

# PHARMACOLOGIE DE LA DÉFORMABILITÉ ÉRYTHROCYTAIRE

G. A. MARCEL

Laboratoire d'Hémorhéologie — Laboratoires Hoechst  
 Tour Roussel Nobel Codex 3 — 92080 PARIS-LA-DEFENSE (France).

La pharmacologie de la déformabilité du globule rouge doit d'emblée être placée dans un cadre plus vaste: VIRCHOW, en 1845, a proposé sa triade<sup>1</sup> en distinguant trois types d'anomalies dans la thrombogénèse: les anomalies de la paroi, les anomalies du contenu vasculaire et les anomalies du débit. Les modifications de débit dans les vaisseaux tiennent, d'une part, au gradient de pression et, d'autre part, à ce qui se passe à l'intérieur des vaisseaux. C'est ici qu'intervient le chapitre de la déformabilité du globule rouge.

La déformabilité érythrocytaire est une condition sine qua non du flux sanguin dans les vaisseaux. Les globules rouges ont un diamètre qui est supérieur à celui des plus petits capillaires: il est indispensable que les globules rouges se déforment pour pouvoir pénétrer dans les capillaires les plus étroits. La déformabilité des globules rouges, c'est leur aptitude à traverser les capillaires d'un diamètre inférieur au leur de façon à permettre l'échange d'oxygène et de CO<sub>2</sub> au niveau des poumons et au niveau des tissus. La comparaison formulée par Y. C. FUNG<sup>2</sup> est à cet égard particulièrement éloquent: «la population des globules rouges dans chacun d'entre nous est un peu plus vaste que la population totale d'habitants de la terre. Dans le monde, chacun d'entre nous est insignifiant, mais dans nos maisons, dans nos jardins, dans nos communautés locales, nous décidons de comment les choses doivent évoluer. Il en est de même de la microcirculation: c'est le globule rouge individuel qui décide comment le sang doit circuler».

## Aspects biochimiques de la déformabilité érythrocytaire (Fig. 1):

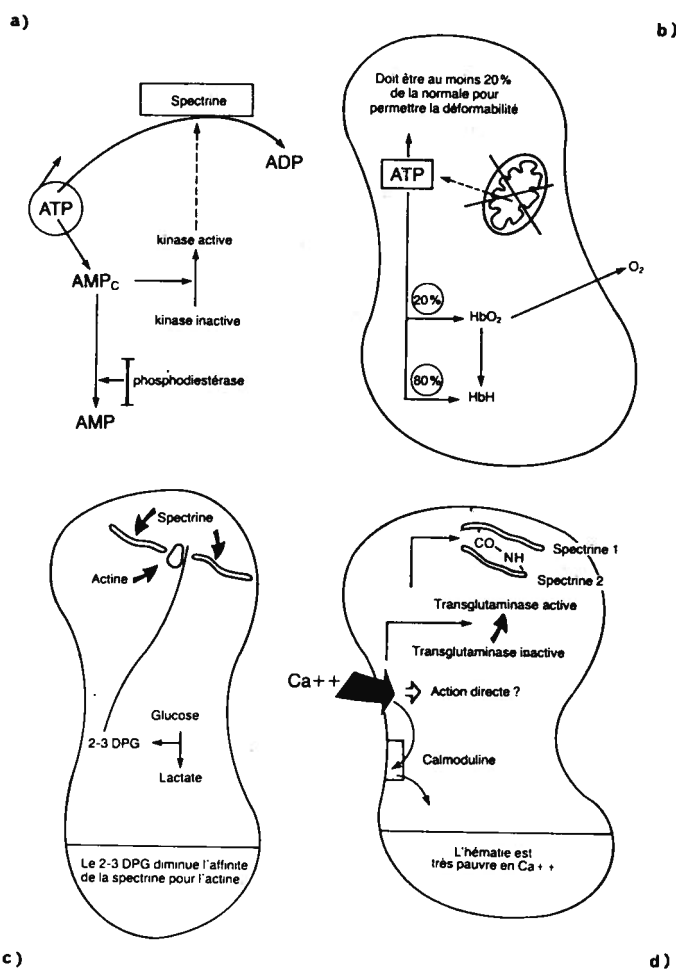


Fig. 1 — Quatre théories biochimiques de la déformabilité érythrocytaire: a) la théorie AMPc erronée; b) le rôle de l'ATP; c) l'hypothèse 2-3 DPG; d) le rôle du Ca<sup>++</sup>.

Quatre théories principales cherchent à expliquer le mécanisme de la déformabilité érythrocytaire. La plus ancienne suppose que la déformabilité ferait intervenir la phosphorylation de la spectrine par l'ATP ce qui nécessite l'activation d'une kinase par l'AMP cyclique. Remarquons alors que les inhibiteurs de la phospho-diesterase se trouvent bien situés pour améliorer cette phosphorylation. Ce schéma théorique est très séduisant, cependant, la kinase érythrocytaire qui active la spectrine dans l'espèce humaine est AMP cyclique indépendante;<sup>3</sup> cette première théorie ne semble donc guère utilisable sur le plan pharmacologique.

La seconde théorie fait jouer un rôle crucial à l'ATP. L'ATP érythrocytaire est d'autant plus important que le globule rouge n'a pas de mitochondries indispensables au renouvellement de l'ATP à un taux élevé. L'ATP est un ligand de l'hémoglobine, au même titre que l'O<sub>2</sub> et le CO<sub>2</sub>, et si l'ATP se fixe faiblement sur l'hémoglobine oxygénée, l'ATP se fixe fortement sur l'hémoglobine réduite.<sup>4</sup> Cela pourrait expliquer pourquoi des globules rouges qui circulent dans un territoire hypoxémique, ischémique, riche en hémoglobine réduite, sont des globules rouges avec peu d'ATP disponible. Pour WEED et LACELLE, ce serait là une des explications de la déformabilité réduite des globules rouges en milieu ischémique. Ce qui peut augmenter le taux d'ATP dans le globule rouge peut être utile pharmacologiquement.

La troisième théorie concerne le 2-3 DPG. Celui-ci ne joue pas uniquement dans le contrôle du relargage de l'oxygène. Il semble que le 2-3 DPG pourrait également interférer au niveau de la liaison entre l'actine et la spectrine: le 2-3 DPG diminue l'affinité de la spectrine pour l'actine.<sup>5</sup> Le 2-3 DPG varie en fonction des conditions d'oxygénation. Il paraît donc prudent de toujours comparer ses variations pharmacologiques ex-vivo aux variations in-vitro.

Le calcium constitue la quatrième approche de la déformabilité. Une des premières études de réduction de la déformabilité a été réalisée en accroissant le taux de calcium intra-érythrocytaire.<sup>6</sup> Quand on accroît avec un ionophore le contenu intra-érythrocytaire en calcium de globules rouges normaux, l'hématie se déforme moins bien. De plus, un globule normal contient en moyenne 24  $\mu$ moles par litre de calcium; le globule drépanocytaire en contient 50 ou 60.<sup>7</sup> Le calcium peut agir de diverses façons. Il pourrait avoir une action directe. Il peut agir par l'intermédiaire de la calmoduline. Il peut également activer une transglutaminase<sup>8</sup> qui, elle-même, polymérisera la spectrine. Cependant il faut garder à l'esprit qu'à l'état physiologique la spectrine est déjà sous forme de tétramère.<sup>9</sup>

Outre ces quatre théories dont le point d'impact final est protéique, il ne faut pas oublier que la membrane est d'abord faite de lipides. On sait maintenant

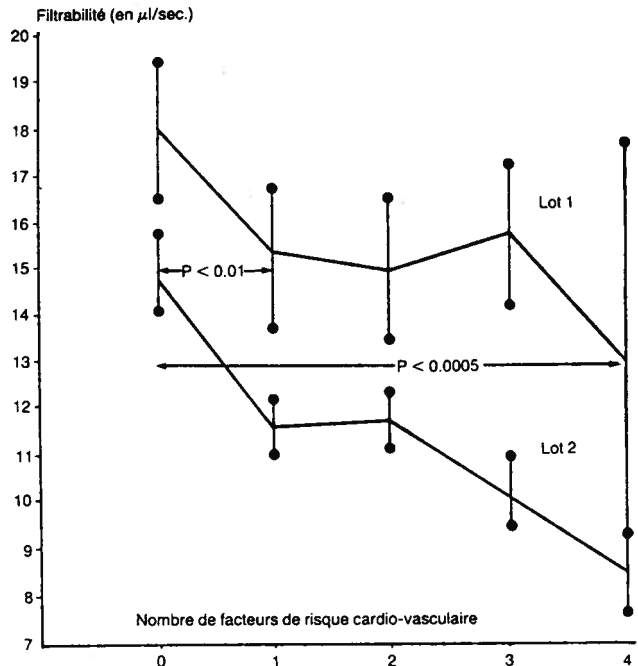


Fig. 2 — Chez 72 patients ayant des facteurs de risque vasculaire (tabagisme, hypertension artérielle, obésité, diabète, hyperuricémie, hyperlipidémie), il existe une corrélation entre la réduction de la filtrabilité sanguine et le nombre de facteurs de risque. La même corrélation est retrouvée quel que soit le lot de filtres utilisés (lot 1 ou lot 2).

que des anomalies de distribution en acides gras de ces lipides membranaires érythrocytaires peuvent être corrélées avec une réduction de la déformabilité.<sup>10</sup> Il sera peut-être possible de trouver des voies pharmacologiques pour corriger ces anomalies de distribution d'acides gras dans les lipides membranaires.

#### Aspects pathologiques de la déformabilité:

C'est J. DORMANDY<sup>11</sup> qui, par la mise au point d'une méthode simple, a permis l'approche clinique de la déformabilité du globule rouge. Il a ainsi pu mettre en évidence une déformabilité réduite au cours de l'artérite des membres inférieurs,<sup>1</sup> d'autant plus obérée que l'artérite était grave. La déformabilité érythrocytaire est également réduite en fonction du nombre de facteurs de risque cardio-vasculaire. Plus il y a de facteurs de risque cardio-vasculaire, plus la filtrabilité est réduite (Figure 2).

La filtrabilité est également réduite au décours des accidents vasculaires cérébraux. HEALY a montré chez des patients ayant une pathologie vasculaire cérébrale que l'allongement du temps de transit cérébral au technétium était en rapport avec la baisse de la déformabilité mesurée à l'hémorhéomètre.<sup>13</sup>

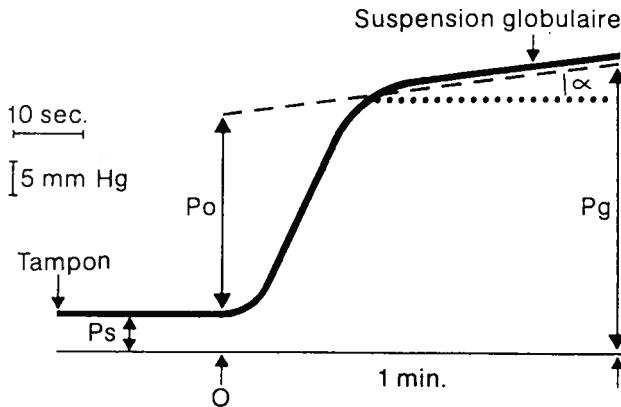


Fig. 3 — Courbe d'enregistrement de la pression en amont du filtre: on enregistre d'abord la pression induite par le tampon ( $P_s$ ). L'ascension rapide est due au changement de seringue et à l'augmentation de la concentration globulaire. L'ascension lente se fait à concentration globulaire constante. Extrapolée au temps O du passage globulaire, elle correspond à la pression  $P_o$  liée à la déformabilité elle-même. Sa pente  $\alpha$  traduit le colmatage. Dans notre pratique nous utilisons le paramètre  $P_g$  (pression 1 mn après le temps O) pour caractériser la résistance des hématies à la traversée du filtre.

#### La mesure de la déformabilité:

En pratique, la mesure de la déformabilité est réalisée essentiellement à l'heure actuelle par filtration. Cette filtration est généralement réalisée sur un filtre Nuclepore, membrane de polycarbonate qui est percée de  $4 \cdot 10^5$  pores par  $\text{cm}^2$ , pores dont le diamètre est en moyenne de 5 microns et la longueur de 10 à 12 microns. L'appareil initial utilisant ces filtres est l'appareil de Reid et Dormandy<sup>11</sup> où l'on travaille sur sang anticoagulé par l'EDTA. On utilise une pression négative de -20 cm d'eau et on mesure le temps nécessaire au passage de 1 ml. L'avantage de cette méthode est sa facilité d'emploi qui permet l'utilisation de façon extrêmement large par des cliniciens qui peuvent ainsi faire un dépistage très vaste de nombreuses anomalies. Cependant cette méthode n'est pas sans inconvénients: cette méthode sur sang total n'explore pas que la déformabilité; elle est également sensible à l'hématocrite, aux polynucléaires, au taux de cholestérol, aux agrégats plaquettaires circulants, aux agrégats de globules, au fibrinogène, à la viscosité plasmatique. Au symposium de Göteborg consacré à ces méthodes, S. CHIEN a proposé,<sup>14</sup> puisque les principaux facteurs de la filtrabilité du sang total sont, en plus de la déformabilité du globule rouge, l'agrégation des globules rouges, la viscosité plasmatique et la concentration de globules rouges, de travailler en resuspendant les globules rouges dans un tampon, à un hématocrite qui peut être de 1%, de 5% ou de 10%. Parallèlement à ceci, M. HANSS et collaborateurs<sup>15</sup> ont mis au point un appareillage qui permet de mesurer la filtration en utilisant des globules rouges dilués à 8% d'hé-

matocrite, en tampon. Cet appareillage a aussi l'avantage de travailler sous faible dépression: l'appareil initial de Reid et Dormandy, avec une dépression de 20 cm d'eau, introduit des contraintes de cisaillement qui sont beaucoup plus élevées que les contraintes de cisaillement physiologiques.

A côté de ces méthodes où la pression est constante et où on mesure le débit, il existe des méthodes où on fait varier la pression à débit constant. A l'aide d'une pompe à débit constant ont fait passer une suspension de globules rouges au travers d'un filtre, avec un capteur de pression situé juste en amont. L'injection à débit constant au travers de ce filtre permet d'avoir une courbe de variation de pression. Cette courbe peut être interprétée à l'aide de différents moyens géométriques (Figure 3).

A côté de ces méthodes in-vitro de mesure de la déformabilité du globule rouge, et qui sont des instruments pharmacologiques essentiels, il y a la nécessité impérieuse de travailler ex-vivo. L'existence d'un phénomène pharmacologique dans un tube à essai ne garantit pas sa survenue dans l'être humain. Il est très important de toujours rechercher une amélioration pharmacologique non seulement in-vitro, mais également ex-vivo.

#### Le screening pharmacologique:

##### — Globules utilisés:

On utilise des globules rouges non altérés, mais aussi des globules rouges sensibilisés: il peut s'agir de globules rouges provenant d'un malade, ou de globules rouges mis en milieu hyperosmolaire, et c'est un des premiers tests qui ait été utilisé. L'osmolarité du milieu est de 400 mOsmoles, au lieu de 300 mOsmoles; elle entraîne une rigidification des globules, mais il n'est pas évident qu'en milieu ischémique la cause de la rigidification soit l'hyperosmolarité locale. Un autre élément essentiel de réduction de la déformabilité est l'acidité. Si on diminue le pH à 6,5, par exemple, la déformabilité est considérablement réduite. On peut aussi conserver les globules rouges à la température de laboratoire pendant quelques heures: ce «vieillesse» entraîne une filtrabilité très perturbée. On peut les durcir avec le glutaraldéhyde ou du diamide. On peut également provoquer une déformabilité réduite en faisant pénétrer du calcium grâce à un ionophore (A 23.187). Mais il faut garder à l'esprit que cet ionophore, qui est un antibiotique, a d'autres actions que de faire entrer le calcium, et qu'un atome de calcium nécessite pour entrer 2 molécules d'ionophore.<sup>16</sup> Si cette proportion n'est pas respectée, cet ionophore peut avoir beaucoup d'autres actions, en particulier faire sécréter du PAF par les plaquettes,<sup>17</sup> agir sur les polynucléaires.

### — Méthodes de filtration érythrocytaire:

Il importe d'utiliser plusieurs méthodes: les hématies doivent être testées en sang complet, resuspendues dans du plasma, et resuspendues dans du tampon. Les méthodes elle-mêmes doivent être d'une part à pression constante: Reid et Dormandy, Hanss; d'autre part à débit constant.

D'autres méthodes doivent être citées. En particulier, il y a le «Singlepore Erythrocyte Rigidometer» mis au point par l'équipe de Schmid-Schönbein et Kiesewetter.<sup>18</sup> Cet appareil permet de mesurer les caractéristiques physiques du passage d'un globule rouge au travers d'un pore unique calibré en connaissant la longueur du pore, le diamètre du pore, les pressions de part et d'autre. C'est un instrument d'investigation absolument remarquable, avec de très prometteuses applications cliniques et pharmacologiques. SIRS<sup>19</sup> a mis au point en Angleterre une méthode de mesure de la déformabilité, tirée de la centrifugation; enfin, il y a l'ektacytomètre<sup>20</sup> qui mesure la diffraction d'un rayon laser sur les globules rouges dans la cuve d'un viscosimètre. Au cours de l'emploi de ces diverses méthodes, il importe de bien garder à l'esprit que les phénomènes érythrocytaires précis qu'ils explorent peuvent être différents. Ainsi, une molécule peut être active à  $10^{-4}$  molaire sur un filtre Nucleopore (dont la longueur des pores est d'environ  $10\ \mu\text{m}$ ) et à  $10^{-6}$  molaire sur le «Singlepore Erythrocyte Rigidometer», dont les pores sont dix fois plus longs.

Cela tient à ce que la contrainte de cisaillement est inversement proportionnelle à la longueur des pores. On peut donc dire que la molécule est active à  $10^{-4}\text{M}$  lorsque la contrainte de cisaillement est de  $2000\ \text{dynes/cm}^2$  et à  $10^{-6}$  lorsqu'elle est de  $200\ \text{dynes/cm}^2$ , ce qui est beaucoup plus physiologique. Ce phénomène a été vérifié pour la Pentoxifylline.<sup>21</sup>

### — Autres méthodes de mesure de la filtrabilité:

A côté de ces méthodes directes existe une remarquable méthode indirecte: la viscosimétrie. Elle peut être stationnaire: la viscosimétrie à faible vitesse de cisaillement explore essentiellement l'agrégation des globules et, entre autres, le taux du fibrinogène (il y a d'autres facteurs d'agrégation que le taux du fibrinogène); à fort taux de cisaillement, elle mesure avant tout la déformabilité du globule rouge. La viscosimétrie non stationnaire, en particulier l'étude de la viscoélasticité et la thixotropie est très intéressante: la réaction du sang à un faible taux de cisaillement introduit brutalement traduit des phénomènes encore peu explorés sur le plan pharmacologique.

TESTS	GLOBULES					
	in-vitro ou ex-vivo					
	normaux	sensibilisés				
maladie		conservation	pH	osmolarité	chaleur / glutaraldehyde	diamètre
<b>TESTS DE FILTRATION</b>						
- A pression constante						
- Reid et Dormandy						
- sang total						
- globules en plasma						
- globules en tampon						
- Hémorhéomètre de Hanss						
- Filtromètre de Teitel						
- Single Erythrocyte Rigidometer						
- A débit constant						
<b>VISCOSIMÉTRIE</b>						
- Stationnaire						
- Sang						
- vitesse de cisaillement élevée						
- vitesse de cisaillement basse						
- plasma						
- Non stationnaire						
- influence sur la thixotropie						
- viscoélasticité						
- ektacytométrie						
<b>AUTRES MÉTHODES</b>						
- Centrifugation de Sircs						
- Fragilité osmotique						
- V.G.M.						
- Crémation calcique						

Fig. 4 — Batterie de tests permettant d'étudier l'influence d'un médicament sur la déformabilité.

La fragilité osmotique est également un paramètre qu'il faut mesurer chaque fois que l'on s'intéresse à la pharmacologie de la déformabilité érythrocytaire. Il en est de même du volume érythrocytaire: certains drogues accroissent le VGM. On peut aussi faire un test de crémation induite par calcium et ionophore-calcium, et vérifier le degré de son inhibition par la drogue. Une telle batterie de tests (Figure 4) doit rester constamment à l'esprit. Il ne faut pas dire que tel médicament agit sur la déformabilité, il faut dire tel médicament agit sur telle méthode d'étude de la déformabilité, et il est bien évident que comme dans n'importe quel autre domaine de la médecine, il faut mettre en oeuvre de multiples méthodes avant de penser qu'il y a effectivement un phénomène réel.

## La drépanocytose:

A côté de ces problèmes de déformabilité qui concernent la pathologie vasculaire (artérite, facteurs de risques vasculaire, et pathologie vasculaire cérébrale), il ne faut pas oublier qu'il existe une affection avec réduction génétique de la déformabilité: la drépanocytose.

La drépanocytose entraîne une déformabilité réduite liée à la prise sous forme de gel de l'hémoglobine SS qu'ont les drépanocytaires. Cette prise sous forme de gel de l'hémoglobine SS conduit à la formation progressive d'hématies d'abord peu déformables et ensuite d'hématies falciformes. Il existe des inhibiteurs de cette polymérisation de l'hémoglobine SS, et il y a deux façons très répandues de mesurer cette inhibition:

- 1.°) La polymérisation est un phénomène qui prend 20 à 40 secondes. On peut donc mesurer le délai avant que la polymérisation ne survienne.
- 2.°) On peut également mesurer la polymérisation elle-même, ou l'inhibition de cette polymérisation. Pour cela on ultracentrifuge un gel d'hémoglobine SS, on dose l'hémoglobine restante dans le surnageant, et on obtient la concentration saturante d'hémoglobine. BRIEHL<sup>22</sup>, a tout récemment montré que ce dernier test était peu sensible. En effet, une modification de 1% de la concentration saturante, ce qui est difficile à déceler, induit une amélioration du délai de la gélification de plus de 50%. Si bien qu'il est plus important de mesurer le délai avant gélification que la modification de la concentration saturante d'hémoglobine. On a pu mettre en évidence l'action inhibitrice sur la gélification de l'urée, du THAM, d'un extrait de Fagora (plante africaine), du cyanate, de la vitamine B6 et de l'augmentation du volume cellulaire moyen. Mais cette action inhibitrice est purement in-vitro: la plupart de ces médicaments ont fait l'objet d'études cliniques correctes en double aveugle, aux États-Unis, et sont absolument inefficaces.

Une autre attitude thérapeutique est d'abaisser la concentration de déoxyhémoglobine S. En effet, ce qui ce prend en gel, ce n'est pas l'hémoglobine S oxygénée, mais l'hémoglobine S désoxygénée. Si l'on veut élever la concentration d'hémoglobine oxygénée pour une même  $PO_2$ , il suffit d'abaisser le taux de 2-3 DPG. Peu de médicaments ont cette activité. Au contraire, de nombreux vasodilatateurs élèvent de taux de 2-3 DPG.

La membrane de l'hématie drépanocytaire présente des anomalies biochimiques propres. Trois d'entre elles sont remarquables:

- la phosphorylation excessive de certaines protéines membranaires,<sup>23</sup> sur laquelle on peut chercher à agir;
- la fixation anormale d'hémoglobine SS à la bande protéique 3 de la membrane, qui est peut-être à l'origine de la transformation des drépanocytes en drépanocytes irréversibles;<sup>24</sup>
- l'adhésion des drépanocytes aux cellules endothéliales. Elle pourrait être en rapport avec la distribution en mottes de l'acide sialique de surface, distribution qui serait calcium-dépendante.<sup>7</sup>

De nombreux points d'impact pharmacologiques existent donc pour la drépanocytose. La plupart d'entre eux sont encore à explorer.

## Conclusions:

La déformabilité érythrocytaire est indispensable à la circulation capillaire, donc aux échanges gazeux dans les tissus et les poumons. Sa réduction, outre qu'elle survient dans certaines hémoglobinopathies, est le dénominateur commun entre les divers facteurs de risque cardio-vasculaire. De plus, c'est la déformabilité réduite qui autoentretient l'ischémie: l'ischémie entraîne une déformabilité réduite, qui à son tour entraîne une ischémie.

L'abord pharmacologique de la déformabilité, né en 1975<sup>25</sup> avec la Pentoxifylline, présente encore d'immenses possibilités à explorer.

## RÉFÉRENCES:

1. VIRCHOW R.: Ein Vortrag über die Thrombose vom Jahre 1845. In «Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medizin. Frankfurt: Meidinger Sohn u. comp. 1856 — pp. 478-481.
2. FUNG Y. C.: 1975 Eugene M. Landis Award Lecture. Microcirculation as seen by a red cell. *Microvasc. Res.* 1975; 10: 246-264.
3. LECOMTE M. C.; BOIVIN P.: Effects of methylxanthine derivatives on red cell phosphorylation. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; 41 (suppl. 156): 291-295.
4. LACELLE P. L.; WEED R. I.: Low oxygen pressure: a cause of erythrocyte membrane rigidity. *J. Clin. Invest.* 1970; 49: 54A-55A.
5. SHEETZ M. P.; CASALY J.: Phosphate metabolite regulation of spectrin interactions. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; 41 (suppl. 156): 117-122.

6. WEED R. I.; LACELLE P. L.; MERRILL E. W.: Metabolic dependence of red cell deformability. *J. Clin. Invest.* 1969; **48**: 795-809.
7. HEBBEL R. P.; STEINBERG M. H.; EATON J. W.: Erythrocyte calcium abnormalities in sickle cell disease. *In: The function of Red Blood Cells.* (D. F. H. Wallach ed). Alan R. Liss, Inc., New-York; 1980: 321-332.
8. LORAND L.; WEISSMAN L. B.; EPEL D. L.; BRUNER-LORAND J.: Role of the intrinsic transglutaminase in the  $Ca^{++}$  mediated cross-linking of erythrocyte proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1976; **73**: 4479-4481.
9. WALLACH D. F. H.: Membrane and endoskeletal defects in Hb SS erythrocytes. *In: The function of Red Blood Cells.* (D. H. F. Wallach ed). Alan R. Liss, Inc., New-York; pp. 333-353.
10. GUEGUEN M.; DELAMAIRE D.; DRISS F.; DARCET Ph; GODINOT B.; GENETET B.; BOUREL M.: Perturbations hémorhéologiques et composition lipidique membranaire au cours des hépatites alcooliques. *In: 7ème Réunion du Groupe Français de Filtration Erythrocytaire.* 4-5 juin 1982 — Hoechst Ed., p. 28.
11. REID H. L.; BARNES A. J.; LOCK P. J.; DORMANDY J. A.: A single method for measuring erythrocyte deformability. *J. Clin. Pathol.* 1976; **29**: 855-858.
12. REID H. L.; DORMANDY J. A.; BARNES A. J.; LOCK P. J.; DORMANDY T. L.: Impaired red cell deformability in peripheral vascular disease. *Lancet* 1976; **1**: 666-668.
13. HERMANN T.; VASELON C.; GEYSSANT A.; HEALY J. C.: Red blood cell filterability, oxygen saturation, ATP intracellular stock, and cerebral microcirculation. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; **41** (suppl. 156): 213-216.
14. CHIEN S.: Final summary of the International Symposium on filterability and red blood cell deformability. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; **41** (suppl. 156): 321-324.
15. KOUTSOURIS D. D.: Étude de facteurs physico-chimiques de la déformabilité érythrocytaire. Thèse de doctorat de 3ème cycle — Université de Paris XIII — 1982.
16. REED P. W.; LARDY H. A.: A 23.187: a divalent cation ionophore. *Journ. Biol. Chem.* 1972; **247**: 6970-6977.
17. CHESNEY C. M.; PIEFER D. D.; BYERS L. W.; MUIRHEAD E. E.: Effect of Platelet Activating Factor on human platelets. *Blood.* 1982; **59**: 582-585.
18. KIESEWETTER H.; DUAER U.; GESCH M.; SEIFFGE D.; ANGELKORT B.; SCHMID-SCHONBEIN H.: A method for the measurement of the red blood cell deformability. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; **41** (suppl. 156): 229-232.
19. SIRS J. A.: Effects of storage on the respiratory function and flexibility of red blood cells. *Blood Cells.* 1977; **3**: 409-423.
20. BESSIS M.; MOHANDAS N.: Mesure continue de la déformabilité cellulaire par une méthode diffractométrique. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 1974; **278**: 3263-3265.
21. SEIFFGE D.; KIESEWETTER H.: Effect of Pentoxifylline on Single Red Cell Deformability. *Klin. Wochenschr.* (1981); **59** 1271-1272.
22. BRIEHL R. W.: Physical chemical properties of sickle cell hemoglobin. *In: The function of Red Blood Cells.* (D. H. F. Wallach ed). Alan R. Liss, Inc., New-York; 1980: 241-278.
23. DZANDU J. K.; JOHNSON R. M.: Membrane protein phosphorylation in intact normal and sickle cell erythrocytes. *Journ. Biol. Chem.* 1980; **255**: 6382-6386.
24. SHAKLAI N.; RANNEY H. M.; SHARMA V.: Interactions of hemoglobin S with the red cell membrane. *In: The Function of Red Blood Cells.* (D. H. F. Wallach ed). Alan R. Liss, Inc. New-York; 1980: 1-16.
25. EHRLY A. M.: Beeinflussung der Verformbarkeit der Erythrozyten durch Pentoxifyllin. *Med. Welt.* 1975; **26**: 2300-2301.

Tirés à part: G. A. Marcel  
 Laboratoire d'Hémorhéologie  
 Tour Roussel Nobel Codex 3  
 92080 PARIS-LA-DEFENSE  
 FRANCE