

REMARQUES A PROPOS D'UN HETEROZYGOTE COMPOSITE PRESENTANT UNE HEMOGLOBINE K WOOLWICH ET UNE HEMOGLOBINE C (Hb Kw/Hbc) DEPISTE A BOBO-DIOULASSO (BURKINA FASO)

par

J.F. MOLEZ (1), F. GALACTEROS (2), M.F. BOSSENO (3)
D. HAUDRECHY (4), E. KOMPAORE (5).

SUMMARY

SOME OBSERVATIONS IN CONNECTION WITH A CASE
OF COMPOSITE HbKw/HbC HETEROZYGOTE
IN BOBO DIOULASSO (BURKINA FASO)

During a study on malaria in pregnant women in Burkina Faso, the authors gave a particular attention to the hemoglobin of a mother and her new-born child (blood of cord) and they noticed an hemoglobin migrating before the HbA which was identified by isoelectric focusing (IEF). The child is a composite HbK/HbC heterozygote.

A survey was carried out to check the transmission of such a K Woolwich hemoglobin within the family of the mother. Out of 40 people, 17 got HbKw.

A noticeable anemia was found in HbKw/HbC heterozygote. The authors tried to identify a possible thalassemia. There was little probability for an association of a minor alpha-thalassemia in the absence of Bart's hemoglobin in the blood of the cord (IEF test) and there was no associated beta-thalassemia.

I - INTRODUCTION

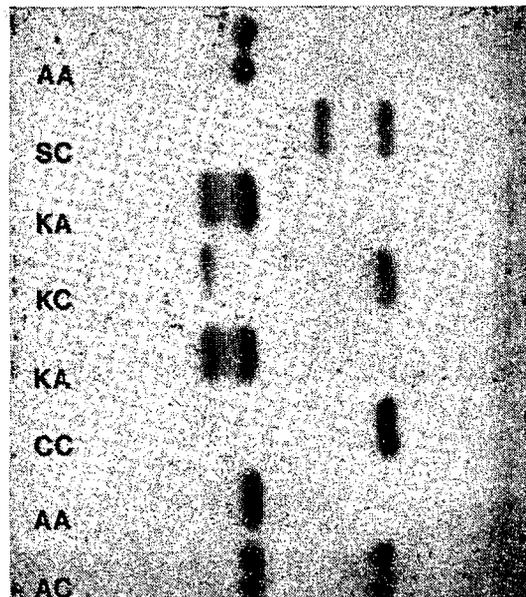
Au cours d'une enquête menée au Burkina Faso sur les relations entre l'infection palustre et les génotypes hémoglobiniques (drépanocytose, alpha-thalassémie mineure, et densités parasitaires en hématozoaires), nous avons effectué l'étude de l'hémoglobine chez les parturientes et sur le sang de cordon des nouveau-nés.

Nous avons mis en évidence à cette occasion chez une jeune accouchée et chez son enfant, une hémoglobine rapide migrant en avant de l'hémoglobine A.

II - MATERIEL ET METHODES

Le prélèvement sanguin est réalisé sur tube hépariné chez la parturiente, et sur tube A.C.D. pour le nouveau-né.

L'électrophorèse de l'hémoglobine est réalisée sur membrane d'acétate de cellulose sur support rigide



← +
Génotype hémoglobinique
Electrophorèse sur acétate de cellulose

- (1) Médecin chargé de recherche ORSTOM, Antenne ORSTOM auprès du Centre Muraz (OCCGE), Bobo-Dioulasso, Burkina Faso.
- (2) Technicienne ORSTOM, Unité de Recherche 702, Antenne ORSTOM auprès du Centre Muraz (OCCGE), Bobo-Dioulasso, Burkina Faso.
- (3) Médecin Unité INSERM 91 (Génétique Moléculaire du Globule Rouge), Hôpital Henri Mondor, 94010 Créteil.
- (4) Pharmacien Chimiste des Armées, Laboratoire de Biochimie du Centre Muraz (OCCGE), Bobo-Dioulasso, Burkina Faso.
- (5) Infirmier, technicien de laboratoire OCCGE, Laboratoire de Biochimie du Centre Muraz (OCCGE), Bobo-Dioulasso, Burkina Faso.

Mylar, avec un tampon pH 8,2-8,6 T.E.B. (Tris 10,2 g, E.D.T.A. acide 0,6 g, acide borique 3,2 g, eau distillée q.s.p. 1 litre). On utilise le matériel et le kit-hémoglobine Helena (cuve Helena Zip Zone Chamber, plaques Helena Titan III.H Réf. 3022, et Helena Supra heme buffer Réf. 5802).

La migration se fait à 450 volts pendant 20 minutes, et les plaques sont colorées par le rouge ponceau à 0,5%. Après déshydratation des plaques Helena dans deux bains successifs de méthanol pur, on les place pendant cinq minutes dans une solution appropriée pour les rendre transparentes (acide acétique 90 ml, et 12 ml de Clear Aids Helena, Ref. 5005).

Dans un second temps, on analyse en isoélectrofocalisation (IEF) le sang de cordon pour rechercher la présence d'hémoglobine Bart's. Le sang maternel, en cas de dépistage d'une hémoglobine anormale est caractérisé en isoélectrofocalisation.

On utilise un générateur et une cuve Sebia avec cryostat et refroidissement liquide à 10°C, et un gel d'acrylamide LKB (pH 6-8) avec ampholines. Après une pré-isoélectrofocalisation de 10 minutes à 18 watts (tension à 750 volts), l'isoélectrofocalisation se fait à 1.500 volts pendant 1 h à 1 h 30. La coloration est remplacée par une brève fixation à l'acide trichloracétique.

En présence d'une hémoglobine rare ou anormale, un hémolySAT est envoyé en France par avion dans un laboratoire de référence pour confirmation.

III - RESULTATS

1 - Mise en évidence

Dans nos analyses de sang couplées entre la parturiente et le sang de cordon du nouveau-né, nous avons mis en évidence sur acétate de cellulose une hémoglobine rapide qui migre en avant de l'hémoglobine A (Hb A). Cette hémoglobine est retrouvée à la fois dans le sang de la mère et dans celui de l'enfant. Le nouveau-né est en fait un double hétérozygote, car il présente par ailleurs une hémoglobine C (Hb C) associée à l'hémoglobine rapide, et une grande quantité d'hémoglobine F (Hb F) (sang de cordon).

Cette hémoglobine rapide a été identifiée comme étant l'hémoglobine K Woolwich. Trois électrophorèses successives ont été réalisées pour suivre l'évolution biologique chez ce nouveau-né.

La mère (N° 35) est âgée de 24 ans, il s'agit de sa troisième gestation (deux enfants vivants), ses examens hématologiques sont les suivants :

- numération des érythrocytes : $4,2 \cdot 10^{12} / l$
- hémoglobine : 13,4 g/dl
- hématocrite : 44%
- TCMH (Teneur Corpusculaire Moyen en hémoglobine) : 31,9 pg/CCMH (Concentration Corpusculaire Moyenne en hémoglobine) : 30,45 g/dl.
- étude de l'hémoglobine : hétérozygote hémoglobine A 59% et hémoglobine Kw 41% (hémoglobine F moins de 1%).

Le nouveau-né (N° 49) de sexe masculin (poids de naissance 3,300 g) présente une anémie très modérée à la naissance :

- numération des érythrocytes : $4,25 \cdot 10^{12} / l$
- hémoglobine : 12,2 g/dl
- étude de l'hémoglobine : hétérozygote composite hémoglobine rapide K Woolwich (HbKw) et hémoglobine C (Hbc).
- absence d'hémoglobine Hb Bart's dans le sang de cordon, en isoélectrofocalisation.

Dix jours après sa naissance, cet enfant présentait une hématocrite à 42%, avec une teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TMCH) à 20,02 pg et une concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) à 20,05 g/dl.

Quatre mois après sa naissance, un troisième examen hématologique a été effectué montrant une aggravation de l'anémie :

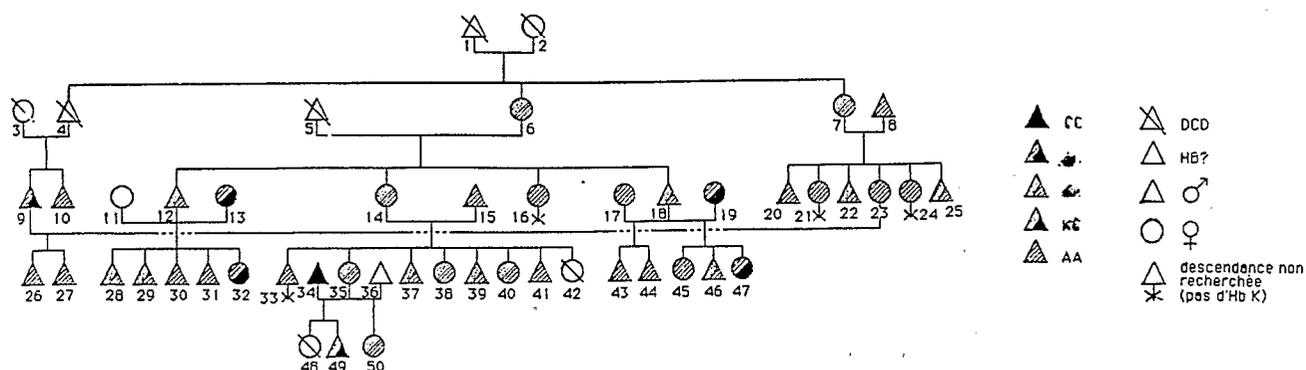
- numération des érythrocytes : $3,4 \cdot 10^{12} / l$
- hémoglobine : 9,6 g/dl
- hématocrite : 34%
- teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine : 28,24 pg/Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine : 28,24 g/dl.
- étude de l'hémoglobine : hémoglobine rapide K Woolwich (Hb Kw) 41% et hémoglobine C 59%, hémoglobine F moins de 1%.

2 - Enquête familiale

Le père du nouveau-né composite hémoglobine rapide K Woolwich/hémoglobine C est un sujet homozygote hémoglobine C (N° 34) et ce nouveau-né possède une demi-sœur hétérozygote hémoglobine A/hémoglobine rapide K Woolwich (HbKw) (N° 50) de père inconnu (enfant illégitime).

Une enquête familiale a été effectuée pour rechercher le mode de transmission de cette hémoglobine rapide K Woolwich (voir tableau). L'enquête a porté sur 40 personnes et elle a permis de mettre en évidence 17 fois l'hémoglobine K Woolwich. Il n'y a pas d'homozygote hémoglobine Kw/hémoglobine Kw dans notre enquête familiale, nous avons retrouvé 16 hétérozygotes hémoglobine A/hémoglobine K Woolwich, mais pas d'hétérozygotes hémoglobine K Woolwich / hémoglobine C (Hbc), ni hémoglobine K Woolwich / hémoglobine S.

TABLEAU
Enquête familiale : famille Hb K Woolwich



3 - Discussion

Aucun antécédent clinique particulier n'a été retrouvé à l'interrogatoire chez la mère hétérozygote hémoglobine A (HbA)/hémoglobine K Woolwich (HbKw). Bien que pour FABRITIUS (3), l'association hémoglobine K Woolwich / hémoglobine S ou hémoglobine K Woolwich / hémoglobine C retrouvée en

Afrique de l'ouest ne donne pas d'anomalie clinique décelable chez les hétérozygotes, il faut remarquer l'anémie du nouveau-né hétérozygote composite hémoglobine K Woolwich/hémoglobine C. Nous observons pour la mère (N° 35) et ses deux enfants (N°s 49 et 50) tous trois hétérozygotes, les résultats suivants :

Sujet	N°	Sexe	Age	Génotype	Kw (%)	Num. (10 ¹² /l)	Hb (g/dl)	Ht (%)	TCMH (pg)
Mère	35	Féminin	24 ans	HbA/HbKw	41	4,2	13,4	44	31,9
Nouveau-né	49	Masculin	4 mois A la naissance	HbKw/HbC	41	3,4 (4,2)	9,6 (12,2)	34 (42)	28,24 (29,02)
Sœur	50	Féminin	2 ans	HbA/HbKw	36	4,4	10,5	40	23,87

Il n'existe pas de microcytose chez ces trois sujets.

Aucun hématozoaire du paludisme n'a été retrouvé chez l'un de ces sujets au cours de nos trois enquêtes hématologiques et parasitologiques (J 0, J 10 et J 4 mois). De même aucun signe de malnutrition ni de carence protéinique n'était cliniquement décelable.

A la délivrance, l'examen du placenta (section et application sur lames), n'a pas mis en évidence d'infection palustre ni de pathologie pouvant expliquer l'anémie chez le nouveau-né hétérozygote hémoglobine K Woolwich/hémoglobine HbC.

IV - L'HEMOGLOBINE K WOOLWICH

L'hémoglobine K Woolwich est une hémoglobine semi-rare (5), résultant de la mutation de la chaîne bêta. Il y a substitution en position 132 de la lysine

par de la glutamine (bêta 132 (H 10) Lys → Gln).

Elle a été mise en évidence pour la première fois en Jamaïque, chez un sujet de race noire. Par la suite, elle a été retrouvée plusieurs fois en Afrique de l'ouest, particulièrement au Ghana et en Côte d'Ivoire (1).

Selon FABRITIUS, l'hémoglobine K Woolwich est particulière au bloc occidental du continent africain, et elle serait assez fréquente dans le groupe ethnique Akan (4).

Cependant, il existe un brassage important de toute la mosaïque d'ethnies des pays d'Afrique de l'ouest, aussi de nos jours il est difficile de localiser l'origine géographique de cette mutation hémoglobinique.

Des enquêtes récentes réalisées au Burkina Faso par le Centre Muraz (2), et par notre laboratoire, ont permis d'étudier la distribution des hémoglobines ainsi que les mutations de la chaîne bêta les

plus fréquentes (hémoglobine Hb S ou hémoglobine Hb C). Pour la ville de Bobo-Dioulasso et pour le village de Dandé (proche du village dont est originaire la famille porteuse d'hémoglobine K Woolwich (HbKw) les résultats sont les suivants :

Genotype (%)	AA	AS	AC	SS	SC	CC	(effectif)
Bobo-Dioulasso	73	8,1	16,4	0,1	0,9	1,5	(1315)
Dandé	69,8	10,4	17	-	0,9	2,2	(547)

V - DISCUSSION ET CONCLUSION

L'hémoglobine K Woolwich peut être associée à une bêta ou une alpha-thalassémie. Il existe une controverse sur le caractère bêta thalassémique intrinsèque ou associé des traits K Woolwich en Afrique noire (6).

Cette étude montre des pourcentages de l'hémoglobine K Woolwich (HbKw) voisins de 40% et une anémie chez les deux enfants (N^o 49 et 50) pourrait faire penser à une thalassémie associée. En effet, lors d'une mutation portant sur la chaîne bêta, le taux de l'hémoglobine anormale de l'hétérozygote est voisin de 50% (7), d'autre part, le taux relativement faible de l'hémoglobine K Woolwich retrouvé chez les deux enfants va contre la théorie qui veut que les hémoglobines rapides soient plus exprimées. On peut donc s'interroger sur la faible expression relative de l'hémoglobine K Woolwich.

L'absence d'hémoglobine Bart's dans le sang de cordon du nouveau-né (N^o 49) hétérozygote hémoglobine K Woolwich/hémoglobine C, rend peu probable une alpha-thalassémie mineure associée.

Par ailleurs, il n'y a pas d'arguments indirects pour suspecter une bêta-thalassémie associée sur le plan clinique et hématologique. L'hémoglobine F

représente moins de 1%, et on ne retrouve pas de polyglobulie microcytaire, ni d'hématie en cible.

Finalement l'anémie observée chez le nouveau-né composite hémoglobine K Woolwich/hémoglobine C pourrait résulter d'une affinité diminuée pour l'oxygène pour cet hétérozygote.

L'étude d'une association hémoglobine K Woolwich (HbKw) avec une bêta-thalassémie ou l'étude d'un homozygote hémoglobine K Woolwich (HbKw) serait très instructive à cet égard.

RESUME

Au Burkina Faso, dans le décours d'une étude particulière du paludisme chez la femme enceinte, nous avons été amenés à effectuer une étude de l'hémoglobine conjointement chez la parturiente et chez les nouveau-nés (sang de cordon). Nous avons remarqué une hémoglobine rapide chez une jeune accouchée et chez son enfant.

Cette hémoglobine a été identifiée comme étant l'hémoglobine rapide K Woolwich, en particulier par isoélectrofocalisation (IEF), le nouveau-né était un hétérozygote composite hémoglobine rapide HbKw/hémoglobine Hb C.

Une enquête familiale a été effectuée pour étudier la transmission de cette hémoglobine rapide K Woolwich. L'enquête a porté sur 40 personnes et elle a permis de mettre en évidence 17 fois l'hémoglobine rapide K Woolwich (HbKw).

On remarque un certain degré d'anémie chez l'hétérozygote hémoglobine rapide K Woolwich (HbKw)/hémoglobine Hb C. Nous avons recherché une thalassémie associée. L'association d'une alpha-thalassémie mineure en l'absence d'hémoglobine Hb Bart's dans le sang de cordon en isoélectrofocalisation est peu probable, on peut noter l'absence de bêta-thalassémie associée.

REMERCIEMENTS

Nous remercions Jean RIOU pour son assistance technique (Unité INSERM 91, Unité de Recherche en Génétique Moléculaire du Globule Rouge), Hôpital Henri Mondor, 94010 Créteil, France.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - CABANES R., SANGARE A. - L'Africain noir et son hémoglobine. *Gazette Méd.*, 1984, 91, 22, 32-39.
- 2 - DEVOUCOUX R., HURPING C., CHAIZE J., BAUDON D., BRANDICOURT O., BOUDIN C., ROUX J., CARNEVALE P. - Hémoglobinoses S et C et le paludisme à *Plasmodium falciparum* en Haute-Volta. XXIII^e Conférence Technique de l'OCCGE, 11-15 avril 1983, Ouagadougou.
- 3 - FABRITIUS H., CABANNES R. - Protocole pour la détection et l'identification des anomalies structurales de l'hémoglobine. Application à l'Afrique de l'ouest. *Méd. Arm.*, 1983, 11, 3, 225-229.
- 4 - FABRITIUS H., SANGARE A., KPLE FAGET P., CABANNES R. - Les hémoglobines rares en Côte d'Ivoire et en Afrique Occidentale. *Méd. Trop.*, 1983, 43, 2, 149-153.
- 5 - LABIE D., ELION J. - Données récentes sur les hémoglobines anormales. *Ann. Biol. Clin.*, 1981, 39, 4, 197-203.
- 6 - LEHMANN H., HUNTSMAN R.G. - Man's haemoglobins, including the haemoglobinopathies and their investigation. Amsterdam, North Holland Publishing Co, 1966, 1 Vol., XI, 331 p.
- 7 - ROSA J. - Hémoglobines anormales et thalassémiques. In : Pathologie Médicale. Le Sang, Paris, 1975, Flammarion, p. 270-293.