



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie Animale

قسم : بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Génétique Moléculaire*

Intitulé :

**Etude épidémiologique de la drépanocytose dans la région de
Constantine**

Présenté et soutenu par : *laouali soheib*

Le : 21/06/2016

Jury d'évaluation :

Président du jury : *CHAOUI NAWEL (MCA- UFM Constantine).*

Rapporteur : *CHETTOUM AZIZ (MCA - UFM Constantine),*

Examinatrice : *BOUDDOKHANE M OUNA (MAA - UFM Constantine).*

*Année universitaire
2015 - 2016*

REMERCIEMENTS

Au nom de Dieu le Clément

*Le grand merci Lui revient pour nous avoir donné le courage et
la patience de mener à terme ce travail.*

*J'adresse tous mes remerciements au Dr chettoum aziz pour son
encadrement et son soutien moral et scientifique.*

*Je remercie sincèrement M.CHAOUJ N qui a accepté de
présider le jury de ce mémoire.*

Je remercie également le membre du jury :

BOUDOKHANE M

qui n'a pas hésité à juger ce travail.

ET à tous ceux qui m'ont aidé à élaborer Ce travail:

Mes collègues de génétique

DEDICACES

*Je dédie ce modeste travail à la lumière de ma vie et prunelle
de mes yeux,*

Ma très chère maman

À mon père

*À mes très chers sœur romaïssa et aya Inesis que mon frère
Mohamed*

À tous mes amis

À toute ma grande famille.

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction1

Partie I : Etude bibliographique

Premier chapitre L'hémoglobine

I-1- définition3

I-2- L'hémoglobine chez les espèces vivantes3

I-3- Structure de l'hémoglobine3

 I-3-1 L'hème4

 I-3-2 Biosynthèse de l'hème5

I-4- Répartition des hémoglobines normales de l'homme5

I-5- .Fonction de l'hémoglobine6

I-6- Les gènes des globines7

 I-6-1 Groupe des gènes de type α 8

 I-6-2 Groupe des gènes de types β 9

Deuxième chapitre Les hémoglobinopathies

II-1- Généralités sur les hémoglobinopathies11

II-2- L'hémoglobinose S ou drépanocytose11

 II-2-1 Définition11

 II-2-2 Historique12

 II-2-3 Epidémiologie12

 II-2-4 Physiopathologie13

 II-2-5 Polymérisation des molécules d'hémoglobine drépanocytaire.....14

 II-2-5-1 Mécanismes de la polymérisation.....14

 II-2-5-2 Facteurs modulateurs de la polymérisation.....15

 II-2-5-3 Déformation du globule rouge drépanocytaire.....15

II-2-6 Complications	16
II-2-7 Diagnostic	16
II-2-8 Traitement	17
II-2-9 Traitement visant la circulation et la microcirculation	17
II-3-Génétiq ue et biologie moléculaire	17
II-3-1 Transmission	17
II-3-2- Détection de la drépanocytose par analyse génétique	19
II-3-2-1 Principe de la détection	19
II-3-2-2 Analyse génétique	20
II-3-2-3 Le conseil génétique et le diagnostic prénatal.....	22

Partie II : Etude expérimentale

Matériel et méthodes

III-1-Matériel et méthodes de l'étude	23
III-1 -1 Le prélèvement sanguin	23
III-2- Le test de falciformation	23
III -2 -1 Principe du test	23
III -2 -2 Réalisation du test	23
III-3- L'hémogramme	24
III-4- L'électrophorèse de l'hémoglobine	24
III-4-1 Principe	24
III-5- Analyse statistique des résultats	25

IV-Résulta	26
IV-1- Etude des profils électro phorétiques des malades selon les différents types des hémoglobinopathies	26
IV-2- Aspect microscopique des hématies sur frottis d'un drépanocytaire.....	30
IV-3- électrophorèse d'hémoglobine	31
Discussion.....	32
Conclusion	33
Résumé	34
Références bibliographique.	

Liste des abréviations

Hb : Hémoglobine.

AA : Acide aminé.

Kb : Kilo base.

EDTA : Ethylène-diamine-tétra-acétate.

GR : Globule Rouge.

pg : Picogramme.

fl : Femtolitre.

pO₂ : Pression d'oxygène.

SRE : Système réticuloendothélial.

VGM : Volume Globulaire Moyen.

TCMH : Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.

HbF : Hémoglobine foetale.

PHHF : persistance héréditaire de l'hémoglobine.

Liste des figures

Figure 01 : structure de l'hémoglobine	4
Figure 02 : Structure de l'hème	4
Figure 03 : Biosynthèse des chaînes de globine au cours de la vie foetale et jusqu'à l'âge de 6 mois	5
Figure 04 : Courbe de saturation de l'hémoglobine	6
Figure 05 : Organisation des gènes globines	9
Figure 06 : structure des chaînes α et β	10
Figure 07 : Répartition mondiale de la drépanocytose	13
Figure 08 : Polymérisation de l'hémoglobine	14
Figure 09 : Formation réversible de filaments tactoïdes en milieu désoxygéné.....	14
Figure 10 : Déformation du globule rouge drépanocytaire.....	15
Figure 11 : Mode de transmission autosomique récessif	18
Figure 12 : Mutation responsable de la drépanocytose: Substitution d'un acide glutamique par une valine.....	18
Figure 13 : Mécanisme physiopathologique primaire	19
Figure 14 : Principe de la détection	20
Figure 15 : Détection de la mutation Hbs par l'enzyme de restriction BsuI	20
Figure 16 : migration sur gel d'agarose des fragments résultants de la restriction par enzyme.....	21
Figure 17 : Variation du nombre des globules rouges (10^6 /mm³) chez les malades de Drépanocytose homozygote S/S	27
Figure18 : Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de drépanocytose homozygote (P< 0, 0001)	28
Figure 19 : Variation de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) (pg) chez les malades de drépanocytose homozygote (P < 0,0001)	29
Figure 20 : Variation du volume globulaire moyenne (VGM) (fl) chez les malades de drépanocytose homozygote (P < 0,0001)	29
Figure 21 : Aspect microscopique des hématies sur frottis d'un drépanocytaire (Hématies falciformes) (MGG x 100)	30

Figure 22 : profile électrophorétique d'un sang avec variant Hbs.....	31
Figure 23 : profile électrophorétique d'un sang normal (témoin).....	31

Liste des tableaux

Tableau 1. Répartition des malades selon les différents types des hémoglobinopathies et Répartition de la population selon le sexe des sujets	26
Tableau 2. Variation du nombre des globules rouges ($10^6/\text{mm}^3$) chez les malades de drépanocytose homozygotes S/S	27
Tableau 3. Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de drépanocytose homozygotes S/S	28
Tableau 4. Variation de volume globulaire moyenne(VGM) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) chez les malades de drépanocytose homozygot.....	29

Introduction

Les hémoglobinopathies sont le plus souvent responsables d'anémies hémolytiques. Les thalassémies et les hémoglobines anormales, provoquant un énorme fardeau sur la santé publique (**Galacteros et al, 1996**).

Leurs transmission se fait selon le mode autosomique récessif, mais elles représentent une variation significative de la sévérité clinique.

Il est maintenant évident que le patrimoine génétique des individus touchés donne une partie importante de la variation dans le phénotype clinique.

Parmi les deux types d'hémoglobinopathies on va parler de l'Hbs responsable de la drépanocytose.

La drépanocytose est une maladie héréditaire à transmission autosomique récessive codominance, caractérisée par la présence d'une hémoglobine anormale Hbs dans le sang. C'est la maladie génétique la plus fréquente au monde affectant plus de 300 000 nouveau-nés chaque année (**OMS, 2014**).

D'abord confinée dans des territoires d'endémie palustre en Afrique, dans le sud-est asiatique et dans le bassin méditerranéen, cette maladie était disséminée dans d'autres régions en raison de déplacements de populations, et notamment au cours des flux migratoires en Europe de l'Ouest où elles constituent un réel problème de santé publique.

Le mot drépanocytose vient du grec « drepanon » qui signifie « faucille », désignant la forme que prennent les globules rouges des malades dans certaines circonstances et responsable des deux principaux signes de la maladie : anémie et douleurs liées à l'obstruction des petits vaisseaux. L'hémoglobine S forme à l'état désoxygéné des polymères qui déforment le globule rouge en faucille (sickle cell). Ces polymères rigidifient le globule rouge qui stagne dans les petits vaisseaux en entraînant une stase qui conduit à une vaso-occlusion douloureuse et le cas échéant à une thrombose dans le territoire vasculaire concerné. La maladie drépanocytaire est une maladie qui peut réduire drastiquement l'espérance de vie.

Le seul traitement curatif est la greffe de moelle. Ceci est impraticable actuellement en Afrique sub-saharienne. Seuls des traitements palliatifs y sont donc disponibles (transfusions, antidouleurs et inducteur de l'hémoglobine fœtale, hydroxy urée). L'hydroxy urée est une

molécule qui induit la synthèse d'hémoglobine fœtale et par conséquent permet de réduire la polymérisation de l'HbS, point de départ de la maladie.

Dans le cadre d'un conseil génétique, lorsqu'est détectée une anomalie de l'hémoglobine chez un parent, il est important que l'autre parent soit examiné.

L'objectif de notre travail consiste à rechercher certaines anomalies de l'hémoglobine les plus fréquentes dans la population de la région de Constantine, à travers une petite recherche épidémiologique dans l'archive de dossiers de cette maladie au niveau du service pédiatrie CHU de Constantine, pendant la période du janvier 2015 jusqu'au mois de mai 2016, et la réalisation de certains tests biologiques sur des échantillons frais de malades drépanocytaires.

Dans la première partie de ce travail, nous présentons un bref rappel sur l'hémoglobine, les hémoglobinopathies, ainsi que la drépanocytose et son diagnostic.

La seconde partie rapporte les techniques utilisées, et les résultats obtenus avec leur discussion.

Partie I :
Etude bibliographique

Premier chapitre :
L'hémoglobine

-1- Définition

L'hémoglobine est le constituant principal du globule rouge et assure le transport d'oxygène dans le sang pour le distribuer à tous les organes, elle est constituée de quatre chaînes assemblées entre elles.

-2- L'hémoglobine chez les espèces vivantes

L'hémoglobine est présente chez presque toutes les espèces vivantes, qu'il s'agisse de micro-organismes, de plantes ou d'animaux. Toutes ces molécules ont en commun une même structure spatiale, caractérisée par le repliement d'une chaîne polypeptidique, constituée de 6 à 8 hélices, autour d'une cavité hydrophobe contenant une molécule d'hème.

-3-Structure de l'hémoglobine

La molécule d'hémoglobine, est un tétramère composée de deux types de chaînes de globine, de structure voisine : l'une appartient au type α , l'autre au type β . Les 4 chaînes contiennent chacune une molécule d'hème. Les chaînes de globine déterminent le nom de chaque molécule d'hémoglobine.

Dans l'espèce humaine, l'hémoglobine majoritaire de l'adulte, l'hémoglobine A (Hb A), est constituée de :

- quatre chaînes polypeptidiques : 2 chaînes constituées de 141 AA et 2 chaînes de 146 AA ($2\alpha 2\beta$).
- quatre molécules d'hème (**Crossley et Orkin, 1993**).

Il existe chez l'homme quatre variétés physiologiques d'hémoglobines et de nombreuses formes pathologiques n'ayant pas toutes d'expressions cliniques. On trouve chez l'adulte un type prédominant, l'hémoglobine A ou A₀ (97 à 98%), un type mineur, l'hémoglobine A₂, représentant 2 à 3 % de l'hémoglobine totale et l'hémoglobine fœtale est appelée hémoglobine F. Toutes les hémoglobines renferment 0.34% de fer impliquant une masse moléculaire de 16500 daltons par atome de fer. La masse moléculaire de l'hémoglobine est d'environ 67000 daltons (**Vanbourdolle et al, 2007**).

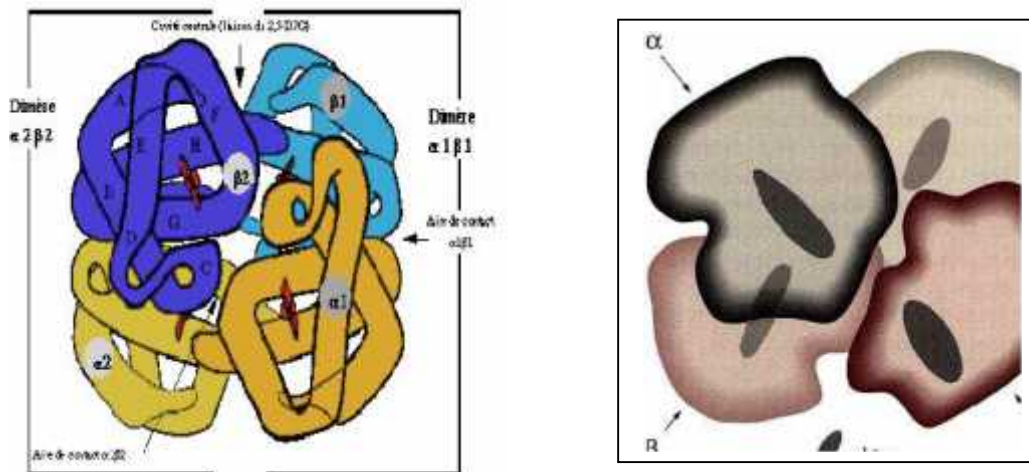


Figure 01 : structure de l'hémoglobine (Serge, 2004).

-3-1 L'hème

L'ensemble "fer incorporé à une porphyrine" constitue un hème. Dans le cas de l'hémoglobine, la porphyrine abritant l'atome de fer est le proto porphyrine, molécule hautement conjuguée, plane et donneuse d'électrons. L'hème coordonné à l'histidine proximale de la chaîne protéique globine et à l'oxygène (De Franceschi et Corroche, 2004).

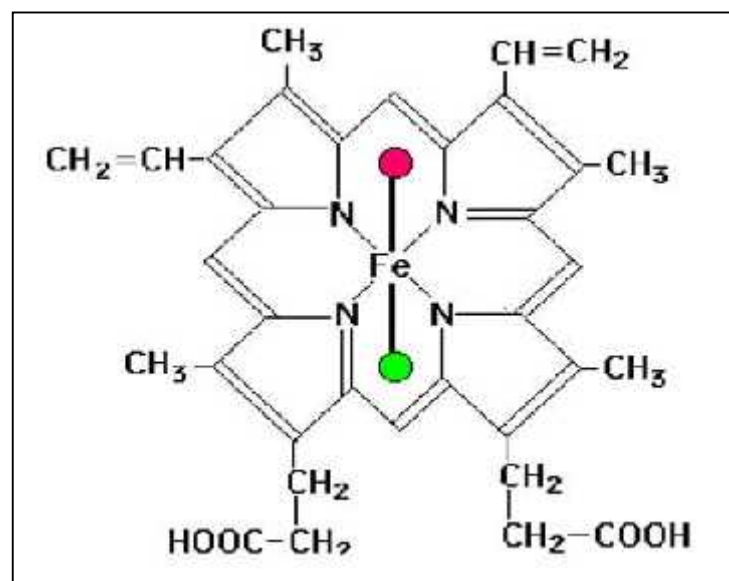


Figure 02 : Structure de l'hème (Diakité, 2005).

-3-2 Biosynthèse de l'hème

Le 85% de la biosynthèse de l'hème sert à faire de l'hémoglobine : érythropoïèse dans la moelle osseuse et 15% pour d'autres hémoprotéines ; majoritairement dans le foie, la biosynthèse dans la moelle osseuse est concertée avec le métabolisme de fer. Elle se fait dans les mitochondries des érythroblastes où tous les enzymes nécessaires sont réunis et dans le cytoplasme (Grand champ *et al*, 1981).

-4- Répartition des hémoglobines normales de l'homme

Différentes hémoglobines (Hb) se trouvent successivement mises en évidence au cours du développement humain. Pendant la période embryonnaire, différents types de chaînes vont être synthétisés (figure 3), ζ , ϵ , puis, progressivement, α et β . (Tchernia, 1989; Rosa *et al*, 1993).

Dès le 37^e jour de la vie fœtale, apparaît l'hémoglobine fœtale, Hb F ou $\alpha_2\gamma_2$, formée de l'association de deux chaînes α et de deux chaînes γ . L'Hb F, dont environ 15 % est sous forme acétylée, reste l'hémoglobine majoritaire tout au long de la vie fœtale jusqu'à la naissance. 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, $\alpha_2\beta_2$ (Hb A).

Ainsi, à 30 semaines de vie fœtale, seulement 10 % de l'hémoglobine est de l'Hb A, contre environ 25 % à la naissance pour un bébé né à terme, et 75 % vers l'âge de trois mois après l'âge d'un an, l'hémoglobine est constituée d'environ 97 % d'Hb A et de 2 à 3 % d'Hb A2 ($\alpha_2\beta_2$) (Tchernia, 1989 ; Forestier *et al*, 1991).

Le taux d'Hb F est souvent inférieur à 1 % vers l'âge d'un an, mais il peut décroître plus tardivement.

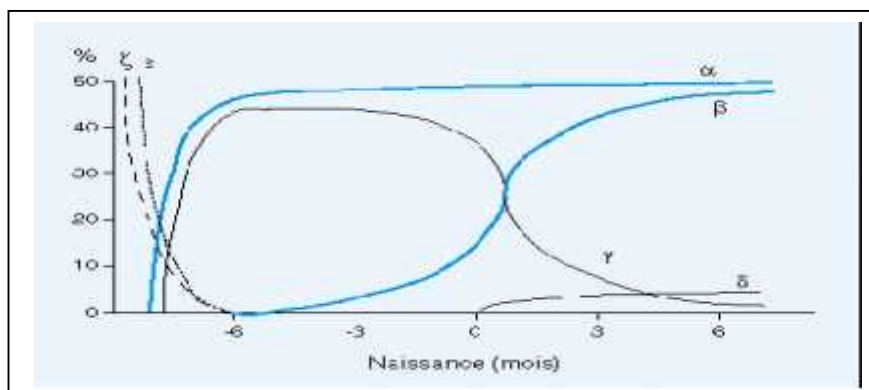


Figure 03 : Biosynthèse des chaînes de globine au cours de la vie fœtale et jusqu'à l'âge de 6 mois (**Rosa et al, 1993**)

-5- Fonction de l'hémoglobine

L'hémoglobine assure le transport de l'oxygène des poumons vers les tissus. Une molécule d'oxygène se fixe par atome de fer et 1 g d'hémoglobine peut transporter au maximum 1,34 ml d'oxygène lorsque la saturation est totale, soit environ 20ml d'oxygène pour 100 ml de sang. (**Figure 4**).

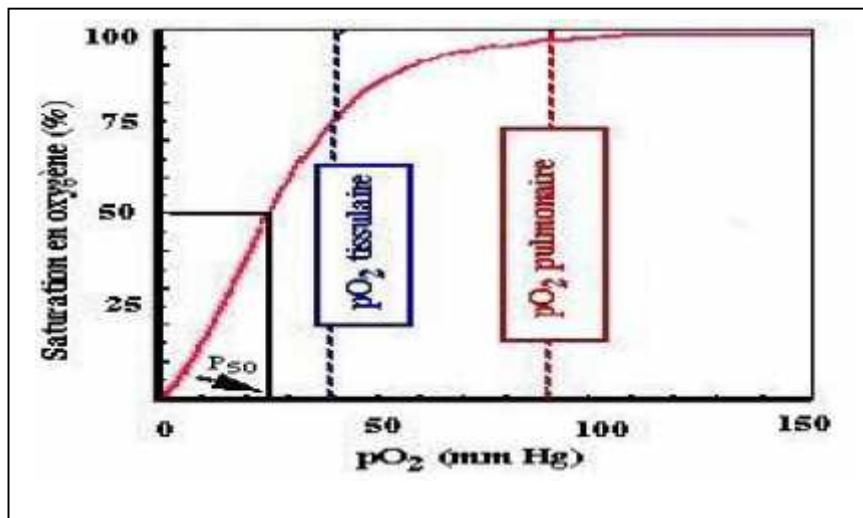


Figure 04 : Courbe de saturation de l'hémoglobine (**Arthur et Guyton, 1974**)

La courbe de saturation de l'hémoglobine en fonction de la pO₂ présente une allure sigmoïde d'un point de vue moléculaire, cette fixation est un phénomène coopératif (en relation avec l'allostérie) dû à l'association et au recrutement différent des quatre sous-unités de l'hémoglobine (**Wijgerde et al, 1996**).

Le segment initial de la courbe correspond à l'oxygénation de la première sous-unité du tétramère et témoigne d'une faible affinité de celle-ci pour l'oxygène. La pente de la courbe traduit la coopérativité. Le segment terminal de la courbe correspond, quant à lui, à l'oxygénation de la dernière sous-unité et révèle sa forte affinité pour le ligand (**Lee et al, 1999**).

L'oxygène se comporte comme un ligand qui stimule le changement de conformation de chaque sous-unité. La fixation d'une première molécule est relativement lente. L'oxygénation de cette première sous-unité entraîne la fixation d'oxygène successivement sur

les autres sous-unités d'une façon auto catalytique, pour une pO₂ 100mmHg, correspondant à la pression de l'alvéole pulmonaire (**Faivre-Fiorina et al, 1998**).

La combinaison de l'hémoglobine à l'oxygène s'exprime en termes de pourcentage (%) de saturation, soit le rapport de l'oxyhémoglobine à l'hémoglobine totale. L'équilibre Hb + O₂ (HbO₂) est réglé par la pO₂. L'oxygène sanguin est combinée pour 98,5% de sa totalité, la faible part restante joue un rôle capital et assure la pO₂ (**Arthur et Guyton, 1974**).

L'oxyhémoglobine libère l'oxygène au fur et à mesure que la pO₂ diminue. Plusieurs autres facteurs influencent l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène, le principal étant la pression partielle en oxygène (plus la pression en oxygène est élevée et plus l'affinité de l'Hb pour l'oxygène baisse), mais également divers autres : baisse du pH, augmentation de la température ou augmentation du 2,3 DPG auront pour effet une baisse de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène (**Vanbourdolle et al, 2007**).

-6-Les gènes des globines

Des études génétiques ont montré que les mutants de la chaîne α ségrégaient de façon indépendante de ceux des chaîne β ou δ , ce qui indiquait une localisation de ces gènes sur des chromosomes différents. Par ailleurs, quelques hémoglobines anormales (ex :Hb Lèpre), provenant de gènes de fusion (ex : $\alpha\delta$) ont apporté de précieux renseignements sur l'organisation séquentielle des gènes de globine sur le chromosome.

La localisation chromosomique de ces gènes a ultérieurement été déterminée de façon précise par les techniques de fusion cellulaire et d'hybridation.

Les gènes de la famille α sont situés sur le chromosome 16 dans la région distale entre 16 p 12 et 16p ter et ceux de la famille β sur le chromosome 11 dans la région 11 p125 p 128.

On connaît aujourd'hui la cartographie détaillée de ces deux groupes de gènes. La famille α comporte trois gènes fonctionnels (α_1 , α_2 et α_3) et la famille β cinq (β , β^G , β^A , β^M et β^E). De plus, il existe des séquences assez similaires à celles des gènes mais ne codant pour aucune chaîne polypeptidique et de fait appelées pseudo-gènes (α^1 , α^2 et α^3) en 3'de la famille des gènes α , il existe un gène α^4 qui pourrait être actif dans les tissus érythroïdes primitifs de l'embryon.

L'ordre séquentiel des gènes de 5' en 3', sur le chromosome est le même que celui de leur expression au cours du développement.

Les gènes de globine comportent trois zones codantes (exons) séparées par deux zones non-codantes (introns). Il existe également des zones non codantes situées en 3' et 5' du gène. Les introns (VS) débutent classiquement par une séquence GT et se terminent par une séquence AG.

Les gènes γ , δ et ϵ diffèrent considérablement par la taille des introns.

Un promoteur est situé en 5' de la région transcrite du gène γ . Cette zone, impliqué dans la fixation de l'ARN polymérase comporte la séquence ATA qui se situe à une trentaine de nucléotides du site codant pour la coiffe, la séquence "CCAAT...", localisée entre les nucléotides -70 à -80, et une séquence plus variable, "CACCC...", située entre les nucléotides -80 et -100 le gène γ possède entre les séquences -170 et -190 une région de séquence GATA fixant des facteurs de régulation érythrocytaire spécifiques.

Il existe également des séquences activatrices (enhancers) et inhibitrices (silencers) régulant le niveau d'expression des gènes au cours de l'évolution.

La séquence AATAA, en 3' serait le signal de terminaison pour la polymérase ou un site de reconnaissance pour la poly-adénylation. Des séquences de spécificité tissulaire, appelées LCR (Locus Control Région) sont situées en 5' à distance du complexe γ et δ . Elles permettent une expression efficace et coordonnée des gènes qu'elles contrôlent (**Frenette et al, 2007**).

-6-1 Groupe des gènes de type

Il est localisé sur le chromosome 16. Il comprend, de 3' à 5' (Sur une petite séquence de DNA de 35Kb) :

- deux gènes de structure γ_1 et γ_2 , fonctionnels dès la vie embryonnaire ;
- un gène de structure γ_3 permettant la formation des chaînes γ (qui remplacent les chaînes α au cours des premières semaines de la vie embryonnaire).

Chez un sujet normal, les gènes γ_1 et γ_2 sont dupliqués. Il existe donc quatre gènes de structure γ pour une paire de chromosomes. En revanche, les gènes γ_3 sont trois fois plus exprimés que les gènes γ_1 (**figure 5**) (**Sadelain, 2003**).

-6-2 Groupe des gènes de types

Il est localisé sur le bras court du chromosome 11 (dans un fragment de DNA de 60 Kb) et il comprend de 3' vers 5' :

- un gène ϵ , dont l'expression débute à la fin du premier trimestre de gestation ;
- un gène ζ , fonctionnel après la naissance ;
- deux gènes $A\gamma$ et $G\gamma$ qui diffèrent par la variation d'un acide aminé en position 136 de la chaîne fœtale (glycine et alanine) ;
- un gène embryonnaire.

Le gène ϵ n'est pas dupliqué, contrairement aux gènes γ . Les lésions qui touchent les gènes s'expriment :

- pour 50% de l'hémoglobine totale si un seul gène est atteint ;
- pour 100% de l'hémoglobine totale si aucun des deux gènes n'est fonctionnel (**figure5**) (**Sadelain, 2003**).

En conséquence, la plupart des lésions qui portent sur le gène ϵ sont plus sévères que celles qui atteignent les gènes γ .

Pour chacun des groupes de gènes (α et β), il est possible de mettre en évidence des pseudos gènes qui représentent des analogies avec les gènes de groupe considéré mais qui ne sont pas fonctionnels. Des structures participent au contrôle de l'activité des gènes, comme les sites de reconnaissances de l'ARNm polymérase permettant la transcription ou des enzymes de clivage des introns et d'épissage des exons (**Sébahoun, 2005**).

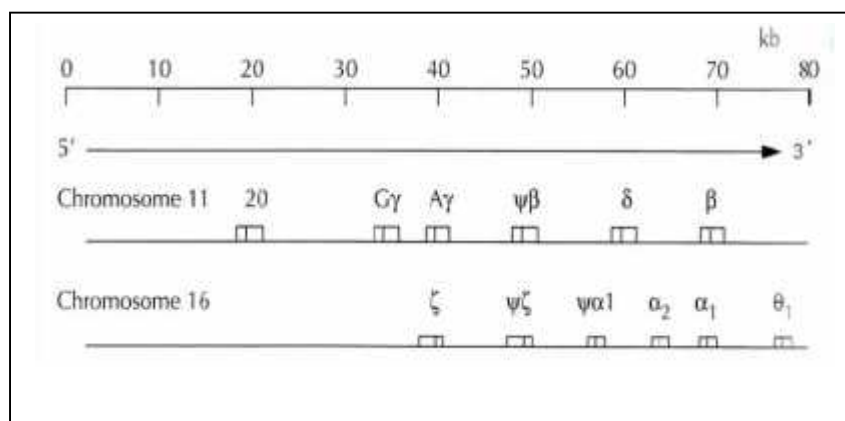


Figure 05 : Organisation des gènes globines (Vanbourdolle et al, 2007).

La séquence primaire des chaînes α et β se présente comme suit :

Chaîne α : V-L-S-P-A-D-K-T-N-V-K-A-A-W-G-K-V-G-A-H-A-G-E-Y-G-A-E-A-L-E-R-M-F-L-S-F-P-T-T-K-T-Y-F-P-H-F-D-L-S-H-G-S-A-Q-V-K-G-K-K-V-A-D-A-L-T-N-A-V-A-H-V-D-D-M-P-N-A-L-S-A-L-S-D-L-H-A-H-K-L-R-V-D-P-V-N-F-K-L-L-S-H-C-L-L-V-T-L-A-A-H-L-P-A-E-F-T-P-A-V-H-A-S-L-D-K-F-L-A-S-V-S-T-V-L-T-S-K-Y-R.

Chaîne β : V-H-L-T-P-E-E-K-S-A-V-T-A-L-W-G-K-V-N-V-D-E-V-G-G-E-A-L-G-R-L-L-V-V-Y-P-W-T-Q-R-F-F-E-S-FG-D-L-S-T-P-D-A-V-M-G-N-P-K-V-K-A-H-G-K-K-V-L-G-A-F-S-D-G-L-A-H-L-D-N-L-K-G-T-F-A-T-L-S-E-L-H-C-D-K-L-H-V-D-P-E-N-F-R-L-L-G-N-V-L-V-C-V-L-A-H-H-F-G-K-E-F-T-P-P-V-Q-A-A-Y-Q-K-V-V-A-G-V-A-N-A-L-A-H-K-Y-H.

Une chaîne polypeptidique α ou β présente sept ou huit segments en forme d'hélice droite reliés par des segments comportant parfois des coudes. Bien que les chaînes α et β aient des séquences différentes, elles présentent des structures tertiaires très similaires.

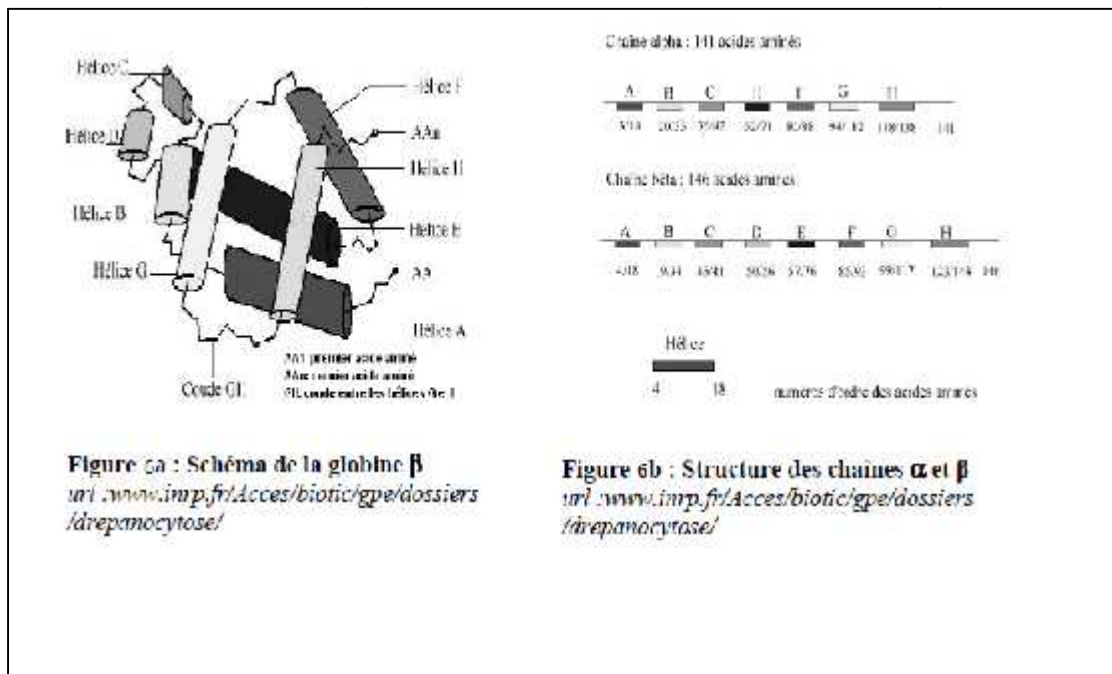


Figure 06 : structure des chaînes α et β (Vanbourdolle et al, 2007).

Deuxième chapitre :
Les hémoglobinopathies

II-1- Les hémoglobinopathies

Les hémoglobinopathies se subdivisent en deux groupes. Le premier correspond à la présence d'une hémoglobine de structure anormale et le second à un défaut de synthèse, partiel ou total, de l'une des sous-unités d'hémoglobine (thalassémies).

Il existe en réalité un certain chevauchement entre ces deux catégories puisque, notamment, certaines hémoglobines de structure anormale se comportent comme des mutants thalassémiques. Dont la drépanocytose ou anémie falciforme (sickle cell anemia pour les Anglo-saxons) est la forme la plus répandue (**Lubine et al. 1991 ; Kutlar, 2007**).

Il existe dans certains cas une association d'anomalies quantitatives et qualitatives de l'hémoglobine.

Les hémoglobinopathies, qui étaient jusqu'à présent assez bien localisées dans certaines régions du monde, sont maintenant beaucoup plus dispersées du fait des migrations de populations (**Lubin et al. 1991**).

On parle d'hémoglobine lorsqu'il y a synthèse d'une nouvelle chaîne de globine par substitution d'un ou de plusieurs acides aminés de l'une des chaînes de la globine (**Girodon et al, 1995**). Il existe plusieurs types d'hémoglobinoses différentes les unes des autres par la qualité et la position de l'acide aminé substitué dans la chaîne de la globine (**Diakite, 2005**).

II-2-L'hémoglobinoses S ou drépanocytose

II-2-1 Définition

La drépanocytose est la plus fréquente des hémoglobinopathies, d'origine génétique, elle est due à une mutation sur le chromosome 11 du gène de la β -globine.

Cette variation autosomique récessive est à l'origine de la synthèse d'une hémoglobine anormale, l'hémoglobine S (Hb S). Cette dernière présente des caractéristiques rhéologiques particulières aboutissant, dans certaines conditions, à la falciformation et à la vaso-occlusion, responsable de complications à court, moyen et long termes.

Cette pathologie hémolytique chronique est associée à un fond permanent de vaso-occlusion dont les poussées exposent les patients à des lésions ischémiques tissulaires

potentiellement graves avec parfois mise en jeu du pronostic vital. Si les sujets les plus gravement atteints sont les homozygotes S/S, l'expression de la maladie présente de grandes variations interindividuelles dans l'évolution de la pathologie (**Santin et Renaud, 2013**).

II-2-2 Historique

C'est en 1910 que la maladie fut découverte chez un étudiant Jamaïcain J B Herrick, par la présence d'hématies déformées en faucilles. Cette caractéristique (drépanos = faucille en grecque) donnera à la maladie le nom d'anémie à cellule falciforme (**Giro et al, 2003**).

En 1917 Emmel démontra qu'en situation d'hypoxie les hématies du sujet drépanocytaire se transforment en faucille. Plus tard il a été démontré que la falciformation n'apparaissait que lorsque la pression partielle en oxygène était inférieure à 45mm Hg dans le sang. La drépanocytose fut décrite pour la première fois en Afrique au Cameroun en 1943.

La différence du tracé électrophorétique entre l'hémoglobine drépanocytaire (S) et l'hémoglobine A de l'adulte normal fut mise en évidence en 1949. En 1957 Ingram identifia la mutation génétique de l'hémoglobine drépanocytaire. Le dépistage néonatal a été rendu possible à partir de 1980.

Le diagnostic prénatal de la drépanocytose à partir de la PCR (Polymérase Chain Réaction) fut possible au début des années 1990, de même que les premiers essais de thérapie génique (**Credos, 2005**).

II-2-3 Epidémiologie

La drépanocytose est très répandue dans la race noire. Elle est considérée comme l'hémoglobinopathie la plus fréquente et concerne des millions de familles porteurs de traits drépanocytaires dans plusieurs dizaines de pays dans le monde. C'est un problème de santé publique (**Credos, 2005**).

Les principales régions à risque pour la drépanocytose sont certains départements d'outre-mer, tous les pays d'Afrique subsaharienne, l'Amérique du Sud (Bresil surtout), l'Amérique du Nord pour les sujets de race noire, l'océan indien et le pourtour Méditerranéen (Santin et Renaud 2013).



Figure 07: Répartition mondiale de la drépanocytose (Frédéric *et al.* 2016)

II-2-4 Physiopathologie

L'anomalie initiale responsable de la drépanocytose est une transversion adénine-thymine au niveau du 6^{ème} codon du bêta-globine, traduite au niveau protéique par la substitution d'un acide aminé (acide glutamique par la valine) d'où un changement de charge et de polarité induit à la surface de la molécule de l'hémoglobine S. Cette anomalie de structure est responsable de la polymérisation de l'hémoglobine S. Cette polymérisation aboutit à la formation de fibres protéiques plus ou moins organisées parallèlement au grand axe du globule rouge.

Cette étape initiale ralentie par la présence d'hémoglobine fœtale (HbF) constitue la gélification de l'hémoglobine. Elle s'associe à une diminution de la solubilité sans altération de la déformabilité du globule rouge. La poursuite de ce processus jusque là réversible conduit à la formation d'un réseau rigide dans le globule rouge ; qui se déforme perd sa souplesse et se fragilise constituant ainsi les drépanocytes. Les facteurs qui déclenchent ce phénomène sont : l'hypoxie, la déshydratation, l'acidose, la fièvre, le froid (Elsevier, 1997).

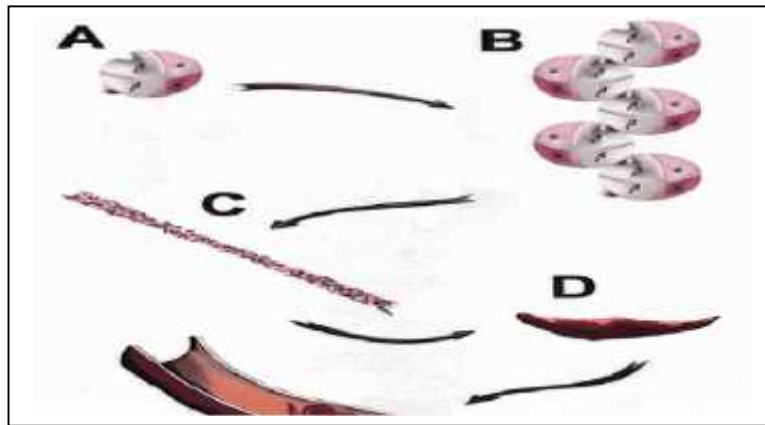


Figure 08 : Polymérisation de l'hémoglobine (Elsevier. 1997).

II-2-5 Polymérisation des molécules d'hémoglobine drépanocytaire

II-2-5 -1 Mécanismes de la polymérisation

Les 270 millions de molécules d'Hb contenues dans chaque GR sont pratiquement en contact les unes avec les autres, certaines forces répulsives localisées à leur surface les empêchant de se polymériser.

Cette solubilité est modifiée par un ensemble d'interactions hydrophobes lors de la substitution Glu par Val en position 6 de la chaîne β . Le remplacement de l'acide glutamique neutre par un acide aminé apolaire hydrophobe la valine, modifie le rapport aussi bien entre les sous-unités de l'Hb qu'entre deux molécules d'Hb voisines.

Cette substitution suffit donc pour rompre l'équilibre et amorcer une cristallisation en milieu désoxygéné. On observe alors une gélification du contenu cellulaire, des cristaux allongés en forme d'aiguille longue de 1 à 15 microns se forment, se sont des tactoïdes .

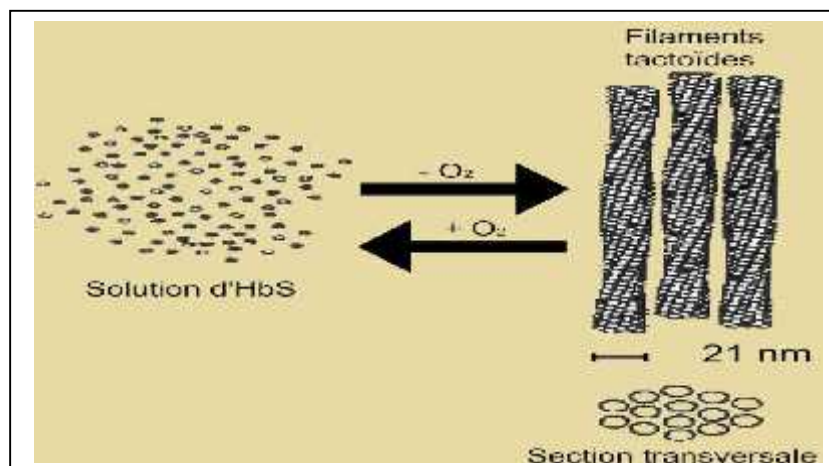


Figure 09: Formation réversible de filaments tactoïdes en milieu désoxygéné (Santin et Renaud. 2013).

II-2-5-2 Facteurs modulateurs de la polymérisation

Certains facteurs physico-chimiques favorisent la polymérisation, on peut citer :

- La concentration en HbS
- L'augmentation de la température
- Un taux élevé en 2-3 diphosphoglycérate
- La diminution de pH ou acidose
- Une Pa O₂ basse 45 mm Hg

II-2-5-3 Déformation du globule rouge drépanocytaire

La polymérisation des molécules d'hémoglobine S dans leur configuration désoxygénée provoque la formation intracellulaire de longues fibres allongées. La formation de ces fibres entraîne une modification de forme du globule rouge qui acquiert un aspect en « faucille » : le drépanocyte.

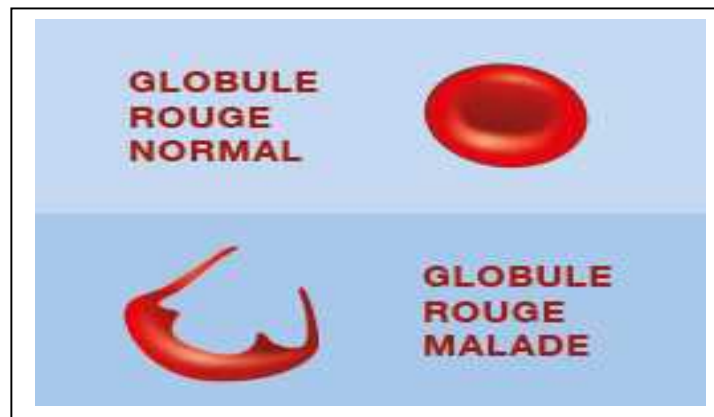


Figure 10 : Déformation du globule rouge drépanocytaire
(www.filsantejeunes.com)

II-2-6 Complications

Les événements aigus spécifiques à la drépanocytose amenant le patient à consulter, le plus souvent aux urgences, sont les suivants :

- la crise vaso-occlusive osseuse hyperalgique, premier motif de consultation des patients
 - Le drépanocytaires ;
 - Syndrome thoracique aigu ;
 - Le priapisme ;
 - L'anémie aiguë ;
 - Les complications abdominales ;
 - Les accidents vasculaires aigus ;
 - Les épisodes infectieux ;

Ces patients sont à considérer d'emblée comme des urgences vraies afin de déceler ou d'infirmier tout critère de gravité, et de les soulager de douleurs souvent intolérables et paroxystiques. Néanmoins, le motif de recours aux urgences pourra ne pas être directement lié à la drépanocytose mais la prise en charge et la surveillance devront être minutieuse (**Santin et Renaud 2013**).

II-2-7 Diagnostic

Le diagnostic d'Hbs peut s'effectuer au niveau de l'ADN en utilisant des enzymes de restriction. La méthode la plus classique consiste à amplifier par PCR un fragment d'ADN contenant l'exon I de la chaîne puis de soumettre ce réplicon à l'action d'une enzyme de restriction et d'analyser les produits de digestion par électrophorèse. D'autres méthodes possibles sont :

- l'utilisation d'une amorce modifiée pour la PCR (ARMS) ou l'hybridation par une sonde spécifique (**Wajcman & Galacteros, 2000**).
- l'utilisation d'électrophorèse capillaires d'hémoglobine : en tampon alcalin, dans laquelle l'hémoglobine S migre entre les fractions A et A2.

II-2-8 Traitement

Les principaux traitements utilisés sont transfusion sanguine, la greffe de moelle osseuse, et les traitements pharmacologiques (**Medkour, 2008**).

La greffe de moelle osseuse (ou « greffe » de cellules souches hématopoïétiques) présente un pourcentage d'efficacité supérieur à 80% (**Redding-Lallinger et Knoll, 2006**). Une alternative serait la thérapie génique malgré des résultats positifs avec les modèles de souris drépanocytaires (ex. exprimant l'HbS humaine (**Pawliuk et al. 2001**), la transposition à l'homme reste à réaliser (**Sadelain et al. 2004**). Il est d'ailleurs à noter qu'à ce jour aucun modèle de souris transgénique de la drépanocytose n'en reproduit fidèlement la pathologie humaine.

Les traitements pharmacologiques sont les plus fréquemment appliqués:

1- Induction d'HbF: hémoglobine non polymérisant (**Steinberg, 2006**).

2- Modulation de la densité des érythrocytes et inhibition de la déshydratation (**Lew and Bookchin. 2005**).

-Inhibition du cotransport K^{+} - Cl^{-} (magnésium oral ;(**De Franceschi et al. 1997**)), et /ou du canal Gardos (**Mueller and Brugnara. 2001**),

-Inhibition de la perméabilité anionique; Inhibition des flux induits par la désoxygénation (**Steinberg, 2006**).

II-2-9 Traitement visant la circulation et la microcirculation

-Anti-adhésion cellulaires (**Telen, 2007**).

-Thérapie(s) antioxydante et/ou anti-inflammatoire (**Redding- Lallinger and Knoll, 2006**).

II-3-Génétique et biologie moléculaire

II-3-1 Transmission

La drépanocytose est une maladie génétique de transmission autosomique récessive l'allèle S étant l'allèle malade, l'allèle A étant sain. La mutation est réalisée par la substitution d'un acide glutamique par une valine (mutation GAG -> GTG) au niveau du sixième codon du gène de la globine sur le chromosome 11 (**Labie et al .2003**).

Cette mutation est responsable de la formation d'une protéine d'hémoglobine anormale appelée hémoglobine S ou HbS (El Barjraji et al. 2004).

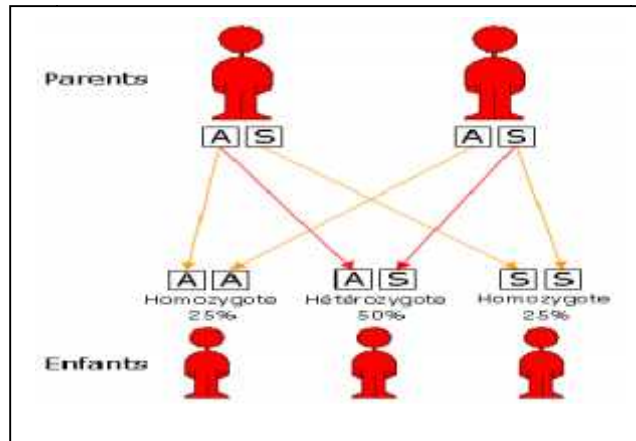


Figure11 : Mode de transmission autosomique récessif (Labie et al. 2003).

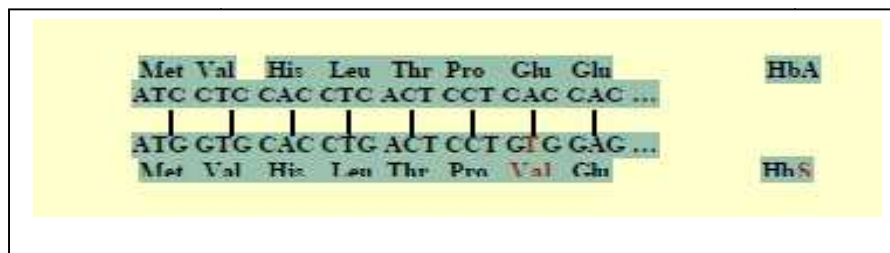


Figure12 : Mutation responsable de la drépanocytose: Substitution d'un acide glutamique par une valine (El Barjraji et al, 2004).

L'hémoglobine normale adulte (Hb A) est composée de deux chaînes globine et de deux chaînes globine. En cas de mutation homozygote SS, l'hémoglobine anormale Hb S se constitue de deux chaînes globine et de deux chaînes anormales de globine S (2 2S).

Dans sa forme désoxy, à basse tension d'oxygène, l'Hb S polymérise (Elion et al, 1996 ; Bunn, 1997).

Le polymère déforme le globule rouge qui devient fragile et rigide, expliquant les deux signes majeurs de la maladie : anémie et obstruction de la microcirculation comme le montre la figure 08.

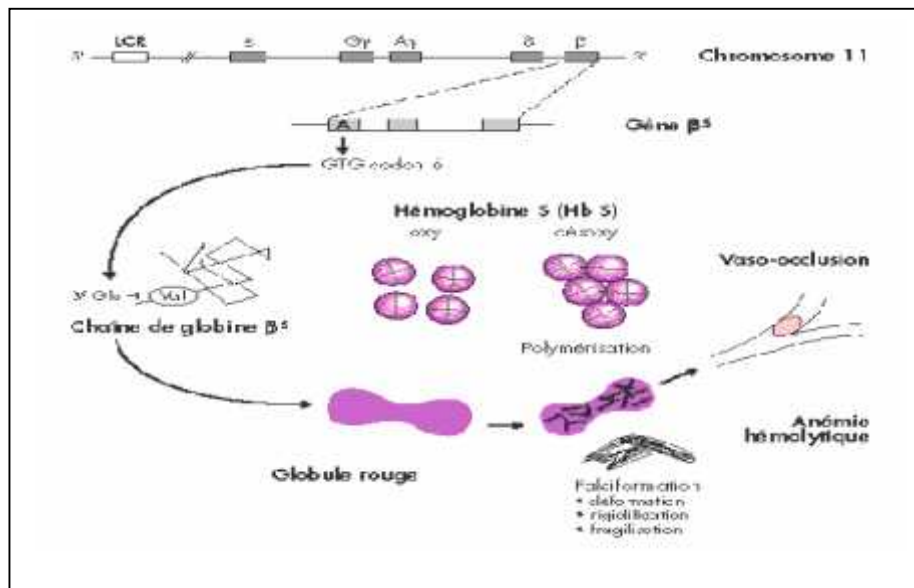


Figure 13 : Mécanisme physiopathologique primaire (Labie *et al.* 2003)

En plus du génotype homozygote SS, on distingue d'autres génotypes pouvant réaliser des syndromes drépanocytaires d'expressions diverses. Les hétérozygoties composites sont liées à une association de l'Hb S à un autre mutant de la chaîne de la globine (hémoglobinoses SC, SD et SO Arab), ou à une thalassémie (S + en cas de synthèse partielle d'Hb A, S^o en l'absence de synthèse d'Hb A).

On peut également retrouver la présence d'Hb S associée à une persistance héréditaire de l'hémoglobine fœtale Hb F (PHHF) de forme $\alpha_2\beta_2$, généralement peu symptomatique (Labie *et al.* 2003).

II-3-2- Détection de la drépanocytose par analyse génétique

II-3-2-1 Principe de la détection

La mutation responsable de la maladie est située au niveau d'une séquence reconnue par l'enzyme de restriction BsuI. L'ADN muté ne peut plus être coupé par l'enzyme à cet endroit (El Barjraji, *et al.* 2004).

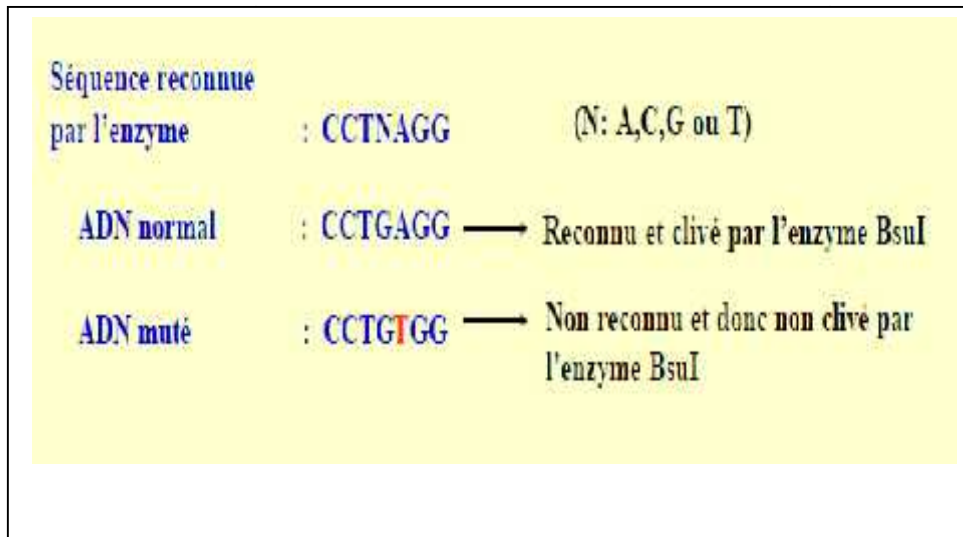


Figure14 : Principe de la détection (El Barjraji et al. 2004)

II-3-2-2-Analyse génétique

Après extraction d'ADN génomique à partir des lymphocytes contenus dans le sang, un fragment d'ADN contenant la région susceptible d'être mutée est amplifiée par PCR à l'aide d'amorces spécifiques.

Le fragment amplifié de 442 paires de bases contient 2 sites de restriction pour l'enzyme BsuI s'il correspond à un gène normal; il n'en contient qu'un seul s'il correspond à un gène muté.

La digestion du fragment amplifié donne donc naissance à trois fragments de 201, 143 et 98 paires de bases pour un gène normal. En présence de la mutation, un des sites disparaît, la digestion produit alors deux fragments de 344 et 98 paires de bases (El Barjraji et al, 2004)

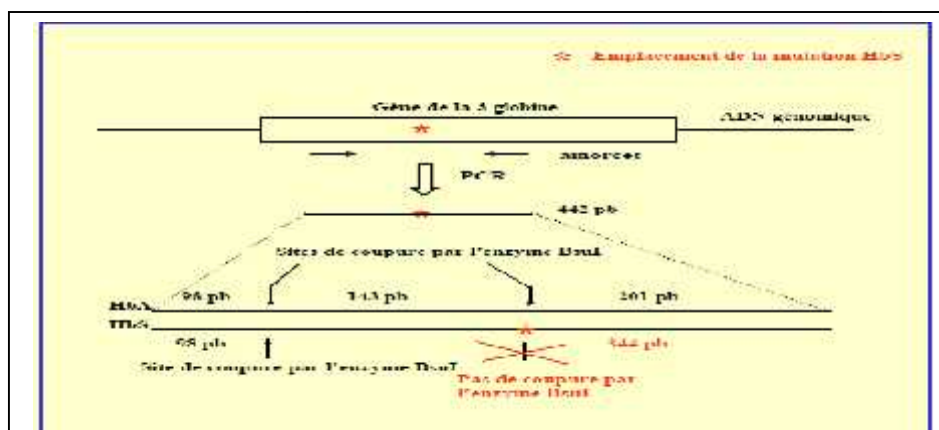


Figure15 : Détection de la mutation Hb s par l'enzyme de restriction BsuI (El Barjraji et al. 2004)

Chaque individu possède 2 copies du gène de la β globine, l'une héritée de son père, l'autre héritée de sa mère. Il y a donc 3 cas possibles:

- soit les 2 copies sont normales (2x Hb A ou « AA »)
- soit une seule des 2 copies est mutée (1x Hb A et 1x Hb S ou « AS »)
- soit les 2 copies sont mutées (2x Hb S ou « SS ») (El Barjraji et al, 2004).

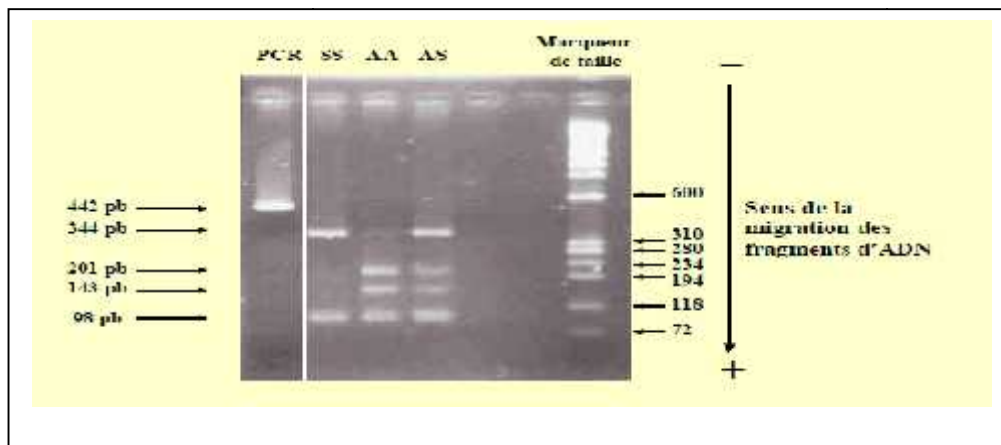


Figure16 : migration sur gel d'agarose des fragments résultants de la restriction par enzyme (El Barjraji et al, 2004)

II-3-2-3 Le conseil génétique et le diagnostic prénatal

Il est essentiel d'identifier les couples de porteurs d'anomalies de l'hémoglobine qui risquent d'avoir des enfants atteints d'un syndrome drépanocytaire majeur.

Toute femme originaire d'une ethnie à risque, en âge de procréer, devrait donc bénéficier d'une recherche d'Hb anormale (essentiellement Hb S) et d'un trait - thalassémique.

Un résultat positif implique alors impérativement l'étude du conjoint. Lorsque les deux partenaires sont porteurs d'HbS ou d'une association susceptible d'aboutir à un syndrome drépanocytaire majeur, le médecin praticien doit expliquer au couple le risque théorique de 25 % d'avoir un enfant atteint et de les orienter vers un généticien.

Si les parents acceptent de prendre le risque d'une grossesse, ils doivent savoir qu'ils peuvent bénéficier d'un diagnostic prénatal à effectuer entre la 12ème et la 15ème semaine de gestation et d'une interruption thérapeutique de grossesse.

Ce diagnostic, qui s'effectue sur l'ADN du fœtus obtenu à partir d'une ponction amniotique ou d'une biopsie placentaire, ne peut évidemment être effectué que par un laboratoire de génétique agréé pour le diagnostic prénatal.

Il n'est évidemment raisonnable de le pratiquer que si les parents acceptent sa sanction qui est l'interruption thérapeutique de grossesse. Il faut toute fois savoir qu'à la fois l'espérance et la qualité de vie des patients ont été considérablement améliorées au cours de ces dernières années. En fait, ce sont le plus souvent des familles qui ont déjà l'expérience d'un enfant gravement malade qui font appel à cette offre.

Partie II :
Etude expérimentale

Matériels et méthodes

III-1-Matériel et méthodes de l'étude

L'étude a été déroulée au niveau du service de laboratoire d'analyse médicale, CHU de Constantine ; ce laboratoire comporte plusieurs sections à savoir : la biochimie où nous avons effectué l'électrophorèse de l'hémoglobine, et l'hématologie où le test de falciformation et l'hémogramme ont été réalisés.

Cette étude a été complétée par une enquête rétrospective portant sur l'archive des patients drépanocytaires, de la période début Janvier 2015 jusqu'à la fin Mai 2016, au sein du service de pédiatrie de l'établissement sus cité.

III-1 -1 Le prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin à été réalisé par ponction veineuse et le sang a été recueilli dans des tubes EDTA et dans des tubes secs, le test de falciformation et l'hémogramme ont été réalisés dans les meilleurs délais avec le sang recueilli sur EDTA.

III -2 Le test de falciformation

III -2 -1 Principe du test

En l'absence d'oxygène, les hématies ayant l'Hbs prennent la forme de faucille ainsi ce test consiste à créer un milieu pauvre en oxygène.

C'est un test simple consistant à provoquer in vitro la désoxygénation puis la polymérisation de l'hémoglobine.

III -2 -2 Réalisation du test

Le sang frais recueilli sur tube EDTA a été mélangé à volume égal avec une solution isotonique, le mélange obtenu recouvert d'une lamelle a été lu après 30 minutes d'incubation sous huile à immersion. Par la suite, la falciformation a été recherchée au microscope, objectif 40. Dans tous les cas, si vous ne voyez pas d'hématies falciformes d'emblée, observez plusieurs zones car la falciformation est progressive et n'est pas homogène.

Le test est négatif si les hématies conservent leur forme. Le test est positif si les hématies prennent progressivement une forme de faucille, de feuilles de houx, de banane aux extrémités pointues, souvent dentelées.

Le test est positif pour le portage du trait drépanocytaire si quelques hématies sont en faucille (et qu'il n'y a pas de signes cliniques). Un sujet sain possède moins de 1% de cellules falciformes.

En pratique le test de falciformation peut être couplé à une électrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin, pour pouvoir affirmer qu'une bande suspecte ayant migré sur acétate de cellulose correspond à l'hémoglobine s.

On peut observer alors à l'état frais, entre lame et lamelle, les hématies qui prennent la forme typique en faucille.

III-3-L'hémogramme

L'hémogramme est l'examen biologique le plus prescrit dans toutes pathologies confondues. Il apporte des informations sur les cellules du sang contribuant au maintien de l'intégrité de l'organisme : oxygénation des tissus, défense de l'organisme contre les agents pathogènes, prévention de risque hémorragique. Le sang est recueilli dans des tubes EDTA et la lecture effectuée au multi paramètres (18 paramètres) ERMA INC (Full automatic blood cell counter PCE-210 (N) au niveau de laboratoire d'analyse médicale, le jour même de prélèvement.

III-4-L'électrophorèse de l'hémoglobine

L'électrophorèse est une séparation des différentes variétés d'une substance par un champ électrique en utilisant leurs variations de propriétés migratoires dans ce champ. Cet examen de laboratoire biologique permet d'isoler les différentes formes d'hémoglobines.

III-4-1 Principe

Les acides aminés de la globine situés à l'extérieur de la molécule sont hydrophiles et ont une charge électrique. Cette charge, modifiée selon le pH environnant, est responsable des différences de migration des molécules d'Hb dans un champ électrique et dans des conditions bien déterminées (pH du tampon de migration, support utilisé).

Prélèvement de 5 ml de sang recueilli sur anticoagulant. Le jeun n'est pas nécessaire. Le prélèvement est accompagné des renseignements cliniques qui doivent impérativement mentionner l'ethnie, Interprétation et intérêt, Hémoglobine anormales.

L'électrophorèse sur acétate de cellulose à pH 8 permet de différencier les Hb anormales les plus fréquentes. Toutefois, certaines Hb anormales possédant la même mobilité électrophorétique, la différenciation se fait soit grâce à des critères ethniques, soit grâce à des examens complémentaires.

L'Hb C ne se voit que dans la race noire alors que l'Hb E qui migre au même endroit ne se rencontre que dans la race jaune. L'Hb S, caractéristique de la drépanocytose, est responsable de la falciformation des hématies contrairement à l'Hb D qui a la même mobilité, l'électrophorèse sur gel d'agar à pH 6,2, moins couramment pratiquée, permet de différencier directement les Hb anormales qui migrent au même endroit sur acétate de cellulose (Hb S et Hb D d'une part, Hb C, Hb O et Hb E d'autre part).

III-5-Analyse statistique des résultats

Les résultats statistiques sont présentés sous forme de moyennes plus ou moins l'écart type ($m \pm s$) et illustrés par des tableaux et figures. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'un logiciel statistique : Excel-STAT.

IV-Résultats

IV-1-Etude des profils électrophorétiques des malades selon les différents types des hémoglobinopathies

Une enquête épidémiologique a été effectuée au sein du service pédiatrie au CHU Ibn Badis Constantine, concernant l'archive de deux dernières années passées (2015/2016) sur les profils électrophorétiques des malades selon les différents types des Hémoglobinopathies, les résultats de cette étude illustrés dans le tableau suivant.

Tableau 1. Répartition des malades selon les différents types des hémoglobinopathies et répartition de la population selon le sexe des sujets :

Type de la maladie	Effectif	Pourcentage %	Sexe/F	Sexe/M
β- thalassémies hétérozygotes (A/F)	6	6	3	3
β- thalassémies homozygotes (F/F)	16	16	3	13
Drépanocytoses homozygotes (S/S)	34	34	15	19
Drépanocytoses hétérozygotes (A/S)	6	6	2	4
Hémoglobinoase C (hétérozygote) (A/C)	8	8	5	3
Drepano-thalass	30	30	17	13
Totale	100	100	45	55

D'après Nos résultats le (**Tableau 1**) confirment l'existence de différents types d'hémoglobinopathies dans la population de la région de Constantine , parmi les 100 dossier traité nous avons trouvé que le taux de chaque hémoglobinopathie et répartie comme suivant , 6 sujets β-thalassémiques hétérozygotes (A/F) 3 femme et 3 homme ,16 sont atteints d'une β- thalassémie homozygote (F/F) 3 femme et 13 homme , 34 malades drépanocytaires homozygotes (S/S) 15 femme et 19 homme ,6 malades drépanocytaires hétérozygotes (A/S) 2 femme et 4 homme, 8 malade atteint d'une hétérozygote (A/C) 5 femme et 3 homme et 30 malade drepano-thalass 17 femme et 13 homme.

Nos résultats de (**Tableau 1**) confirment aussi que cette pathologie peut toucher approximativement les deux sexes.

Tableau 2. Variation du nombre des globules rouges ($10^6/\text{mm}^3$) chez les malades de drépanocytose homozygotes S/S

Test Biologique	Témoins	Malades
Nombres de globules rouges	$5,939 \times 10^6 \pm 0,759$	$4,815 \times 10^6 \pm 2,95$ p **

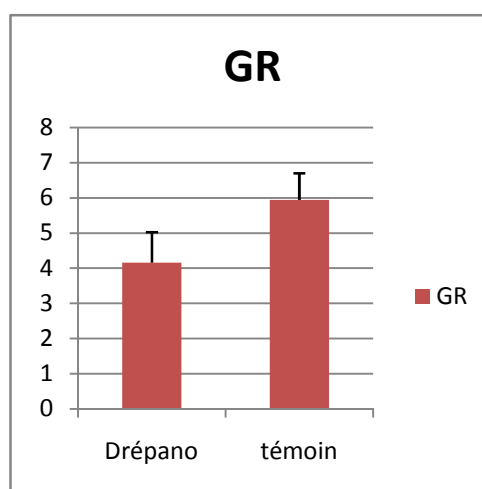


Figure17 : Variation du nombre des globules rouges ($10^6/\text{mm}^3$) chez les malades de drépanocytose homozygote S/S ($p < 0,001$ **).

Nous avons souligné une diminution hautement significative ($p < 0,001$ **) de nombre de globules rouges chez les sujets drépanocytaires ($4,815 \times 10^6 \pm 2,95$) par rapport aux témoins ($5,939 \times 10^6 \pm 0,759$) **figure 17.**

Tableau 3. Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de drépanocytose homozygotes S/S

Test Biologique	Témoins	Malades
Taux de l'hémoglobine (g/dl)	14,168 ± 0,53	7,815 ± 2,95 p***

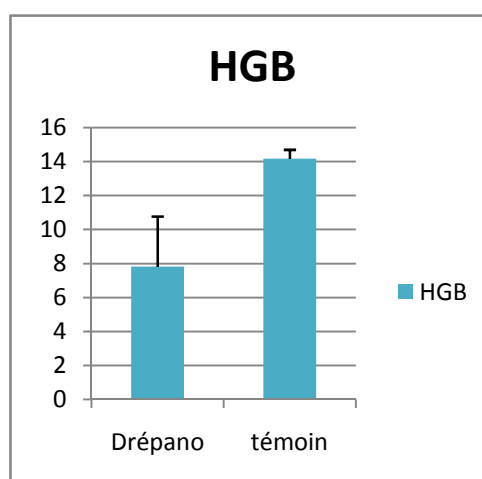


Figure18 : Variation du taux de l'hémoglobine (g/dl) chez les malades de drépanocytose homozygote ($P < 0,0001$).

Nos résultats montrent qu'il existe une diminution très hautement significative ($p < 0,0001$) du taux de l'hémoglobine chez les malades ($7,815 \pm 2,95$) par rapport aux témoins ($14,168 \pm 0,53$) **figure 18.**

Tableau 4. Variation de volume globulaire moyenne (VGM) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) chez les malades drépanocytoses homozygotes S/S

Test biologique	Témoins	Malades
TCMH (pg)	33,981 ± 1,102	26,5 ± 1,591 p ^{***}
VGM (fl)	88,183 ± 3,098	59,892 ± 3,935 p ^{**}

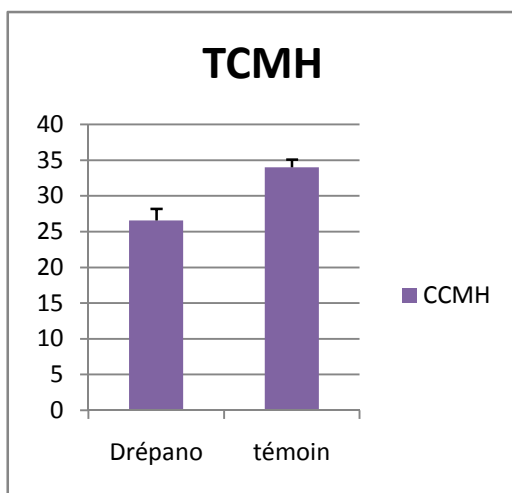


Figure19 : Variation de la teneur d'hémoglobine

(TCMH) (pg) chez les malades drépanocytose homozygote (P < 0,0001)

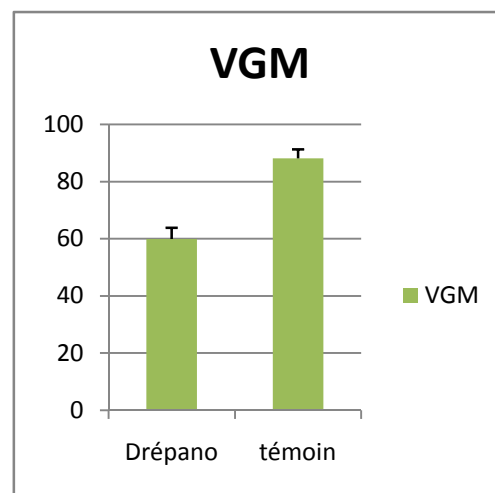


Figure20 : Variation du volume moyenne en corpusculaire globulaire moyenne

(VGM) (fl) chez les malades drépanocytose homozygote (p < 0,001)

L'analyse statistique des nos résultats permettent de constater une diminution hautement significative de volume globulaire moyenne (p < 0,001) chez les malades drépanocytaires

par rapport aux témoins (59, 892 ± 3,93 vs 88,183 ± 3,098) **figure 20**, et une diminution très hautement significative (P < 0,0001) de la variation de la teneur en hémoglobine chez les malades par rapport aux témoins (26,5 ± 1,59 vs 33,981±1,102) **figure 19**.

IV-2- Aspect microscopique des hématies sur frottis d'un drépanocytaire

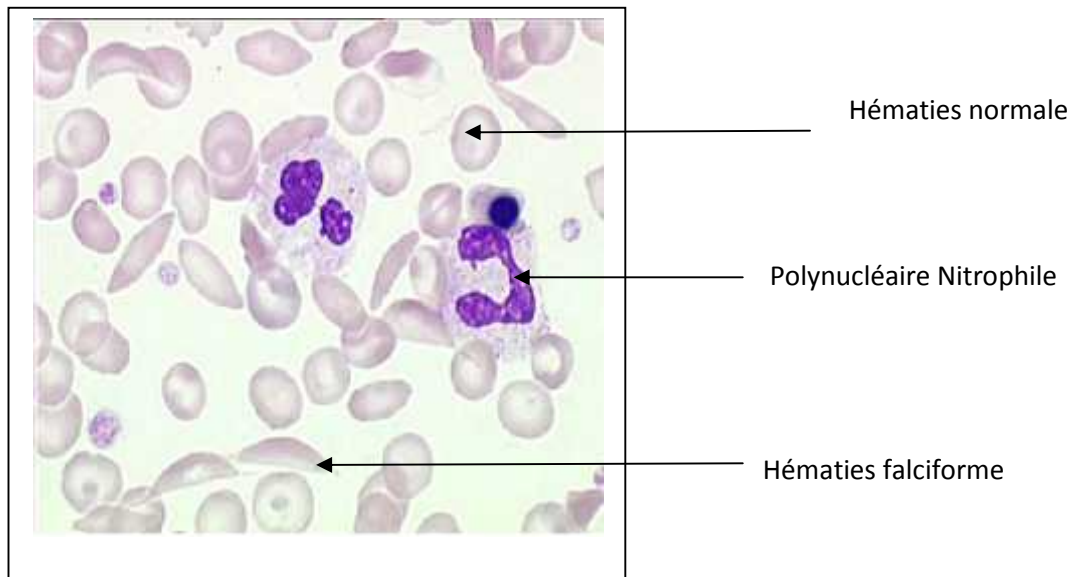


Figure 21 : Aspect microscopique des hématies sur frottis d'un drépanocytaire (Hématies falciformes) (MGG x 100).

L'examen du frottis sanguin montre une présence d'hématies déformées (hématies falciforme), a une demi-vie raccourcie, avec une hypochromie ou une appauvrie en hémoglobine (anémie).

IV-2- électrophorèse d'hémoglobine

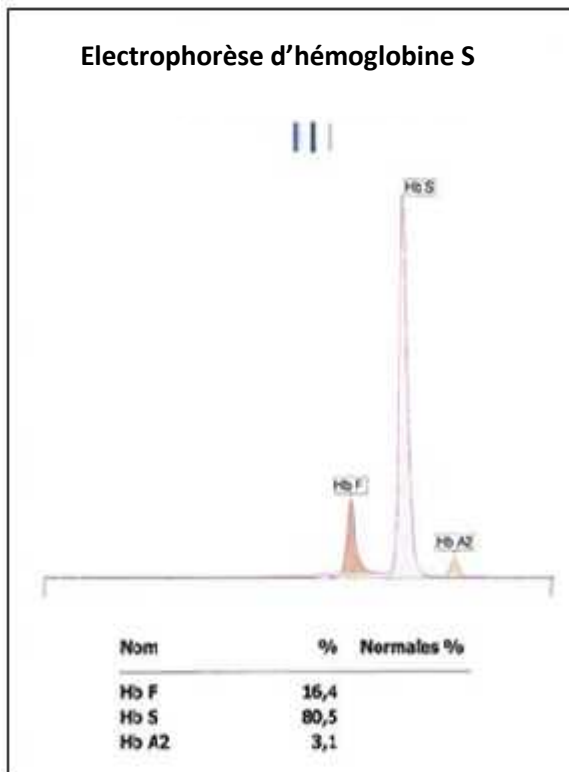


Figure 22 : profil électrophorétique d'un sang avec variant Hbs.

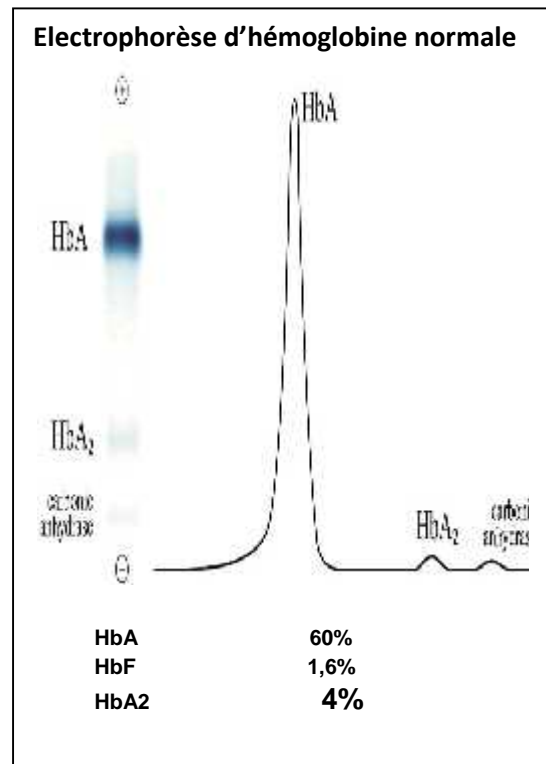


Figure 23 : profil électrophorétique d'un sang normal (témoin).

Le profile électrophorétique d'un sang normal montre un taux de 60% de Hb A, un taux de 1.6% de Hb F ainsi qu'un faible taux de Hb A2 qui est de 4% (**Figure 23**).

Par rapport au profile électrophorétique d'un sang avec variant Hbs qui montre une absence d'Hb A remplacé par un taux de 80.5% de Hbs et un taux de 16.4 d'HbF, ainsi qu'une faible diminution de Hb A2 (**Figure 22**).

Ce qui signifie que l'hémoglobine S migre plus rapidement que l'hémoglobine A et que ces sujets sont anémiques.

Discussion

Notre étude à été réalisé au niveau de service de pédiatrie CHU de Constantine, il s'agit d'une étude épidémiologique sur la maladie de la drépanocytose dans la région de Constantine , mais notre étude est reste insuffisante, à cause de l'absence d'informations complètes dans les registres et la courte durée de recherche ne nous ont pas permis d'avoir un échantillon plus grand ,nous avons basé dans cette étude sur les résultats des hémogrammes de cent patients hémoglobinopathies et en peut comparé avec des hémogrammes témoins de sujets normaux.

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une diminution de nombre de globule rouges chez les sujets malades ($4,815 \times 10^6 \pm 2,95$) par rapport les sujets témoins ($5,939 \times 10^6 \pm 0,759$) figure 17 , la solubilité de la forme oxygénée de l'hémoglobine S est identique à celle de l'hémoglobine normale. En revanche sous forme désoxygénée cette hémoglobine S est moins soluble que l'hémoglobine A. elle peut alors se polymériser selon un processus coopératif et permettre la rigidification, l'agglutination et la falciformation des hématies. De ce fait une hémolyse exagérée entraînant une anémie.

Concernant le taux de l'hémoglobine nous résultats montrent qu'il existe une diminution très hautement significatif de taux de l'hémoglobine chez les malades ($7,815 \pm 2,95$) par rapport les témoins ($14,168 \pm 0,53$).selon **kafando et al ,2008** ;le mécanisme moléculaire par une valine de l'acide glutamique en position 6 de la chaine de la globine entraînant la production anormale de l'hémoglobine S (Hbs) cause de la déshydratation des globules rouges et d'un défaut de leur déformabilité liées à la polymérisation des molécules d'Hbs en milieu pauvre en O₂ .

Nous résultats montrent une diminution hautement significative du volume globulaire moyen ($p < 0,001$) chez les drépanocytaires ($59,892 \pm 3,935$) par rapport les témoins ($88,183 \pm 3,098$) figure 20 . Des anomalies fonctionnelle de la membrane accompagnant la falciformation, l'augmentation de la perméabilité passive des cations monovalentes Na⁺ et K⁺ au cours de la désoxygénation de la courte durée des globules rouges drépanocytaires, sans modification du contenu en eau ni de la quantité totale de cation monovalents (**Tostson, 1952 ;Glader ,1978**) il est suggéré que l'hémoglobine polymérisée modifie l'interaction du cytosquelette et de la membrane en altérant ce réseau.

Conclusion

La drépanocytose est la maladie génétique la plus fréquente dans le monde, qui se transmet sur le mode autosomique récessif et résulte d'une mutation ponctuelle du sixième codon du gène globine, caractérisée par la synthèse d'une hémoglobine anormale S.

Cliniquement elle se manifeste souvent par un syndrome anémique et/ou infectieux ou bien par des crises vaso-occlusives, le diagnostic nécessite une électrophorèse d'hémoglobine qui montre la présence de l'hémoglobine S.

Ses complications évolutives font d'elle une pathologie pourvoyeuse de grande morbidité et mortalité, son traitement est symptomatique mais surtout préventif.

Malgré les progrès thérapeutiques récents, la drépanocytose reste une maladie grave et sévère de l'enfant.

Il ressort de ce travail, que la drépanocytose est une maladie fréquemment et grave avec des complications fâcheuses, mais elle reste une maladie évitable grâce au dépistage et conseil génétique.

Résumé

La drépanocytose constitue un véritable problème de santé publique avec les autres maladies hémoglobinopathies, l'objectif de notre étude est de déterminer le profil épidémiologique et biologique de la drépanocytose dans la région de Constantine. À travers une étude d'archive des dossiers de malades dans le service de pédiatrie CHU de Constantine, et réalisation de quelques tests biologiques sur des échantillons de nouveau cas, tel que le test de falciformation et l'hémogramme complète d'un sujet drépanocytaire.

parmi les cent dossier traité nous avons trouvé que le taux de chaque hémoglobinopathie et répartie comme suivant , 6 sujets β -thalassémiques hétérozygotes (A/F) 3 femmes et 3 hommes ,16 sont atteints d'une β - thalassémie homozygote (F/F) 3 femmes et 13 hommes , 34 malades drépanocytaires homozygotes (S/S) 15 femmes et 19 hommes ,6 malades drépanocytaires hétérozygotes (A/S) 2 femmes et 4 hommes, 8 malades atteint d'une hétérozygote (A/C) 5 femmes et 3 hommes et 30 malades drépano-thalassémique 17 femmes et 13 hommes.

L'hémogramme de malades drépanocytoses (S/S) est comme suivant : le taux de globules rouges ($4,815 \pm 2,95$) , le taux d'hémoglobine estimé à ($7,815 \pm 2,95$), le VGM estimé à $59,892 \pm 3,935$ et enfin le TCMH estimé à ($26,5 \pm 1,591$).

A travers cette étude nous avons conclure que les maladies héréditaires des globules rouges et les hémoglobinopathies en générale reste un problème majeur de la santé publique dans le monde et la prise en charge de malades depuis la naissance pour réduire la mortalité infanto-juvénile .

Les mots clés : hémoglobinopathie, drépanocytose, anémie

Abstract

Sickle cell disease is a major public health problem with other hemoglobin diseases, the aim of our study was to determine the epidemiological and biological profile of sickle cell disease in the Constantine region, Through a study of archival patient records in the pediatric department CHU Constantine, and realization of some laboratory tests on samples from new cases, such as sickling test and complete blood count with a sickle subject.

among 100 treated folder we found that the rate of each hemoglobinopathies and distributed as follows, 6 β -thalassemia heterozygous (A / F) 3 women and 3 men, 16 are suffering from beta-thalassemia homozygote (F / F) 3 women and 13 men, 34 patients homozygous sickle cell disease (S / S) 15 women and 19 men, 6 patients with sickle cell disease heterozygous (a / S) 2 women and 4 men, 8 patient with heterozygous (a / C) 5 woman and 3 men and 30 sick drepano -Thalassemia 17 women and 13 men.

The blood count of sickle cell patients (S / S) is as follows: the red blood cells ($4,815 \pm 2.95$), hemoglobin estimated (7.815 ± 2.95), the VGM estimated $59.892 \pm 3,935$ and finally the MCH estimated at 26.5 ± 1.591 .

Through this study we conclude that inherited diseases of red blood cells and hemoglobin disorders in general is a major problem of public health in the world and the care of patients from birth to reduce infonto mortality.

Keywords: hemoglobinopathies, sickle cell disease, anemia

يعتبر فقر الدم المنجلي مشكلة حقيقية في الصحة العمومية إلى جانب أمراض أخرى متعلقة بالخضاب الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تحديد وبائية و بيولوجيا في منطقة قسنطينة وهذا ميدانية أرشيف التحاليل الدموية لعينات حديثا قسنطينة القيام دموية .

التالية:

مصابين بالبيتا تلاسيمي غير مصابين بالتلاسيمية وثلاثين بالأنيميا المنجلية وثلاثين مريض يشملون التلاسيمية المنجلية وثمانية غير (A/C) انيميا غير .

لمعايير الدموية الأخرى التي تم قياسها كانت كالآتي:

نسبة كريات الدم الحمراء (4, 815 ± 2, 95) نسبة الخضاب (7,815 ± 2,95)
(59,892 ± 3,935) (26,5 ± 1,591)

من خلال هذه الدراسة نستخلص بان الأمراض الوراثية لكريات الدم الحمراء والخضاب خاصة تبقى مشكلة حقيقية للصحة العمومية في كل دول العالم والتكفل بالمرضى يكون مند الولادة وهذا قصد الحد من وفيات الأطفال .

الكلمات المفاتيح : الانيميا

Références bibliographiques :

- 1- Galacteros F., Bardakdjian-Michau J., Briard ML. Détection néonatale de la drépanocytose en France métropolitaine, ArchPédiatr. 1996; 3. 1026-31.
- 2- Crossley M., Orkin SH. Regulation of the beta-globin locus. Curr Opin Genet Dev. 1993; 3. 232-7.
- 3- Serge Pissard. Inter-relations métaboliques Physiopathologique Érythrocytaire et Métabolisme Énergétique. 2004; 5. 23.
- 4- Vanbourdolle M., et collaborateurs. Biochimie hématologie. 2007; 6.1116.
- 5- De Franceschi L., Corroche R. Established and experimental treatments for sickle cell disease. Haematologica. 2004; 89. 348-56.
- 6- Diakite S. Les mécanismes de protection de l'hémoglobine C contre les formes graves de al paludisme A. P falciparum, résultats d'études préliminaires in vitro. 2005; 41. 8 -100.
- 7- Tchernia G. Érythropoïèse et érythrocytes chez l'enfant, physiologie et normes. Rev Prat. 1989; 39. 2111-6.
- 8- Rosa J., Wajcman H., Blouquit Y. Hémoglobine. EncyclMédChir, Hématologie. 1993; 13000.10-14.
- 9- Forestier F., Mandelbrot L., Bazin A., Catherine N., Giovangrandi Y., Andreux JP., Daffos F. Diagnostics anténatals en hématologie. EncyclMédChir, Hématologie. 1991; 13050. 30-11.
- 10- Arthur C., Guyton MD. Physiologie de l'homme. 1974; 500p.
- 11- Wijgerde M., Gribnau J., Trimborn T., Nuez B., Philipsen S., Grosveld F., Fraser P. The role of EKLF in human beta-globin gene competition. Genes & Dev. 1996; 10. 2894-902.
- 12- Lee CH., Murphy MR., Lee JS., Chung JH. Targeting a SWI/SNF-related chromatin remodeling complex to the beta-globin promoter in erythroid cells. Proc Natl Acad Sci USA. 1999; 96. 12311-5.
- 13- Faivre-Fiorina et al. Les hémoglobines érythrocytaires, plasmatiques et substitutives face aux agents oxydants et réducteurs physiologiques. Ann Bio Clin. 1998; 56. 545-555.
- 14- Frenette P., S., et Atweh G F. "Sickle cell disease: old discoveries, new concepts, and future." J Clin Invest. 2007; 117. 850-8.
- 15- Sadelain M. Recent advances in globine gene transfert for the treatment of beta – thalassemia and sickle cell anemia. Curr Opin Hematol. 2003; 13.142-148.
- 16- Sébahoun G. Hématologie clinique, 2e éd. Paris, Arnette. 2005; 1-578.

- 17- Kutlar A. Sickle cell disease: a multigenic perspective of a single gene disorder, *Hemoglobin*. 2007; 31. 209-24
- 18- Lubin B., H H., Witkowska E., Kleman K. "Laboratory diagnosis of hemoglobinopathies." *ClinBiochm*. 1991; 24(4). 363-74.
- 19- Girodon E., Ghanem N., Goossens M. Prenatal diagnosis of hemoglobinopathies. *JIFCC*. 1995; 7. 54-61.
- 20- Diakite S. Les mécanismes de protection de l'hémoglobine C contre les formes graves de al paludisme A. P falciparum. résultats d'études préliminaires in vitro. 2005; 41. 8 -100.
- 21- Girot R., Bégué P., Galacteros F. La drépanocytose. Editions John LibbeyEurotext, Paris. 2003.
- 22- CREDOS : Module de formation à la prise en charge de la drépanocytose au Mali. Mars. 2005.
- 23- Wajcman H., Galacteros F. Drépanocytose. laboratoire et étude de l'hémoglobine, Manuscrit n°2300/drépano 7. Journée "Drépanocytose et b-thalassémie", Société de pathologie exotique, Paris, France. 2000.
- 24- Santin A., Renaud B., Drépanocytose et complications aiguës, Maladies rares en médecine d'urgence. Paris, Springer-Verlag. 2013; pp 279-301.
- 25- Frédéric B. Piel, Thomas N. Williams, Sickle Cell Anemia, Sickle Cell Anemia History and Epidemiology, London, Springer. 2016; pp 23-47;
- 26- ELSEVIER, Paris et SFAR Conférence d'actualisation sur la drépanocytose. 1997.
http://www.sfar.org/sfar_actu/ca97/html/ca97_003/97_03.htm
- 27- Medkour T. Modélisation mathématique et stimulation numérique de la polymérisation de l'hémoglobine drépanocytaire. *Thèse de doctoract* , Paris XII 2008.
- 28- Redding-Lallinger R., Knoll C. Sickle cell disease-pathophysiology and treatment. *CurrProblPediatrAdolesc Health Care*. 2006; 36(10). 346-76.
- 29- Pawlink R., Westerman KA., Fabry ME., Payen E., Tighe R., Bouhassira EE., Acharya SA., Ellis J., London IM., Eaves CJ., Humpharies RK., Beuzard Y., Nagel RL., Lebouch P. Correction of sickle cell disease in transgenic mouse models by gene therapy. *Science*. 2001; 294(5550). 2368-71.
- 30- Sadelain M., Rivella S., Lisowski L., Samakoglu S., Riviere I. Globin gene transfer for treatment of the beta-thalasseмииs and sickle cell diseases. *Best Pract Res ClinHaematol*. 2004; 17(3). 517-34.

- 31- Steinberg MH. Pathophysiologically based drug treatment of sickle cell disease. *Trends PharmacolSci.* 2006; 27(4). 204-10.
- 32- Lew VL., Bookchin RM. Ion transport pathology in the mechanism of sickle cell dehydration. *Physiol Rev.* (2005) 85(1). 179-200.
- 33- DeFranceschi L., Bachar D., Galacteros F., Tchernia G., Cynober T., Alper S., Platt O., Beuzard Y., Brugnara C. Oral magnesium supplements reduce erythrocyte dehydration in patients with sickle cell disease. *J Clin Invest.* 1997; 100(7). 1847-52.
- 34- Muller BU., Brugnara C. Prevention of red cell dehydration: a possible new treatment for sickle cell disease. *Pediatr Pathol Mol Med.* 2001; 20(1). 15-20.
- 35- Telen MJ, Role of adhesion molecules and vascular endothelium in the pathogenesis of sickle disease. *Hematology Am Soc HematolEduc Program.* 2007; 84-90.
- 36- Labie D., Elion J. Génétique et physiopathologie de la drépanocytose in La Drépanocytose (dir. Girot R., Bégué P., Galacteros F.), éditions John LibbeyEurotext. 2003;1-12
- 37- Elion J., Labie D. Bases physiopathologiques moléculaires et cellulaires du traitement de la drépanocytose. *Hematology.* 1996; 2. 499-510
- 38- Bunn HF. Pathogenesis and treatment of sickle-cell disease. *N Engl J Med.* 1997; 337. 762-9
- 39- El Barjraji Fattouch., Jazouli Nawal., Najar Mehdi. Détection de la drépanocytose par analyse génétique, Printemps des Sciences, Sciences Biomédicales. 2004;
- 40- Kafando E., Savadogo LGB., Ayéroué J. Les syndromes drépanocytaires majeurs : une enquête anonyme auprès du corps médical au Burkina-Faso. *Med. Trop.* 2008; 68. 241-246.
- 41- Tosteson D., Carlsen E., Dunham E. The effects of sickling on iontransport. *J Clin Invest.* 1952; 31. 406-411.
- 42- Diagne-Gueye NJR., Signate-Sy H. Prise en charge de la drépanocytose chez l'enfant en Afrique : expérience de la cohorte de l'Hôpital d'enfants Albert Royer de Dakar. *Med Trop.* 2003; 63. 513-520.
- 43- Alastair JJ., Wood MD. Management of sickle cell disease. *N Engl J Med.* 1999; 340. 1021-1030.
- 44- www.filsantejeunes.com
- 45- OMS. 2014

ETUDE ÉPIDÉMIOLOGIQUE DE LA DRÉPANOCYTOSE DANS LA RÉGION DE CONSTANTINE

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique Moléculaire.

Résumé

La drépanocytose constitue un véritable problème de santé publique avec les autres maladies hémoglobinopathies, l'objectif de notre étude est de déterminer le profil épidémiologique et biologique de la drépanocytose dans la région de Constantine. À travers une étude d'archive des dossiers de malades dans le service de pédiatrie CHU de Constantine, et réalisation de quelques tests biologiques sur des échantillons de nouveau cas, tel que le test de falciformation et l'hémogramme complète d'un sujet drépanocytaire.

parmi les cent dossier traité nous avons trouvé que le taux de chaque hémoglobinopathie et répartie comme suivant , 6 sujets β -thalassémiques hétérozygotes (A/F) 3 femmes et 3 hommes ,16 sont atteints d'une β - thalassémie homozygote (F/F) 3 femmes et 13 hommes , 34 malades drépanocytaires homozygotes (S/S) 15 femmes et 19 hommes ,6 malades drépanocytaires hétérozygotes (A/S) 2 femmes et 4 hommes, 8 malades atteint d'une hétérozygote (A/C) 5 femmes et 3 hommes et 30 malades drépano-thalassémique 17 femmes et 13 hommes.

L'hémogramme de malades drépanocytoses (S/S) est comme suivant : le taux de globules rouges ($4,815 \pm 2,95$) , le taux d'hémoglobine estimé à ($7,815 \pm 2,95$), le VGM estimé à $59,892 \pm 3,935$ et enfin le TCMH estimé à ($26,5 \pm 1,591$).

A travers cette étude nous avons conclure que les maladies héréditaires des globules rouges et les hémoglobinopathies en générale reste un problème majeur de la santé publique dans le monde et la prise en charge de malades depuis la naissance pour réduire la mortalité infanto-juvénile .

Mots clés : hémoglobinopathie, drépanocytose, anémie

Laboratoire de recherche :

Jury d'évaluation :

Président du jury : CHAOUI N (MCA - UFM Constantine),
Rapporteur : CHETTOUM AZIZ (MCA - UFM Constantine),
Examineur : BOUDDOKHANE M (MAA - UFM Constantine).

Date de soutenance : 21/06/2016