoB level. SCC TG levels were not different from GGP's, whereas TG levels in SCA were higher than that detected in SCC patients ($p < 0.05$) and GGP ($p < 0.01$). In both sickle genotypes, TG values remained within the normal range ($0.97 \text{ g/L} \pm 0.39$) (Table 1). Males SCC and SCA patients exhibited lower values than females for TC, LDL-C, Non HDL-C, HDL-C, and apoA levels ($p < 0.01$, data not shown), and a similar trend was detected for apoB levels ($p = 0.059$). Only TG levels and TG level $\geq 1.50 \text{ g/l}$ were found independent from patients' gender and age in SCC and SCA genotypes (data not shown).

Focus on TGL, BMI, nutritional status and fasting glycemia

TG level was positively correlated with BMI in SCC ($r = 0.330$, $p = 0.01$) but not in SCA patients, for whom TG level was also independent of the undernutrition and overweight classes. In both sickle genotypes, TG level was independent of waist, WHR and abdominal obesity (data not shown), and fasting glycemia. Moreover, SCA and SCC patients presented both similar and lower fasting glycemia levels than those detected in GGP.

Anemia, hemolysis, hydroxyurea (HU) and lipids

As expected, both anemia (Hb) and hemolysis (hemolytic component index) were more severe in SCA than in SCC patients (Table 1, $p < 0.01$ for both). Though, neither hemolysis rate in both genotypes, nor HU treatment in SCA patients, impacted the level of any lipid variable (data not shown).

Table 3 Lipid levels of SCA and SCC patients according to ACS, CVO and OTN history

Characteristics and lipid levels	SCA						SCC	
	ACS n = 9	NoACS n = 88	VOC n = 14	NoVOC n = 83	OTN n = 30	NoOTN n = 67	OTN n = 15	NoOTN n = 47
Female sex	4 (44.4)	50 (56.8)	8 (57.1)	46 (55.4)	19 (63.3)	35 (52.2)	10 (66.7)	31 (66.0)
WHR (cm/cm)	0.88 ± 0.02	0.86 ± 0.05	0.87 ± 0.05	0.86 ± 0.05	0.87 ± 0.05	0.86 ± 0.05	0.91 ± 0.04	0.84 ± 0.07
Hematocrit (% ± SD)	23.6 ± 3.2	23.6 ± 3.7	25.7 ± 3.0	23.2 ± 3.7	25.25 ± 3.04	22.85 ± 3.69	30.33 ± 2.65	30.90 ± 2.98
Hemolytic Component	-0.05 ± 1.11	0.01 ± 0.99	-0.46 ± 0.68	0.07 ± 1.02	-0.35 ± 0.61	0.16 ± 1.10	-0.07 ± 1.09	0.02 ± 0.98
TC (g/l)	1.25 ± 0.30	1.21 ± 0.30	1.23 ± 0.26	1.21 ± 0.30	1.25 ± 0.30	1.20 ± 0.29	1.44 ± 0.32	1.39 ± 0.32
HDL-C (g/l)	0.42 ± 0.13	0.36 ± 0.09	0.38 ± 0.09	0.36 ± 0.10	0.38 ± 0.09	0.36 ± 0.10	0.47 ± 0.14	0.44 ± 0.11
ApoA (g/l)	1.22 ± 0.28	1.09 ± 0.19	1.15 ± 0.16	1.10 ± 0.21	1.15 ± 0.21	1.11 ± 0.20	1.32 ± 0.27	1.22 ± 0.16
Non HDL-C > 1.30 (g/l)	1 (11.1)	5 (5.7)	1 (7.1)	5 (6.0)	3 (10.0)	3 (4.5)	4 (28.6)	3 (6.5)
LDL-C (g/l)	0.64 ± 0.20	0.66 ± 0.24	0.64 ± 0.21	0.66 ± 0.24	0.68 ± 0.25	0.64 ± 0.23	0.83 ± 0.23	0.78 ± 0.24
ApoB (g/l)	0.58 ± 0.17	0.61 ± 0.19	0.57 ± 0.16	0.61 ± 0.19	0.63 ± 0.19	0.59 ± 0.18	0.69 ± 0.20	0.65 ± 0.19
TG (g/l)	1.06 ± 0.57	0.96 ± 0.37	1.03 ± 0.53	0.96 ± 0.37	0.96 ± 0.37	0.97 ± 0.40	0.80 ± 0.49	0.80 ± 0.42
TG ≥ 1.50 g/l	3 (33.3)	6 (6.9)	3 (21.4)	6 (7.3)	3 (10.0)	6 (9.1)	1 (6.7)	3 (6.5)

Values represent n (and proportion) or mean result ± standard deviation (SD), unless otherwise indicated. Significance: *p < 0.05; **p < 0.01. ACS: acute chest syndrome positive history; NoACS: absence of ACS history; VOC: hospitalized vaso occlusive crisis positive history; NoVOC: absence of VOC history; OTN: Osteonecrosis positive history; NoOTN, absence of OTN history; WHR (waist over hips ratio), TC (total cholesterol), HDL-C (high density lipoprotein-cholesterol), LDL-C (low density lipoprotein- cholesterol), Non HDL-C (Non HDL-cholesterol); ApoA (apolipoprotein A), ApoB (apolipoprotein B), TG (triglycerides)

Associations between lipids, anthropometry and ACS, VOC and OTN

Too few ACS and hospitalized VOC have been reported in SCC patients to allow statistical analysis of these complications in this group (Table 3). Thus, OTN was the only complication analyzed in SCC patients. OTN in SCC and ACS, VOC and OTN in SCA were not affected by gender, BMI, BMI classes, WHR (excepted for OTN in SCC patients), abdominal obesity, TC, LDL-C, HDL-C, apoA or apoB levels or apoB/apoA ratio. SCA patients with TG level higher than 1.50 g/l exhibited more frequently positive histories of ACS than those with lower TG values ($p < 0.05$). In SCA patients with a positive history of either VOC or OTN, we detected as expected higher hematocrit ($p < 0.05$ and $p < 0.01$ respectively), and in case of positive history of OTN, a lower hemolytic component index ($p < 0.01$). However, no association was detected between past history of these complications and lipid levels. In SCC patients, positive history of OTN was also more frequently encountered, when Non HDL-C level > 1.30 g/l ($p < 0.05$) (Table 3).

Discussion

In contrast to SCA, the plasma lipid profile of SCC patients has been poorly described up to now [7, 10, 16]. This study clearly revealed two very different SCC and SCA lipid profiles, both of them being distinct from their GGP's. In addition, we described several associations between sickle genotypes and anthropometric phenotypes, as well as between lipid levels and sickle cell complications.

Distinct lipids profiles in SCA and SCC patients

In agreement with previous studies, our results showed lower lipids values in SCA than in healthy individuals [6], and lower lipids and apoA and apoB levels in males than in females [6, 11]. This present study extends this gender effect to SCC patients. Moreover, if SCC lipids profile presents intermediate values between GGP and SCA, the distinction between SCA and SCC lipid profiles is partially due to higher TG levels in SCA, with unexpected similar values of SCA apoB levels than in SCC. This observation is consistent with the presence of high levels of very low density lipoproteins in SCA [16, 28].

TG and anthropometric measurements

SCA and SCC patients' TG levels were both found unexpectedly independent of fasting glycemia. For both genotypes, similar values of fasting glycemia, significantly lower than in GGP, were detected, suggesting undernutrition status [29]. In pathophysiological contexts other than SCD, undernutrition, also explored by BMI class, was reported to modify lipid profiles, with higher TG

and lower HDL-C levels in moderately and severely undernourished children, as a mean of adaptation to chronic malnutrition [30]. In agreement with the present study, SCA patients have been reported throughout the world to be more frequently affected by under- or malnutrition [31, 32] compared to SCC patients. Hence, we report for the first time to our knowledge, that TG and TG level ≥ 1.50 g/l remained independent of this so-defined BMI-undernutrition class in SCA patients.

Aside from SCD, adiposity is a significant determinant of both plasma TG and HDL-C levels [31]. TG level is indeed known to increase with both BMI and abdominal obesity [33–36]. In SCD populations, only Zorca et al. concluded that BMI was a "slightly weak but significant predictor of SCD TG level" [7], without reporting any data on abdominal obesity.

In this study, we detected few overweight SCA patients, whereas abdominal obesity was observed both in overweight patients and those with normal BMI. However, no link was detected between TG level and both BMI and abdominal obesity. This normal BMI with abdominal obesity phenotype had been previously reported in a study exclusively dedicated to SCA adult female gender [37]. Our study also explored adult male gender and, for the first time, revealed a striking absence of abdominal obesity in almost all the male patients of both genotypes. This observation may result from the shift of female abdominal obesity to lower levels in SCA and SCC cohorts, compared to the 70.4% \pm 2.5 abdominal obesities in women versus 32.6% \pm 2.5 in males reported in GGP [21]. However, despite having a low or normal BMI, abdominal obesity still remains a source of pro-inflammatory substances, among which are TG-rich lipoproteins lipolysis products [38]. These molecules may increase oxidative stress and endothelial cell inflammation, but this hypothesis remains to be tested.

We also showed for the first time in SCA patients, that TG level was not affected by age, gender, BMI, BMI-nutritional status, waist, WHR or abdominal obesity, and confirmed that TG level was positively correlated with BMI only in SCC patients.

TG, lipid levels and clinical complications

In contrast to Zorca et al. study [7], TG levels were not associated with hemolysis in our two patients' cohorts. Otherwise, HU, the only available treatment given to reduce the number and the severity of complications in SCA, did not influence either TG, concordantly with literature [7], or lipoproteins, apoA or apoB levels, as shown by this study.

Apart from TG level ≥ 1.50 g/L, no other lipid association was isolated by this study for ACS history in SCA patients, with too few SCC patients with ACS history to be analyzed.

Higher hematocrit levels were reported in SCA patients with past history of VOC [25], as shown in our study. In addition, both apoA and HDL-C were described to decrease during VOC in SCA [39, 40]. Our analysis, performed only at steady state, did not detect any difference in their levels in relation with clinical history of VOC, advocating for a transient decrease or increase of these lipid levels accordingly to the clinical status of the patients.

Non-traumatic osteonecrosis of the femoral head is a source of major disabling for SCD patients. Various risk factors were previously identified, among which, as confirmed in our study, higher hematocrit in SCA for OTN, and lower hemolysis in SCC patients, respectively [23, 41]. Several lipid risk factors of osteonecrosis, so far unexplored in SCD, were also highlighted in the literature. Among them, high levels of TC [42, 43], apoB/apoA ratio [44], TG [43, 45], and Non HDL-C have been described [43]. We did not detect any association between SCC or SCA OTN history and TC, LDL-C, TG, apoA or apoB levels, or apoB/apoA ratio. However, our study showed that SCC patients with OTN history presented both higher WHR and Non HDL-C levels than patients without, suggesting a more atherogenous profile in the former patients [46]. Our data suggest that Non HDL-C level ≥ 1.30 g/l could be a biomarker associated with SCC OTN history.

Limits of our study are those of a cross-sectional one that could not represent individual daily lipid profiles [47], with known normal variation of fasting TG level, and include the size of the two patient cohorts. These primary statements have to be confirmed by larger prospective studies, which should include evaluation of diet uptake, a known major modulator of plasma lipid profile.

Conclusions

Our retrospective study revealed two different lipid profiles in SCC and SCA Guadeloupien cohorts, also different from their GGP. Our sickle genotype-based analysis revealed that SCA mean TG level was higher compared to both SCC and GGP, and furthermore was independent of HU treatment, hemolysis, age, gender, BMI, abdominal obesity and clinical nutritional status. Unless for TG level, the study confirmed a female gender effect on lipids, apoA and apoB levels in both sickle cell genotypes, where a similar abdominal obesity was observed, almost exclusively encountered in females. The search for lipid biomarkers of SCD complications revealed that TG level ≥ 1.50 g/l and Non HDL-C level ≥ 1.30 g/l were linked with more frequent positive history of ACS in SCA patients and more frequent positive history of OTN in SCC patients, respectively.

Abbreviations

ACS: Acute chest syndrome; AO: Abdominal obesity following International Diabetes Federation definition; Apo: Apolipoprotein; AST: Aspartate aminotransferase; Bil: Total bilirubin; BMI: Body mass index; ESC/EAS: European Society of Cardiology/European Atherosclerosis Society; FG: Fasting glycemia; GGP: Guadeloupien general population; Hb: Hemoglobin; HbS: hemoglobin S; HDL-C: HDL-Cholesterol; HU: Hydroxyurea; LDH: Lactate dehydrogenase; LDL-C: LDL-Cholesterol; NHANES: National Health and Nutrition Examination Surveys; NoACS: Absence of acute chest syndrome history; Non HDL-C: Non HDL-Cholesterol; NoOTN: Absence of osteonecrosis history; NoVOC: Absence of hospitalized vaso-occlusive crisis history; OTN: Osteonecrosis; PLT: Platelet; RBCs: Red blood cells count; RET: Reticulocytes; SCA: Sickle cell anemia; SCC: Sickle cell SC disease; SCD: Sickle cell disease; SD: Standard deviation; TC: Total cholesterol; TG: Triglycerides; VOC: Vaso-occlusive crisis; WBC: White blood cell counts; WHR: Waist-to-hip ratio.

Acknowledgments

The authors would like to express their sincere gratitude to all the patients who agreed to participate in this study.

Funding

This paper was not supported by any external grant.

Availability of data and materials

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author.

Authors' contributions

This work is the result of collaboration between all the authors. The study was designed by MR, PC, YL, MDHD, BT, MLLM, VT, NL, YL, DM, MEJ performed the acquisition of data. MLLM, BT, MR, PC performed the analysis, MLLM interpreted the data and wrote the paper reviewed by MR and PC. Final approval of the version was given by all authors: MLLM, PC, YL, NL, MDHD, VT, MEJ, DM, BT, MR.

Ethics approval and consent to participate

All patients had been informed about the purpose and procedures of this study, for which they had given a written consent in accordance with the guidelines set by the Declaration of Helsinki. The study was approved by the Regional Ethics Committee (CPP Sud/Ouest: Outre Mer III, Bordeaux, France, registration number: 2010-A00244-35).

Consent for publication

All authors gave written consent for publication.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Author details

¹Université des Antilles, CHU de Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, Université Sorbonne Paris Cité, Université Paris Diderot, Inserm, INTS, Unité Biologie Intégrée du Globule Rouge UMR_S1134, laboratoire d'Excellence GR-Ex, Paris, France. ²Centre d'Investigation Clinique Antilles Guyane, Inserm/DGOS CIC 14-24, enceinte de l'Institut Pasteur, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, France. ³Institut Universitaire de France, Paris, France. ⁴Laboratoire LIBM EA7424, Equipe « Biologie Vasculaire et du Globule Rouge », Laboratoire d'Excellence GR-Ex, Université de Lyon, Lyon, France. ⁵Unité Transversale de la Drépanocytose, CHU de Pointe à Pitre, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, France. ⁶UMR Inserm 1134, Hôpital Ricou, CHU de Pointe-à-Pitre, 97 157 Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, France.

Received: 22 November 2017 Accepted: 27 February 2018

Published online: 05 March 2018

References

1. Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. *Lancet*. 2010;376:2018–31.

2. Schnog JB, Duits AJ, Muskiet FAJ, ten Cate H, Rojer RA, Brandjes DPM. Sickle cell disease; a general overview. *Neth J Med*. 2004;62:364–74.
3. Lionnet F, Hammoudi N, Stojanovic KS, Avellino V, Grateau G, Giroit R, Haymann JP. Hemoglobin sickle cell disease complications: a clinical study of 179 cases. *Haematologica*. 2012;97:1136–41.
4. Lemonne N, Lamarre Y, Romana M, Hardy-Dessources MD, Lionnet F, Waltz X, Tarer V, Mougrenel D, Tressières B, Lalanne-Mistrih M-L, Etienne-Julan M, Connes P. Impaired blood rheology plays a role in the chronic disorders associated with sickle cell-hemoglobin C disease. *Haematologica*. 2014;99:74–5.
5. Sasaki J, Waterman MR, Cottam GL. Decreased apolipoprotein A-I and B content in plasma of individuals with sickle cell anemia. *Clin Chem*. 1986;32:226–7.
6. Rahimi Z, Merat A, Haghshenas M, Madani H, Rezaei M, Nagel RL. Plasma lipids in Iranians with sickle cell disease: hypocholesterolemia in sickle cell anemia and increase of HDL-cholesterol in sickle cell trait. *Clin Chim Acta*. 2006;365:217–20.
7. Zorca S, Freeman L, Hildesheim M, Allen D, Remaley AT, Taylor JG, Kato GJ. Lipid levels in sickle-cell disease associated with haemolytic severity, vascular dysfunction and pulmonary hypertension. *Br J Haematol*. 2010;149:436–45.
8. Seixas MO, Rocha LC, Carvalho MB, Menezes JF, Lyra IM, Nascimento VML, Couto RD, Atta AM, Reis MG, Goncalves MS. Levels of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) among children with steady-state sickle cell disease. *Lipids Health Dis*. 2010;9:1–9.
9. Shores J, Peterson J, VanderJagt D, Glew RH. Reduced cholesterol levels in African-American adults with sickle cell disease. *J Natl Med Assoc*. 2003;95:813–7.
10. Buchowski MS, Swift LL, Akohoue SA, Shankar SM, Flakoll PJ, Abumrad N. Defects in postabsorptive plasma homeostasis of fatty acids in sickle cell disease. *J Parenter Enter Nutr*. 2007;31:263–8.
11. Yuditkaya S, Tumbin A, Hoehn GT, Wang G, Drake SK, Xu X, Ying S, Chi AH, Remaley AT, Shen RF, Munson PJ, Suffredini AF, Kato GJ. Proteomic identification of altered apolipoprotein patterns in pulmonary hypertension and vasculopathy of sickle cell disease. *Blood*. 2009;113:1122–8.
12. Aleluia MM, da Guarda CC, Santiago RP, Fonseca TC, Neves FI, de Souza RQ, Farias LA, Pimenta FA, Fiuzza LM, Pitanga TN, Ferreira JR, Adorno EV, Cerqueira BA, Gonçalves MS. Association of classical markers and establishment of the dyslipidemic sub-phenotype of sickle cell anemia. *Lipids Health Dis*. 2017;16:74.
13. Lamarre Y, Lalanne-Mistrih M-L, Romana M, Lemonne N, Mougrenel D, Waltz X, Tressières B, Etienne-Julan M, Tarer V, Hardy-Dessources MD, Connes P. Male gender, increased blood viscosity, body mass index and triglyceride levels are independently associated with systemic relative hypertension in sickle cell anemia. *PLoS One*. 2013;8:1–6.
14. Ataga KI, Hinderliter A, Brittain JE, Jones S, Xu H, Cai J, Kim S, Pritchard KA, Hillery CA. Association of pro-inflammatory high-density lipoprotein cholesterol with clinical and laboratory variables in sickle cell disease. *Hematology*. 2015;20:289–96.
15. Ji X, Feng Y, Tian H, Meng W, Wang W, Liu N, Zhang J, Wang L, Wang J, Gao H. The mechanism of Proinflammatory HDL generation in sickle cell disease is linked to cell-free hemoglobin via Haptoglobin. *PLoS One*. 2016;11:e0164264.
16. Ephraim RK, Adu P, Ake E, Agbodzakey H, Adoba P, Cudjoe O, Agoni C. Normal non-HDL cholesterol, low Total cholesterol, and HDL cholesterol levels in sickle cell disease patients in the steady state: a case-control study of Tema Metropolis. *J Lipids*. 2016;2016:1–5.
17. Pi-Sunyer FX, Becker DM, Bouchard C, Carleton RA, Colditz GA, Dietz WH, Foreyt JP, Garrison RJ, Grundy SC, Hansen BC, Higgins M, Hill JO, Howard BV, Klesges RC, Kuczmarski RJ, Kumanyika S, Legako RD, T. Prewitt E, Rocchini AP, Smith PL, Snetselaar LG, Sowers JR, Weintraub M, Williamson DF, G. Wilson T. Executive summary: clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults –the evidence report. National Institutes of Health. *Obes Res*. 1998;6(Suppl 2):515–2095.
18. Amato MC, Guarnotta V, Giordano C. Body composition assessment for the definition of cardiometabolic risk. *J Endocrinol Investig*. 2013;36:537–43.
19. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. IDF epidemiology task force consensus group. The metabolic syndrome—a new worldwide definition. *Lancet*. 2005;366:1059–62.
20. Foucan L, Kangambega P, Ekouévi DK, Rozet J, Bangou-Brédent J. Lipid profile in an adult population in Guadeloupe. *Diabetes Metab*. 2000;26:473–80.
21. Daigre JL, Atallah A, Boissin JL, Jean-Baptiste G, Kangambega P, Chevalier H, Balkau B, Smadja D. The prevalence of overweight and obesity, and distribution of waist circumference, in adults and children in the French overseas territories: the PODIUM survey. *Diabetes Metab*. 2012;38:404–11.
22. Mukisi-Mukaza M, Elbaz A, Samuel-Leborgne Y, Kéclard L, Le Turdu-Chicot C, Christophe-Duchange E, Méral G. Prevalence, clinical features, and risk factors of osteonecrosis of the femoral head among adults with sickle cell disease. *Orthopedics*. 2000;23:357–63.
23. Mukisi-Mukaza M, Saint Martin C, Etienne-Julan M, Donkerwolcke M, Burny ME, Burny F. Risk factors and impact of orthopaedic monitoring on the outcome of avascular necrosis of the femoral head in adults with sickle cell disease: 215 patients case study with control group. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2011;97:814–20.
24. Lamarre Y, Romana M, Waltz X, Lalanne-Mistrih M-L, Tressières B, Divialle-Doumido L, Hardy-Dessources MD, Vent-Schmidt J, Petras M, Broquere C, Maillard F, Tarer V, Etienne-Julan M, Connes P. Hemorheological risk factors of acute chest syndrome and painful vaso-occlusive crisis in children with sickle cell disease. *Haematologica*. 2012;97:1641–7.
25. Ballas SK, Larner J, Smith ED, Surrey S, Schwartz E, Rappaport EF. Rheologic predictors of the severity of the painful sickle cell crisis. *Blood*. 1988;72:1216–23.
26. Nouriaie M, Lee JS, Zhang Y, Kaniat S, Zhao X, Xiong Z, Oriss TB, Zeng Q, Kato GJ, Gibbs JS, Hildesheim ME, Sachdev V, Barst RJ, Machado RF, Hassell KL, Little JA, Schraufnagel DE, Krishnamurti L, Novelli E, Gircis RE, Morris CR, Rosenzweig EB, Badesch DB, Lanzkron S, Castro OL, Goldsmith JC, Gordeuk VR, Gladwin MT, Walk-PHAST Investigators and Patients. The relationship between the severity of hemolysis, clinical manifestations and risk of death in 415 patients with sickle cell anemia in the US and Europe. *Haematologica*. 2013;98:464–72.
27. Catapano AL, Reiner Z, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, Agewall S, Alegria E, Chapman MJ, Durrington P, Erdine S, Halcox J, Hobbs R, Kjekshus J, Filardi PP, Riccardi G, Storey RF, Wood D. ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: the task force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European atherosclerosis society (EAS). *Eur Heart J*. 2011;32:1769–818.
28. Ozturk OH, Can Y, Yonden Z, Motor S, Oktay G, Kaya H, Aslan M. Lipoprotein subfraction profile and HDL-associated enzymes in sickle cell disease patients. *Lipids*. 2013;48:1217–26.
29. Karl JP, Smith TJ, Wilson MA, Bukhari AS, Pasiakos SM, McClung HL, Liberman HR. Altered metabolic homeostasis is associated with appetite regulation during and following 48-h of severe energy deprivation in adults. *Metabolism*. 2016;65:416–27.
30. Veiga GR, Ferreira HS, Sawaya AL, Calado J, Florêncio TM. Dyslipidaemia and undernutrition in children from impoverished areas of Maceió, state of Alagoas, Brazil. *Int J Environ Res Public Health*. 2010;7:4139–51.
31. Singhal A, Davies P, Sahota A, Thomas PW, Serjeant GR. Resting metabolic rate in homozygous sickle cell disease. *Am J Clin Nutr*. 1993;57:32–4.
32. Prasad AS. Malnutrition in sickle cell disease patients. *Am J Clin Nutr*. 1997;66:423–4.
33. Cole CB, Nikpay M, Lau P, Stewart AFR, Davies RW, Wells GA, Dent R, McPherson R. Adiposity significantly modifies genetic risk for dyslipidemia. *J Lipid Res*. 2014;55:2416–22.
34. Oka R, Kobayashi J, Miura K, Nagasawa S, Moriuchi T, Hifumi S, Miyamoto S, Kawashiri MA, Nohara A, Inazu A, Takeda Y, Mabuchi H, Yagi K, Yamagishi M. Difference between fasting and nonfasting triglyceridemia: the influence of waist circumference. *J Atheroscler Thromb*. 2009;16:633–40.
35. Sahade V, França S, Adan LF. The influence of weight excess on the postprandial lipemia in adolescents. *Lipids Health Dis*. 2013;12:1–7.
36. Fan H, Li X, Zheng L, Chen X, Lan Q, Wu H, Ding X, Qian D, Shen Y, Yu Z, Fan L, Chen M, Tomlinson B, Chan P, Zhang Y, Liu Z. Abdominal obesity is strongly associated with cardiovascular disease and its risk factors in elderly and very elderly community-dwelling Chinese. *Sci Rep*. 2016;6:1–9.
37. Woods KF, Ramsey LT, Callahan LA, Mensah GA, Litaker MS, Kutlar A, Barbeau P, Gutin B. Body composition in women with sickle cell disease. *Ethn Dis*. 2001;11:30–5.
38. Wang L, Gill R, Pedersen TL, Higgins LJ, Newman JW, Rutledge JC. Triglyceride-rich lipoprotein lipolysis releases neutral and oxidized FFAs that induce endothelial cell inflammation. *J Lipid Res*. 2009;50:204–13.
39. Monnet PD, Kane F, Konan-Waldhet D, Akpona S, Kora J, Diafouka F, Sess D, Sangare A, Yapo AE. Evaluation of atherogenic risk in homozygous sickle cell disease: study of lipid and apolipoprotein AI and B plasma levels. *Bull Soc Pathol Exot*. 1996;89:278–81.

40. Monnet D, Edjeme NE, Ndri K, Hauhouot-Attoungbre ML, Ahibo H, Sangare A, Yapo AE. Lipoprotein (a) and acute phase inflammation proteins in homozygous sickle cell disease. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2002;60:101–3.
41. Milner PF, Kraus AP, Sebes JJ, Sleeper LA, Dukes KA, Embury SH, Bellevue R, Koshy M, Moohr JW, Smith J. Sickle cell disease as a cause of osteonecrosis of the femoral head. *N Engl J Med*. 1991;325:1476–81.
42. Moskal JT, Topping RE, Franklin LL. Hypercholesterolemia: an association with osteonecrosis of the femoral head. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)*. 1997;26:609–12.
43. Zhao DW, Yu M, Hu K, Wang W, Yang L, Wang BJ, Gao XH, Guo YM, Xu YQ, Wei YS, Tian SM, Yang F, Wang N, Huang SB, Xie H, Wei XW, Jiang HS, Zang YK, Ai J, Chen YL, Lei GH, Li YJ, Tian G, Li ZS, Cao Y, Ma L. Prevalence of nontraumatic osteonecrosis of the femoral head and its associated risk factors in the Chinese population: results from a nationally representative survey. *Chin Med J*. 2015;128:2843–50.
44. Miyanishi K, Yamamoto T, Iriya T, Noguchi Y, Sugioka Y, Iwamoto Y. Increased level of apolipoprotein B/apolipoprotein A1 ratio as a potential risk for osteonecrosis. *Ann Rheum Dis*. 1999;58:514–6.
45. Kuroda T, Tanabe N, Wakamatsu A, Takai C, Sato H, Nakatsue T, Wada Y, Nakano M, Narita I. High triglyceride is a risk factor for silent osteonecrosis of the femoral head in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol*. 2015; 34:2071–7.
46. Bergmann K. Non-HDL cholesterol and evaluation of cardiovascular disease risk. *E J I F C C*. 2010;21:64–7.
47. Jaskolowski J, Ritz C, Sjödin A, Astrup A, Szecsi PB, Stender S, Hjorth MF. Weekday variation in triglyceride concentrations in 1.8 million blood samples. *J Lipid Res*. 2017;58:1204–13.

Submit your next manuscript to BioMed Central
and we will help you at every step:

- We accept pre-submission inquiries
- Our selector tool helps you to find the most relevant journal
- We provide round the clock customer support
- Convenient online submission
- Thorough peer review
- Inclusion in PubMed and all major indexing services
- Maximum visibility for your research

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



- ✚ Objectif n°3 : Rechercher l'existence d'un lien potentiel chez des adultes drépanocytaires SS, entre des facteurs hémorhéologiques, lipidiques, hématologiques, et la présence ou non d'une HTA.

L'hypertension artérielle touche largement les patients drépanocytaires, qui développent une insuffisance rénale chronique et une néphropathie précoce et d'exploration difficile. Notre étude a cherché à identifier des facteurs biologiques associés à cette HTA chez des patients adultes SS. Elle a étudié le profil lipidique, la viscosité sanguine, des facteurs hématologiques et hémolytiques, chez ceux ayant présenté ou non des CVO ou STA sur l'année précédent notre étude, en fonction ou non de la présence d'une HTA relative, propre aux patients SS. L'HTA relative chez le patient drépanocytaire a été définie, selon Gordeuk, par l'existence d'une tension artérielle systémique située entre 120 et 139 mmHg ou d'une tension artérielle diastolique entre 70 et 89 mmHg.

Cette étude a pu ainsi mettre en évidence pour la première fois que les taux de TG (OR: 9.19; 95% IC 2.29 à 36.95, $p < 0.01$), l'IMC (OR: 1.37; 95% IC 1.14 à 1.64, $p < 0.01$), le sexe masculin (OR: 3.49; 95% IC 1.20 à 10.16, $p < 0.05$) et la viscosité sanguine (OR: 1.35; 95% IC 1.01 à 1.81, $p < 0.05$), étaient des facteurs de risque indépendants d'HTA relative chez les adultes SS. Les patients SS avec $TG \geq 1.50$ g/L avaient également une plus grande proportion d'antécédent de CVO (33.3 vs 11.9%, $p < 0.05$) et de STA (25.0 vs 7.1%, $p < 0.05$) que ceux avec $TG < 1.50$ g/L, sans lien retrouvé entre ces complications et la présence de cette HTA relative.

Male Gender, Increased Blood Viscosity, Body Mass Index and Triglyceride Levels Are Independently Associated with Systemic Relative Hypertension in Sickle Cell Anemia

Yann Lamarre^{1,2,3,5}, Marie-Laure Lalanne-Mistrih^{1,2,4,5}, Marc Romana^{1,2,3}, Nathalie Lemonne⁵, Daniele Mougengel⁵, Xavier Waltz^{1,2,3,6}, Benoît Tressières⁴, Maryse Etienne-Julan^{1,2,5}, Vanessa Tarer⁵, Marie-Dominique Hardy-Dessources^{1,2,3}, Philippe Connes^{1,2,3*}

1 Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale UMR 665, Hôpital Ricou, Centre Hospitalier Universitaire de Pointe-à-Pitre, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, **2** Université des Antilles et de la Guyane, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, **3** Laboratoire d'excellence GR-Ex «The red cell: from genesis to death», PRES Sorbonne Paris Cité, Paris, France, **4** Centre d'Investigation Clinique - Epidémiologie Clinique 802 Inserm Antilles-Guyane, Centre Hospitalier Universitaire de Pointe-à-Pitre, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, **5** Unité Transversale de la Drépanocytose, Centre Hospitalier Universitaire de Pointe-à-Pitre, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, **6** Laboratoire EA3596, Département de Physiologie, Université des Antilles et de la Guyane, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe

Abstract

Patients with sickle cell anemia (SCA) have usually lower diastolic, systolic and mean blood pressure (BP) than the general population. However, BP values $\geq 120/70$ mmHg considerably increase the risk for acute and chronic complications in SCA. The aim of this study was to identify biological factors associated with relative hypertension in adults with SCA. We compared the hematological, lipid and hemolytic profiles, as well as blood viscosity, between SCA patients with normal BP ($< 120/70$ mmHg, $n = 54$) and those with relative hypertension ($BP \geq 120/70$ mmHg, $n = 43$). Our results demonstrated that male gender (OR: 3.49; 95% CI 1.20 to 10.16, $p < 0.05$), triglycerides (OR: 9.19; 95% CI 2.29 to 36.95, $p < 0.01$), blood viscosity (OR: 1.35; 95% CI 1.01 to 1.81, $p < 0.05$) and body mass index (OR: 1.37; 95% CI 1.14 to 1.64, $p < 0.01$) were independent risks factors for relative hypertension in SCA. No association was found between the BP status and the positive history of painful vaso-occlusive crisis or acute chest syndrome. An association between triglycerides level and the occurrence of these two major acute complications was detected. Our study suggests that male gender, increased triglycerides level, BMI and blood viscosity could increase the risk for developing relative hypertension in SCA. In addition, our results support a role of moderately elevated triglycerides in the pathophysiology of vaso-occlusive events.

Citation: Lamarre Y, Lalanne-Mistrih M-L, Romana M, Lemonne N, Mougengel D, et al. (2013) Male Gender, Increased Blood Viscosity, Body Mass Index and Triglyceride Levels Are Independently Associated with Systemic Relative Hypertension in Sickle Cell Anemia. PLoS ONE 8(6): e66004. doi:10.1371/journal.pone.0066004

Editor: Wilbur Lam, Emory University/Georgia Institute of Technology, United States of America

Received: February 23, 2013; **Accepted:** May 1, 2013; **Published:** June 13, 2013

Copyright: © 2013 Lamarre et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: No current external funding sources for this study.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: pconnes@yahoo.fr

These authors contributed equally to this work.

Introduction

Patients with sickle cell anemia (SCA) have lower systolic, diastolic and mean blood pressure (BP) compared with age- and sex-matched controls [1,2,3,4]. The prevalence of hypertension (HTN; $BP \geq 140/90$ mmHg) is lower in SCA than in the general population [1,2,4,5]. At that time, no specific recommendations have been proposed by the United States Preventive Services Task Force (USPSTF) regarding the defining criteria (and management) of HTN in SCA. This is a major concern since increased systolic BP (even if lower than 140 mmHg) has been associated with higher risk of stroke [4,6,7] and mortality [3] in SCA. However, recently, Gordeuk et al [5] showed that relative HTN (rHTN), defined as $BP \geq 120/70$ mmHg in their study, and that HTN ($BP \geq 140/90$), considerably increased the risk for pulmonary hypertension and renal dysfunction.

According to the Poiseuille law, blood viscosity is a key component of vascular resistance and mean BP. Several studies, in non-SCA population, reported an association between increased blood viscosity and HTN [8,9]. Although blood viscosity is usually lower in SCA population compared to the general population [10], elevated blood viscosity increases the risk for vaso-occlusive events in SCA [11,12,13]. But, surprisingly, the association of BP and blood viscosity has not been studied so far in SCA and it remains unknown if rHTN, as defined by Gordeuk et al [5] or HTN, could be related to alterations in blood viscosity.

Moreover, a recent growing interest has been devoted to the study of lipid levels in SCA because they might be involved in the pathophysiology of several complications. The lipid profile differs significantly between SCA patients and the general population [14,15,16], with SCA patients usually having low levels of total cholesterol and low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C),

which is consistent with the virtual absence of atherosclerosis among SCA patients [16]. But, several studies also reported decreased high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-C) level in SCA patients [16,17], which may lead to an increased risk for endothelial dysfunction in this population [16,18]. This association could be related to the release of oxidized fatty acids during lipolysis, leading to endothelial cell inflammation [19]. Moreover, the atherogenic index of plasma (AIP = $\log(\text{TG}/\text{HDL-C})$, with TG corresponding to triglycerides level) is increased in SCA and is also a factor of endothelial dysfunction [16]. However, it remains undefined whether this specific lipid profile could favor the development of rHTN or HTN in SCA.

The aim of the present study was to identify biological factors associated with systemic rHTN or HTN (as defined in a previous study [5]) in SCA adult patients to gain insight into the pathophysiology of HTN in this disease. We hypothesized that blood viscosity and lipids profiles are associated with systemic rHTN in adults with SCA.

Materials and Methods

Patients

The study took place between May 2010 and December 2011, and included 97 adults with SCA (M/F = 43/54) regularly followed by the Sickle Cell Center at the Academic Hospital of Pointe-à-Pitre (Guadeloupe, French West Indies). All patients were in steady-state condition at the time of the study: no blood transfusions in the previous three months and absence of acute episodes (infection, vaso-occlusive crisis (VOC), acute chest syndrome (ACS), stroke, priapism) at least two months before inclusion into the study. SCA patients under treatment modifying blood rheology were also excluded, except for those on hydroxyurea (HU).

All patients were informed about the purpose and procedures of the study, and gave their written consent. The study was conducted in accordance with the guidelines set by the Declaration of Helsinki and was approved by the Regional Ethics Committee (CPP Sud/Ouest Outre Mer III, Bordeaux, France, registration number: 2010-A00244-35).

Clinical Parameters

Height (cm) and weight (kg) were measured for all patients. Body mass index was calculated ($\text{BMI} = \text{weight}/\text{height}^2$ (Kg/m^2)). Systolic and diastolic BPs were measured as recommended [20]. BP values $<120/70$ mmHg were considered as normal (NORM group; $n = 54$). Patients with BP values $\geq 120/70$ mmHg and $<140/90$ mmHg were considered as having rHTN ($n = 38$), and those with BP levels $\geq 140/90$ mmHg had HTN ($n = 5$) [5]. Because of the limited number of patients in the latter group, the two groups with either rHTN or HTN were pooled to create a single group (HTN group; $n = 38+5 = 43$). Pulse pressure (PP) was calculated for the two groups as the difference between systolic and diastolic BP. Heart rate (HR) and oxygen saturation (SpO₂) were measured for each patient. Charts were retrospectively reviewed by two physicians to record all ACS and VOC episodes, as defined in a previous study [11], within the previous year of blood sampling.

Genetic Parameters

SCA diagnosis was made by isoelectrofocusing (Multiphor IITM System, GE HEALTH CARE, Buck, UK), citrate agar electrophoresis, and cation-exchange high performance liquid chromatography (VARIANTTM, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA), and was confirmed by DNA studies [21]. Polymerase Chain

Reaction (Gap-PCR) was used to detect 6 common alpha-thalassemia deletions [22,23].

Biological Parameters

Blood samples were drawn after a 12-hrs overnight fasting, between 8:00 a.m. and 10:00 a.m., and were immediately used for analyses. Measurements of serum lipids levels (total cholesterol, LDL-C, HDL-C and triglycerides (TG)) and hemolytic markers (bilirubine, BIL; lactate dehydrogenase, LDH; aspartate aminotransferase, AST) were performed using standard biochemistry, and AIP was calculated. TG level below 1.69 mM is currently considered as normal. A value of AIP greater than 0.21 suggests increased cardiovascular risk [24,25,26]. A principal component analysis was used to derive a hemolytic component from the 4 hemolytic markers measured (i.e. BIL, LDH, AST and reticulocytes expressed in percentage). This standard statistical data reduction approach uses conventional clinical measurements to explain the maximum-shared variance among these indirect measures of hemolysis [27]. The hemolytic component has recently been demonstrated to reflect intravascular hemolysis assessed by measurements of the cell-free plasma hemoglobin [27].

Hemoglobin concentration (Hb), hematocrit (Hct), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), reticulocytes (RET), red blood cell (RBC), platelet (PLT) and white blood cell (WBC) counts were determined using hematology analyzer (Max M-Retic, Coulter, USA).

Blood viscosity was measured after complete oxygenation of the blood, at native Hct, at 25°C and at a shear rate of 225 s^{-1} using a cone/plate viscometer (Brookfield DVII+ with CPE40 spindle, Brookfield Engineering Labs, Natick, MA) [28].

Statistical Analysis

Results are presented as means \pm SD. Unpaired Student's t-test and chi-square test were used for continuous covariates and for categorical covariates, respectively, to compare biological parameters between the different groups. Pearson test was used for correlations. Principal component analysis was used to derive the hemolytic component.

To identify risk factors associated with HTN in SCA patients, we used a binary (i.e., presence or absence of HTN) multivariate logistic model. Variables of interest at $p < 0.10$ by univariate analysis were included as covariates in the multivariate regression models. Significance level was defined as $p < 0.05$. Analyses were conducted using SPSS (v. 20, IBM SPSS Statistics, Chicago, IL).

Results

General Characteristics in NORM and HTN Groups

Table 1 shows the general characteristics of the two groups where no difference was observed for age, SpO₂, HR, percentages of HbS and HbF, and frequency of patients receiving hydroxyurea treatment. In addition, the proportion of patients with a positive history of VOC or ACS was not different between the two groups. HTN group had higher PP, weight and BMI, compared to the NORM group ($p < 0.01$). Although the difference did not reach statistical significance, the gender distribution tended to differ between the two groups ($p < 0.10$).

Hematological Parameters and Hemolytic Profile in NORM and HTN Groups

Table 2 shows the results of the hematological and hemolytic parameters. The two groups were not different regarding alpha-thalassemia frequency, WBC and PLT counts, MCV and MCHC. In contrast, RBC count, Hct and Hb levels were greater in the

Table 1. General characteristics of the SCA patients classified according to hypertension.

	NORM	HTN
Sex (M/F)	20/34	23/20
Age (years)	33.9±13.1	35.4±12.7
Height (cm)	169±8	171±10
Weight (kg)	58.7±7.4	66.1±11.1**
Body mass index (kg/m ²)	20.5±2.5	22.7±3.7**
HbS (%)	84.4±5.8	83.1±5.6
HbF (%)	7.9±5.8	9.1±6.0
HU (%)	24.0	14.3
SpO ₂ (%)	96.6±2.7	96.6±3.0
PP (mmHg)	44.3±6.7	49.2±10.2**
HR (bpm)	76±10	76±12
Positive history of VOC (%)	13.0	16.3
Positive history of ACS (%)	9.3	9.3

Means ± SD. NORM group, patients with blood pressure values below 120/70 mmHg; HTN group, patients with BP values >120/70 mmHg; HU, hydroxyurea; SpO₂, oxygen saturation; PP, pulse pressure; HR, heart rate; VOC, vaso-occlusive crisis; ACS, acute chest syndrome. Significant difference (**p<0.01).

doi:10.1371/journal.pone.0066004.t001

HTN group in comparison with the NORM group (p<0.01). Except for a trend toward lower bilirubin concentration in the HTN group compared to the NORM group (p<0.1), the other markers were not different between the two groups. However, the hemolytic component derived from the 4 hemolytic markers was lower in the HTN group than in the NORM group (p<0.05). The hemolytic component had a mean of 0 (SD = 1.0) and predicted

Table 2. Hematological parameters and hemolytic profile in SCA patients according to hypertension.

	NORM	HTN
alpha-thalassemia (%)	44.4	41.9
RBC (10 ¹² /L)	2.7±0.5	3.0±0.7**
WBC (10 ⁹ /L)	9.4±2.4	10.2±2.7
PLT (10 ⁹ /L)	384.8±118.8	412.2±140.6
Hb (g/dL)	8.1±1.2	8.8±1.3**
Hct (%)	22.7±3.3	24.7±3.8**
MCV (fl)	84.6±9.9	84.3±10.1
MCHC (pg)	30.3±3.8	30.1±3.8
RET (%)	217.8±74.8	233.1±73.7
BIL mM	61.2±39.1	56.2±45.9
LDH (UI/L)	510.5±148.3	472.1±157.2
AST (UI/L)	40.7±13.7	36.0±13.0
Hemolytic component (relative unit)	0.20±0.99	-0.24±0.97*

Means ± SD. NORM group, patients with blood pressure values below 120/70 mmHg; HTN group, patients with BP values >120/70 mmHg; RBC, red blood cell count; WBC, white blood cell count; PLT, platelet count; Hb, hemoglobin; Hct, hematocrit; MCV, mean cell volume; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; RET, reticulocytes; BIL, bilirubin; LDH, lactate dehydrogenase; AST, aspartate aminotransferase. Significant difference (*p<0.05; **p<0.01).

doi:10.1371/journal.pone.0066004.t002

49.2% of the variation among all four variables (Eigenvalue = 1.97).

Lipids Profile and Blood Viscosity in NORM and HTN Groups

Total cholesterol, HDL-C and LDL-C did not differ between the two groups (Table 3). In contrast, TG levels (p<0.01) and blood viscosity (p<0.05) were greater in the HTN group than in the NORM group. AIP was not significantly different between the two groups (p<0.1) but a significant greater proportion of patients with AIP>0.21, which may suggest higher cardiovascular risk [24,25,26], was detected in the HTN group (14.6%) than in the NORM group (7.3%; p<0.05). AIP correlated with HbF (r = -0.26; p<0.05) and PP (r = 0.25; p<0.05).

At that time, no large study has identified lipids cut-off values above which SCA patients might be at risk for cardiovascular events. The American Heart Association defined cut-off values in the general population with TG level below 1.69 mM being normal. Accordingly to this classification, eighty-five patients had normal TG level, eleven patients had TG level between 1.70 and 2.25 mM (i.e. borderline-high concentration) and one had TG level above 2.25 mM (i.e. high concentration). The proportion of patients with a positive history of VOC or ACS within the previous year was compared between patients with normal TG and those with borderline/high TG. Compared to the group with normal TG level, the group with borderline/high TG level exhibited a greater proportion of patients with a positive history of VOC (33.3 vs 11.9%, p<0.05) and ACS (25.0 vs 7.1%, p<0.05), respectively.

Multivariate Analysis

A binary multivariate logistic model was used to identify factors associated with HTN in SCA patients and included gender, BMI, TG and blood viscosity. Hb, Hct, hemolytic component or RBC counts were not included in the model to avoid co-linearity effects with blood viscosity. BMI and TG levels were not significantly correlated. PP was not included in the model because it contains some information on the absolute BP level [29,30]. The overall model was statistically significant (chi-square = 32.90; df = 4; p<0.001) and each of the four parameters included in the model were significantly associated with HTN: male gender (OR: 3.49; 95%CI 1.20 to 10.16, p<0.05), TG (OR: 9.19; 95% CI 2.29 to 36.95, p<0.01), blood viscosity (OR: 1.35; 95% CI 1.01 to 1.81, p<0.05) and BMI (OR: 1.37; 95% CI 1.14 to 1.64, p<0.01).

Table 3. Lipid profile and blood viscosity in SCA patients classified according to hypertension.

	NORM	HTN
Total cholesterol (mM)	3.1±0.8	3.2±0.7
HDL-C (mM)	1.0±0.3	0.9±0.1
LDL-C (mM)	1.7±0.6	1.8±0.5
TG (mM)	1.0±0.3	1.2±0.6**
AIP	0.01±0.21	0.10±0.24
Blood viscosity (mPa/s)	5.8±0.8	6.3±1.3*

Means ± SD. NORM group, patients with blood pressure values below 120/70 mmHg; HTN group, patients with BP values >120/70 mmHg; HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein-cholesterol; TG, triglycerides; AIP, atherogenic index of plasma. Significant difference (*p<0.05; **p<0.01).

doi:10.1371/journal.pone.0066004.t003

Because blood viscosity could only be modestly affected by the hemolytic rate [31], a second model was tested and included the previous four covariates plus the hemolytic component. This second model was still significant (chi-square = 32.53; $df = 5$; $p < 0.001$) and retained the same covariates as in the previous model: the hemolytic component was not significant. Finally, although the frequency of HU treated patients between the two groups were not different, we tested a third binary multivariate logistic model including the four co-variables of the first model plus the frequency of patients receiving HU treatment since HU therapy may modulate hematology and blood rheology. We obtained the same results than with the model without HU: i.e., 1) the model was significant (chi-square = 33.679; $df = 5$; $p < 0.001$) and 2) male gender (OR: 4.20; 95% CI 1.32 to 13.31, $p < 0.05$), TG (OR: 6.89; 95% CI 1.58 to 30.11, $p < 0.01$), blood viscosity (OR: 1.57; 95% CI 1.02 to 2.73, $p < 0.05$) and BMI (OR: 1.48; 95% CI 1.19 to 1.85, $p < 0.01$) were still significantly associated with HTN. In contrast, HU treatment was not significantly associated with HTN (OR: 1.37; 95% CI 0.35 to 5.44).

Discussion

The present study demonstrates for the first time that 1) male gender, BMI, TG level and blood viscosity are independently associated with relative HTN in SCA; 2) relative HTN is not associated with greater VOC or ACS occurrence; 3) borderline/high TG level is associated with greater VOC or ACS occurrence.

The impact of atherogenic indices and lipoproteins in arterial wall thickness and stiffness has been previously evaluated in children and adolescents not affected by SCA and it has been shown that elevated total cholesterol, TG, LDL-C and low HDL-C levels predict subclinical atherosclerosis in adulthood [32,33]. However, the lipid profile of SCA population is unique in that these patients exhibit lower LDL-C and HDL-C levels than the general population but greater TG level and AIP [16]. Although sharing common mechanisms with atherosclerosis, SCA vasculopathy clearly differs in that cholesterol accumulation in arterial wall and atheromas have not been reported [16].

Recently, associations were reported between increased TG level or AIP and endothelial dysfunction in SCA patients [16,18]. These findings suggest that lipids, and more particularly TG level, could play a role in the pathophysiology of several SCA-related complications. High TG level, associated to low HDL-C level, has been demonstrated to have pro-atherogenic, pro-thrombotic and pro-oxidant effects in patients with type 2 diabetes or metabolic syndrome [34]. However, until now, this pathophysiological aspect of SCA has been poorly studied. Our results demonstrated an association between increased TG level and relative HTN or HTN. In addition, the proportion of SCA patients having high AIP was two-fold greater in the HTN group compared to the NORM group. Our findings in SCA adults are in agreement with a recent study conducted in obese and non-obese children showing that increased AIP was associated with pre-hypertension in this population [35]. High TG level and AIP have been both identified in several cardiovascular and autoimmune inflammatory diseases [24,36,37,38]. Although the contribution of TG in the development of cardiac and vascular diseases has been challenged [39], several findings suggest that increased TG level may cause inflammation [19,40] and oxidative stress in non-SCA population [19], hence modulating vascular function. We did not investigate vascular function in the present study. It has been shown that carotid-femoral or carotid-radial pulse wave velocity is usually lower in SCA patients than in healthy subjects demonstrating that arterial stiffness is reduced in the SCA population [41].

Nevertheless, increased PP in the HTN group could reflect greater arterial stiffness in this subgroup of SCA patients [30,42] while the positive correlation detected between AIP and PP supports a possible role of lipids in arterial stiffening in the HTN group.

Because of the low Hct and Hb levels, blood viscosity in SCA patients is usually lower than in the general population [10]. However, compared to healthy subjects, the vascular function of SCA patients is altered [43] suggesting that further impairment in blood rheology could be deleterious for the vascular system [44]. In the present study, blood viscosity was increased in the HTN group compared to the NORM group, and remained independently associated with HTN in the multivariate regression model. The increased blood viscosity in the HTN group was probably the consequence of the lower hemolytic rate, which leads to higher Hb and Hct levels. HU treatment and alpha-thalassemia are known to modulate hemolytic rate and the level of anemia, but the percentage of patients with alpha-thalassemia or receiving HU was not different between the two groups [45,46]. The third binary multivariate logistic model confirmed that HU treatment was not a confounding factor in this study. Whatever the reasons of the increased Hb and Hct levels in the HTN group, the greater blood viscosity may increase vascular resistance and BP [2]. Recently, we reported a positive association between systemic vascular resistance and blood viscosity in children with SCA suggesting that vascular function in this disease is unable to cope with an increase of blood viscosity [44]. We also tested whether the increased TG level could explain the increased blood viscosity in the HTN group but no association between the two parameters was detected ($r = -0.15$; $p = 0.15$). Indeed, both increased TG levels and blood viscosity could be at the origin of relative HTN in SCA.

As a consequence of the increased resting energy expenditure caused by the increased erythropoietic and cardiac activities [47], SCA patients are usually characterized by lower BMI values compared to ethnic-matched population. Indeed, in our study, the mean BMI value of the two groups was lower ($< 25 \text{ kg/m}^2$) than the limit defining overweight. Nevertheless, we reported an independent association between increased BMI and relative HTN, which confirms previous findings in SCA [3,48]. Pegelow et al [3] also demonstrated that BP values were higher in male than in females, which is consistent with our findings showing an independent association between male gender and HTN in the multivariate model. Woods et al [49] previously showed that measurement of BMI only, in SCA, was not informative enough to screen for adiposity and obesity. The authors analyzed the body composition of SCA patients with normal mean BMI (22.6 kg/m^2) and showed a 32.6% fat composition, indicating high levels of adiposity. Since fat accumulation and adipocytes secretion are responsible for many hormonal changes playing a role in the development of vascular dysfunction and HTN in the general population [50,51], we suggest that it could be the case in SCA patients too, even if BMI values are normal. Further studies are needed to better explore the relationship between BMI, hormonal status and relative HTN in SCA.

Rodgers et al [4] previously suggested that relative HTN and acute vaso-occlusive manifestations could be associated but the authors did not address this issue. Our results do not support this latter hypothesis. However, we observed that SCA patients with borderline/high TG level suffered more frequent VOC or ACS events in the previous year compared to those with normal TG level. The underlying mechanism is unknown at this time but the adverse effects of elevated TG on vascular function and inflammation [16] could explain why increased TG level is

associated with VOC and ACS. The pathophysiology of VOC is extremely complex with several interacting factors such as: blood rheology, inflammation, vascular adhesion process, oxidative stress, and now, lipid profile [52]. Further studies are clearly warranted to investigate whether the lipid profile could specifically impact the macro- and microcirculation of SCA patients and ultimately increase the risks for vaso-occlusive events.

Our report clearly suggests that male gender, increased TG level, BMI and blood viscosity could increase the risk for developing relative HTN or HTN. In addition, for the first time, our results support a potential role of moderately elevated TG in the pathophysiology of vaso-occlusive events, thus providing further evidence of a role of lipids in the SCA pathophysiology. Further studies are needed to evaluate the longitudinal associations

between HTN, lipid profile and the occurrence of acute and chronic complications in SCA patients. In addition, nutritional aspects have not been investigated in our study, and vitamin D deficiency has been recently reported to participate in the development of hypertension [53]. Further studies are needed to address this issue.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: YL MLLM MR NL DM BT MEJ MDHD PC. Performed the experiments: YL MR NL DM XW PC. Analyzed the data: YL MLLM MR NL BT VT MDHD PC. Contributed reagents/materials/analysis tools: YL MR MDHD PC. Wrote the paper: YL MLLM MR NL DM XW BT MEJ VT MDHD PC.

References

- Ernst AA, Weiss SJ, Johnson WD, Takakuwa KM (2000) Blood pressure in acute vaso-occlusive crises of sickle cell disease. *South Med J* 93: 590–592.
- Johnson GS (2005) Arterial blood pressure and hyperviscosity in sickle cell disease. *Hematol Oncol Clin North Am* 19: 827–837, vi.
- Pegelow CH, Colangelo L, Steinberg M, Wright EC, Smith J, et al. (1997) Natural history of blood pressure in sickle cell disease: risks for stroke and death associated with relative hypertension in sickle cell anemia. *Am J Med* 102: 171–177.
- Rodgers GP, Walker EC, Podgor MJ (1993) Is “relative” hypertension a risk factor for vaso-occlusive complications in sickle cell disease? *Am J Med Sci* 305: 150–156.
- Gordeuk VR, Sachdev V, Taylor JG, Gladwin MT, Kato G, et al. (2008) Relative systemic hypertension in patients with sickle cell disease is associated with risk of pulmonary hypertension and renal insufficiency. *Am J Hematol* 83: 15–18.
- Ohene-Frempong K, Weiner SJ, Sleeper LA, Miller ST, Embury S, et al. (1998) Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: rates and risk factors. *Blood* 91: 288–294.
- Connes P, Verhac S, Bernaudin F (In press) Advances in understanding the pathogenesis of cerebrovascular vasculopathy in Sickle Cell Anaemia. *Br J Haematol*.
- Meiselman HJ (1999) Hemorheologic alterations in hypertension: chicken or egg? *Clin Hemorheol Microcirc* 21: 195–200.
- Sandhagen B, Frithz G, Waern U, Ronquist G (1990) Increased whole blood viscosity combined with decreased erythrocyte fluidity in untreated patients with essential hypertension. *J Intern Med* 228: 623–626.
- Tripette J, Alexy T, Hardy-Dessources MD, Mouguel D, Beltan E, et al. (2009) Red blood cell aggregation, aggregate strength and oxygen transport potential of blood are abnormal in both homozygous sickle cell anemia and sickle-hemoglobin C disease. *Haematologica* 94: 1060–1065.
- Lamarre Y, Romana M, Waltz X, Lalanne-Mistrih ML, Tressieres B, et al. (2012) Hemorheological risk factors of acute chest syndrome and painful vaso-occlusive crisis in children with sickle cell disease. *Haematologica* 97: 1641–1647.
- Nebor D, Bowers A, Hardy-Dessources MD, Knight-Madden J, Romana M, et al. (2011) Frequency of pain crises in sickle cell anemia and its relationship with the sympatho-vagal balance, blood viscosity and inflammation. *Haematologica* 96: 1589–1594.
- Lemonne N, Connes P, Romana M, Vent-Schmidt J, Bourhis V, et al. (2012) Increased blood viscosity and red blood cell aggregation in a patient with sickle cell anemia and smoldering myeloma. *Am J Hematol* 87: E129.
- Rahimi Z, Merat A, Haghshenas M, Madani H, Rezaei M, et al. (2006) Plasma lipids in Iranians with sickle cell disease: hypocholesterolemia in sickle cell anemia and increase of HDL-cholesterol in sickle cell trait. *Clin Chim Acta* 365: 217–220.
- Shores J, Peterson J, Vanderjagt D, Glew RH (2003) Reduced cholesterol levels in African-American adults with sickle cell disease. *J Natl Med Assoc* 95: 813–817.
- Zorca S, Freeman L, Hildesheim M, Allen D, Remaley AT, et al. (2010) Lipid levels in sickle-cell disease associated with haemolytic severity, vascular dysfunction and pulmonary hypertension. *Br J Haematol* 149: 436–445.
- Seixas MO, Rocha LC, Carvalho MB, Menezes JF, Lyra IM, et al. (2010) Levels of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) among children with steady-state sickle cell disease. *Lipids Health Dis* 9: 91.
- Yuditskaya S, Tumbullin A, Hoehn GT, Wang G, Drake SK, et al. (2009) Proteomic identification of altered apolipoprotein patterns in pulmonary hypertension and vasculopathy of sickle cell disease. *Blood* 113: 1122–1128.
- Wang L, Gill R, Pedersen TL, Higgins LJ, Newman JW, et al. (2009) Triglyceride-rich lipoprotein lipolysis releases neutral and oxidized FFAs that induce endothelial cell inflammation. *J Lipid Res* 50: 204–213.
- Pickering TG, Hall JE, Appel LJ, Falkner BE, Graves J, et al. (2005) Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimen-
- tal animals: Part 1: blood pressure measurement in humans: a statement for professionals from the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research. *Hypertension* 45: 142–161.
- Tarer V, Etienne-Julian M, Diara JP, Belloy MS, Mukizi-Mukaza M, et al. (2006) Sickle cell anemia in Guadeloupean children: pattern and prevalence of acute clinical events. *Eur J Haematol* 76: 193–199.
- Tan AS, Quah TC, Low PS, Chong SS (2001) A rapid and reliable 7-deletion multiplex polymerase chain reaction assay for alpha-thalassemia. *Blood* 98: 250–251.
- Wang W, Ma ES, Chan AY, Prior J, Erber WN, et al. (2003) Single-tube multiplex-PCR screen for anti-3.7 and anti-4.2 alpha-globin gene triplications. *Clin Chem* 49: 1679–1682.
- Dobiasova M (2004) Atherogenic index of plasma [log(triglycerides/HDL-cholesterol)]: theoretical and practical implications. *Clin Chem* 50: 1113–1115.
- Dobiasova M (2006) [AIP-atherogenic index of plasma as a significant predictor of cardiovascular risk: from research to practice]. *Vnitr Lek* 52: 64–71.
- Dobiasova M, Frohlich J (2001) The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apoB-lipoprotein-depleted plasma (FER(HDL)). *Clin Biochem* 34: 583–588.
- Nouraei M, Lee JS, Zhang Y, Kanias T, Zhao X, et al. (2012) The relationship between the severity of hemolysis, clinical manifestations and risk of death in 415 patients with sickle cell anemia in the US and Europe. *Haematologica*.
- Baskurt OK, Boynard M, Cokelet GC, Connes P, Cooke BM, et al. (2009) New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin Hemorheol Microcirc* 42: 75–97.
- Dart AM, Kingwell BA (2001) Pulse pressure—a review of mechanisms and clinical relevance. *J Am Coll Cardiol* 37: 975–984.
- Jankowski P, Bilo G, Kawecka-Jaszcz K (2007) The pulsatile component of blood pressure: its role in the pathogenesis of atherosclerosis. *Blood Press* 16: 238–245.
- Lemonne N, Lamarre Y, Romana M, Mukisi-Mukaza M, Hardy-Dessources MD, et al. (In press) Does increased red blood cell deformability raises the risk for osteonecrosis in sickle cell anemia? *Blood*.
- Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP 3rd, Tracy RE, et al. (1998) Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The Bogalusa Heart Study. *N Engl J Med* 338: 1650–1656.
- Frontini MG, Srinivasan SR, Xu J, Tang R, Bond MG, et al. (2008) Usefulness of childhood non-high density lipoprotein cholesterol levels versus other lipoprotein measures in predicting adult subclinical atherosclerosis: the Bogalusa Heart Study. *Pediatrics* 121: 924–929.
- Krentz AJ (2003) Lipoprotein abnormalities and their consequences for patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 5 Suppl 1: S19–27.
- Rodriguez-Moran M, Guerrero-Romero F, Aradillas-Garcia C, Bermudez-Pena C, Simental-Mendia LE, et al. (2013) Atherogenic indices and prehypertension in obese and non-obese children. *Diab Vasc Dis Res* 10: 17–24.
- Choy E, Sattar N (2009) Interpreting lipid levels in the context of high-grade inflammatory states with a focus on rheumatoid arthritis: a challenge to conventional cardiovascular risk actions. *Ann Rheum Dis* 68: 460–469.
- da Luz PL, Favarato D, Faria-Neto JR Jr, Lemos P, Chagas AC (2008) High ratio of triglycerides to HDL-cholesterol predicts extensive coronary disease. *Clinics (Sao Paulo)* 63: 427–432.
- Galie N, Manes A, Farahani KV, Pelino F, Palazzini M, et al. (2005) Pulmonary arterial hypertension associated to connective tissue diseases. *Lupus* 14: 713–717.
- Goldberg IJ, Eckel RH, McPherson R (2011) Triglycerides and heart disease: still a hypothesis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 31: 1716–1725.
- Zhang WY, Schwartz E, Wang Y, Attrep J, Li Z, et al. (2006) Elevated concentrations of nonesterified fatty acids increase monocyte expression of

- CD11b and adhesion to endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 26: 514–519.
41. Lemogoum D, Van Bortel L, Najem B, Dzudie A, Teutcha C, et al. (2004) Arterial stiffness and wave reflections in patients with sickle cell disease. *Hypertension* 44: 924–929.
 42. Zieman SJ, Melenovsky V, Kass DA (2005) Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25: 932–943.
 43. Belhassen L, Pelle G, Sediame S, Bachir D, Carville C, et al. (2001) Endothelial dysfunction in patients with sickle cell disease is related to selective impairment of shear stress-mediated vasodilation. *Blood* 97: 1584–1589.
 44. Lamarre Y, Hardy-Dessources MD, Romana M, Lalanne-Mistrih ML, Waltz X, et al. (In press) Relationships between systemic vascular resistance, blood rheology and nitric oxide in children with sickle cell anemia or sickle cell-hemoglobin C disease. *Clin Hemorheol Microcirc*.
 45. Athanassiou G, Moutzouri A, Kourakli A, Zoumbos N (2006) Effect of hydroxyurea on the deformability of the red blood cell membrane in patients with sickle cell anemia. *Clin Hemorheol Microcirc* 35: 291–295.
 46. Ballas SK, Dover GJ, Charache S (1989) Effect of hydroxyurea on the rheological properties of sickle erythrocytes in vivo. *Am J Hematol* 32: 104–111.
 47. Barden EM, Zemel BS, Kawchak DA, Goran MI, Ohene-Frempong K, et al. (2000) Total and resting energy expenditure in children with sickle cell disease. *J Pediatr* 136: 73–79.
 48. Oguanobi NI, Onwubere BJ, Ibegbulam OG, Ike SO, Anisiuba BC, et al. (2010) Arterial blood pressure in adult Nigerians with sickle cell anemia. *J Cardiol* 56: 326–331.
 49. Woods KF, Ramsey LT, Callahan LA, Mensah GA, Litaker MS, et al. (2001) Body composition in women with sickle cell disease. *Ethn Dis* 11: 30–35.
 50. Landsberg L (1994) Pathophysiology of obesity-related hypertension: role of insulin and the sympathetic nervous system. *J Cardiovasc Pharmacol* 23: S1–S8.
 51. Redon J (2001) Hypertension in obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 11: 344–353.
 52. Ballas SK, Gupta K, Adams-Graves P (2012) Sickle cell pain: a critical reappraisal. *Blood* 120: 3647–3656.
 53. Weng S, Sprague JE, Oh J, Riek AE, Chin K, et al. (In press) Vitamin D Deficiency induces high blood pressure and accelerates atherosclerosis in mice. *Plos One*.

IV-3. Résultats complémentaires non publiés:

Les tableaux suivants n'ont pas fait l'objet de publication dans le détail dans l'article de 2018 précédent, mais le complètent.

L'analyse du bilan lipidique a aussi été réalisée en fonction des génotypes, poolés (SS+SC) et séparés.

Tableau n°5 : Taux des lipides tous génotypes confondus ou en fonction des génotypes:

	Population totale (SS + SC)	Population SS	Population SC	Comparaison SS vs SC
	N = 159	N = 97	N = 62	
	Mean ± SD			p
Age (années)	35.7 ± 13.1	34.6 ± 12.9	37.5 ± 13.3	0.180
Sex ratio H/F	0.67	0.80	0.51	0.190
IMC (Kg/m ²)	22.6 ± 4.1	21.5 ± 3.3	24.5 ± 4.5	<0.001
Tr de taille (cm)	79.9 ± 8.4	79.0 ± 7.1	81.6 ± 10.2	0.156
Tr de hanche (cm)	93.3 ± 9.3	91.9 ± 8.5	95.7 ± 10.2	0.039
Tr taille / Tr hanche	0.86 ± 0.06	0.86 ± 0.05	0.85 ± 0.07	0.593
PAS (mm Hg)	116.7 ± 12.6	114.4 ± 10.6	120.2 ± 14.6	0.010
PAD (mm Hg)	70.0 ± 8.3	67.1 ± 7.4	74.5 ± 7.4	<0.001
Cholestérol total (g/l)	1.29 ± 0.32	1.22 ± 0.29	1.40 ± 0.32	<0.001
HDL cholestérol (g/l)	0.40 ± 0.11	0.37 ± 0.10	0.44 ± 0.12	<0.001
LDL cholestérol (g/l)	0.71 ± 0.24	0.66 ± 0.23	0.79 ± 0.24	0.001
Triglycéridémie (g/l)	0.90 ± 0.41	0.97 ± 0.39	0.80 ± 0.43	0.014
Triglycéridémie / HDL	2.62 ± 1.90	2.93 ± 1.79	2.11 ± 1.96	0.008
Apo A (g/l)	1.16 ± 0.21	1.11 ± 0.20	1.24 ± 0.20	< 0.001
Apo B (g/l)	0.62 ± 0.19	0.60 ± 0.18	0.66 ± 0.19	0.091

Ce tableau montre qu'il existe des différences entre valeurs poolées des lipides et apolipoprotéines des patients SS et SC et leurs résultats analysés séparément.

L'analyse du taux quantitatif des lipoprotéines et apolipoprotéines a été réalisée aussi dans nos cohortes SS et SC en fonction du sexe.

Tableau n° 6 : Bilan lipidique des patients drépanocytaires SS et SC en fonction du sexe :

	SS			SC		
	Homme	Femme	p	Homme	Femme	p
	Mean ± SD	Mean ± SD		Mean ± SD	Mean ± SD	
Age	33.6 ± 12.7	35.4 ± 13.1	0.476	34.6 ± 11.1	38.9 ± 14.3	0.232
Taille	176.7 ± 7.3	164.6 ± 5.6	<0.001	176.1 ± 9.6	163.6 ± 7.6	<0.001
Poids	65.3 ± 9.5	59.4 ± 9.4	0.003	74.8 ± 13.4	66.3 ± 16.3	0.050
IMC	20.9 ± 2.8	21.9 ± 3.5	0.123	24.1 ± 3.6	24.7 ± 5.0	0.657
Tour de taille (TT)	77.4 ± 6.1	80.4 ± 7.7	0.070	81.3 ± 8.5	81.9 ± 11.3	0.859
Cholesterol total (TC) (mg/dL)	107.99 ± 22.47	132.43 ± 29.98	<0.001	124.22 ± 26.48	147.57 ± 31.64	0.006
HDL cholesterol (mg/dL)	32.45 ± 8.46	39.76 ± 9.91	<0.001	39.34 ± 7.88	47.00 ± 12.66	0.017
LDL cholesterol (mg/dL)	55.27 ± 18.56	73.99 ± 23.65	<0.001	67.81 ± 19.75	84.13 ± 23.61	0.010
Triglycerides (TG) (mg/dL)	101.39 ± 44.16	92.68 ± 34.51	0.281	82.02 ± 47.82	78.95 ± 41.56	0.798
TG / HDL (g/l)	3.51 ± 2.28	2.47 ± 1.09	0.008	2.36 ± 2.17	1.99 ± 1.86	0.492
Apo A	1.02 ± 0.15	1.18 ± 0.21	<0.001	1.14 ± 0.15	1.30 ± 0.20	0.003
Apo B	0.55 ± 0.14	0.66 ± 0.20	0.003	0.59 ± 0.18	0.69 ± 0.19	0.059

Les valeurs lipidiques des femmes adultes sont plus hautes que celles des hommes, pour tous les lipides sauf pour les TG, les ApoA et B chez les patients SS, et l'ApoA chez les patients SC, car une simple tendance est constatée pour l'ApoB des patients SC.

L'analyse du taux quantitatif des lipoprotéines et Apos a été aussi réalisée par génotype, en fonction de l'âge, et les corrélations étudiées. Les deux tableaux ci-après, montrent des résultats différents en fonction du génotype, dans la nature des fractions lipidiques corrélées positivement à l'âge des patients.

Il est à noter que les patients SS et SC, comme la PGG, sont presque intégralement non fumeurs (rare consommation de tabac dans la population guadeloupéenne). L'exposition à des thérapeutiques hypolipémiantes a été recherchée et était quasi nulle (un seul patient était sous statine).

Tableau n° 7 : Corrélations du taux des lipoprotéines des patients drépanocytaires en fonction de l'âge et des données anthropométriques chez les patients SS

SS	CT r	HDL r	LDL r	TG r	TG / HDL r	Apo A r	Apo B r
Age	0.172	0.294**	0.155	-0.167	-0.193	0.220*	0.070
IMC	0.216*	0.062	0.237*	-0.026	-0.045	0.153	0.227*
TT	0.299*	0.137	0.265*	0.040	-0.024	0.235*	0.199

Légende : * si $p < 0.05$; ** si $p < 0.01$; TT : tour de taille (cm), IMC : indice de masse corporelle (kg/m^2).

Tableau n° 8 : Corrélations du taux des lipoprotéines des patients drépanocytaires en fonction de l'âge et des données anthropométriques chez les patients SC

SC	CT r	HDL r	LDL r	TG r	TG / HDL r	Apo A r	Apo B r
Age	0.393**	0.236	0.373**	0.068	-0.004	0.379**	0.317*
IMC	0.153	-0.143	0.077	0.330*	0.285*	-0.086	0.151
TT	-0.050	0.051	-0.078	-0.086	-0.078	0.025	-0.135

Légende : * si $p < 0.05$; ** si $p < 0.01$; TT : tour de taille (cm), IMC : indice de masse corporelle (kg/m^2).

Nos résultats montrent pour les sujets SS que l'âge est positivement corrélé aux seules ApoA et HDL et absolument pas aux fractions lipidiques athéromateuses que sont les LDL, ApoB et CT, et in fine les TG.

Toutefois, les indices habituels anthropométriques à partir desquels l'obésité est définie sous ses 2 formes (IMC et tour de taille), restent eux, positivement corrélés au CT, LDL et ApoB, vecteur de l'athérogénicité, et pas au TGL.

Ces observations ne sont pas retrouvées pour les sujets SC, chez qui les fractions athéromateuses CT, LDL, ApoB sont positivement corrélées à l'âge, tout comme l'ApoA, mais pas le HDL. De même est retrouvée la corrélation positive entre IMC et TG, mais pas entre le tour de taille et TG.

D- DISCUSSION

La place des lipides dans la drépanocytose était jusqu'en 2009 plutôt réduite, du fait de l'absence d'athérosclérose retrouvée chez les patients drépanocytaires (Zorca et al., 2010), en accord avec les constats de taux de LDL bas, chez les patients SS (Sasaki et al., 1983)(el-Hazmi et al., 1987). Ce champ d'étude a donc été peu exploré, longtemps délaissé après parution des premières petites séries pédiatriques (Choremis et al., 1961)(Sasaki et al., 1983). L'incompréhension persistante de l'extrême imprévisibilité du phénotype clinique de la maladie, d'un syndrome drépanocytaire majeur à un autre, comme au sein d'un même génotype pour un individu donné, a conduit les chercheurs à poursuivre, par une approche physiopathologique de la maladie, la recherche de biomarqueurs biologiques des complications de la maladie drépanocytaire, les ramenant actuellement vers l'étude du profil lipidique. Parmi elles, particulièrement étudiée du fait de son pronostic péjoratif sur la durée de vie (Tewari et al., 2015), l'HTAP, à l'origine du décès des patients dans les 4 ans suivant son diagnostic (Gladwin et al., 2004). En 2009, Yuditskaya observe une plus grande prévalence d'HTAP associée aux taux d'apoAI les plus basses et démontre que ce taux est d'autant plus bas que l'altération de la capacité vasodilatatrice endothéliale dépendante des patients est marquée, témoignant d'une dysfonction endothéliale (Yuditskaya et al., 2009). L'étude de Yuditskaya est complétée par celle de Zorca et

collaborateurs, qui isole les TG élevés, $\geq 1.50\text{g/l}$, comme facteur de risque indépendant d'HTAP, démontrant aussi leur lien avec la dysfonction endothéliale (Zorca et al., 2010). Toutefois, les essais cliniques tentés d'abord par des ApoAI mimétiques chez la souris drépanocytaire, permettant une remontée prometteuse du taux d'ApoA1 (Ou et al., 2003), par stimulation de la eNO synthase et de la production de NO (Kato and Gladwin, 2008), puis chez l'homme avec de la niacine, puissant booster de l'ApoA1, où une ascension significative du HDL était obtenue, n'ont pas permis d'observer d'amélioration des paramètres de dysfonction endothéliale vasculaire (Scoffone et al., 2013).

Notre champ d'activité clinique nous a poussée, en 2009, à souhaiter éclaircir les raisons de ce profil lipidique très particulier, et en parallèle, à poursuivre la recherche d'implication éventuelle de ce profil lipidique, dans la physiopathologie d'autres complications de la drépanocytose, et en fonction des génotypes SS et SC, les plus fréquents de notre population. Pour ce faire, atteindre l'aspect mécanistique suppose d'avoir bien cerné sur le plan épidémiologique les populations à étudier, et d'avoir maîtrisé au maximum les facteurs de confusion des éléments étudiés.

Devant la complexité des mécanismes physiopathologiques de la drépanocytose et de l'hétérogénéité de son expression clinique, tant au niveau de ses divers syndromes drépanocytaires majeurs, qu'à l'échelle de la vie d'un individu donné, il nous a semblé indispensable, à la lecture des maigres données bibliographiques initialement disponibles (Sasaki et al., 1983) (el-Hazmi et al., 1987) (Rahimi et al., 2006) (Buchowski et al., 2007) et de la méthodologie jusqu'alors utilisée, de reprendre le travail épidémiologique descriptif d'isolement du profil biologique lipidique des patients, à l'état stable (c'est-à-dire à 3 mois de toute transfusion et à 1 mois de tout épisode de fièvre ou de toute autre complication aiguë). En effet, ce profil lipidique

nous semblait incomplètement isolé, source de facteurs de confusions, empêchant des études mécanistiques de qualité et d'avancer vers le cadre naturel d'une recherche translationnelle.

La méthodologie jusqu'alors utilisée dans la drépanocytose pour l'étude descriptive des lipides, poolait en effet les génotypes SS et SC, ou SS et S β^0 thalassémie, SC et S β^+ thalassémie, (Shores et al., 2003)(Zorca et al., 2010)(Seixas et al., 2010), et ne permettait pas de différencier le profil lipidique des patients SS, de celui des patients SC. Nous démontrons par nos résultats présentés par génotypes poolés et séparément (*cf. Tableau n°5*), ce facteur de confusion. Nous considérons donc que cette méthodologie ne peut être utilisée en pré-requis à l'isolement de biomarqueurs lipidiques pour des études mécanistiques.

C'est ainsi que notre travail, utilisant une méthodologie effectuant toutes les analyses de l'étude par génotype, a permis de séparer strictement pour la 1^{ère} fois, chez les adultes drépanocytaires, les profils lipidiques SS et SC, et a mis en évidence une HTG relative, associée à une élévation relative de l'ApoB chez les adultes SS (Lalanne-Mistrih et al., 2018). Cette dernière donnée sur l'ApoB est en accord avec celles d'Ozturk, constatées au sein d'une population d'enfants, exclusivement SS (Ozturk et al., 2013) ; rien n'était alors disponible sur le profil lipidique individualisé d'enfants ou d'adultes SC. Le profil lipidique des patients adultes SS de notre étude, s'est distingué ainsi totalement, par les TGL, du profil lipidique des patients SC et de la PGG. Ils ont été trouvés significativement plus élevés chez les SS, comparativement aux deux autres, avec pour toutes les autres fractions lipidiques, des taux bas de CT, LDL et surtout d'ApoAI et de HDL, dont nous avons vu l'importance. Ces taux plus élevés de TG des SS restent toutefois dans les normes des laboratoires, en accord avec la rareté de l'HTG en population caribéenne (Zoratti, 1998), fait confirmé aussi en Guadeloupe, où seuls

2.7% de la population guadeloupéenne présentaient une HTG>2g/L en 1999 (Foucan et al., 2000). De plus, les TG présentent habituellement une différence significative de taux entre sexes, également relevée en PGG, avec un taux plus haut chez les hommes que chez les femmes ($p<0.001$)(Foucan et al., 2000), à contrario de ce que nous avons trouvé chez les patients SS, où il n'existe pas de différence des TGL entre les deux sexes. Ce résultat peut être associé au constat d'une hausse significative du taux d'ApoB chez les femmes SS ($p<0.03$) comparativement aux hommes, probablement du fait de VLDL élevés. Nous ne pouvons toutefois pas conclure que cette élévation des TG soit due au phénotype anthropométrique particulier des femmes SS, qui présentent un profil d'IMC normal ou en surpoids, bien plus souvent accompagné d'une obésité abdominale que les hommes, car les TGL des patients SS ne sont pas corrélés ici au sexe, ni à l'IMC, ni à l'obésité abdominale, à contrario de ce qui est retrouvé habituellement dans la littérature en PGG (Foucan et al., 2000). On relève toutefois que le niveau d'ApoB est lui, retrouvé faiblement corrélé à celui de l'IMC chez les femmes SS.

Concernant ce TGL chez les patients SS, il est important de noter qu'il est indépendant de l'hémolyse, contrairement aux données de Zorca (Zorca et al., 2010), mais notre étude a porté sur des complications du phénotype visqueux où cette hémolyse est de fait moindre. Nous avons vu que d'autres facteurs conditionnent les TGL à la hausse (Yuan et al., 2007): excès d'alcool, excès alimentaire glucido-lipidique, tabagisme, insulino-résistance (Tobey et al., 1981), sédentarité (Crichton and Alkerwi, 2015), ou aident à sa maîtrise, comme l'activité physique, non analysés dans notre étude, et constituant une limite à la discussion de nos résultats. Le tabagisme est le seul facteur qui peut être précisé comme probablement non impliqué dans les TGL, la PGG étant très faiblement concernée par cette intoxication.

En ce qui concerne les autres paramètres du profil lipidique, chez les patients SS, les taux bas de CT, LDL, HDL, d'ApoAI observés de nos résultats sont en accord avec les données de la littérature (Zorca et al., 2010)(Rahimi et al., 2006), avec la limite que notre étude est la première à séparer strictement les génotypes dans une population exclusive d'adultes, SS et SC, montrant ainsi leur différence entre eux, et vis à vis de leur population générale.

Nos résultats retrouvent par ailleurs, chez les patients SS et SC, que les taux bas de CT sont corrélés à l'hématocrite, en accord avec les données de la littérature (Westerman, 1975)(Zorca et al., 2010), mais contrairement à Zorca, nous ne retrouvons pas cette même corrélation qui serait aussi attendue avec le taux d'hémoglobine (Zorca et al., 2010), sans pour autant pouvoir l'expliquer. En effet, les données de la littérature semblent avoir levé le mystère de cette hypocholestérolémie touchant les patients drépanocytaires, en l'ayant rattaché à la seule présence d'une anémie et non pas à une surconsommation de cholestérol en lien avec une production accrue des GR rattachée à une hémolyse. C'est ainsi que dans la drépanocytose, comme dans d'autres anémies hémolytiques, ce taux de CT plasmatique est d'autant plus bas, que l'hématocrite est bas, suggérant un équilibre entre le contenu en cholestérol des GR et le cholestérol plasmatique (Westerman, 1975). Mais une hypocholestérolémie plasmatique a été retrouvée associée à un cholestérol augmenté dans les membranes des GR chez des hommes drépanocytaires, comparativement à des sujets contrôles, avec constat d'une possibilité d'échange rapide entre membranes des GR et milieu plasmatique, démontrée par des études d'incorporation de cholestérol tritié dans les membranes du GR (Akinyanju and Akinyanju, 1976)(Ngogang et al., 1989). Une diminution de l'activité de la L-CAT chez les adultes SS (lecithine esterification cholesteryl acyl transferase) a

été également constatée dans la drépanocytose (Homan et al., 2013)(Soupene et al., 2016). La membrane des GR contient 60 à 70% de PL et 25% de CL)(Akinyanju and Akinyanju, 1976). L'hypothèse que cette incorporation du cholestérol dans les membranes soit due à une érythropoïèse accrue, semble battue en brèche par le constat que l'hypocholestérolémie soit retrouvée à la fois dans les anémies hémolytiques et non hémolytiques, faisant à ce jour retenir l'hypothèse initiale, que les anémies en général, sont les causes de cette hypocholestérolémie (Westerman, 1975). Il n'a pas encore été réalisé à ce jour, d'étude cinétique par isotopie stable du métabolisme lipidique et de ses altérations, au cours de la drépanocytose pour conforter cette démonstration, comme cela a été réalisé en détail dans le diabète (Vergès, 2015). Notre étude n'a pas étudié cet aspect.

Nous avons vu que l'âge est un facteur connu modifiant le niveau du taux des lipides en population générale, augmentant physiologiquement le CT, le LDL, l'ApoB, de l'enfance à l'âge adulte, avant de redescendre au cours du vieillissement, avec une surmortalité retrouvée dans les deux extrêmes de leurs valeurs, selon une courbe en « U », concernant donc aussi les valeurs basses de CT (Iribarren et al., 1995)(Song et al., 2000). Les patients drépanocytaires pourraient être concernés par cette règle, du fait de leurs valeurs plus basses du taux de CT, LDL, et d'HDL que leur population générale (Rahimi et al., 2006)(Lalanne-Mistrih et al., 2018), d'autant qu'ils subissent une mortalité prématurée (Tewari et al., 2015). Nos résultats issus de nos données non encore publiées, montrent que les seules valeurs de lipides positivement corrélées à l'âge, sont, chez les patients SS, les seuls taux d'HDL et d'ApoAI (*cf. Tableau n°7*), alors que ces mêmes valeurs baissent au cours des CVO (Monnet et al., 1996a), avant de remonter dans un délai inconnu, à distance de l'épisode. Ceci suggère l'hypothèse

qu'une valeur plus haute de ces deux paramètres lipidiques, pourrait être retrouvée associée à une plus longue longévité des patients SS, ce qui reste à être vérifié. Aussi, leur métabolisme respectif bénéficierait d'être plus amplement exploré, surtout chez les SS, ainsi qu'au niveau de leurs liens avec les complications de la drépanocytose.

A destination des cliniciens, ces résultats intiment la prudence, et poussent à conseiller que le niveau d'ApoAI reste systématiquement associé en 1^{ère} intention au bilan annuel de ces patients. Ce dosage, actuellement restreint par l'HAS, consécutivement à ses nouvelles recommandations, pourrait, si notre hypothèse était confirmée, servir en effet d'alerte simple, biologique, de la dégradation de la santé de ces patients fragiles, du fait du manque d'outils prédictifs des complications pour les cliniciens.

Concernant l'effet du sexe sur les lipides, il a fait l'objet de peu de publications dans la drépanocytose (VanderJagt et al., 2002)(Shores et al., 2003), et la comparaison avec sa population générale reste primordiale. En PGG, il n'apparaît que pour les TG (plus hauts chez les hommes) et les HDL (plus hauts chez les femmes) (Foucan et al., 2000). Ces résultats en PGG diffèrent de ce qui est déjà constaté en population générale caucasienne, où il existe des taux plus élevés de CT, LDL, et TG chez les hommes comparativement aux femmes, tant qu'elles ne sont pas ménopausées, puis leur risque CV rejoint celui des hommes, croissant à partir de l'installation de la carence oestrogénique (Palmisano et al., 2018). Cela a pour effet d'entraîner une modification de la composition corporelle et une adiposité, qui, de sous-cutanée, devient préférentiellement abdominale (Svendsen et al., 1995). La différence de valeurs des lipides entre sexe diminue alors, restant toutefois légèrement inférieure chez les femmes ménopausées, comparativement à celle des hommes (Anagnostis et al., 2015). L'effet de

la ménopause prime par ailleurs sur l'effet de l'âge, chez la femme. Il est indépendant de l'âge et augmente les TG, le Non-HDL-cholestérol, l'ApoB, le HDL3 et baisse le HDL2 (Anagnostis et al., 2015).

Chez nos patients drépanocytaires SS, nous retrouvons aussi un effet du sexe (*cf. Tableau n°6*), avec globalement, des valeurs de CT, LDL, HDL, ApoA et ApoB, plus hautes chez les femmes, que chez les hommes, sauf pour les TGL, identiques. Il en est aussi de même chez les patients SC (*cf. Tableau n°6*), en dehors de l'ApoB et des TG. Les femmes guadeloupéennes SS et SC présentent donc théoriquement des profils lipidiques plus défavorables que les hommes SS et SC, avec des valeurs qui leur sont significativement supérieures sur toutes les fractions, sauf pour les TG, où elles leur sont anormalement identiques, alors que les TGL sont supérieurs chez les hommes par rapport aux femmes, en PGG (Foucan et al., 2000). Ces femmes ont également un profil anthropométrique d'obésité abdominale défavorable, à l'image des femmes de leur population générale (Daigre et al., 2012). Tout ceci reste toutefois relatif, les taux des lipides, tous sexes confondus, des patients drépanocytaires restants inférieurs à ceux de leur PGG, sauf pour les TG.

Les patients SC, perçus par la communauté scientifique internationale comme présentant une forme de plus faible expression clinique des complications que le génotype SS, n'ont fait l'objet au niveau de leur profil lipidique que de peu de descriptions (Buchowski et al., 2007), nécessitant d'être étudiés. Notre étude a contribué à différencier les profils lipidiques entre patients SS et SC pour la première fois en stricte population adulte (Lalanne-Mistrih et al., 2018) et apporte à la littérature, des données nouvelles pour ces derniers. Chez eux, tous les lipides et Apos, sauf les TG et le HDL, sont corrélés à l'âge (*cf. Tableau n° 8*), rendant compte d'un profil

intermédiaire, globalement quantitativement supérieur à celui des patients SS sur leurs fractions lipidiques et plus proche de celui de la PGG.

Ce profil est attendu et ne présente pas d'autre particularité que le fait que les TG ne diffèrent pas du taux de ceux de la PGG, sans explication sur cette différence avec les patients SS. Ce profil est cohérent avec la distribution de l'IMC dans cette population, où les TGL sont retrouvés corrélés avec l'IMC, comme en population générale (Foucan et al., 2000)(Hegele et al., 2014). L'obésité abdominale touche ici encore beaucoup plus les femmes, comme en PGG, où elles sont plus touchées que les hommes par le surpoids et l'obésité, même abdominale, à tous les stades de corpulence (Daigre et al., 2012). Il semble qu'il y ait un décalage des courbes d'IMC et d'obésité abdominale vers la gauche entre la PGG et les cohortes de patientes SC, mais aussi SS, l'obésité abdominale touchant déjà moins les hommes que les femmes en PGG (Daigre et al., 2012).

Au total, l'ensemble de ces facteurs de confusion a potentiellement contribué à diluer ou masquer le profil lipidique réel de certaines populations drépanocytaires, dans la littérature, ainsi que celle des associations attachées à des valeurs quantitatives lipidiques mesurées.

Nous avons ainsi aussi retrouvé un taux non significativement différent de l'ApoB entre patients SC et SS, en faveur d'un profil plus athérogène des patients SS, et rattachable à un des résultats majeurs de notre étude, qui est l'identification d'une HTG relative des patients SS exclusivement, à l'état stable. Cette HTG provient soit de la voie exogène ou endogène ou des deux. Dans tous les cas, l'ApoB dosée étant l'ApoB100, cela conforte pour nous le fait que les VLDL et l'ApoB des patients SS soient conjointement retrouvés élevés, alors que les autres lipoprotéines de la voie

endogène restent basses. Ces résultats sont en accord avec ceux d'Ozturk, qui lui, retrouve un taux d'ApoB et de VLDL élevés chez les patients SS, à l'état stable chez les enfants (Ozturk et al., 2013), également conforté par l'étude d'Ephraim (Ephraim et al., 2016), et contredisent ceux d'études plus anciennes (Yuditskaya et al., 2009)(Sasaki et al., 1983).

Par ailleurs, concernant le débat persistant sur les TGL dans la littérature internationale, plus élevés dans notre étude par rapport à notre PGG, ou égal ou plus bas, dans d'autres populations, il convient d'observer, qu'*in fine*, les valeurs absolues présentées sont comparables dans toutes les études du monde (autour de 1g/L) et que toutes les études n'ont pas utilisé des populations générales pour ces comparaisons, modifiant donc la comparaison, en TGL plus haut ou plus bas que le référentiel choisi. Les TG sont retrouvés abaissés par rapport à leurs témoins dans une seule étude américaine (Shores et al., 2003). Dans les faits, après étude des données communiquées de cette population contrôle, elle est très probablement non représentative de la population générale afro-américaine, puisque Shores a utilisé comme témoins AA, les « patients à peau noire à l'entrée à leur admission à l'hôpital pour soins ». Les TGL de cette population contrôle sont effectivement très au-dessus de la moyenne des TGL usuels des populations afro-américaines (Sumner et al., 2010a), rappelant au vu de leurs valeurs, les taux moyens de TG rencontrés lors de forts déséquilibres de diabète de type 2, lors du diagnostic inaugural, ou lors d'alcoolisation, à l'entrée dans un hôpital (expérience clinique personnelle). Il a été d'ailleurs récemment publié, en cohérence avec notre critique précédente, un sous-diagnostic du syndrome métabolique chez les enfants et les adultes à peau noire aux USA (Sumner, 2009). Ce dernier est défini en France sur la base de la présence d'une obésité abdominale, associée à 2 autres

paramètres parmi lesquels peut être choisi $TGL > 1.50 \text{g/L}$, contrairement à la définition américaine, où tous les items sont identiquement éligibles dans sa définition. Ce sous-diagnostic est expliqué par des valeurs basses de TG et plus hautes de HDL, chez les personnes afro-américaines adultes ou enfants, comparativement aux personnes d'origine caucasienne ; l'obésité abdominale étant au moins identique, si ce n'est plus importante, chez les femmes noires américaines (Sumner et al., 2010b).

Enfin, la dernière discordance au niveau littérature est une publication de Rahimi (Rahimi et al., 2006), qui retrouve chez ses patients adultes drépanocytaires iraniens, des TGL sans différence significative avec sa population contrôle chez les hommes, et avec des TGL abaissés mais pas significativement, chez les femmes drépanocytaires comparativement à ses contrôles. Les populations contrôles ici ne sont pas d'origine afro-américaine, mais caucasienne, pouvant expliquer que les TGL spontanés des iraniens drépanocytaires n'aient qu'une faible différence avec leur propre population contrôle. Il ne nous semble donc pas que les résultats de la littérature mondiale concernant les TGL des patients drépanocytaires SS soient en définitive contradictoires, mais plutôt, jusqu'alors, insuffisamment analysés et discutés dans leurs détails. Concernant les taux de cholestérol, LDL et HDL, la population drépanocytaire iranienne étudiée présente les mêmes caractéristiques que les autres populations drépanocytaires publiées dans le monde.

De tout ceci ressort toutefois une interrogation, quant au potentiel de dangerosité éventuelle et conséquences de cette hypertriglycéridémie relative des patients SS, dès l'état stable. De même, si elle reste dans les normes des laboratoires, à jeun, elle peut s'élever en post-prandial. Sa mécanistique n'est pas non plus connue.

Suite aux résultats des travaux de Yuditskaya et Zorca sur le phénotype des complications hémolytiques, identifiant les TG comme un facteur de risque d'HTAP, et associant des taux bas d'HDL et ApoA1 avec à la fois plus d'HTAP et une dysfonction endothéliale, notre travail s'est attaché à tester cette fois les liens éventuels des lipides avec l'HTA relative, puis avec les complications du phénotype visqueux-vaso-occlusif : STA, CVO et OTN.

Nous avons montré par une première étude, que, chez les patients SS, des taux de TG > 1.50g/L étaient un facteur de risque indépendant d'HTA relative (défini par TA \geq 120/70 mm Hg et < 140/90 mm Hg) (Lamarre et al., 2013). Ce résultat ne nous a pas surpris, cohérent avec le constat déjà rapporté d'un état de pré-hypertension artérielle associé à l'HTG, chez des enfants obèses et non obèses (Rodríguez-Morán et al., 2013) ; la présence de TG élevés est en effet rattachée à des états pro-inflammatoires, et au stress oxydatif (Wang et al., 2009b), favorisant l'adhérence de nombreuses cellules à l'endothélium vasculaire, en dehors de la drépanocytose (Zhang et al., 2006). Notre étude a montré pour la première fois l'importance des TGL dans l'HTA chez des adultes SS. Une HTG \geq 1g50/L a été ainsi retrouvée être un facteur de risque indépendant d'HTA, comme aussi le genre masculin, l'IMC ou la viscosité sanguine (Lamarre et al., 2013). L'alimentation des patients et la qualité des TG plasmatiques n'ayant pas été étudiées dans notre étude, nous ne pouvons exclure un lien éventuel entre la qualité des TG alimentaires et plasmatiques et la viscosité sanguine observée chez les patients SS hypertendus de notre étude. Ce lien qualitatif des TG, décrit par Sloop et al, dans la genèse des maladies cardiovasculaires, hors drépanocytose, a été identifié avoir une responsabilité dans les décès de patients (Sloop et al., 2018). Malgré l'absence de dépôt lipidique retrouvée chez les patients drépanocytaires (Zorca et al.,

2010), l'élévation de l'index d'athérogénicité du plasma (AIP) (= log TG/HDL) dans le groupe pré-hypertensif a montré que les lipides pouvaient être impliqués dans la genèse de cette HTA. L'étude d'Ephraïm a conforté ces résultats, associant les VLDL élevés à l'HTA systolique et diastolique, mais en poolant adultes de moins de 40 ans et enfants (Ephraïm et al., 2016), nécessitant donc d'être mieux précisée. Hors drépanocytose, un des mécanismes aboutissant à l'HTG est l'hyperglycémie à jeun, souvent retrouvée associée à cet état pré-hypertensif (éléments du syndrome métabolique). Cette association a été retrouvée dans le sous-groupe de Zorca avec glycémie à jeun ≥ 6.44 mmol/L (≥ 1.17 g/L) (Zorca et al., 2010). Elle n'a pas été constatée dans nos 2 cohortes de patients SS et SC qui présentaient des glycémies significativement plus basses (Lalanne-Mistrih et al., 2018) que la population générale, connue pour être du fait de son obésité, notamment féminine, plus touchée par le diabète de type 2. Deux de nos patients seulement sur la totalité de nos cohortes SS et SC présentaient les critères d'un syndrome métabolique (données non publiées). Ceci est probablement dû à des IMC plus bas chez nos patients drépanocytaires SS et SC, comparativement à la population générale et à celle de Zorca, préservant la glycémie à jeun. Nous avons eu aussi la surprise de trouver chez nos patients SS que les TG n'étaient pas corrélés à leur IMC, ni à leur obésité abdominale, au genre, ni à l'âge, nous rendant davantage curieux de connaître la mécanistique de leur genèse. Ce résultat n'est pas retrouvé chez nos patients SC, dont l'IMC est plus haut, et chez qui les TG sont corrélés à l'IMC, comme dans l'étude de Zorca (Zorca et al., 2010), sans l'être à l'obésité abdominale. On peut noter que cette dernière est très inférieure dans les 2 génotypes, à celle de la population générale, ce qui peut expliquer ces résultats. Nos résultats ont aussi montré une indépendance du taux de TG vis-à-vis du degré d'hémolyse, à contrario de l'étude de Zorca, mais ceci peut être expliqué du fait des complications que nous étudions, qui

sont plutôt de nature vasoocclusive qu'hémolytique (Kato et al., 2007). Par ailleurs, nos résultats montrent une indépendance des TG, en fonction de la présence ou non de traitement par hydroxyurée, pour le génotype SS (il n'y avait pas de patients SC sous HU), sans autre étude de comparaison que celle de Zorca, mais où les quatre génotypes drépanocytaires étudiés sont poolés (Zorca et al., 2010), ne permettant pas la comparaison avec nos résultats.

Nous avons ensuite montré, toujours chez les patients SS, que des TG élevés ($>1.50\text{g/L}$) à l'état stable, étaient aussi plus souvent associés à de plus nombreux antécédents de CVO et de STA dans l'année précédent leur dosage, que le groupe des patients avec $\text{TG} < 1.50\text{g/L}$ (Lalanne-Mistrih et al., 2018). Nous n'avions pas suffisamment d'événements chez les patients SC, à un an de suivi prospectif, pour pouvoir discuter nos résultats, mais cette étude nécessite d'être poursuivie, avec un suivi longitudinal plus long chez eux aussi, pour pouvoir conclure. Nos résultats peuvent s'accorder avec ceux publiés par Monnet, qui montre dès 1996, que lors d'une CVO, l'index d'athérogénicité ApoB/ApoA augmente (Monnet et al., 1996b), avec en parallèle, une augmentation des TG. Ce résultat est compatible avec l'absence de baisse décrite de l'ApoB au cours des CVO, où seule une baisse de l'ApoA est rapportée (Monnet et al., 1996a). Il n'existe pas d'étude à ce jour qui ait étudié la cinétique de décroissance des TG après CVO et qui ait déterminé le délai de leur retour à l'état de base. A noter pour nos résultats, que cet antécédent de « plus de CVO associées à l'HTG », est indépendant de la présence d'une HTA, d'une hyperviscosité sanguine, du sexe, de l'âge ou de l'IMC des patients, avec un odd ratio pour l'HTG supérieur à tous les autres cités (OR : 9.19 ; 95% (2.29-36.95)), mais avec un intervalle de confiance très large (Lamarre et al., 2013). Les mécanismes par lequel les TG agissent pour altérer les

parois artérielles des patients drépanocytaires seront à préciser, ainsi que leurs liens éventuels aux complications de la drépanocytose.

Notre étude a également montré, cette fois chez les patients SC, et pour la première fois dans la littérature, qu'un taux de Non-HDL-cholestérol $>1,30\text{g/L}$ était plus souvent associé à des antécédents d'OTN (Lalanne-Mistrih et al., 2018). Les OTN sont des complications qui apparaissent tout au cours de la vie de nombreux patients. Cette complication est délabrante et source de handicaps moteurs. La définition du Non-HDL-cholestérol comprend l'ensemble des lipides du profil lipidique, en y excluant le HDL, et en y associant la lipoprotéine Lp(a) (Cziraky et al., 2008). La Lp(a) est un fossoyeur des PL oxydés, qui empêche aussi la récupération cellulaire des LDL oxydés (Schneider et al., 2005) et de ce fait est pro-athérogène et promotrice de thrombose, car elle abaisse l'activité fibrinolytique (Palabrica et al., 1995), du fait de son homologie avec le plasminogène (McLean et al., 1987). Son taux a été décrit comme bas à l'état stable dans la drépanocytose et s'élève lors de CVO (Monnet et al., 2002). Le fait que nos résultats retrouvent le Non-HDL $>1,30\text{g/L}$ comme facteur de risque d'OTN ne nous surprend pas tout à fait, car il a été déjà rapporté, hors drépanocytose, que le Non-HDL-cholestérol élevé et une Lp(a) élevée (Berger et al., 2000)(Berger et al., 2002), étaient un facteur de risque d'OTN (Zhao et al., 2015). Ces résultats sont toutefois préliminaires et doivent maintenant être explorés sur le plan mécanistique. En effet, un polymorphisme de l'ApoAI (-75 G > A polymorphism) (Yin et al., 2014), tout comme un polymorphisme de l'ApoA₅ (Cui et al., 2014), ont aussi été retrouvés associé à un risque accru d'OTN. L'OTN, hors drépanocytose a effectivement aussi des facteurs de risque classiques importants, comme l'alcoolisme (Wang et al., 2003) et les glucocorticoïdes (Tan et al., 2012), contre-indiqués pour ces derniers chez les patients

drépanocytaires. Ces deux facteurs augmentent les TG et le Non-HDL-cholestérol (dont la Lp(a)) (Glueck et al., 1997), même si les mécanismes précis ne sont pas encore bien identifiés. En corollaire, il a été démontré une baisse du taux d'OTN survenant sous glucocorticoïdes, grâce à une mise préventive sous statines (Pritchett, 2001) ; le mécanisme pourrait résulter de l'augmentation de l'activité du CYP3A, mais doit être exploré dans la drépanocytose. L'obésité et le tabagisme, sont aussi associés à plus d'OTN, souvent en lien aussi avec des dyslipidémies. Notre équipe a par ailleurs démontré également le rôle des anomalies rhéologiques du globule rouge dans l'OTN dans la drépanocytose SS, en isolant pour la première fois une plus grande déformabilité des GR chez les patients SS, comme un facteur de risque indépendant d'OTN (Lemonne et al., 2013).

Au total, en dehors de l'HTAP (Zorca et al., 2010), une HTG apparaît une nouvelle fois associée à des complications de la drépanocytose : HTA relative, ainsi qu'à d'autres, STA, CVO (Lamarre et al., 2013), potentiellement mortelles. Ces observations nécessitent d'être corroborées dans d'autres populations d'étude, mais nous ont fait nous questionner sur les mécanismes possibles responsables de cette HTG relative, qui expose dans les faits le patient SS plus vite que le patient SC ou le guadeloupéen non drépanocytaire, via divers facteurs environnementaux, ou génétiques, à un taux de TG au delà du seuil d'1g50/L.

Les lipides n'ont pas été nos seuls points d'intérêt. Nous avons également été conduits à rechercher un lien entre certaines propriétés de l'hémorhéologie et la complication d'HTA chez des patients adultes SS (Lamarre et al., 2013).

En effet, les patients drépanocytaires SS souffrent d'anémie chronique et ont un hématicrite plus bas que la population générale non drépanocytaire. Pour ces deux

raisons, leur viscosité sanguine à hémocrite natif, est inférieure à celle des sujets AA (Tripette et al., 2009).

Nos travaux ont montré que le groupe des adultes SS présentant soit une HTA relative ($\geq 120/70$ mm Hg), soit une HTA déclarée ($\geq 140/90$ mm Hg), présentaient également une hyperviscosité sanguine, à contrario de celui des patients SS non hypertendus (OR: 1.35; 95% CI 1.01 to 1.81, $p=0.05$). Ce résultat illustre la présence et la précocité des modifications des paramètres hémorhéologiques dans la physiopathologie de la genèse des lésions hypertensives, et justifierait à nos yeux, d'abaisser comme le suggère Gordeuk, la définition de l'HTA, au seuil d'HTA relative, pour abaisser le seuil d'intervention thérapeutique à visée protectrice.

Ce résultat ne nous étonne toutefois pas, car le flux sanguin des patients drépanocytaires a montré être proportionnel au degré d'HTA et est également inversement proportionnel à la viscosité sanguine (Johnson, 2005). Cette dernière est elle-même inversement exponentielle à la vitesse de cisaillement (Connes et al., 2016).

Les patients drépanocytaires sont affectés par l'atteinte de leur capacité vasodilatatrice du fait de la vasculopathie drépanocytaire (Hebbel et al., 2009). Elle ne permet pas toujours de contrebalancer l'augmentation segmentaire de l'hématocrite dans des vaisseaux tels que les veines et veinules, où règnent un faible débit sanguin (Belhassen et al., 2001) et une faible vitesse de cisaillement (Connes et al., 2016).

Notre étude a par ailleurs observé que l'hyperviscosité sanguine retrouvée chez les patients SS hypertendus, n'était pas modifiée par la présence ou non d'un traitement par HU, évocatrice de cette atteinte vasculaire fixée (Lamarre et al., 2013). L'effet d'HU sur la viscosité sanguine est discordant dans notre étude de certains des résultats de la littérature (Fattori et al., 2005). Contrairement à Fattori, notre équipe a en effet

montré qu'HU ne modifiait pas la viscosité sanguine des patients SS à l'état stable, tout en augmentant leur hématicrite (Lemonne et al., 2015), améliorant aussi le ratio hématicrite/viscosité sanguine, témoin de l'efficacité du transport sanguin en O₂ (Tripette et al., 2009). Une seconde étude a ensuite montré que cette viscosité des patients SS pouvait aussi diminuer sous HU (Renoux, 2016, Plos one). L'action bénéfique de l'hydroxy-urée, seule thérapeutique orale capable de diminuer en fréquence les complications de la drépanocytose, s'exprime chez les patients SS via une diminution de la rigidité membranaire des GR (Athanassiou et al., 2006), une augmentation de leur déformabilité, hydratation et volume globulaire moyen, et une diminution de leur force d'aggrégation (Lemonne et al., 2015), accompagnée également d'une augmentation de la synthèse du taux d'hémoglobine foetale.

Par ailleurs, alors que les patients SS ont à l'état stable une viscosité sanguine inférieure à celle des patients AA (Tripette et al., 2009), une hyperviscosité peut toutefois apparaître chez eux, dès lors que l'hématicrite augmente, comme à 40%, où la viscosité sanguine des sujets SS dépasse alors celle des témoins AA (Vent-Schmidt et al., 2014). Les patients SS hypertendus, dès le stade d'hypertension relative, présentent aussi une hyperviscosité, reconnue être un facteur de risque indépendant de cette hypertension (Lamarre et al., 2013). Cette hyperviscosité, qui n'a pas été explorée dans notre étude, pourrait aussi être expliquée du fait de l'augmentation de l'hématicrite, et de l'absence de variation du volume globulaire moyen entre patients hypertendus et non hypertendus, à cause d'une augmentation possible du nombre de GR denses et de GR irrémédiablement déformés dans le sang, également plus rigides et plus riches en HbS et moins riches en HbF que les GR les plus légers (Yasin et al., 2003). L'augmentation de l'hémoglobine et de l'hématicrite constitue deux facteurs majeurs dans l'apparition d'une modification de la viscosité sanguine et de celle des complications vasculaires.

Toutefois, l'hyperviscosité sanguine constatée chez les patients hypertendus SS, rend surtout compte de la diminution de leurs capacités vasodilatatrices (Vent-Schmidt et al., 2014)(Charlot et al., 2017), rattachée au stress oxydatif chronique, secondaire à l'hémolyse chronique et aiguë de ces patients (Möckesch et al., 2017), dont le retentissement est imparfaitement compensé par les propriétés intrinsèques de leurs GR, qui sont elles-aussi altérées (Connes et al., 2016). L'inégalité et la variabilité du poids de ces différents paramètres hémorhéologiques dans le temps, expliquent aussi probablement une partie de cette diversité d'expression clinique des complications drépanocytaires, au sein d'une vie, à l'échelle d'un patient.

Par ailleurs, en dehors de la complication d'HTA, notre étude des complications du phénotype vasoocclusif et des paramètres hémorhéologiques a retrouvé un lien entre augmentation de l'hématocrite et OTN chez les patients SS (Lalanne-Mistrih et al., 2018), en accord avec les données de la littérature pour les patients SS (Milner et al., 1991).

Chez les patients SC, avec ou sans OTN, il n'a pas été observé de différence sur l'hématocrite. Les patients SC ont une viscosité sanguine pourtant plus élevée que les patients SS ou AA à hématocrite natif, mais ils ont une moindre vasculopathie que les patients SS, et s'adaptent mieux face à l'augmentation des résistances vasculaires (Lamarre et al., 2014a). Ils possèdent également une meilleure déformabilité de leurs GR que les patients SS (Lamarre et al., 2014b), dont on suppose qu'elle explique paradoxalement la plus grande fréquence d'OTN chez les patients SC versus les patients SS, du fait de la plus grande adhérence des GR à l'endothélium et aux autres cellules qu'elle favorise. Par ailleurs, le faible nombre d'événements rencontrés en un an chez

les patients SC, concernant les STA et CVO, ne nous a pas permis de discuter plus avant nos résultats.

E- PERSPECTIVES

Nous souhaiterions poursuivre ce travail par l'étude HDL2. Cette étude, dont les inclusions ont été suspendues depuis l'incendie du CHU de fin 2017, doit pouvoir repartir fin 2019, une fois ses prélèvements recherche et routine externalisés. L'étude HDL2 permettra de :

1. Poursuivre l'évaluation du profil lipidique des patients SS et SC à l'état stable, en fonction d'antécédents ou non de nouvelles complications : HTAP, UDJ, AVC, vs. des patients témoins n'ayant jamais présenté ces complications, ainsi qu'au cours de complications aiguës de la drépanocytose pour lesquelles ils seront hospitalisés (priapisme, CVO, STA), en améliorant l'approche des facteurs potentiels de modulation : génotype, sexe, tranches d'âge, statut ménopausique, tabagisme, diabète, insuffisance rénale chronique, traitements, nutrition (alimentation, boissons, temps de sédentarité, activité physique).
2. Poursuivre l'étude descriptive de l'HTG observée dans la drépanocytose SS, en précisant l'étude des différentes AposB48 et B100, de l'activité enzymatique de la LPL, le taux de glycérol plasmatique, des AGL, l'insulinémie plasmatique et de la glycémie à jeun, afin d'évaluer également l'influence de l'insulino-résistance des patients SS, comparativement aux patients SC et à la population générale.

3. Etudier la fonctionnalité des HDL des patients drépanocytaires par génotype SS et SC, indépendamment de leur taux brut, car leur structure qualitative est rattachée à ces différents aspects de leur fonctionnalité, particulièrement importante quant à la protection contre le stress oxydatif endothélial vasculaire, mais aussi membranaire du GR. Cette répartition qualitative des sous-fractions de HDL, IDL et LDL a été réalisée chez des enfants SS par Ozturk pour la première fois (Ozturk et al., 2013), puis Soupene, chez des enfants en poolant les SDM (Soupene et al., 2017), mais nécessite d'être réalisée maintenant chez des adultes, en fonction des génotypes SS et SC, par notre équipe, à l'état stable et lors de complications aiguës (CVO, STA, Priapisme) ou dégénératives (HTAP, UDJ, AVC), ainsi qu'avant et après mise sous HU. D'éventuelles modifications qualitatives de ces sous-populations de HDL, pourront peut être apporter un éclairage sur la compréhension du fonctionnement de cette dernière, dans sa protection contre les complications de la drépanocytose.

L'étude HDL2, explorera en effet le lipidome des patients par génotype, et les activités enzymatiques de la voie endogène des lipides, au regard des différents phénotypes hémolytiques et visqueux des complications de la drépanocytose, avec la collaboration de l'équipe de l'équipe UMR de la Pitié Salpétrière. C'est un des objectifs secondaires de notre étude.

4. Poursuivre la description des propriétés hémorhéologiques au regard de l'atteinte des différentes populations de HDL, et en fonction d'une prise en charge interventionnelle nutritionnelle qualitative des patients drépanocytaires SS et SC. La membrane des GR est constituée d'approximativement 50% de lipides (Sasaki et al., 1983). La qualité de l'apport des lipides et donc

l'alimentation des patients ne sont pas sans conséquence sur la fluidité membranaire des GR et sur les propriétés hémorhéologiques et antioxydantes consécutives à ce changement, nécessitant une exploration concomitante, au vu des modifications hémorhéologiques déjà identifiées dans la drépanocytose (Connes et al., 2016), participant pleinement à la physiopathologie de ses complications (Charlot et al., 2016)(Nebor et al., 2011)(Lemonne et al., 2014)(Lamarre et al., 2013). Un enrichissement membranaire des GR en acides gras polyinsaturés, obtenu après enrichissement de l'alimentation d'enfants drépanocytaires de plusieurs génotypes (Daak et al., 2018) a objectivé une diminution du nombre des complications de la maladies observées chez ces enfants vs. placebo (Daak et al., 2018) ; les acides gras polyinsaturés sont par ailleurs hypotriglycéridémiants.

5. Certaines mutations du gène de PCSK9 sont à l'origine d'une moindre dégradation des LDL-récepteurs, ce qui a deux conséquences directes sur le métabolisme lipidique : une augmentation du temps de résidence des LDL dans le sang, qui entraîne leur oxydation. L'activité de la PCSK9 dans le profil lipidique de la drépanocytose, reste à évaluer. Sa surexpression engendre une augmentation des remnants de CM dans le plasma, faute de récepteurs hépatiques aux LDL pour les capter, responsable d'une élévation des TG.

J'ai écrit le protocole de recherche de l'étude multicentrique « HDL2 », obtenu son financement par PHRC en 2012 et les 2 premiers patients ont été inclus ensuite fin 2017, sous l'autorisation du CPP Sud-Ouest Outremer (2016-A00405-46). L'étude a ensuite été suspendue 2 ans du fait des conséquences de l'incendie de fin novembre

2017, qui a eu un impact majeur sur le service de biochimie du CHU de la Guadeloupe devant assurer la centralisation des dosages de l'étude. Elle doit reprendre en novembre 2019, après procédure d'externalisation du CHU des dosages de l'étude et recherche de financements complémentaires. Ce protocole dont je suis l'investigatrice coordinatrice, est une collaboration entre l'UTD et les autres unités de compétences du Centre de référence de la Drépanocytose des Antilles et de la Guyane (inclusions prévues : Guadeloupe : n=185, Martinique : n= 115, Guyane : n= 35), et le Tropical Medical Research Institute de la Jamaïque (n= 165), avec le soutien du groupe CAREST (Caribbean Researchers for Sickle cell disease and Talassemia), le CIC 14-24, l' UMR S _1134 Inserm UAG, et l'UMR 1166 Eq4 de la Pitié Salpêtrière spécialisée dans les Dyslipidémies, Inflammation et Athérosclérose dans les Maladies Métaboliques.

Le champ des lipides et au sens plus large, de la nutrition, est très certainement un nouveau champ d'attaque, pour mieux comprendre et appréhender la drépanocytose, afin de tenter d'en maîtriser les complications et gérer leurs répercussions chez les patients et leurs familles.

Nous recommandons, du fait de nos résultats et de notre pratique clinique, de poursuivre la surveillance du profil lipidique des patients drépanocytaires lors de leur bilan annuel, ainsi que la mise en place d'évaluations puis mesures correctives intervenant sur le mode de vie, à visée hypotriglycéridémiantes, le cas échéant, maintenant des TG<1.50g/L, pour prévenir certaines des complications qui y seraient associées. L'effet de ces mesures nécessite d'être réévalué à plus long terme.

F- REFERENCES

- 1- Adesina O, Brunson A, Keegan THM, Wun T (2017) Osteonecrosis of the femoral head in sickle cell disease: prevalence, comorbidities, and surgical outcomes in California. *Blood Adv* 1(16): 1287–1295.
- 2- Agarwal G, Wang JC, Kwong S, Cohen SM, Ferrone FA, Josephs R, Briehl RW (2002) Sickle hemoglobin fibers: mechanisms of depolymerization. *J Mol Biol* 322(2): 395–412.
- 3- Aisaka K, Gross SS, Griffith OW, Levi R (1989) NG-methylarginine, an inhibitor of endothelium-derived nitric oxide synthesis, is a potent pressor agent in the guinea pig: does nitric oxide regulate blood pressure in vivo? *Biochem Biophys Res Commun* 160(2): 881–886.
- 4- Akinyanju PA, Akinyanju CO (1976) Plasma and red cell lipids in sickle cell disease. *Ann Clin Lab Sci* 6(6): 521–524.
- 5- Aleluia MM, Guarda CC da, Santiago RP, Fonseca TCC, Neves FI, Souza RQ de, Farias LA, Pimenta FA, Fiuza LM, Pitanga TN, Ferreira JRD, Adorno EV, et al. (2017) Association of classical markers and establishment of the dyslipidemic sub-phenotype of sickle cell anemia. *Lipids Health Dis* 16(1): 74.
- 6- Allison AC (1954) Protection afforded by sickle-cell trait against subtertian malarial infection. *Br Med J* 1(4857): 290–294.
- 7- Allon M (1990) Renal abnormalities in sickle cell disease. *Arch Intern Med* 150(3): 501–504.
- 8- Anagnostis P, Stevenson JC, Crook D, Johnston DG, Godsland IF (2015) Effects of menopause, gender and age on lipids and high-density lipoprotein cholesterol subfractions. *Maturitas* 81(1): 62–68.
- 9- Asakura T, Minakata K, Adachi K, Russell MO, Schwartz E (1977) Denatured hemoglobin in sickle erythrocytes. *J Clin Invest* 59(4): 633–640.
- 10- Asztalos BF, Sloop CH, Wong L, Roheim PS (1993) Two-dimensional electrophoresis of plasma lipoproteins: recognition of new apo A-I-containing subpopulations. *Biochim Biophys Acta* 1169(3): 291–300.
- 11- Ataga KI, Moore CG, Hillery CA, Jones S, Whinna HC, Strayhorn D, Sohler C, Hinderliter A, Parise LV, Orringer EP (2008) Coagulation activation and inflammation in sickle cell disease-associated pulmonary hypertension. *Haematologica* 93(1): 20–26.
- 12- Athanassiou G, Moutzouri A, Kourakli A, Zoumbos N (2006) Effect of hydroxyurea on the deformability of the red blood cell membrane in patients with sickle cell anemia. *Clin Hemorheol Microcirc* 35(1–2): 291–295.
- 13- Baitsch D, Bock HH, Engel T, Telgmann R, Müller-Tidow C, Varga G, Bot M, Herz J, Robenek H, Eckardstein A von, Nofer J-R (2011) Apolipoprotein E induces antiinflammatory phenotype in macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 31(5): 1160–1168.
- 14- Ballas SK, Dover GJ, Charache S (1989) Effect of hydroxyurea on the rheological properties of sickle erythrocytes in vivo. *Am J Hematol* 32(2): 104–111.
- 15- Ballas SK, Larner J, Smith ED, Surrey S, Schwartz E, Rappaport EF (1988) Rheologic predictors of the severity of the painful sickle cell crisis. *Blood* 72(4): 1216–1223.
- 16- Ballas SK, Mohandas N (2004) Sickle red cell microrheology and sickle blood rheology. *Microcirculation* 11(2): 209–225.
- 17- Ballas SK, Smith ED (1992) Red blood cell changes during the evolution of the sickle cell painful crisis. *Blood* 79(8): 2154–2163.

- 18- Barabino GA, McIntire LV, Eskin SG, Sears DA, Udden M (1987a) Rheological studies of erythrocyte-endothelial cell interactions in sickle cell disease. *Prog Clin Biol Res* 240: 113–127.
- 19- Barabino GA, McIntire LV, Eskin SG, Sears DA, Udden M (1987b) Endothelial cell interactions with sickle cell, sickle trait, mechanically injured, and normal erythrocytes under controlled flow. *Blood* 70(1): 152–157.
- 20- Barabino GA, Platt MO, Kaul DK (2010) Sickle cell biomechanics. *Annu Rev Biomed Eng* 12: 345–367.
- 21- Bardakdjian-Michau J, Bahuau M, Hurtrel D, Godart C, Riou J, Mathis M, Goossens M, Badens C, Ducrocq R, Elion J, Perini JM (2009) Neonatal screening for sickle cell disease in France. *J Clin Pathol* 62(1): 31–33.
- 22- Bardakdjian-Michau J, Dhondt J-L, Ducrocq R, Galactéros F, Guyard A, Huchet F-X, Lahary A, Lena-Russo D, Maboudou P, North M-L, Prehu C, Soummer A-M, et al. (2003) [Good practices for the study of hemoglobin]. *Ann Biol Clin (Paris)* 61(4): 401–409.
- 23- Bartolucci P, Brugnara C, Teixeira-Pinto A, Pissard S, Moradkhani K, Jouault H, Galacteros F (2012) Erythrocyte density in sickle cell syndromes is associated with specific clinical manifestations and hemolysis. *Blood* 120(15): 3136–3141.
- 24- Baskurt OK, Boynard M, Cokelet GC, Connes P, Cooke BM, Forconi S, Liao F, Hardeman MR, Jung F, Meiselman HJ, Nash G, Nemeth N, et al. (2009) New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin Hemorheol Microcirc* 42(2): 75–97.
- 25- Baskurt OK, Meiselman HJ (2008) RBC aggregation: more important than RBC adhesion to endothelial cells as a determinant of in vivo blood flow in health and disease. *Microcirculation* 15(7): 585–590.
- 26- Baskurt OK, Yalcin O, Meiselman HJ (2004) Hemorheology and vascular control mechanisms. *Clin Hemorheol Microcirc* 30(3–4): 169–178.
- 27- Bauer DE, Orkin SH (2015) Hemoglobin switching’s surprise: the versatile transcription factor BCL11A is a master repressor of fetal hemoglobin. *Curr Opin Genet Dev* 33: 62–70.
- 28- Beet EA (1949) The genetics of the sickle-cell trait in a Bantu tribe. *Ann Eugen* 14(4): 279–284.
- 29- Beilstein F, Carrière V, Leturque A, Demignot S (2016) Characteristics and functions of lipid droplets and associated proteins in enterocytes. *Exp Cell Res* 340(2): 172–179.
- 30- Belcher JD, Marker PH, Weber JP, Hebbel RP, Vercellotti GM (2000) Activated monocytes in sickle cell disease: potential role in the activation of vascular endothelium and vaso-occlusion. *Blood* 96(7): 2451–2459.
- 31- Belhassen L, Pelle G, Sediame S, Bachir D, Carville C, Bucherer C, Lacombe C, Galacteros F, Adnot S (2001) Endothelial dysfunction in patients with sickle cell disease is related to selective impairment of shear stress-mediated vasodilation. *Blood* 97(6): 1584–1589.
- 32- Berger CE, Kluger R, Urban M, Kowalski J, Haas OA, Engel A (2000) Elevated levels of lipoprotein(a) in familial bone marrow edema syndrome of the hip. *Clin Orthop Relat Res* (377): 126–131.
- 33- Berger CE, Kröner A, Stiegler H, Erdel M, Haas OA, Engel A (2002) Hypofibrinolysis, lipoprotein(a), and plasminogen activator inhibitor. *Clin Orthop Relat Res* (397): 342–349.
- 34- Blaho VA, Hla T (2014) An update on the biology of sphingosine 1-phosphate receptors. *J Lipid Res* 55(8): 1596–1608.
- 35- Bowers AS, Duncan WW, Pepple DJ (2016) Red blood cell deformability is reduced

in homozygous sickle cell disease patients with leg ulcers. *Clin Hemorheol Microcirc* 64(2): 199–204.

36- Bowers ASA, Duncan WW, Pepple DJ (2018) Erythrocyte Aggregation and Blood Viscosity is Similar in Homozygous Sickle Cell Disease Patients with and without Leg Ulcers. *Int J Angiol* 27(1): 35–38.

37- Brugnara C (2018) Sickle cell dehydration: Pathophysiology and therapeutic applications. *Clin Hemorheol Microcirc* 68(2–3): 187–204.

38- Bu G (2009) Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. *Nat Rev Neurosci* 10(5): 333–344.

39- Buchowski MS, Swift LL, Akohoue SA, Shankar SM, Flakoll PJ, Abumrad N (2007) Defects in postabsorptive plasma homeostasis of fatty acids in sickle cell disease. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 31(4): 263–268.

40- Castro O, Brambilla DJ, Thorington B, Reindorf CA, Scott RB, Gillette P, Vera JC, Levy PS (1994) The acute chest syndrome in sickle cell disease: incidence and risk factors. The Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *Blood* 84(2): 643–649.

41- Catapano AL, Reiner Z, De Backer G, Graham I, Taskinen M-R, Wiklund O, Agewall S, Alegria E, Chapman MJ, Durrington P, Erdine S, Halcox J, et al. (2011) ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Atherosclerosis* 217(1): 3–46.

42- Champion HC, Bivalacqua TJ, Takimoto E, Kass DA, Burnett AL (2005) Phosphodiesterase-5A dysregulation in penile erectile tissue is a mechanism of priapism. *Proc Natl Acad Sci USA* 102(5): 1661–1666.

43- Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarenco P, Andreotti F, Borén J, Catapano AL, Descamps OS, Fisher E, Kovanen PT, Kuivenhoven JA, Lesnik P, Masana L, et al. (2011) Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *Eur Heart J* 32(11): 1345–1361.

44- Chapman MJ, Guérin M, Bruckert E (1998) Atherogenic, dense low-density lipoproteins. Pathophysiology and new therapeutic approaches. *Eur Heart J* 19 Suppl A: A24-30.

45- Charlot K, Hierso R, Lemonne N, Romana M, Tressières B, Lalanne-Mistrih M-L, Etienne-Julan M, Tarer V, Ferracci S, Hardy-Dessources M-D, Connes P (2017) Changes in autonomic nervous activity during vaso-occlusive crisis in patients with sickle cell anaemia. *Br J Haematol* 177(3): 484–486.

46- Chien S, Usami S, Bertles JF (1970) Abnormal rheology of oxygenated blood in sickle cell anemia. *J Clin Invest* 49(4): 623–634.

47- Choremis C, Kyriakides V, Papadakis E (1961) Studies on the blood lipids and lipoproteins in thalassaemia and sickle cell anaemia. *J Clin Pathol* 14: 361–364.

48- Chowaniec Z, Skoczyńska A (2018) Plasma lipid transfer proteins: The role of PLTP and CETP in atherogenesis. *Adv Clin Exp Med* 27(3): 429–436.

49- Cita K-C, Brureau L, Lemonne N, Billaud M, Connes P, Ferdinand S, Tressières B, Tarer V, Etienne-Julan M, Blanchet P, Elion J, Romana M (2016) Men with Sickle Cell Anemia and Priapism Exhibit Increased Hemolytic Rate, Decreased Red Blood Cell Deformability and Increased Red Blood Cell Aggregate Strength. *PLoS ONE* 11(5): e0154866.

50- Cohn JS, Johnson EJ, Millar JS, Cohn SD, Milne RW, Marcel YL, Russell RM, Schaefer EJ (1993) Contribution of apoB-48 and apoB-100 triglyceride-rich lipoproteins (TRL) to postprandial increases in the plasma concentration of TRL triglycerides and retinyl esters. *J Lipid Res* 34(12): 2033–2040.

- 51- Connes P, Alexy T, Detterich J, Romana M, Hardy-Dessources M-D, Ballas SK (2016) The role of blood rheology in sickle cell disease. *Blood Rev* 30(2): 111–118.
- 52- Connes P, Lamarre Y, Hardy-Dessources M-D, Lemonne N, Waltz X, Mougengel D, Mukisi-Mukaza M, Lalanne-Mistrih M-L, Tarer V, Tressières B, Etienne-Julan M, Romana M (2013) Decreased hematocrit-to-viscosity ratio and increased lactate dehydrogenase level in patients with sickle cell anemia and recurrent leg ulcers. *PLoS ONE* 8(11): e79680.
- 53- Connes P, Renoux C, Romana M, Abkarian M, Joly P, Martin C, Hardy-Dessources M-D, Ballas SK (2018) Blood rheological abnormalities in sickle cell anemia. *Clin Hemorheol Microcirc* 68(2–3): 165–172.
- 54- Cortese-Krott MM, Kelm M (2014) Endothelial nitric oxide synthase in red blood cells: key to a new erythrocrine function? *Redox Biol* 2: 251–258.
- 55- Crichton GE, Alkerwi A (2015) Physical activity, sedentary behavior time and lipid levels in the Observation of Cardiovascular Risk Factors in Luxembourg study. *Lipids Health Dis* 14: 87.
- 56- Cui Y, Kaisaierjiang A, Cao P, Wu Z-Y, Lv Q (2014) Association of apolipoprotein A5 genetic polymorphisms with steroid-induced osteonecrosis of femoral head in a Chinese Han population. *Diagn Pathol* 9: 229.
- 57- Cziraky MJ, Watson KE, Talbert RL (2008) Targeting low HDL-cholesterol to decrease residual cardiovascular risk in the managed care setting. *J Manag Care Pharm* 14(8 Suppl): S3-28; quiz S30-31.
- 58- Daak AA, Dampier CD, Fuh B, Kanter J, Alvarez OA, Black LV, McNaull MA, Callaghan MU, George A, Neumayr L, Hilliard LM, Sancilio F, et al. (2018) Double-blind, randomized, multicenter phase 2 study of SC411 in children with sickle cell disease (SCOT trial). *Blood Adv* 2(15): 1969–1979.
- 59- Daigre J-L, Atallah A, Boissin J-L, Jean-Baptiste G, Kangambega P, Chevalier H, Balkau B, Smadja D, Inamo J (2012) The prevalence of overweight and obesity, and distribution of waist circumference, in adults and children in the French Overseas Territories: the PODIUM survey. *Diabetes Metab* 38(5): 404–411.
- 60- D'Aquila T, Hung Y-H, Carreiro A, Buhman KK (2016) Recent discoveries on absorption of dietary fat: Presence, synthesis, and metabolism of cytoplasmic lipid droplets within enterocytes. *Biochim Biophys Acta* 1861(8 Pt A): 730–747.
- 61- Díaz-Díaz J, Camacho-Salas A, Núñez-Enamorado N, Carro-Rodríguez MA, Sánchez-Galán V, Martínez de Aragón A, Simón-De Las Heras R (2014) [Stroke in paediatric patients with sickle-cell anaemia]. *Rev Neurol* 59(4): 153–
- 62- Donin AS, Nightingale CM, Owen CG, Rudnicka AR, McNamara MC, Prynne CJ, Stephen AM, Cook DG, Whincup PH (2010) Ethnic differences in blood lipids and dietary intake between UK children of black African, black Caribbean, South Asian, and white European origin: the Child Heart and Health Study in England (CHASE). *Am J Clin Nutr* 92(4): 776–783.
- 63- Dose J, Huebbe P, Nebel A, Rimbach G (2016) APOE genotype and stress response - a mini review. *Lipids Health Dis* 15: 121.
- 64- Duriez P, Fruchart JC (1999) High-density lipoprotein subclasses and apolipoprotein A-I. *Clin Chim Acta* 286(1–2): 97–114.
- 65- Eaton WA, Bunn HF (2017) Treating sickle cell disease by targeting HbS polymerization. *Blood* 129(20): 2719–2726.
- 66- Eaton WA, Hofrichter J (1987) Hemoglobin S gelation and sickle cell disease. *Blood* 70(5): 1245–1266.
- 67- Embury SH, Clark MR, Monroy G, Mohandas N (1984) Concurrent sickle cell anemia and

- alpha-thalassemia. Effect on pathological properties of sickle erythrocytes. *J Clin Invest* 73(1): 116–123.
- 68- Emokpae MA, Uwumarongie OH, Osadolor HB (2011) Sex dimorphism in serum lecithin: cholesterol acyltransferase and lipoprotein lipase activities in adult sickle cell anaemia patients with proteinuria. *Indian J Clin Biochem* 26(1): 57–61.
- 69- Ephraim RKD, Adu P, Ake E, Agbodzakey H, Adoba P, Cudjoe O, Agoni C (2016) Normal Non-HDL Cholesterol, Low Total Cholesterol, and HDL Cholesterol Levels in Sickle Cell Disease Patients in the Steady State: A Case-Control Study of Tema Metropolis. *J Lipids* 2016: 7650530.
- 70- Erasmus RT, Olukoga AO, Ojuawo O (1990) Plasma lipids and lipoproteins in Nigerian children with sickle cell anemia. *Ann Trop Paediatr* 10(4): 421–423.
- 71- European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation, Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, Graham I, Taskinen M-R, Wiklund O, Agewall S, Alegria E, Chapman MJ, Durrington P, Erdine S, et al. (2011) ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J* 32(14): 1769–1818.
- 72- Falusi AG, Olatunji PO (1994) Effects of alpha thalassaemia and haemoglobin F (HbF) level on the clinical severity of sickle-cell anaemia. *Eur J Haematol* 52(1): 13–15.
- 73- Fard AD, Hosseini SA, Shahjahani M, Salari F, Jaseb K (2013) Evaluation of Novel Fetal Hemoglobin Inducer Drugs in Treatment of β -Hemoglobinopathy Disorders. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res* 7(3): 47–54.
- 74- Fattori A, Souza RA de, Saad STO, Costa FF (2005) Acute myocardial infarction in sickle cell disease: a possible complication of hydroxyurea treatment. *Hematol J* 5(7): 589–590.
- 75- Fatunde OJ, Scott-Emuakpor AB (1992) Foetal haemoglobin in Nigerian children with sickle cell anaemia. Effect on haematological parameters and clinical severity. *Trop Geogr Med* 44(3): 264–266.
- 76- Field JJ, Strunk RC, Knight-Perry JE, Blinder MA, Townsend RR, DeBaun MR (2009) Urinary cysteinyl leukotriene E4 significantly increases during pain in children and adults with sickle cell disease. *Am J Hematol* 84(4): 231–233.
- 77- Fisher EA (2012) The degradation of apolipoprotein B100: multiple opportunities to regulate VLDL triglyceride production by different proteolytic pathways. *Biochim Biophys Acta* 1821(5): 778–781.
- 78- Foucan L, Bourhis V, Bangou J, M erault L, Etienne-Julan M, Salmi RL (1998) A randomized trial of captopril for microalbuminuria in normotensive adults with sickle cell anemia. *Am J Med* 104(4): 339–342.
- 79- Foucan L, Kangambega P, Ekou evi DK, Rozet J, Bangou-Br edent J (2000) Lipid profile in an adult population in Guadeloupe. *Diabetes Metab* 26(6): 473–480.
- 80- Frenette PS, Atweh GF (2007) Sickle cell disease: old discoveries, new concepts, and future promise. *J Clin Invest* 117(4): 850–858.
- 81- Gladwin MT, Sachdev V, Jison ML, Shizukuda Y, Plehn JF, Minter K, Brown B, Coles WA, Nichols JS, Ernst I, Hunter LA, Blackwelder WC, et al. (2004) Pulmonary hypertension as a risk factor for death in patients with sickle cell disease. *N Engl J Med* 350(9): 886–895.
- 82- Gladwin MT, Vichinsky E (2008) Pulmonary complications of sickle cell disease. *N Engl J Med* 359(21): 2254–2265.
- 83- Glueck CJ, Freiberg R, Tracy T, Stroop D, Wang P (1997) Thrombophilia and hypofibrinolysis: pathophysiologies of osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res* (334): 43–56.

- 84- Goff LM, Whyte MB, Samuel M, Harding SV (2016) Significantly greater triglyceridemia in Black African compared to White European men following high added fructose and glucose feeding: a randomized crossover trial. *Lipids Health Dis* 15: 145.
- 85- Gordeuk VR, Sachdev V, Taylor JG, Gladwin MT, Kato G, Castro OL (2008) Relative systemic hypertension in patients with sickle cell disease is associated with risk of pulmonary hypertension and renal insufficiency. *Am J Hematol* 83(1): 15–18.
- 86- Goulbourne CN, Gin P, Tatar A, Nobumori C, Hoenger A, Jiang H, Grovenor CRM, Adeyo O, Esko JD, Goldberg IJ, Reue K, Tontonoz P, et al. (2014) The GPIHBP1-LPL complex is responsible for the margination of triglyceride-rich lipoproteins in capillaries. *Cell Metab* 19(5): 849–860.
- 87- Graeser A-C, Boesch-Saadatmandi C, Lippmann J, Wagner AE, Huebbe P, Storm N, Höppner W, Wiswedel I, Gardemann A, Miniñane AM, Döring F, Rimbach G (2011) Nrf2-dependent gene expression is affected by the proatherogenic apoE4 genotype-studies in targeted gene replacement mice. *J Mol Med* 89(10): 1027–1035.
- 88- Grau M, Mozar A, Charlot K, Lamarre Y, Weyel L, Suhr F, Collins B, Jumet S, Hardy-Dessources M-D, Romana M, Lemonne N, Etienne-Julan M, et al. (2015) High red blood cell nitric oxide synthase activation is not associated with improved vascular function and red blood cell deformability in sickle cell anaemia. *Br J Haematol* 168(5): 728–736.
- 89- Gray A, Anionwu EN, Davies SC, Brozovic M (1991) Patterns of mortality in sickle cell disease in the United Kingdom. *J Clin Pathol* 44(6): 459–463.
- 90- Gueye Tall F, Martin C, Ndour EHM, Renoux C, Ly ID, Connes P, Gueye PM, Diallo RN, Diagne I, Diop PA, Cissé A, Lopez Sall P, et al. (2019) Combined and differential effects of alpha-thalassemia and HbF-quantitative trait loci in Senegalese hydroxyurea-free children with sickle cell anemia. *Pediatr Blood Cancer* : e27934.
- 91- Ham RLM van der, Alizadeh Dehnavi R, Berbée JFP, Putter H, Roos A de, Romijn JA, Rensen PCN, Tamsma JT (2009) Plasma apolipoprotein CI and CIII levels are associated with increased plasma triglyceride levels and decreased fat mass in men with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 32(1): 184–186.
- 92- Hassoun H, Vassiliadis JN, Murray J, Njolstad PR, Rogus JJ, Ballas SK, Schaffer F, Jarolim P, Brabec V, Palek J (1997) Characterization of the Underlying Molecular Defect in Hereditary Spherocytosis Associated With Spectrin Deficiency. *Blood* 90(1): 398–406.
- 93- Hazmi MA el-, Jabbar FA, Warsy AS (1987) Cholesterol and triglyceride level in patients with sickle cell anaemia. *Scand J Clin Lab Invest* 47(4): 351–354.
- 94- Hebbel RP (2011) Reconstructing sickle cell disease: a data-based analysis of the “hyperhemolysis paradigm” for pulmonary hypertension from the perspective of evidence-based medicine. *Am J Hematol* 86(2): 123–154.
- 95- Hebbel RP, Miller WJ (1984) Phagocytosis of sickle erythrocytes: immunologic and oxidative determinants of hemolytic anemia. *Blood* 64(3): 733–741.
- 96- Hebbel RP, Vercellotti G, Nath KA (2009) A systems biology consideration of the vasculopathy of sickle cell anemia: the need for multi-modality chemo-prophylaxis. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 9(4): 271–292.
- 97- Hegele RA, Ginsberg HN, Chapman MJ, Nordestgaard BG, Kuivenhoven JA, Averna M, Borén J, Bruckert E, Catapano AL, Descamps OS, Hovingh GK, Humphries SE, et al. (2014) The polygenic nature of hypertriglyceridaemia: implications for definition, diagnosis, and management. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2(8): 655–666.
- 98- Heimlich JB, Speed JS, O’Connor PM, Pollock JS, Townes TM, Meiler SE, Kutlar A, Pollock DM (2016) Endothelin-1 contributes to the progression of renal injury in sickle cell disease via reactive

oxygen species. *Br J Pharmacol* 173(2): 386–395.

99- Herrick JB (2001) Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. 1910. *Yale J Biol Med* 74(3): 179–184.

100- Higgs DR, Aldridge BE, Lamb J, Clegg JB, Weatherall DJ, Hayes RJ, Grandison Y, Lowrie Y, Mason KP, Serjeant BE, Serjeant GR (1982) The interaction of alpha-thalassemia and homozygous sickle-cell disease. *N Engl J Med* 306(24): 1441–1446.

101- Hodges GJ, Zhao K, Kosiba WA, Johnson JM (2006) The involvement of nitric oxide in the cutaneous vasoconstrictor response to local cooling in humans. *J Physiol (Lond)* 574(Pt 3): 849–857.

102- Holzer M, Trieb M, Konya V, Wadsack C, Heinemann A, Marsche G (2013) Aging affects high-density lipoprotein composition and function. *Biochim Biophys Acta* 1831(9): 1442–1448.

103- Homan R, Esmail N, Mendelsohn L, Kato GJ (2013) A fluorescence method to detect and quantitate sterol esterification by lecithin:cholesterol acyltransferase. *Anal Biochem* 441(1): 80–86.

104- Horton DP, Ferriero DM, Mentzer WC (1995) Nontraumatic fat embolism syndrome in sickle cell anemia. *Pediatr Neurol* 12(1): 77–80.

105- Hrisomalos NF, Jampol LM, Moriarty BJ, Serjeant G, Acheson R, Goldberg MF (1987) Neodymium-YAG laser vitreolysis in sickle cell retinopathy. *Arch Ophthalmol* 105(8): 1087–1091.

106- Ingram VM (1957) Gene mutations in human haemoglobin: the chemical difference between normal and sickle cell haemoglobin. *Nature* 180(4581): 326–328.

107- Iqbal J, Hussain MM (2009) Intestinal lipid absorption. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 296(6): E1183–1194.

108- Iribarren C, Reed DM, Chen R, Yano K, Dwyer JH (1995) Low serum cholesterol and mortality. Which is the cause and which is the effect? *Circulation* 92(9): 2396–2403.

109- Jain S, Bakshi N, Krishnamurti L (2017) Acute Chest Syndrome in Children with Sickle Cell Disease. *Pediatr Allergy Immunol Pulmonol* 30(4): 191–201.

110- Jiang X-C (2018) Phospholipid transfer protein: its impact on lipoprotein homeostasis and atherosclerosis. *J Lipid Res* 59(5): 764–771.

111- Johnson CS (2005) Arterial blood pressure and hyperviscosity in sickle cell disease. *Hematol Oncol Clin North Am* 19(5): 827–837, vi.

112- Jones-Lecointe A, Smith E, Romana M, Gilbert M-G, Charles WP, Saint-Martin C, Kéclard L (2008) Beta-globin gene cluster haplotypes and alpha-thalassemia in sickle cell disease patients from Trinidad. *Am J Hum Biol* 20(3): 342–344.

113- Josephs R, Jarosch HS, Edelstein SJ (1976) Polymorphism of sickle cell hemoglobin fibers. *J Mol Biol* 102(3): 409–426.

114- Jovanovic-Bateman L, Hedreville R (2006) Sensorineural hearing loss with brainstem auditory evoked responses changes in homozygote and heterozygote sickle cell patients in Guadeloupe (France). *J Laryngol Otol* 120(8): 627–630.

115- Kane JP, Hardman DA, Paulus HE (1980) Heterogeneity of apolipoprotein B: isolation of a new species from human chylomicrons. *Proc Natl Acad Sci USA* 77(5): 2465–2469.

116- Kato GJ, Gladwin MT (2008) Evolution of Novel Small-Molecule Therapeutics Targeting Sickle Cell Vasculopathy. *JAMA* 300(22): 2638–2646.

- 117- Kato GJ, Gladwin MT, Steinberg MH (2007) Deconstructing sickle cell disease: reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. *Blood Rev* 21(1): 37–47.
- 118- Kato GJ, Hebbel RP, Steinberg MH, Gladwin MT (2009) Vasculopathy in sickle cell disease: Biology, pathophysiology, genetics, translational medicine, and new research directions. *Am J Hematol* 84(9): 618–625.
- 119- Kato GJ, Steinberg MH, Gladwin MT (2017) Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. *J Clin Invest* 127(3): 750–760.
- 120- Kaul DK, Fabry ME (2004) In vivo studies of sickle red blood cells. *Microcirculation* 11(2): 153–165.
- 121- Kaul DK, Fabry ME, Nagel RL (1986) Vaso-occlusion by sickle cells: evidence for selective trapping of dense red cells. *Blood* 68(5): 1162–1166.
- 122- Kaul DK, Fabry ME, Nagel RL (1989) Microvascular sites and characteristics of sickle cell adhesion to vascular endothelium in shear flow conditions: pathophysiological implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 86(9): 3356–3360.
- 123- Kaul DK, Finnegan E, Barabino GA (2009) Sickle red cell-endothelium interactions. *Microcirculation* 16(1): 97–111.
- 124- Kaul DK, Liu XD, Fabry ME, Nagel RL (2000) Impaired nitric oxide-mediated vasodilation in transgenic sickle mouse. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 278(6): H1799-1806.
- 125- Kleinbongard P, Schulz R, Rassaf T, Lauer T, Dejam A, Jax T, Kumara I, Gharini P, Kabanova S, Ozüyan B, Schnürch H-G, Gödecke A, et al. (2006) Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase. *Blood* 107(7): 2943–2951.
- 126- Knight-Madden J, Romana M, Villaescusa R, Reid M, Etienne-Julan M, Boutin L, Elana G, Elenga N, Wheeler G, Lee K, Nieves R, Jones Lecointe A, et al. (2016) CAREST--Multilingual Regional Integration for Health Promotion and Research on Sickle Cell Disease and Thalassemia. *Am J Public Health* 106(5): 851–853.
- 127- Knight-Madden JM, Barton-Gooden A, Weaver SR, Reid M, Greenough A (2013) Mortality, asthma, smoking and acute chest syndrome in young adults with sickle cell disease. *Lung* 191(1): 95–100.
- 128- Kobayashi J, Miyashita K, Nakajima K, Mabuchi H (2015) Hepatic Lipase: a Comprehensive View of its Role on Plasma Lipid and Lipoprotein Metabolism. *J Atheroscler Thromb* 22(10): 1001–1011.
- 129- Kohan AB (2015) Apolipoprotein C-III: a potent modulator of hypertriglyceridemia and cardiovascular disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 22(2): 119–125.
- 130- Kontush A, Lhomme M, Chapman MJ (2013) Unraveling the complexities of the HDL liposome. *J Lipid Res* 54(11): 2950–2963.
- 131- Kontush A, Therond P, Zerrad A, Couturier M, Nègre-Salvayre A, Souza JA de, Chantepie S, Chapman MJ (2007) Preferential sphingosine-1-phosphate enrichment and sphingomyelin depletion are key features of small dense HDL3 particles: relevance to antiapoptotic and antioxidative activities. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27(8): 1843–1849.
- 132- Kontush A (2014) High Density Lipoprotein, part of Handbook of experimental pharmacology, vol 224, chap p3-51.
- 133- Kontush A and Chapman MJ (2006) PHARMACOLOGICAL REVIEWS, Vol. 58, No. 3 Copyright © 2006 by The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics 60301/3133396 *Pharmacol Rev* 58:342–374.

- 134- Kuroda T, Tanabe N, Wakamatsu A, Takai C, Sato H, Nakatsue T, Wada Y, Nakano M, Narita I (2015) High triglyceride is a risk factor for silent osteonecrosis of the femoral head in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 34(12): 2071–2077.
- 135- Kuypers FA (2014) Hemoglobin s polymerization and red cell membrane changes. *Hematol Oncol Clin North Am* 28(2): 155–179.
- 136- Labie D, Pagnier J, Lapoumeroulie C, Rouabhi F, Dunda-Belkhodja O, Chardin P, Beldjord C, Wajcman H, Fabry ME, Nagel RL (1985) Common haplotype dependency of high G gamma-globin gene expression and high Hb F levels in beta-thalassemia and sickle cell anemia patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 82(7): 2111–2114.
- 137- Lalanne-Mistrih M-L, Connes P, Lamarre Y, Lemonne N, Hardy-Dessources M-D, Tarer V, Etienne-Julan M, Mouguel D, Tressières B, Romana M (2018) Lipid profiles in French West Indies sickle cell disease cohorts, and their general population. *Lipids Health Dis* 17(1): 38.
- 138- Lamarre Y, Hardy-Dessources M-D, Romana M, Lalanne-Mistrih M-L, Waltz X, Petras M, Doumido L, Blanchet-Deverly A, Martino J, Tressières B, Maillard F, Tarer V, et al. (2014a) Relationships between systemic vascular resistance, blood rheology and nitric oxide in children with sickle cell anemia or sickle cell-hemoglobin C disease. *Clin Hemorheol Microcirc* 58(2): 307–316.
- 139- Lamarre Y, Lalanne-Mistrih M-L, Romana M, Lemonne N, Mouguel D, Waltz X, Tressières B, Etienne-Julan M, Tarer V, Hardy-Dessources M-D, Connes P (2013) Male gender, increased blood viscosity, body mass index and triglyceride levels are independently associated with systemic relative hypertension in sickle cell anemia. *PLoS ONE* 8(6): e66004.
- 140- Lamarre Y, Romana M, Lemonne N, Hardy-Dessources M-D, Tarer V, Mouguel D, Waltz X, Tressières B, Lalanne-Mistrih M-L, Etienne-Julan M, Connes P (2014b) Alpha thalassemia protects sickle cell anemia patients from macro-albuminuria through its effects on red blood cell rheological properties. *Clin Hemorheol Microcirc* 57(1): 63–72.
- 141- Lamarre Y, Romana M, Waltz X, Lalanne-Mistrih M-L, Tressières B, Divialle-Doumido L, Hardy-Dessources M-D, Vent-Schmidt J, Petras M, Broquere C, Maillard F, Tarer V, et al. (2012) Hemorheological risk factors of acute chest syndrome and painful vaso-occlusive crisis in children with sickle cell disease. *Haematologica* 97(11): 1641–1647.
- 142- Lande WM, Andrews DL, Clark MR, Braham NV, Black DM, Embury SH, Mentzer WC (1988) The incidence of painful crisis in homozygous sickle cell disease: correlation with red cell deformability. *Blood* 72(6): 2056–2059.
- 143- Lanotte L, Mauer J, Mendez S, Fedosov DA, Fromental J-M, Claveria V, Nicoud F, Gompper G, Abkarian M (2016) Red cells' dynamic morphologies govern blood shear thinning under microcirculatory flow conditions. *Proc Natl Acad Sci USA* 113(47): 13289–13294.
- 144- Lanzkron S, Strouse JJ, Wilson R, Beach MC, Haywood C, Park H, Witkop C, Bass EB, Segal JB (2008) Systematic review: Hydroxyurea for the treatment of adults with sickle cell disease. *Ann Intern Med* 148(12): 939–955.
- 145- Larcen A, Stoltz JF, Gaillard S (1981) [Blood viscosity. Measurement and applications (hyper- and hypoviscosity syndromes) (author's transl)]. *Nouv Presse Med* 10(17): 1411–1415.
- 146- Larifla L, Armand C, Bangou J, Blanchet-Deverly A, Numeric P, Fonteau C, Michel C-T, Ferdinand S, Bourrhis V, Vélayoudom-Céphise F-L (2017) Association of APOE gene polymorphism with lipid profile and coronary artery disease in Afro-Caribbeans. *PLoS ONE* 12(7): e0181620.
- 147- Lemonne N, Charlot K, Waltz X, Ballas SK, Lamarre Y, Lee K, Hierso R, Connes C, Etienne-Julan M, Romana M, Connes P (2015) Hydroxyurea treatment does not increase blood viscosity and improves red blood cell rheology in sickle cell anemia. *Haematologica* 100(10): e383-386.
- 148- Lemonne N, Lamarre Y, Romana M, Hardy-Dessources M-D, Lionnet F, Waltz X, Tarer V,

- Mougenel D, Tressières B, Lalanne-Mistrih M-L, Etienne-Julan M, Connes P (2014) Impaired blood rheology plays a role in the chronic disorders associated with sickle cell-hemoglobin C disease. *Haematologica* 99(5): 74–75.
- 149- Lemonne N, Lamarre Y, Romana M, Mukisi-Mukaza M, Hardy-Dessources M-D, Tarer V, Mougenel D, Waltz X, Tressières B, Lalanne-Mistrih M-L, Etienne-Julan M, Connes P (2013) Does increased red blood cell deformability raise the risk for osteonecrosis in sickle cell anemia? *Blood* 121(15): 3054–3056.
- 150- Lin X-L, Xiao L-L, Tang Z-H, Jiang Z-S, Liu M-H (2018) Role of PCSK9 in lipid metabolism and atherosclerosis. *Biomed Pharmacother* 104: 36–44.
- 151- Lindenau JD, Wagner SC, Castro SM de, Hutz MH (2016) The effects of old and recent migration waves in the distribution of HBB*S globin gene haplotypes. *Genet Mol Biol* 39(4): 515–523.
- 152- Lionnet F, Hammoudi N, Stojanovic KS, Avellino V, Grateau G, Girot R, Haymann J-P (2012) Hemoglobin sickle cell disease complications: a clinical study of 179 cases. *Haematologica* 97(8): 1136–1141.
- 153- Liu M, Chung S, Shelness GS, Parks JS (2012) Hepatic ABCA1 and VLDL triglyceride production. *Biochim Biophys Acta* 1821(5): 770–777.
- 154- Liu SC, Yi SJ, Mehta JR, Nichols PE, Ballas SK, Yacono PW, Golan DE, Palek J (1996) Red cell membrane remodeling in sickle cell anemia. Sequestration of membrane lipids and proteins in Heinz bodies. *J Clin Invest* 97(1): 29–36.
- 155- Lubeck D, Agodoa I, Bhakta N, Danese M, Pappu K, Howard R, Gleeson M, Halperin M, Lanzkron S (2019) Estimated Life Expectancy and Income of Patients With Sickle Cell Disease Compared With Those Without Sickle Cell Disease. *JAMA* 2(11):e1915374.
- 156- Lubin B, Chiu D, Bastacky J, Roelofsen B, Van Deenen LL (1981) Abnormalities in membrane phospholipid organization in sickled erythrocytes. *J Clin Invest* 67(6): 1643–1649.
- 157- Lux SE, John KM, Karnovsky MJ (1976) Irreversible deformation of the spectrin-actin lattice in irreversibly sickled cells. *J Clin Invest* 58(4): 955–963.
- 158- Martin C, Pialoux V, Faes C, Charrin E, Skinner S, Connes P (2018) Does physical activity increase or decrease the risk of sickle cell disease complications? *Br J Sports Med* 52(4): 214–218.
- 159- Mason VR (1985) Landmark article Oct. 14, 1922: Sickle cell anemia. By V.R. Mason. *JAMA* 254(14): 1955–1957.
- 160- McCurdy PR, Sherman AS (1978) Irreversibly sickled cells and red cell survival in sickle cell anemia: a study with both DF32P and 51CR. *Am J Med* 64(2): 253–258.
- 161- McLean JW, Tomlinson JE, Kuang WJ, Eaton DL, Chen EY, Fless GM, Scanu AM, Lawn RM (1987) cDNA sequence of human apolipoprotein(a) is homologous to plasminogen. *Nature* 330(6144): 132–137.
- 162- Menea F, Khan BA, Uzair B, Menea A (2017) Sickle cell retinopathy: improving care with a multidisciplinary approach. *J Multidiscip Healthc* 10: 335–346.
- 163- Miller AL, Smith LC (1973) Activation of lipoprotein lipase by apolipoprotein glutamic acid. Formation of a stable surface film. *J Biol Chem* 248(9): 3359–3362.
- 164- Miller BA, Olivieri N, Salameh M, Ahmed M, Antognetti G, Huisman TH, Nathan DG, Orkin SH (1987) Molecular analysis of the high-hemoglobin-F phenotype in Saudi Arabian sickle cell anemia. *N Engl J Med* 316(5): 244–250.
- 165- Milner PF, Kraus AP, Sebes JI, Sleeper LA, Dukes KA, Embury SH, Bellevue R, Koshy M,

- Moohr JW, Smith J (1991) Sickle cell disease as a cause of osteonecrosis of the femoral head. *N Engl J Med* 325(21): 1476–1481.
- 166- Minniti CP, Gorbach AM, Xu D, Hon YY, Delaney K-M, Seidel M, Malik N, Peters-Lawrence M, Cantilena C, Nichols JS, Mendelsohn L, Conrey A, et al. (2014) Topical sodium nitrite for chronic leg ulcers in patients with sickle cell anaemia: a phase 1 dose-finding safety and tolerability trial. *Lancet Haematol* 1(3): e95–e103.
- 167- Möckesch B, Connes P, Charlot K, Skinner S, Hardy-Dessources M-D, Romana M, Jumet S, Petras M, Divialle-Doumou L, Martin C, Tressières B, Tarer V, et al. (2017) Association between oxidative stress and vascular reactivity in children with sickle cell anaemia and sickle haemoglobin C disease. *Br J Haematol* 178(3): 468–475.
- 168- Mohandas N, Chasis JA, Shohet SB (1983) The influence of membrane skeleton on red cell deformability, membrane material properties, and shape. *Semin Hematol* 20(3): 225–242.
- 169- Mohandas N, Evans E (1984) Adherence of sickle erythrocytes to vascular endothelial cells: requirement for both cell membrane changes and plasma factors. *Blood* 64(1): 282–287.
- 170- Mohandas N, Evans E (1985) Sickle erythrocyte adherence to vascular endothelium. Morphologic correlates and the requirement for divalent cations and collagen-binding plasma proteins. *J Clin Invest* 76(4): 1605–1612.
- 171- Mohandas N, Gallagher PG (2008) Red cell membrane: past, present, and future. *Blood* 112(10): 3939–3948.
- 172- Monnet D, Edjeme NE, Ndri K, Hauhouot-Attoungbre ML, Ahibo H, Sangare A, Yapo AE (2002) [Lipoprotein (a) and acute phase inflammation proteins in homozygous sickle cell disease]. *Ann Biol Clin (Paris)* 60(1): 101–103.
- 173- Monnet D, Kané F, Konan-Waidhet D, Diafouka F, Sangaré A, Yapo AE (1996a) Lipid, apolipoprotein AI and B levels in Ivorian patients with sickle cell anaemia. *Ann Biol Clin (Paris)* 54(7): 285–288.
- 174- Monnet PD, Kane F, Konan-Waidhet D, Akpona S, Kora J, Diafouka F, Sess D, Sangare A, Yapo AE (1996b) [Evaluation of atherogenic risk in homozygous sickle cell disease: study of lipid and apolipoprotein AI and B plasma levels]. *Bull Soc Pathol Exot* 89(4): 278–281.
- 175- Montague DK, Jarow J, Broderick GA, Dmochowski RR, Heaton JPW, Lue TF, Nehra A, Sharlip ID, Members of the Erectile Dysfunction Guideline Update Panel, American Urological Association (2003) American Urological Association guideline on the management of priapism. *J Urol* 170(4 Pt 1): 1318–1324.
- 176- Morris CR, Kato GJ, Poljakovic M, Wang X, Blackwelder WC, Sachdev V, Hazen SL, Vichinsky EP, Morris SM, Gladwin MT (2005) Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and mortality in sickle cell disease. *JAMA* 294(1): 81–90.
- 177- Mozzarelli A, Hofrichter J, Eaton WA (1987) Delay time of hemoglobin S polymerization prevents most cells from sickling in vivo. *Science* 237(4814): 500–506.
- 178- Mukisi-Mukaza M, Elbaz A, Samuel-Leborgne Y, Kéclard L, Le Turdu-Chicot C, Christophe-Duchange E, Mérault G (2000) Prevalence, clinical features, and risk factors of osteonecrosis of the femoral head among adults with sickle cell disease. *Orthopedics* 23(4): 357–363.
- 179- Mukisi-Mukaza M, Saint Martin C, Etienne-Julan M, Donkerwolcke M, Burny ME, Burny F (2011) Risk factors and impact of orthopaedic monitoring on the outcome of avascular necrosis of the femoral head in adults with sickle cell disease: 215 patients case study with control group. *Orthop Traumatol Surg Res* 97(8): 814–820.
- 180- Murayama M (1966) Molecular mechanism of red cell “sickling.” *Science* 153(3732): 145–149.

- 181- Nader E, Connes P, Lamarre Y, Renoux C, Joly P, Hardy-Dessources M-D, Cannas G, Lemonne N, Ballas SK (2017) Plasmapheresis may improve clinical condition in sickle cell disease through its effects on red blood cell rheology. *Am J Hematol* 92(11): E629–E630.
- 182- Nader E, Grau M, Fort R, Collins B, Cannas G, Gauthier A, Walpurgis K, Martin C, Bloch W, Poutrel S, Hot A, Renoux C, et al. (2018) Hydroxyurea therapy modulates sickle cell anemia red blood cell physiology: Impact on RBC deformability, oxidative stress, nitrite levels and nitric oxide synthase signalling pathway. *Nitric Oxide* 81: 28–35.
- 183- Nagel RL, Lin MJ, Witkowska HE, Fabry ME, Bestak M, Hirsch RE (1993) Compound heterozygosity for hemoglobin C and Korle-Bu: moderate microcytic hemolytic anemia and acceleration of crystal formation [corrected]. *Blood* 82(6): 1907–1912.
- 184- Naghedi-Baghdar H, Nazari S-M, Taghipour A, Nematy M, Shokri S, Mehri M-R, Molkara T, Javan R (2018) Effect of diet on blood viscosity in healthy humans: a systematic review. *Electron Physician* 10(3): 6563–6570.
- 185- Ndugwa C, Higgs D, Fisher C, Hambleton I, Mason K, Serjeant BE, Serjeant GR (2012) Homozygous sickle cell disease in Uganda and Jamaica a comparison of Bantu and Benin haplotypes. *West Indian Med J* 61(7): 684–691.
- 186- Nebor D, Bowers A, Hardy-Dessources M-D, Knight-Madden J, Romana M, Reid H, Barthélémy J-C, Cumming V, Hue O, Elion J, Reid M, Connes P, et al. (2011) Frequency of pain crises in sickle cell anemia and its relationship with the sympatho-vagal balance, blood viscosity and inflammation. *Haematologica* 96(11): 1589–1594.
- 187- Nebor D, Broquere C, Brudey K, Mougenel D, Tarer V, Connes P, Elion J, Romana M (2010) Alpha-thalassemia is associated with a decreased occurrence and a delayed age-at-onset of albuminuria in sickle cell anemia patients. *Blood Cells Mol Dis* 45(2): 154–158.
- 188- Ngo DA, Aygun B, Akinsheye I, Hankins JS, Bhan I, Luo HY, Steinberg MH, Chui DHK (2012) Fetal haemoglobin levels and haematological characteristics of compound heterozygotes for haemoglobin S and deletional hereditary persistence of fetal haemoglobin. *Br J Haematol* 156(2): 259–264.
- 189- Ngogang J, Mouray H, Lebreton de Vonne T, Raisonnier A (1989) Erythrocyte and plasma cholesterol exchange in sickle cell anemia. *Clin Chim Acta* 179(3): 295–304.
- 190- Noguchi CT, Schechter AN (1981) The intracellular polymerization of sickle hemoglobin and its relevance to sickle cell disease. *Blood* 58(6): 1057–1068.
- 191- Nolan VG, Wyszynski DF, Farrer LA, Steinberg MH (2005) Hemolysis-associated priapism in sickle cell disease. *Blood* 106(9): 3264–3267.
- 192- Nouriaie M, Gordeuk VR (2015) Blood transfusion and 30-day readmission rate in adult patients hospitalized with sickle cell disease crisis. *Transfusion* 55(10): 2331–2338.
- 193- Nouriaie M, Lee JS, Zhang Y, Kanas T, Zhao X, Xiong Z, Oriss TB, Zeng Q, Kato GJ, Gibbs JSR, Hildesheim ME, Sachdev V, et al. (2013) The relationship between the severity of hemolysis, clinical manifestations and risk of death in 415 patients with sickle cell anemia in the US and Europe. *Haematologica* 98(3): 464–472.
- 194- Novelli EM, Gladwin MT (2016) Crises in Sickle Cell Disease. *Chest* 149(4): 1082–1093.
- 195- Novelli EM, Huynh C, Gladwin MT, Moore CG, Ragni MV (2012) Pulmonary embolism in sickle cell disease: a case-control study. *J Thromb Haemost* 10(5): 760–766.
- 196- Odièvre M-H, Verger E, Silva-Pinto AC, Elion J (2011) Pathophysiological insights in sickle cell disease. *Indian J Med Res* 134: 532–537.
- 197- Ohene-Frempong K, Weiner SJ, Sleeper LA, Miller ST, Embury S, Moohr JW, Wethers DL,

- Pegelow CH, Gill FM (1998) Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: rates and risk factors. *Blood* 91(1): 288–294.
- 198- Olofsson SO, Stillemark-Billton P, Asp L (2000) Intracellular assembly of VLDL: two major steps in separate cell compartments. *Trends Cardiovasc Med* 10(8): 338–345.
- 199- Oram JF (2002) The cholesterol mobilizing transporter ABCA1 as a new therapeutic target for cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med* 12(4): 170–175.
- 200- Ou J, Ou Z, Jones DW, Holzhauer S, Hatoum OA, Ackerman AW, Weihrauch DW, Gutterman DD, Guice K, Oldham KT, Hillery CA, Pritchard KA (2003) L-4F, an apolipoprotein A-1 mimetic, dramatically improves vasodilation in hypercholesterolemia and sickle cell disease. *Circulation* 107(18): 2337–2341.
- 201- Ozturk OH, Can Y, Yonden Z, Motor S, Oktay G, Kaya H, Aslan M (2013) Lipoprotein subfraction profile and HDL-associated enzymes in sickle cell disease patients. *Lipids* 48(12): 1217–1226.
- 202- Palabrica TM, Liu AC, Aronovitz MJ, Furie B, Lawn RM, Furie BC (1995) Antifibrinolytic activity of apolipoprotein(a) in vivo: human apolipoprotein(a) transgenic mice are resistant to tissue plasminogen activator-mediated thrombolysis. *Nat Med* 1(3): 256–259.
- 203- Palmisano BT, Zhu L, Eckel RH, Stafford JM (2018) Sex differences in lipid and lipoprotein metabolism. *Mol Metab* 15: 45–55.
- 204- Pan M, Cederbaum AI, Zhang Y-L, Ginsberg HN, Williams KJ, Fisher EA (2004) Lipid peroxidation and oxidant stress regulate hepatic apolipoprotein B degradation and VLDL production. *J Clin Invest* 113(9): 1277–1287.
- 205- Parent F, Bachir D, Inamo J, Lionnet F, Driss F, Loko G, Habibi A, Bennani S, Savale L, Adnot S, Maitre B, Yaïci A, et al. (2011) A hemodynamic study of pulmonary hypertension in sickle cell disease. *N Engl J Med* 365(1): 44–53.
- 206- Paul RN, Castro OL, Aggarwal A, Oneal PA (2011) Acute chest syndrome: sickle cell disease. *Eur J Haematol* 87(3): 191–207.
- 207- Pauling L, Itano HA (1949) Sickle cell anemia a molecular disease. *Science* 110(2865): 543–548.
- 208- Piel FB, Hay SI, Gupta S, Weatherall DJ, Williams TN (2013a) Global burden of sickle cell anaemia in children under five, 2010-2050: modelling based on demographics, excess mortality, and interventions. *PLoS Med* 10(7): e1001484.
- 209- Piel FB, Patil AP, Howes RE, Nyangiri OA, Gething PW, Dewi M, Temperley WH, Williams TN, Weatherall DJ, Hay SI (2013b) Global epidemiology of sickle haemoglobin in neonates: a contemporary geostatistical model-based map and population estimates. *Lancet* 381(9861): 142–151.
- 210- Platt OS (2008) Hydroxyurea for the treatment of sickle cell anemia. *N Engl J Med* 358(13): 1362–1369.
- 211- Platt OS, Brambilla DJ, Rosse WF, Milner PF, Castro O, Steinberg MH, Klug PP (1994) Mortality in sickle cell disease. Life expectancy and risk factors for early death. *N Engl J Med* 330(23): 1639–1644.
- 212- Powars DR (1991) Sickle cell anemia: beta s-gene-cluster haplotypes as prognostic indicators of vital organ failure. *Semin Hematol* 28(3): 202–208.
- 213- Pritchett JW (2001) Statin therapy decreases the risk of osteonecrosis in patients receiving steroids. *Clin Orthop Relat Res* (386): 173–178.

- 214- Quiroga AD, Lehner R (2012) Liver triacylglycerol lipases. *Biochim Biophys Acta* 1821(5): 762–769.
- 215- Rahimi Z, Merat A, Haghshenass M, Madani H, Rezaei M, Nagel RL (2006) Plasma lipids in Iranians with sickle cell disease: hypocholesterolemia in sickle cell anemia and increase of HDL-cholesterol in sickle cell trait. *Clin Chim Acta* 365(1–2): 217–220.
- 216- Rahimy MC, Gangbo A, Ahouignan G, Alihonou E (2009) Newborn screening for sickle cell disease in the Republic of Benin. *J Clin Pathol* 62(1): 46–48.
- 217- Rambhojan C, Larifla L, Cleprier J, Bouaziz-Amar E, Velayoudom-Cephise F-L, Blanchet-Deverly A, Armand C, Plumasseau J, Lacorte J-M, Foucan L (2016) Vitamin D Status, Insulin Resistance, Leptin-To-Adiponectin Ratio in Adolescents: Results of a 1-Year Lifestyle Intervention. *Open Access Maced J Med Sci* 4(4): 596–602.
- 218- Ramzy D, Rao V, Tumiati LC, Xu N, Sheshgiri R, Miriuka S, Delgado DH, Ross HJ (2006) Elevated endothelin-1 levels impair nitric oxide homeostasis through a PKC-dependent pathway. *Circulation* 114(1 Suppl): I319-326.
- 219- Rapoport RM (2014) Acute nitric oxide synthase inhibition and endothelin-1-dependent arterial pressure elevation. *Front Pharmacol* 5: 57.
- 220- Reaven GM, Lerner RL, Stern MP, Farquhar JW (1967) Role of insulin in endogenous hypertriglyceridemia. *J Clin Invest* 46(11): 1756–1767.
- 221- Ren H, Ghebremeskel K, Okpala I, Lee A, Ibegbulam O, Crawford M (2008) Patients with sickle cell disease have reduced blood antioxidant protection. *Int J Vitam Nutr Res* 78(3): 139–147.
- 222- Renoux C, Connes P, Nader E, Skinner S, Faes C, Petras M, Bertrand Y, Garnier N, Cuzzubbo D, Divialle-Doumou L, Kebaïli K, Renard C, et al. (2017) Alpha-thalassaemia promotes frequent vaso-occlusive crises in children with sickle cell anaemia through haemorheological changes. *Pediatr Blood Cancer* 64(8).
- 223- Renoux C, Faivre M, Bessaa A, Da Costa L, Joly P, Gauthier A, Connes P (2019) Impact of surface-area-to-volume ratio, internal viscosity and membrane viscoelasticity on red blood cell deformability measured in isotonic condition. *Sci Rep* 9(1): 6771.
- 224- Renoux C, Joly P, Faes C, Mury P, Eglenen B, Turkay M, Yavas G, Yalcin O, Bertrand Y, Garnier N, Cuzzubbo D, Gauthier A, et al. (2018a) Association between Oxidative Stress, Genetic Factors, and Clinical Severity in Children with Sickle Cell Anemia. *J Pediatr* 195: 228–235.
- 225- Renoux C, Joly P, Gauthier A, Pialoux V, Romanet-Faes C, Bertrand Y, Garnier N, Cuzzubbo D, Cannas G, Connes P (2018b) Blood rheology in children with the S/β+-thalassemia syndrome. *Clin Hemorheol Microcirc* 69(1–2): 207–214.
- 226- Renoux C, Romana M, Joly P, Ferdinand S, Faes C, Lemonne N, Skinner S, Garnier N, Etienne-Julan M, Bertrand Y, Petras M, Cannas G, et al. (2016) Effect of Age on Blood Rheology in Sickle Cell Anaemia and Sickle Cell Haemoglobin C Disease: A Cross-Sectional Study. *PLoS ONE* 11(6): e0158182.
- 227- Richardson SG, Breeze GR, Stuart J (1976) Hyperfibrinogenaemia and hyperviscosity in sickle-cell crisis. *J Clin Pathol* 29(10): 890–893.
- 228- Rifkind JM, Mohanty JG, Nagababu E (2014) The pathophysiology of extracellular hemoglobin associated with enhanced oxidative reactions. *Front Physiol* 5: 500.
- 229- Rodríguez-Morán M, Guerrero-Romero F, Aradillas-García C, Bermudez-Peña C, Simental-Mendia LE, Vargas Morales JM, Torres Rodríguez ML, Cruz Mendoza E de la (2013) Atherogenic indices and prehypertension in obese and non-obese children. *Diab Vasc Dis Res* 10(1): 17–24.

- 230- Rybicki AC, Benjamin LJ (1998) Increased levels of endothelin-1 in plasma of sickle cell anemia patients. *Blood* 92(7): 2594–2596.
- 231- Rye KA, Hime NJ, Barter PJ (1995) The influence of cholesteryl ester transfer protein on the composition, size, and structure of spherical, reconstituted high density lipoproteins. *J Biol Chem* 270(1): 189–196.
- 232- Sabaka P, Kruzliak P, Gaspar L, Caprnda M, Bendzala M, Balaz D, Oravec S, Dukat A (2013) Postprandial changes of lipoprotein profile: effect of abdominal obesity. *Lipids Health Dis* 12: 179.
- 233- Saint-Martin C, Romana M, Bibrac A, Brudey K, Tarer V, Divialle-Doumdo L, Petras M, Keclard-Christophe L, Lamothe S, Broquere C, Etienne-Julan M (2013) Universal newborn screening for haemoglobinopathies in Guadeloupe (French West Indies): a 27-year experience. *J Med Screen* 20(4): 177–182.
- 234- Salvayre R, Auge N, Benoist H, Negre-Salvayre A (2002) Oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis. *Biochim Biophys Acta* 1585(2–3): 213–221.
- 235- Saraf SL, Molokie RE, Nouraie M, Sable CA, Luchtman-Jones L, Ensing GJ, Campbell AD, Rana SR, Niu XM, Machado RF, Gladwin MT, Gordeuk VR (2014) Differences in the clinical and genotypic presentation of sickle cell disease around the world. *Paediatr Respir Rev* 15(1): 4–12.
- 236- Sasaki J, Waterman MR, Buchanan GR, Cottam GL (1983) Plasma and erythrocyte lipids in sickle cell anaemia. *Clin Lab Haematol* 5(1): 35–44.
- 237- Sasaki J, Waterman MR, Cottam GL (1986) Decreased apolipoprotein A-I and B content in plasma of individuals with sickle cell anemia. *Clin Chem* 32(1 Pt 1): 226–227.
- 238- Schaefer EJ, Lamon-Fava S, Cohn SD, Schaefer MM, Ordovas JM, Castelli WP, Wilson PW (1994) Effects of age, gender, and menopausal status on plasma low density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B levels in the Framingham Offspring Study. *J Lipid Res* 35(5): 779–792.
- 239- Schlüter K, Drenckhahn D (1986) Co-clustering of denatured hemoglobin with band 3: its role in binding of autoantibodies against band 3 to abnormal and aged erythrocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 83(16): 6137–6141.
- 240- Schneider M, Witztum JL, Young SG, Ludwig EH, Miller ER, Tsimikas S, Curtiss LK, Marcovina SM, Taylor JM, Lawn RM, Innerarity TL, Pitas RE (2005) High-level lipoprotein [a] expression in transgenic mice: evidence for oxidized phospholipids in lipoprotein [a] but not in low density lipoproteins. *J Lipid Res* 46(4): 769–778.
- 241- Scoffone HM, Krajewski M, Zorca S, Bereal-Williams C, Littel P, Seamon C, Mendelsohn L, Footman E, Abi-Jaoudeh N, Sachdev V, Machado RF, Cuttica M, et al. (2013) Effect of extended-release niacin on serum lipids and on endothelial function in adults with sickle cell anemia and low high-density lipoprotein cholesterol levels. *Am J Cardiol* 112(9): 1499–1504.
- 242- Seixas MO, Rocha LC, Carvalho MB, Menezes JF, Lyra IM, Nascimento VML, Couto RD, Atta AM, Reis MG, Goncalves MS (2010) Levels of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) among children with steady-state sickle cell disease. *Lipids Health Dis* 9: 91.
- 243- Serjeant BE, Mason KP, Acheson RW, Maude GH, Stuart J, Serjeant GR (1986) Blood rheology and proliferative retinopathy in homozygous sickle cell disease. *Br J Ophthalmol* 70(7): 522–525.
- 244- Serjeant G, Serjeant B (1979) Neonatal screening for sickle hemoglobin. *Am J Clin Pathol* 72(2): 251.
- 245- Serjeant GR (2013) The natural history of sickle cell disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 3(10): a011783.
- 246- Serjeant GR, Chin N, Asnani MR, Serjeant BE, Mason KP, Hambleton IR, Knight-Madden JM

- (2018) Causes of death and early life determinants of survival in homozygous sickle cell disease: The Jamaican cohort study from birth. *PLoS ONE* 13(3): e0192710.
- 247- Serjeant GR, Serjeant BE, Mason KP, Hambleton IR, Fisher C, Higgs DR (2009) The changing face of homozygous sickle cell disease: 102 patients over 60 years. *Int J Lab Hematol* 31(6): 585–596.
- 248- Setty BN, Kulkarni S, Rao AK, Stuart MJ (2000) Fetal hemoglobin in sickle cell disease: relationship to erythrocyte phosphatidylserine exposure and coagulation activation. *Blood* 96(3): 1119–1124.
- 249- Setty BNY, Betal SG (2008) Microvascular endothelial cells express a phosphatidylserine receptor: a functionally active receptor for phosphatidylserine-positive erythrocytes. *Blood* 111(2): 905–914.
- 250- Shah AS, Tan L, Long JL, Davidson WS (2013) Proteomic diversity of high density lipoproteins: our emerging understanding of its importance in lipid transport and beyond. *J Lipid Res* 54(10): 2575–2585.
- 251- Shalev O, Repka T, Goldfarb A, Grinberg L, Abrahamov A, Olivieri NF, Rachmilewitz EA, Hebbel RP (1995) Deferiprone (L1) chelates pathologic iron deposits from membranes of intact thalassemic and sickle red blood cells both in vitro and in vivo. *Blood* 86(5): 2008–2013.
- 252- Sharpe LJ, Brown AJ (2013) Controlling cholesterol synthesis beyond 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase (HMGCR). *J Biol Chem* 288(26): 18707–18715.
- 253- Shet AS, Aras O, Gupta K, Hass MJ, Rausch DJ, Saba N, Koopmeiners L, Key NS, Hebbel RP (2003) Sickle blood contains tissue factor-positive microparticles derived from endothelial cells and monocytes. *Blood* 102(7): 2678–2683.
- 254- Shores J, Peterson J, VanderJagt D, Glew RH (2003) Reduced cholesterol levels in African-American adults with sickle cell disease. *J Natl Med Assoc* 95(9): 813–817.
- 255- Silva CM, Giovani P, Viana MB (2011) High reticulocyte count is an independent risk factor for cerebrovascular disease in children with sickle cell anemia. *Pediatr Blood Cancer* 56(1): 116–121.
- 256- Sinauridze EI, Kireev DA, Popenko NY, Pichugin AV, Panteleev MA, Krymskaya OV, Ataullakhanov FI (2007) Platelet microparticle membranes have 50- to 100-fold higher specific procoagulant activity than activated platelets. *Thromb Haemost* 97(3): 425–434.
- 257- Sirwi A, Hussain MM (2018) Lipid transfer proteins in the assembly of apoB-containing lipoproteins. *J Lipid Res* 59(7): 1094–1102.
- 258- Sloop GD, Weidman JJ, St Cyr JA (2018) Perspective: interesterified triglycerides, the recent increase in deaths from heart disease, and elevated blood viscosity. *Ther Adv Cardiovasc Dis* 12(1): 23–28.
- 259- Song YM, Sung J, Kim JS (2000) Which cholesterol level is related to the lowest mortality in a population with low mean cholesterol level: a 6.4-year follow-up study of 482,472 Korean men. *Am J Epidemiol* 151(8): 739–
- 260- Soran H, Hama S, Yadav R, Durrington PN (2012) HDL functionality. *Curr Opin Lipidol* 23(4): 353–366.
- 261- Soupene E, Borja MS, Borda M, Larkin SK, Kuypers FA (2016) Featured Article: Alterations of lecithin cholesterol acyltransferase activity and apolipoprotein A-I functionality in human sickle blood. *Exp Biol Med (Maywood)* 241(17): 1933–1942.
- 262- Souza JA de, Vindis C, Nègre-Salvayre A, Rye K-A, Couturier M, Therond P, Chantepie S, Salvayre R, Chapman MJ, Kontush A (2010) Small, dense HDL 3 particles attenuate apoptosis in endothelial cells: pivotal role of apolipoprotein A-I. *J Cell Mol Med* 14(3): 608–620.

- 263- Sparkenbaugh E, Pawlinski R (2017) Prothrombotic aspects of sickle cell disease. *J Thromb Haemost* 15(7): 1307–1316.
- 264- Steensma DP, Kyle RA, Shampo MA (2010) Walter Clement Noel—First Patient Described With Sickle Cell Disease. *Mayo Clin Proc* 85(10): e74–e75.
- 265- Steinberg MH, McCarthy WF, Castro O, Ballas SK, Armstrong FD, Smith W, Ataga K, Swerdlow P, Kutlar A, DeCastro L, Waclawiw MA, Investigators of the Multicenter Study of Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia and MSH Patients' Follow-Up (2010) The risks and benefits of long-term use of hydroxyurea in sickle cell anemia: A 17.5 year follow-up. *Am J Hematol* 85(6): 403–408.
- 266- Steinmetz A, Hocke G, Saïle R, Puchois P, Fruchart JC (1989) Influence of serum amyloid A on cholesterol esterification in human plasma. *Biochim Biophys Acta* 1006(2): 173–178.
- 267- Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH, Goldberg AC, Gordon D, Levy D, Lloyd-Jones DM, McBride P, Schwartz JS, et al. (2014) 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 129(25 Suppl 2): S1-45.
- 268- Sumner AE (2009) Ethnic differences in triglyceride levels and high-density lipoprotein lead to underdiagnosis of the metabolic syndrome in black children and adults. *J Pediatr* 155(3): S7.e7-11.
- 269- Sumner AE, Harman JL, Buxbaum SG, Miller BV, Tambay AV, Wyatt SB, Taylor HA, Rotimi CN, Sarpong DF (2010a) The triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol ratio fails to predict insulin resistance in African-American women: an analysis of Jackson Heart Study. *Metab Syndr Relat Disord* 8(6): 511–514.
- 270- Sumner AE, Zhou J, Doumatey A, Imoisili OE, Amoah A, Acheampong J, Oli J, Johnson T, Adebamowo C, Rotimi CN (2010b) Low HDL-Cholesterol with Normal Triglyceride Levels is the Most Common Lipid Pattern in West Africans and African Americans with Metabolic Syndrome: Implications for Cardiovascular Disease Prevention. *CVD Prev Control* 5(3): 75–80.
- 271- Sun H, Samarghandi A, Zhang N, Yao Z, Xiong M, Teng B-B (2012) Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 interacts with apolipoprotein B and prevents its intracellular degradation, irrespective of the low-density lipoprotein receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 32(7): 1585–1595.
- 272- Svendsen OL, Hassager C, Christiansen C (1995) Age- and menopause-associated variations in body composition and fat distribution in healthy women as measured by dual-energy X-ray absorptiometry. *Metab Clin Exp* 44(3): 369–373.
- 273- Switzer JA, Hess DC, Nichols FT, Adams RJ (2006) Pathophysiology and treatment of stroke in sickle-cell disease: present and future. *Lancet Neurol* 5(6): 501–512.
- 274- Tan G, Kang P, Pei F-X (2012) Glucocorticoids affect the metabolism of bone marrow stromal cells and lead to osteonecrosis of the femoral head: a review. *Chin Med J* 125(1): 134–139.
- 275- Tao L, Nie Y, Wang G, Ding Y, Ding J, Xiong F, Tang S, Wang Y, Zhou B, Zhu H (2018) All-trans retinoic acid reduces endothelin-1 expression and increases endothelial nitric oxide synthase phosphorylation in rabbits with atherosclerosis. *Mol Med Rep* 17(2): 2619–2625.
- 276- Tchernia G (1989) [Erythropoiesis and erythrocytes in children, physiology and standards]. *Rev Prat* 39(24): 2111–2116.
- 277- Teff KL, Grudziak J, Townsend RR, Dunn TN, Grant RW, Adams SH, Keim NL, Cummings BP, Stanhope KL, Havel PJ (2009) Endocrine and metabolic effects of consuming fructose- and glucose-sweetened beverages with meals in obese men and women: influence of insulin resistance on plasma triglyceride responses. *J Clin Endocrinol Metab* 94(5): 1562–1569.
- 278- Telen MJ (2016) Beyond hydroxyurea: new and old drugs in the pipeline for sickle cell disease.

Blood 127(7): 810–819.

279- Tesoriere L, D'Arpa D, Butera D, Allegra M, Renda D, Maggio A, Bongiorno A, Livrea MA (2001) Oral supplements of vitamin E improve measures of oxidative stress in plasma and reduce oxidative damage to LDL and erythrocytes in beta-thalassemia intermedia patients. *Free Radic Res* 34(5): 529–540.

280- Tewari S, Brousse V, Piel FB, Menzel S, Rees DC (2015) Environmental determinants of severity in sickle cell disease. *Haematologica* 100(9): 1108–1116.

281- Tharaux P-L, Hagege I, Placier S, Vayssairat M, Kanfer A, Girot R, Dussaule J-C (2005) Urinary endothelin-1 as a marker of renal damage in sickle cell disease. *Nephrol Dial Transplant* 20(11): 2408–2413.

282- Thuret I, Sarles J, Merono F, Suzineau E, Collomb J, Lena-Russo D, Levy N, Bardakdjian J, Badens C (2010) Neonatal screening for sickle cell disease in France: evaluation of the selective process. *J Clin Pathol* 63(6): 548–551.

283- Tobey TA, Greenfield M, Kraemer F, Reaven GM (1981) Relationship between insulin resistance, insulin secretion, very low density lipoprotein kinetics, and plasma triglyceride levels in normotriglyceridemic man. *Metab Clin Exp* 30(2): 165–171.

284- Tolosano E, Fagoonee S, Morello N, Vinchi F, Fiorito V (2010) Heme scavenging and the other facets of hemopexin. *Antioxid Redox Signal* 12(2): 305–320.

285- Tran C, Jacot-Descombes D, Lecoultré V, Fielding BA, Carrel G, Lê K-A, Schneiter P, Bortolotti M, Frayn KN, Tappy L (2010) Sex differences in lipid and glucose kinetics after ingestion of an acute oral fructose load. *Br J Nutr* 104(8): 1139–1147.

286- Tripette J, Alexy T, Hardy-Dessources M-D, Mougénel D, Beltan E, Chalabi T, Chout R, Etienne-Julan M, Hue O, Meiselman HJ, Connes P (2009) Red blood cell aggregation, aggregate strength and oxygen transport potential of blood are abnormal in both homozygous sickle cell anemia and sickle-hemoglobin C disease. *Haematologica* 94(8): 1060–1065.

287- Tudorache IF, Trusca VG, Gafencu AV (2017) Apolipoprotein E - A Multifunctional Protein with Implications in Various Pathologies as a Result of Its Structural Features. *Comput Struct Biotechnol J* 15: 359–365.

288- Tulloch-Reid MK, Hanson RL, Sebring NG, Reynolds JC, Premkumar A, Genovese DJ, Sumner AE (2004) Both subcutaneous and visceral adipose tissue correlate highly with insulin resistance in african americans. *Obes Res* 12(8): 1352–1359.

289- Tumblin A, Tailor A, Hoehn GT, Mack AK, Mendelsohn L, Freeman L, Xu X, Remaley AT, Munson PJ, Suffredini AF, Kato GJ (2010) Apolipoprotein A-I and serum amyloid A plasma levels are biomarkers of acute painful episodes in patients with sickle cell disease. *Haematologica* 95(9): 1467–1472.

290- Van Oosten M, Rensen PC, Van Amersfoort ES, Van Eck M, Van Dam AM, Breve JJ, Vogel T, Panet A, Van Berkel TJ, Kuiper J (2001) Apolipoprotein E protects against bacterial lipopolysaccharide-induced lethality. A new therapeutic approach to treat gram-negative sepsis. *J Biol Chem* 276(12): 8820–8824.

291- VanderJagt DJ, Shores J, Okorodudu A, Okolo SN, Glew RH (2002) Hypocholesterolemia in Nigerian children with sickle cell disease. *J Trop Pediatr* 48(3): 156–161.

292- Vendrame F, Olops L, Saad STO, Costa FF, Fertrin KY (2018) Differences in heme and hemopexin content in lipoproteins from patients with sickle cell disease. *J Clin Lipidol* 12(6): 1532–1538.

293- Vent-Schmidt J, Waltz X, Romana M, Hardy-Dessources M-D, Lemonne N, Billaud M, Etienne-Julan M, Connes P (2014) Blood thixotropy in patients with sickle cell anaemia: role of haematocrit and

red blood cell rheological properties. *PLoS ONE* 9(12): e114412.

- 294- Vergès B (2015) Pathophysiology of diabetic dyslipidaemia: where are we? *Diabetologia* 58(5): 886–899.
- 295- Vichinsky E, Hurst D, Earles A, Kleman K, Lubin B (1988) Newborn screening for sickle cell disease: effect on mortality. *Pediatrics* 81(6): 749–755.
- 296- Vichinsky EP, Styles LA, Colangelo LH, Wright EC, Castro O, Nickerson B (1997) Acute chest syndrome in sickle cell disease: clinical presentation and course. Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *Blood* 89(5): 1787–1792.
- 297- Vinchi F, Gastaldi S, Silengo L, Altruda F, Tolosano E (2008) Hemopexin prevents endothelial damage and liver congestion in a mouse model of heme overload. *Am J Pathol* 173(1): 289–299.
- 298- Voskou S, Aslan M, Fanis P, Phylactides M, Kleanthous M (2015) Oxidative stress in β -thalassaemia and sickle cell disease. *Redox Biol* 6: 226–239.
- 299- Vries MA de, Klop B, Alipour A, Geijn G-JM van de, Prinzen L, Liem AH, Valdivielso P, Rioja Villodres J, Ramírez-Bollero J, Castro Cabezas M (2015) In vivo evidence for chylomicrons as mediators of postprandial inflammation. *Atherosclerosis* 243(2): 540–545.
- 300- Waltz X, Hardy-Dessources M-D, Lemonne N, Mougénel D, Lalanne-Mistrih M-L, Lamarre Y, Tarer V, Tressières B, Etienne-Julan M, Hue O, Connes P (2015) Is there a relationship between the hematocrit-to-viscosity ratio and microvascular oxygenation in brain and muscle? *Clin Hemorheol Microcirc* 59(1): 37–43.
- 301- Wang DQ-H, Cohen DE, Carey MC (2009a) Biliary lipids and cholesterol gallstone disease. *J Lipid Res* 50 Suppl: S406-411.
- 302- Wang L, Gill R, Pedersen TL, Higgins LJ, Newman JW, Rutledge JC (2009b) Triglyceride-rich lipoprotein lipolysis releases neutral and oxidized FFAs that induce endothelial cell inflammation. *J Lipid Res* 50(2): 204–213.
- 303- Wang MX, Pepin EW, Verma N, Mohammed T-L (2018) Manifestations of sickle cell disease on thoracic imaging. *Clin Imaging* 48: 1–6.
- 304- Wang TY, Liu M, Portincasa P, Wang DQ-H (2013) New insights into the molecular mechanism of intestinal fatty acid absorption. *Eur J Clin Invest* 43(11): 1203–1223.
- 305- Wang Y, Li Y, Mao K, Li J, Cui Q, Wang G-J (2003) Alcohol-induced adipogenesis in bone and marrow: a possible mechanism for osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res* (410): 213–224.
- 306- Weatherall MW, Higgs DR, Weiss H, Weatherall DJ, Serjeant GR (2005) Phenotype/genotype relationships in sickle cell disease: a pilot twin study. *Clin Lab Haematol* 27(6): 384–390.
- 307- Weiss E, Cytlak UM, Rees DC, Osei A, Gibson JS (2012) Deoxygenation-induced and Ca(2+) dependent phosphatidylserine externalisation in red blood cells from normal individuals and sickle cell patients. *Cell Calcium* 51(1): 51–56.
- 308- Westerman MP (1975) Hypocholesterolaemia and anaemia. *Br J Haematol* 31(1): 87–94.
- 309- Whelihan MF, Lim MY, Mooberry MJ, Piegore MG, Ilich A, Wogu A, Cai J, Monroe DM, Ataga KI, Mann KG, Key NS (2016) Thrombin generation and cell-dependent hypercoagulability in sickle cell disease. *J Thromb Haemost* 14(10): 1941–1952.
- 310- Woods KF, Ramsey LT, Callahan LA, Mensah GA, Litaker MS, Kutlar A, Barbeau P, Gutin B (2001) Body composition in women with sickle cell disease. *Ethn Dis* 11(1): 30–35.
- 311- Yasin Z, Witting S, Palascak MB, Joiner CH, Rucknagel DL, Franco RS (2003)

Phosphatidylserine externalization in sickle red blood cells: associations with cell age, density, and hemoglobin F. *Blood* 102(1): 365–370.

312- Yazdanyar A, Quan W, Jin W, Jiang X-C (2013) Liver-specific phospholipid transfer protein deficiency reduces high-density lipoprotein and non-high-density lipoprotein production in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 33(9): 2058–2064.

313- Yee ME, Lane PA, Archer DR, Joiner CH, Eckman JR, Guasch A (2018) Losartan therapy decreases albuminuria with stable glomerular filtration and permselectivity in sickle cell anemia. *Blood Cells Mol Dis* 69: 65–70.

314- Yin J-M, Liu Z, Zhao S-C, Guo Y-J, Liu Z-T (2014) Relationship between the Apolipoprotein AI, B gene polymorphism and the risk of non-traumatic osteonecrosis. *Lipids Health Dis* 13: 149.

315- Young SG (1990) Recent progress in understanding apolipoprotein B. *Circulation* 82(5): 1574–1594.

316- Yu SSK, Castillo DC, Courville AB, Sumner AE (2012) The triglyceride paradox in people of African descent. *Metab Syndr Relat Disord* 10(2): 77–82.

317- Yuan G, Al-Shali KZ, Hegele RA (2007) Hypertriglyceridemia: its etiology, effects and treatment. *CMAJ* 176(8): 1113–1120.

318- Yuditskaya S, Tumblin A, Hoehn GT, Wang G, Drake SK, Xu X, Ying S, Chi AH, Remaley AT, Shen R-F, Munson PJ, Suffredini AF, et al. (2009) Proteomic identification of altered apolipoprotein patterns in pulmonary hypertension and vasculopathy of sickle cell disease. *Blood* 113(5): 1122–1128.

319- Zambon A, Bertocco S, Vitturi N, Polentarutti V, Vianello D, Crepaldi G (2003) Relevance of hepatic lipase to the metabolism of triacylglycerol-rich lipoproteins. *Biochem Soc Trans* 31(Pt 5): 1070–1074.

320- Zhang D, Xu C, Manwani D, Frenette PS (2016) Neutrophils, platelets, and inflammatory pathways at the nexus of sickle cell disease pathophysiology. *Blood* 127(7): 801–809.

321- Zhang W-Y, Schwartz E, Wang Y, Attrep J, Li Z, Reaven P (2006) Elevated concentrations of nonesterified fatty acids increase monocyte expression of CD11b and adhesion to endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 26(3): 514–519.

322- Zhang Y, Berka V, Song A, Sun K, Wang W, Zhang W, Ning C, Li C, Zhang Q, Bogdanov M, Alexander DC, Milburn MV, et al. (2014) Elevated sphingosine-1-phosphate promotes sickling and sickle cell disease progression. *J Clin Invest* 124(6): 2750–2761.

323- Zhao D-W, Yu M, Hu K, Wang W, Yang L, Wang B-J, Gao X-H, Guo Y-M, Xu Y-Q, Wei Y-S, Tian S-M, Yang F, et al. (2015) Prevalence of Nontraumatic Osteonecrosis of the Femoral Head and its Associated Risk Factors in the Chinese Population: Results from a Nationally Representative Survey. *Chin Med J* 128(21): 2843–2850.

324- Zhao X-M, Wang Y, Yu Y, Jiang H, Babinska A, Chen X-Y, He K-G, Min X-D, Han J-J, Yang C-X, Deng K, Xue J, et al. (2018) Plasma Phospholipid Transfer Protein Promotes Platelet Aggregation. *Thromb Haemost* 118(12): 2086–2097.

325- Zoratti R (1998) A review on ethnic differences in plasma triglycerides and high-density-lipoprotein cholesterol: is the lipid pattern the key factor for the low coronary heart disease rate in people of African origin? *Eur J Epidemiol* 14(1): 9–21.

326- Zoratti R, Godsland IF, Chaturvedi N, Crook D, Crook D, Stevenson JC, McKeigue PM (2000) Relation of plasma lipids to insulin resistance, nonesterified fatty acid levels, and body fat in men from three ethnic groups: relevance to variation in risk of diabetes and coronary disease. *Metab Clin Exp* 49(2): 245–252.

327- Zorca S, Freeman L, Hildesheim M, Allen D, Remaley AT, Taylor JG, Kato GJ (2010) Lipid levels in sickle-cell disease associated with haemolytic severity, vascular dysfunction and pulmonary hypertension. *Br J Haematol* 149(3): 436–445.

328- Zwaal RF, Schroit AJ (1997) Pathophysiologic implications of membrane phospholipid asymmetry in blood cells. *Blood* 89(4): 1121–1132.

Résumé

Les patients drépanocytaires ont un profil lipidique spécifique, à priori non athérogène. En 2009 est découvert qu'un taux d'apolipoprotéine AI et de HDL-cholestérol abaissés et de triglycérides élevés (HTG), constitue un profil lipidique plus souvent associé à une hypertension artérielle pulmonaire. Notre travail de thèse a consisté en l'étude, à l'état stable, des profils lipidiques des cohortes d'adultes drépanocytaires homozygotes SS (HbS/HbS) et hétérozygotes composites SC (HbS/HbC), à l'unité transversale de la Drépanocytose du CHU de la Guadeloupe, comparés ensuite à celui de la population générale guadeloupéenne (PGG). Nous avons aussi étudié les marqueurs hémorhéologiques, hématologiques, lipidiques et anthropométriques des sujets drépanocytaires SS et SC, en présence ou non d'une hypertension artérielle (HTA) et comparé les taux de leurs lipides, en fonction de la présence ou non d'antécédents de complications du phénotype visqueux/vaso-occlusif de la drépanocytose : crise vaso-occlusive (CVO), syndrome thoracique aigu (STA) et ostéonécrose (OTN). Nous avons montré: *chez les adultes SS: 1) une HTG relative, comparativement aux SC et à la PGG ; 2) que $TG > 1.50\text{g/L}$ est un facteur de risque indépendant d'HTA relative et associé à plus d'antécédents de CVO et STA ; 3) que comparativement aux SC, leurs taux de lipides sont plus bas, excepté l'ApoB100 et les TG ; 4) que TG est indépendant de l'hémolyse, la glycémie à jeun, le sexe, l'obésité abdominale ou l'IMC ; 5) les marqueurs hémorhéologiques et les taux de lipides sont indépendants chez les SS et SC; 6) *chez les adultes SC, qu'un Non-HDL-Cholestérol $> 1.30\text{g/L}$ était plus souvent retrouvé associé à une OTN. En conclusion, ces travaux permettent de préciser pour la première fois le profil lipidique d'adultes drépanocytaires SS et SC, tous deux différents de celui de la PGG. Ils ont contribué également à isoler deux biomarqueurs lipidiques potentiels, associés à des antécédents de complications du phénotype visqueux/vaso-occlusif de la drépanocytose, enrichissant leur compréhension physiopathologique, indépendamment des troubles hémorhéologiques déjà identifiés. Nous montrons pour la première fois que les $TG > 1.50\text{g/L}$ et le Non-HDL-cholestérol $> 1.30\text{g/L}$, sont plus souvent associés, respectivement, aux antécédents de STA chez les patients SS et d'OTN chez les patients SC.

Mots clés : drépanocytose, hémorhéologie, lipides, triglycérides, apolipoprotéines, non-HDL-cholestérol, obésité

Abstract

Patients with sickle cell disease present a specific, apparently not atherogenic lipid profile. In 2009, it was discovered that both decreased apolipoprotein AI and HDL-cholesterol levels and high triglycerides (HTG), constituted a lipid profile more often associated with pulmonary arterial hypertension. Our thesis consisted in the study, at steady state, of the lipid profiles of SS homozygote (HbS/HbS) and SC heterozygote (HbS/HbC) cohorts of sickle cell patients, followed at the Reference Center of Sickle cell disease, also compared to that of the general population of Guadeloupe (PGG). We also studied hemorheological, hematologic, lipidic and anthropometric markers of SS and SC sickle cell patients, with and without hypertension, and compared the levels of their lipids, according to the presence or absence of a history of complications of the viscous/vasoocclusive phenotype of sickle cell disease: vaso-occlusive crisis (CVO), acute chest syndrome (ACS) and osteonecrosis (OTN). We have shown: * in SS adults: 1) relative HTG compared to SC and PGG; 2) TG > 1.50g/L is an independent risk factor for relative hypertension; 3) when TG > 1.50g/L, more history of CVO and ACS; 4) compared with SC adults, their lipid levels are lower, except for both ApoB100 and TG; 5) TG level is independent of hemolysis, fasting blood glucose, sex, abdominal obesity or body mass index; 6) Hemorheological markers and lipid levels were independent in SS and SC; 7) * in SC adults, non-HDL-cholesterol > 1.30g/L was more often found associated with OTN. In conclusion, this work makes it possible to specify for the first time the lipid profile of sickle cell SS and SC adults, both different from that of PGG. It also helped to isolate two potential lipid biomarkers, associated with a history of complications of the viscous/vasoocclusive phenotype of sickle cell disease, enriching their pathophysiological understanding, independently of previously identified haemorheological disorders. We show for the first time that TG > 1.50g/L and Non-HDL-cholesterol > 1.30g/L, are more often associated, respectively, with the history of ACS in SS patients and OTN in SC patients.

Key words: sickle cell disease, hemorheology, lipids, triglycerides, apolipoprotein, non-HDL-cholesterol, obesity