

UNIVERSITE MOHAMMED V -SOUISSI-

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE: 2012

THESE N°: 78

**HÉMOGLOBINES HUMAINES : MOYENNES DE
DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE**

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mlle. Imane ACHAJRI

Née le 22 ARIJL 1988 à OUAZZANE

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES: Hémoglobine, Hémoglobinopathie, Moyens d'étude, Diagnostic.

JURY

Mr.M.KHATTAB

Professeur de Pédiatrie

Mr.A.MASRAR

Professeur d'hématologie biologie

Mr.A.BELMEKKI

Professeur d'hématologie biologie

Mr.A.DAMI

Professeur Agrégé de biochimie

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES

سُبْحَانَكَ

لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا بِمَا عَلَّمْتَنَا

إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

(البقرة: من الآية 32)



UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

DOYENS HONORAIRES :

1962 - 1969 : Docteur Abdelmalek FARAJ
1969 - 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 - 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 - 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 - 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 - 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Najia HAJJAJ
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines
Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

1) PROFESSEURS :

Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Mars, Avril et Septembre 1980

3. Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam Neurochirurgie
4. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

Mai et Octobre 1981

5. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid Cardiologie
6. Pr. EL MANOUAR Mohamed Traumatologie-Orthopédie
7. Pr. HAMANI Ahmed* Cardiologie
8. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire
9. Pr. SBIHI Ahmed Anesthésie - Réanimation

10. Pr. TAOBANE Hamid* Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

11. Pr. ABROUQ Ali* Oto-Rhino-Laryngologie
12. Pr. BENOMAR M'hammed Chirurgie-Cardio-Vasculaire
13. Pr. BENSOUA Mohamed Anatomie
14. Pr. BENOSMAN Abdellatif Chirurgie Thoracique
15. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma Physiologie

Novembre 1983

16. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir* Pneumo-phtisiologie
17. Pr. BALAFREJ Amina Pédiatrie
18. Pr. BELLAKHDAR Fouad Neurochirurgie
19. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia Rhumatologie
20. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine Cardiologie

Décembre 1984

21. Pr. BOUCETTA Mohamed* Neurochirurgie
22. Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil Radiothérapie
23. Pr. MAAOUNI Abdelaziz Médecine Interne
24. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi Anesthésie -Réanimation
25. Pr. NAJI M'Barek * Immuno-Hématologie
26. Pr. SETTAF Abdellatif Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

27. Pr. BENJELLOUN Halima Cardiologie
28. Pr. BENSALD Younes Pathologie Chirurgicale
29. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa Neurologie
30. Pr. IHRAI Hssain * Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale
31. Pr. IRAQI Ghali Pneumo-phtisiologie
32. Pr. KZADRI Mohamed Oto-Rhino-laryngologie

Janvier, Février et Décembre 1987

33. Pr. AJANA Ali Radiologie
34. Pr. AMMAR Fanid Pathologie Chirurgicale
35. Pr. CHAHED OUZZANI Houria ép. TAOBANE Gastro-Entérologie
36. Pr. EL FASSY Fihri Mohamed Taoufiq Pneumo-phtisiologie
37. Pr. EL HAITEM Naïma Cardiologie
38. Pr. EL MANSOURI Abdellah* Chimie-Toxicologie Expertise
39. Pr. EL YAACOUBI Moradh Traumatologie Orthopédie
40. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah Gastro-Entérologie
41. Pr. LACHKAR Hassan Médecine Interne
42. Pr. OHAYON Victor* Médecine Interne

43. Pr. YAHYAOUI Mohamed

Neurologie

Décembre 1988

44. Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib

Chirurgie Pédiatrique

45. Pr. DAFIRI Rachida

Radiologie

46. Pr. FAIK Mohamed

Urologie

47. Pr. HERMAS Mohamed

Traumatologie Orthopédie

48. Pr. TOLOUNE Farida*

Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

49. Pr. ADNAOUI Mohamed

Médecine Interne

50. Pr. AOUNI Mohamed

Médecine Interne

51. Pr. BENAMEUR Mohamed*

Radiologie

52. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali

Cardiologie

53. Pr. CHAD Bouziane

Pathologie Chirurgicale

54. Pr. CHKOFF Rachid

Pathologie Chirurgicale

55. Pr. FARCHADO Fouzia ép. BENABDELLAH

Pédiatrique

56. Pr. HACHIM Mohammed*

Médecine-Interne

57. Pr. HACHIMI Mohamed

Urologie

58. Pr. KHARBACH Aïcha

Gynécologie -Obstétrique

59. Pr. MANSOURI Fatima

Anatomie-Pathologique

60. Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

Neurologie

61. Pr. SEDRATI Omar*

Dermatologie

62. Pr. TAZI Saoud Anas

Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

63. Pr. AL HAMANY Zaïtounia

Anatomie-Pathologique

64. Pr. ATMANI Mohamed*

Anesthésie Réanimation

65. Pr. AZZOUZI Abderrahim

Anesthésie Réanimation

66. Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM

Néphrologie

67. Pr. BELKOUCHI Abdelkader

Chirurgie Générale

68. Pr. BENABDELLAH Chahrazad

Hématologie

69. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif

Chirurgie Générale

70. Pr. BENSOUDA Yahia

Pharmacie galénique

71. Pr. BERRAHO Amina

Ophthalmologie

72. Pr. BEZZAD Rachid

Gynécologie Obstétrique

73. Pr. CHABRAOUI Layachi

Biochimie et Chimie

74. Pr. CHANA El Houssaine*

Ophthalmologie

75. Pr. CHERRAH Yahia

Pharmacologie

76. Pr. CHOKAIRI Omar

Histologie Embryologie

77. Pr. FAJRI Ahmed*

Psychiatrie

78. Pr. JANATI Idrissi Mohamed*

Chirurgie Générale

79. Pr. KHATTAB Mohamed

Pédiatrie

- | | |
|--|--|
| 80. Pr. NEJMI Maati | Anesthésie-Réanimation |
| 81. Pr. OUAALINE Mohammed* | Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène |
| 82. Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH | Pharmacologie |
| 83. Pr. TAOUFIK Jamal | Chimie thérapeutique |

Décembre 1992

- | | |
|---|-------------------------|
| 84. Pr. AHALLAT Mohamed | Chirurgie Générale |
| 85. Pr. BENOUDA Amina | Microbiologie |
| 86. Pr. BENSOUA Adil | Anesthésie Réanimation |
| 87. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib | Radiologie |
| 88. Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza | Gastro-Entérologie |
| 89. Pr. CHRAIBI Chafiq | Gynécologie Obstétrique |
| 90. Pr. DAOUDI Rajae | Ophthalmologie |
| 91. Pr. DEHAYNI Mohamed* | Gynécologie Obstétrique |
| 92. Pr. EL HADDOURY Mohamed | Anesthésie Réanimation |
| 93. Pr. EL OUAHABI Abdessamad | Neurochirurgie |
| 94. Pr. FELLAT Rokaya | Cardiologie |
| 95. Pr. GHAFIR Driss* | Médecine Interne |
| 96. Pr. JIDDANE Mohamed | Anatomie |
| 97. Pr. OUZZANI TAIBI Med Charaf Eddine | Gynécologie Obstétrique |
| 98. Pr. TAGHY Ahmed | Chirurgie Générale |
| 99. Pr. ZOUHDI Mimoun | Microbiologie |

Mars 1994

- | | |
|--|---|
| 100. Pr. AGNAOU Lahcen | Ophthalmologie |
| 101. Pr. AL BAROUDI Saad | Chirurgie Générale |
| 102. Pr. BENCHERIFA Fatiha | Ophthalmologie |
| 103. Pr. BENJAAFAR Noureddine | Radiothérapie |
| 104. Pr. BENJELLOUN Samir | Chirurgie Générale |
| 105. Pr. BEN RAIS Nozha | Biophysique |
| 106. Pr. CAOUI Malika | Biophysique |
| 107. Pr. CHRAIBI Abdelmjid | Endocrinologie et Maladies Métaboliques |
| 108. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT | Gynécologie Obstétrique |
| 109. Pr. EL AOUAD Rajae | Immunologie |
| 110. Pr. EL BARDOUNI Ahmed | Traumato-Orthopédie |
| 111. Pr. EL HASSANI My Rachid | Radiologie |
| 112. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur | Médecine Interne |
| 113. Pr. EL KIRAT Abdelmajid* | Chirurgie Cardio-Vasculaire |
| 114. Pr. ERROUGANI Abdelkader | Chirurgie Générale |
| 115. Pr. ESSAKALI Malika | Immunologie |
| 116. Pr. ETTAYEBI Fouad | Chirurgie Pédiatrique |
| 117. Pr. HADRI Larbi* | Médecine Interne |
| 118. Pr. HASSAM Badredine | Dermatologie |

- | | |
|---------------------------------------|-----------------------------|
| 119. Pr. IFRINE Lahssan | Chirurgie Générale |
| 120. Pr. JELTHI Ahmed | Anatomie Pathologique |
| 121. Pr. MAHFOUD Mustapha | Traumatologie –Orthopédie |
| 122. Pr. MOUDENE Ahmed* | Traumatologie–Orthopédie |
| 123. Pr. OULBACHA Said | Chirurgie Générale |
| 124. Pr. RHRAB Brahim | Gynécologie –Obstétrique |
| 125. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR | Dermatologie |
| 126. Pr. SLAOUI Anas | Chirurgie Cardio–Vasculaire |

Mars 1994

- | | |
|---------------------------------|----------------------------|
| 127. Pr. ABBAR Mohamed* | Urologie |
| 128. Pr. ABDELHAK M'barek | Chirurgie – Pédiatrique |
| 129. Pr. BELAIDI Halima | Neurologie |
| 130. Pr. BRAHMI Rida Slimane | Gynécologie Obstétrique |
| 131. Pr. BENTAHILA Abdelali | Pédiatrie |
| 132. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali | Gynécologie – Obstétrique |
| 133. Pr. BERRADA Mohamed Saleh | Traumatologie – Orthopédie |
| 134. Pr. CHAMI Ilham | Radiologie |
| 135. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae | Ophthalmologie |
| 136. Pr. EL ABBADI Najia | Neurochirurgie |
| 137. Pr. HANINE Ahmed* | Radiologie |
| 138. Pr. JALIL Abdelouahed | Chirurgie Générale |
| 139. Pr. LAKHDAR Amina | Gynécologie Obstétrique |
| 140. Pr. MOUANE Nezha | Pédiatrie |

Mars 1995

- | | |
|--|--|
| 141. Pr. ABOUQUAL Redouane | Réanimation Médicale |
| 142. Pr. AMRAOUI Mohamed | Chirurgie Générale |
| 143. Pr. BAIDADA Abdelaziz | Gynécologie Obstétrique |
| 144. Pr. BARGACH Samir | Gynécologie Obstétrique |
| 145. Pr. BEDDOUCHE Amocrane* | Urologie |
| 146. Pr. BENZAOUZ Mustapha | Gastro–Entérologie |
| 147. Pr. CHAARI Jilali* | Médecine Interne |
| 148. Pr. DIMOU M'barek* | Anesthésie Réanimation |
| 149. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine* | Anesthésie Réanimation |
| 150. Pr. EL MESNAOUI Abbes | Chirurgie Générale |
| 151. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila | Oto–Rhino–Laryngologie |
| 152. Pr. FERHATI Driss | Gynécologie Obstétrique |
| 153. Pr. HASSOUNI Fadil | Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène |
| 154. Pr. HDA Abdelhamid* | Cardiologie |
| 155. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed | Urologie |
| 156. Pr. IBRAHIMY Wafaa | Ophthalmologie |
| 157. Pr. MANSOURI Aziz | Radiothérapie |

- | | |
|--------------------------------|---|
| 158. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia | Ophthalmologie |
| 159. Pr. RZIN Abdelkader* | Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale |
| 160. Pr. SEFIANI Abdelaziz | Génétique |
| 161. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali | Réanimation Médicale |

Décembre 1996

- | | |
|--|------------------------------------|
| 162. Pr. AMIL Touriya* | Radiologie |
| 163. Pr. BELKACEM Rachid | Chirurgie Pédiatrie |
| 164. Pr. BELMAHI Amin | Chirurgie réparatrice et plastique |
| 165. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim | Ophthalmologie |
| 166. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan | Chirurgie Générale |
| 167. Pr. EL MELLOUKI Ouafae* | Parasitologie |
| 168. Pr. GAOUZI Ahmed | Pédiatrie |
| 169. Pr. MAHFOUDI M'barek* | Radiologie |
| 170. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid | Chirurgie Générale |
| 171. Pr. MOHAMMADI Mohamed | Médecine Interne |
| 172. Pr. MOULINE Soumaya | Pneumo-phtisiologie |
| 173. Pr. OUADGHIRI Mohamed | Traumatologie-Orthopédie |
| 174. Pr. OUZEDDOUN Naima | Néphrologie |
| 175. Pr. ZBIR EL Mehdi* | Cardiologie |

Novembre 1997

- | | |
|--------------------------------|-------------------------|
| 176. Pr. ALAMI Mohamed Hassan | Gynécologie-Obstétrique |
| 177. Pr. BEN AMAR Abdesselem | Chirurgie Générale |
| 178. Pr. BEN SLIMANE Lounis | Urologie |
| 179. Pr. BIROUK Nazha | Neurologie |
| 180. Pr. BOULAICH Mohamed | O.R.L. |
| 181. Pr. CHAOUIR Souad* | Radiologie |
| 182. Pr. DERRAZ Said | Neurochirurgie |
| 183. Pr. ERREIMI Naima | Pédiatrie |
| 184. Pr. FELLAT Nadia | Cardiologie |
| 185. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra | Radiologie |
| 186. Pr. HAIMEUR Charki* | Anesthésie Réanimation |
| 187. Pr. KANOUNI NAWAL | Physiologie |
| 188. Pr. KOUTANI Abdellatif | Urologie |
| 189. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid | Chirurgie Générale |
| 190. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ | Pédiatrie |
| 191. Pr. NAZI M'barek* | Cardiologie |
| 192. Pr. OUAHABI Hamid* | Neurologie |
| 193. Pr. SAFI Lahcen* | Anesthésie Réanimation |
| 194. Pr. TAOUFIQ Jallal | Psychiatrie |
| 195. Pr. YOUSFI MALKI Mounia | Gynécologie Obstétrique |

Novembre 1998

196. Pr. AFIFI RAJAA	Gastro-Entérologie
197. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*	Pneumo-phtisiologie
198. Pr. ALOUANE Mohammed*	Oto-Rhino-Laryngologie
199. Pr. BENOMAR ALI	Neurologie
200. Pr. BOUGTAB Abdesslam	Chirurgie Générale
201. Pr. ER RIHANI Hassan	Oncologie Médicale
202. Pr. EZZAITOUNI Fatima	Néphrologie
203. Pr. KABBAJ Najat	Radiologie
204. Pr. LAZRAK Khalid (M)	Traumatologie Orthopédie

Novembre 1998

205. Pr. BENKIRANE Majid*	Hématologie
206. Pr. KHATOURI ALI*	Cardiologie
207. Pr. LABRAIMI Ahmed*	Anatomie Pathologique

Janvier 2000

208. Pr. ABID Ahmed*	Pneumophtisiologie
209. Pr. AIT OUMAR Hassan	Pédiatrie
210. Pr. BENCHERIF My Zahid	Ophtalmologie
211. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd	Pédiatrie
212. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine	Pneumo-phtisiologie
213. Pr. CHAOUI Zineb	Ophtalmologie
214. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer	Chirurgie Générale
215. Pr. ECHARRAB El Mahjoub	Chirurgie Générale
216. Pr. EL FTOUH Mustapha	Pneumo-phtisiologie
217. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*	Neurochirurgie
218. Pr. EL OTMANYAzzedine	Chirurgie Générale
219. Pr. GHANNAM Rachid	Cardiologie
220. Pr. HAMMANI Lahcen	Radiologie
221. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim	Anesthésie-Réanimation
222. Pr. ISMAILI Hassane*	Traumatologie Orthopédie
223. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss	Gastro-Entérologie
224. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*	Anesthésie-Réanimation
225. Pr. TACHINANTE Rajae	Anesthésie-Réanimation
226. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida	Médecine Interne

Novembre 2000

227. Pr. AIDI Saadia	Neurologie
228. Pr. AIT OURHROUI Mohamed	Dermatologie
229. Pr. AJANA Fatima Zohra	Gastro-Entérologie
230. Pr. BENAMR Said	Chirurgie Générale
231. Pr. BENCHEKROUN Nabiha	Ophtalmologie

232. Pr. CHERTI Mohammed	Cardiologie
233. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma	Anesthésie-Réanimation
234. Pr. EL HASSANI Amine	Pédiatrie
235. Pr. EL IDGHIRI Hassan	Oto-Rhino-Laryngologie
236. Pr. EL KHADER Khalid	Urologie
237. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*	Rhumatologie
238. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
239. Pr. HSSAIDA Rachid*	Anesthésie-Réanimation
240. Pr. LACHKAR Azzouz	Urologie
241. Pr. LAHLOU Abdou	Traumatologie Orthopédie
242. Pr. MAFTAH Mohamed*	Neurochirurgie
243. Pr. MAHASSINI Najat	Anatomie Pathologique
244. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae	Pédiatrie
245. Pr. NASSIH Mohamed*	Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
246. Pr. ROUIMI Abdelhadi	Neurologie

Décembre 2001

247. Pr. ABABOU Adil	Anesthésie-Réanimation
248. Pr. AOUIAD Aicha	Cardiologie
249. Pr. BALKHI Hicham*	Anesthésie-Réanimation
250. Pr. BELMEKKI Mohammed	Ophthalmologie
251. Pr. BENABDELJLIL Maria	Neurologie
252. Pr. BENAMAR Loubna	Néphrologie
253. Pr. BENAMOR Jouda	Pneumo-phtisiologie
254. Pr. BENELBARHDADI Imane	Gastro-Entérologie
255. Pr. BENNANI Rajae	Cardiologie
256. Pr. BENOUACHANE Thami	Pédiatrie
257. Pr. BENYOUSSEF Khalil	Dermatologie
258. Pr. BERRADA Rachid	Gynécologie Obstétrique
259. Pr. BEZZA Ahmed*	Rhumatologie
260. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi	Anatomie
261. Pr. BOUHOUCHE Rachida	Cardiologie
262. Pr. BOUMDIN El Hassane*	Radiologie
263. Pr. CHAT Latifa	Radiologie
264. Pr. CHELLAOUI Mounia	Radiologie
265. Pr. DAALI Mustapha*	Chirurgie Générale
266. Pr. DRISSI Sidi Mourad*	Radiologie
267. Pr. EL HAJJOUI Ghziel Samira	Gynécologie Obstétrique
268. Pr. EL HIJRI Ahmed	Anesthésie-Réanimation
269. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid	Neuro-Chirurgie
270. Pr. EL MADHI Tarik	Chirurgie-Pédiatrique
271. Pr. EL MOUSSAIF Hamid	Ophthalmologie
272. Pr. EL OUNANI Mohamed	Chirurgie Générale

- | | |
|-------------------------------------|-----------------------------------|
| 273. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil | Radiologie |
| 274. Pr. ETTAIR Saïd | Pédiatrie |
| 275. Pr. GAZZAZ Miloudi* | Neuro-Chirurgie |
| 276. Pr. GOURINDA Hassan | Chirurgie-Pédiatrique |
| 277. Pr. HRORA Abdelmalek | Chirurgie Générale |
| 278. Pr. KABBAJ Saad | Anesthésie-Réanimation |
| 279. Pr. KABIRI EL Hassane* | Chirurgie Thoracique |
| 280. Pr. LAMRANI Moulay Omar | Traumatologie Orthopédie |
| 281. Pr. LEKEHAL Brahim | Chirurgie Vasculaire Périphérique |
| 282. Pr. MAHASSIN Fattouma* | Médecine Interne |
| 283. Pr. MEDARHRI Jalil | Chirurgie Générale |
| 284. Pr. MIKDAME Mohammed* | Hématologie Clinique |
| 285. Pr. MOHSINE Raouf | Chirurgie Générale |
| 286. Pr. NABIL Samira | Gynécologie Obstétrique |
| 287. Pr. NOUINI Yassine | Urologie |
| 288. Pr. OUALIM Zouhir* | Néphrologie |
| 289. Pr. SABBAH Farid | Chirurgie Générale |
| 290. Pr. SEFIANI Yasser | Chirurgie Vasculaire Périphérique |
| 291. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia | Pédiatrie |
| 292. Pr. TAZI MOUKHA Karim | Urologie |

Décembre 2002

- | | |
|---|---|
| 293. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane* | Anatomie Pathologique |
| 294. Pr. AMEUR Ahmed * | Urologie |
| 295. Pr. AMRI Rachida | Cardiologie |
| 296. Pr. AOURARH Aziz* | Gastro-Entérologie |
| 297. Pr. BAMOU Youssef * | Biochimie-Chimie |
| 298. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene* | Endocrinologie et Maladies Métaboliques |
| 299. Pr. BENBOUAZZA Karima | Rhumatologie |
| 300. Pr. BENZEKRI Laila | Dermatologie |
| 301. Pr. BENZZOUBEIR Nadia* | Gastro-Entérologie |
| 302. Pr. BERNOUSSI Zakiya | Anatomie Pathologique |
| 303. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya | Psychiatrie |
| 304. Pr. CHOHO Abdelkrim * | Chirurgie Générale |
| 305. Pr. CHKIRATE Bouchra | Pédiatrie |
| 306. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair | Chirurgie Pédiatrique |
| 307. Pr. EL ALJ Haj Ahmed | Urologie |
| 308. Pr. EL BARNOUSSI Leila | Gynécologie Obstétrique |
| 309. Pr. EL HAOURI Mohamed * | Dermatologie |
| 310. Pr. EL MANSARI Omar* | Chirurgie Générale |
| 311. Pr. ES-SADEL Abdelhamid | Chirurgie Générale |
| 312. Pr. FILALI ADIB Abdelhai | Gynécologie Obstétrique |
| 313. Pr. HADDOUR Leila | Cardiologie |

314. Pr. HAJJI Zakia	Ophthalmologie
315. Pr. IKEN Ali	Urologie
316. Pr. ISMAEL Farid	Traumatologie Orthopédie
317. Pr. JAAFAR Abdeloihab*	Traumatologie Orthopédie
318. Pr. KRIOULE Yamina	Pédiatrie
319. Pr. LAGHMARI Mina	Ophthalmologie
320. Pr. MABROUK Hfid*	Traumatologie Orthopédie
321. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*	Gynécologie Obstétrique
322. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*	Cardiologie
323. Pr. MOUSTAINE My Rachid	Traumatologie Orthopédie
324. Pr. NAITLHO Abdelhamid*	Médecine Interne
325. Pr. OUJILAL Abdelilah	Oto-Rhino-Laryngologie
326. Pr. RACHID Khalid *	Traumatologie Orthopédie
327. Pr. RAISS Mohamed	Chirurgie Générale
328. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*	Pneumophtisiologie
329. Pr. RHOU Hakima	Néphrologie
330. Pr. SIAH Samir *	Anesthésie Réanimation
331. Pr. THIMOU Amal	Pédiatrie
332. Pr. ZENTAR Aziz*	Chirurgie Générale
333. Pr. ZRARA Ibtisam*	Anatomie Pathologique

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

334. Pr. ABDELLAH El Hassan	Ophthalmologie
335. Pr. AMRANI Mariam	Anatomie Pathologique
336. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas	Oto-Rhino-Laryngologie
337. Pr. BENKIRANE Ahmed*	Gastro-Entérologie
338. Pr. BENRAMDANE Larbi*	Chimie Analytique
339. Pr. BOUGHALEM Mohamed*	Anesthésie Réanimation
340. Pr. BOULAADAS Malik	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
341. Pr. BOURAZZA Ahmed*	Neurologie
342. Pr. CHAGAR Belkacem*	Traumatologie Orthopédie
343. Pr. CHERRADI Nadia	Anatomie Pathologique
344. Pr. EL FENNI Jamal*	Radiologie
345. Pr. EL HANCHI ZAKI	Gynécologie Obstétrique
346. Pr. EL KHORASSANI Mohamed	Pédiatrie
347. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*	Cardiologie
348. Pr. HACHI Hafid	Chirurgie Générale
349. Pr. JABOUIRIK Fatima	Pédiatrie
350. Pr. KARMANE Abdelouahed	Ophthalmologie
351. Pr. KHABOUZE Samira	Gynécologie Obstétrique
352. Pr. KHARMAZ Mohamed	Traumatologie Orthopédie

- | | |
|---------------------------|-----------------------------|
| 353. Pr. LEZREK Mohammed* | Urologie |
| 354. Pr. MOUGHIL Said | Chirurgie Cardio-Vasculaire |
| 355. Pr. NAOUMI Asmae* | Ophtalmologie |
| 356. Pr. SAADI Nozha | Gynécologie Obstétrique |
| 357. Pr. SASSENOU ISMAIL* | Gastro-Entérologie |
| 358. Pr. TARIB Abdelilah* | Pharmacie Clinique |
| 359. Pr. TIJAMI Fouad | Chirurgie Générale |
| 360. Pr. ZARZUR Jamila | Cardiologie |

Janvier 2005

- | | |
|-------------------------------------|---|
| 361. Pr. ABBASSI Abdellah | Chirurgie Réparatrice et Plastique |
| 362. Pr. AL KANDRY Sif Eddine* | Chirurgie Générale |
| 363. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid | Microbiologie |
| 364. Pr. ALLALI Fadoua | Rhumatologie |
| 365. Pr. AMAR Yamama | Néphrologie |
| 366. Pr. AMAZOUZI Abdellah | Ophtalmologie |
| 367. Pr. AZIZ Nouredine* | Radiologie |
| 368. Pr. BAHIRI Rachid | Rhumatologie |
| 369. Pr. BARKAT Amina | Pédiatrie |
| 370. Pr. BENHALIMA Hanane | Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale |
| 371. Pr. BENHARBIT Mohamed | Ophtalmologie |
| 372. Pr. BENYASS Aatif | Cardiologie |
| 373. Pr. BERNOUSSI Abdelghani | Ophtalmologie |
| 374. Pr. BOUKLATA Salwa | Radiologie |
| 375. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed | Ophtalmologie |
| 376. Pr. DOUDOUH Abderrahim* | Biophysique |
| 377. Pr. EL HAMZAOUI Sakina | Microbiologie |
| 378. Pr. HAJJI Leila | Cardiologie |
| 379. Pr. HESSISSEN Leila | Pédiatrie |
| 380. Pr. JIDAL Mohamed* | Radiologie |
| 381. Pr. KARIM Abdelouahed | Ophtalmologie |
| 382. Pr. KENDOOUSSI Mohamed* | Cardiologie |
| 383. Pr. LAAROUSSI Mohamed | Chirurgie Cardio-vasculaire |
| 384. Pr. LYAGOUBI Mohammed | Parasitologie |
| 385. Pr. NIAMANE Radouane* | Rhumatologie |
| 386. Pr. RAGALA Abdelhak | Gynécologie Obstétrique |
| 387. Pr. SBIHI Souad | Histo-Embryologie Cytogénétique |
| 388. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam | Ophtalmologie |
| 389. Pr. ZERAIDI Najia | Gynécologie Obstétrique |

AVRIL 2006

- | | |
|---------------------------|--------------|
| 423. Pr. ACHEMLAL Lahsen* | Rhumatologie |
|---------------------------|--------------|

424. Pr. AFIFI Yasser
 425. Pr. AKJOUJ Said*
 426. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra
 427 Pr. BELMEKKI Abdelkader*
 428. Pr. BENCHEIKH Razika
 429 Pr. BIYI Abdelhamid*
 430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
 431. Pr. BOULAHYA Abdellatif*
 432. Pr. CHEIKHAOUI Younes
 433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
 434. Pr. DOGHMI Nawal
 435. Pr. ESSAMRI Wafaa
 436. Pr. FELLAT Ibtissam
 437. Pr. FAROUDY Mamoun
 438. Pr. GHADOUANE Mohammed*
 439. Pr. HARMOUCHE Hicham
 440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
 441 Pr. IDRIS LAHLOU Amine
 442. Pr. JROUNDI Laila
 443. Pr. KARMOUNI Tariq
 444. Pr. KILI Amina
 445. Pr. KISRA Hassan
 446. Pr. KISRA Mounir
 447. Pr. KHARCHAFI Aziz*
 448. Pr. LAATIRIS Abdelkader*
 449. Pr. LMIMOUNI Badreddine*
 450. Pr. MANSOURI Hamid*
 451. Pr. NAZIH Naoual
 452. Pr. OUANASS Abderrazzak
 453. Pr. SAFI Soumaya*
 454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra
 455. Pr. SEFIANI Sana
 456. Pr. SOUALHI Mouna
 457. Pr. TELLAL Saida*
 458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Dermatologie
 Radiologie
 Dermatologie
 Hématologie
 O.R.L
 Biophysique
 Chirurgie – Pédiatrique
 Chirurgie Cardio – Vasculaire
 Chirurgie Cardio – Vasculaire
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Gastro-entérologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Urologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Microbiologie
 Radiologie
 Urologie
 Pédiatrie
 Psychiatrie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Médecine Interne
 Pharmacie Galénique
 Parasitologie
 Radiothérapie
 O.R.L
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Anatomie Pathologique
 Pneumo – Phtisiologie
 Biochimie
 Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

458. Pr. LARAQUI HOUSSEINI Leila
 459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
 460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid
 461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *
 462. Pr. BAITE Abdelouahed *
 463. Pr. TOUATI Zakia

Anatomie pathologique
 Anesthésie réanimation
 Anesthésier réanimation
 Anesthésie réanimation
 Anesthésie réanimation
 Cardiologie

464. Pr. OUZZIF Ez zohra *	Biochimie
465. Pr. BALOUCH Lhousaine *	Biochimie
466. Pr. SELKANE Chakir *	Chirurgie cardio vasculaire
467. Pr. EL BEKKALI Youssef *	Chirurgie cardio vasculaire
468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *	Chirurgie cardio vasculaire
469. Pr. EL ABSI Mohamed	Chirurgie générale
470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *	Chirurgie générale
471. Pr. ACHOUR Abdessamad *	Chirurgie générale
472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq *	Chirurgie générale
473. Pr. GHARIB Nouredine	Chirurgie plastique
474. Pr. TABERKANET Mustafa *	Chirurgie vasculaire périphérique
475. Pr. ISMAILI Nadia	Dermatologie
476. Pr. MASRAR Azlarab	Hématologie biologique
477. Pr. RABHI Monsef *	Médecine interne
478. Pr. MRABET Mustapha *	Médecine préventive santé publique et hygiène
479. Pr. SEKHSOKH Yessine *	Microbiologie
480. Pr. SEFFAR Myriame	Microbiologie
481. Pr. LOUZI Lhousain *	Microbiologie
482. Pr. MRANI Saad *	Virologie
483. Pr. GANA Rachid	Neuro chirurgie
484. Pr. ICHOU Mohamed *	Oncologie médicale
485. Pr. TACHFOUTI Samira	Ophtalmologie
486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine	Ophtalmologie
487. Pr. MELLAL Zakaria	Ophtalmologie
488. Pr. AMMAR Haddou *	ORL
489. Pr. AOUI Sarra	Parasitologie
490. Pr. TLIGUI Houssain	Parasitologie
491. Pr. MOUTAJ Redouane *	Parasitologie
492. Pr. ACHACHI Leila	Pneumo phtisiologie
493. Pr. MARC Karima	Pneumo phtisiologie
494. Pr. BENZIANE Hamid *	Pharmacie clinique
495. Pr. CHERKAOUI Naoual *	Pharmacie galénique
496. Pr. EL OMARI Fatima	Psychiatrie
497. Pr. MAHI Mohamed *	Radiologie
498. Pr. RADOUANE Bouchaib *	Radiologie
499. Pr. KEBDANI Tayeb	Radiothérapie
500. Pr. SIFAT Hassan *	Radiothérapie
501. Pr. HADADI Khalid *	Radiothérapie
502. Pr. ABIDI Khalid	Réanimation médicale
503. Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
504. Pr. TANANE Mansour *	Traumatologie orthopédie
505. Pr. AMHAJJI Larbi *	Traumatologie orthopédie

Mars 2009

Pr. BJIJOU Younes	Anatomie
Pr. AZENDOUR Hicham *	Anesthésie Réanimation
Pr. BELYAMANI Lahcen *	Anesthésie Réanimation
Pr. BOUHSAIN Sanae *	Biochimie
Pr. OUKERRAJ Latifa	Cardiologie
Pr. LAMSAOURI Jamal *	Chimie Thérapeutique
Pr. MARMADÉ Lahcen	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AMAHZOUNE Brahim *	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AIT ALI Abdelmounaim *	Chirurgie Générale
Pr. BOUNAIM Ahmed *	Chirurgie Générale
Pr. EL MALKI Hadj Omar	Chirurgie Générale
Pr. MSSROURI Rahal	Chirurgie Générale
Pr. CHTATA Hassan Toufik *	Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pr. BOUI Mohammed *	Dermatologie
Pr. KABBAJ Nawal	Gastro-entérologie
Pr. FATHI Khalid	Gynécologie obstétrique
Pr. MESSAOUDI Nezha *	Hématologie biologique
Pr. CHAKOUR Mohammed *	Hématologie biologique
Pr. DOGHMI Kamal *	Hématologie clinique
Pr. ABOUZAHIR Ali *	Médecine interne
Pr. ENNIBI Khalid *	Médecine interne
Pr. EL OUENNASS Mostapha	Microbiologie
Pr. ZOUHAIR Said*	Microbiologie
Pr. L'kassimi Hachemi*	Microbiologie
Pr. AKHADDAR Ali *	Neuro-chirurgie
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia	Neurologie
Pr. AGADR Aomar *	Pédiatrie
Pr. KARBOUBI Lamyra	Pédiatrie
Pr. MESKINI Toufik	Pédiatrie
Pr. KABIRI Meryem	Pédiatrie
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *	Pneumo-phtisiologie
Pr. BASSOU Driss *	Radiologie
Pr. ALLALI Nazik	Radiologie
Pr. NASSAR Ittimade	Radiologie
Pr. HASSIKOU Hasna *	Rhumatologie
Pr. AMINE Bouchra	Rhumatologie
Pr. BOUSSOUGA Mostapha *	Traumatologie orthopédique
Pr. KADI Said *	Traumatologie orthopédique

Octobre 2010

Pr. AMEZIANE Taoufiq*	Médecine interne
Pr. ERRABIH Ikram	Gastro entérologie
Pr. CHERRADI Ghizlan	Cardiologie
Pr. MOSADIK Ahlam	Anesthésie Réanimation
Pr. ALILOU Mustapha	Anesthésie réanimation
Pr. KANOUNI Lamya	Radiothérapie
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*	Radiologie
Pr. DARBI Abdellatif*	Radiologie
Pr. EL HAFIDI Naima	Pédiatrie
Pr. MALIH Mohamed*	Pédiatrie
Pr. BOUSSIF Mohamed*	Médecine aérologique
Pr. EL MAZOUZ Samir	Chirurgie plastique et réparatrice
Pr. DENDANE Mohammed Anouar	Chirurgie pédiatrique
Pr. EL SAYEGH Hachem	Urologie
Pr. MOUJAHID Mountassir*	Chirurgie générale
Pr. RAISSOUNI Zakaria*	Traumatologie orthopédie
Pr. BOUAITY Brahim*	ORL
Pr. LEZREK Mounir	Ophthalmologie
Pr. NAZIH Mouna*	Hématologie
Pr. LAMALMI Najat	Anatomie pathologique
Pr. ZOUAIDIA Fouad	Anatomie pathologique
Pr. BELAGUID Abdelaziz	Physiologie
Pr. DAMI Abdellah*	Biochimie chimie
Pr. CHADLI Mariama*	Microbiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS

1. Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie
3. Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
5. Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
9. Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie
10. Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
11. Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
12. Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
13. Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootecnie

14.	Pr. FAOUZI Moulay El Abbas	Pharmacologie
15.	Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
16.	Pr. IBRAHIMI Azeddine	
17.	Pr. KABBAJ Ouafae	Biochimie
18.	Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
19.	Pr. REDHA Ahlam	Biochimie
20.	Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
21.	Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
22.	Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
23.	Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

**** Enseignants Militaires***

Dédicaces



Je dédie cette thèse à

ALLAH

*Le tout miséricordieux, le très miséricordieux, le tout puissant
qui m'inspire toujours et qui me guide sur le droit chemin.*

Je vous dois ce que je suis devenue.

*Soumission, louanges et remerciements pour votre clémence et
miséricorde.*



A ma très chère mère

Pour l'affection, la tendresse et l'amour dont tu m'as toujours entourée.

Pour le sacrifice et le dévouement dont tu as toujours fait preuve.

Pour l'encouragement sans limites que tu ne cesses de manifester.

C'est à travers tes encouragements que j'ai opté pour cette noble profession et c'est à travers tes critiques que je me suis réalisée.

Aucun mot, aucune phrase ne peut exprimer mes sentiments profonds d'amour, de respect et de reconnaissance.

Merveilleuse maman j'espère que j'ai été à la hauteur de tes espérances.

Que ce modeste travail soit un début de mes récompenses envers toi.

Puisse Dieu, le tout puissant, te garder, te couvrir de sa bonté et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon très cher père

C'est avec beaucoup d'affection et de respect que je t'écris ces quelques mots, tout en sachant que jamais je ne pourrai te remercier pour tout ce que tu avais sacrifié pour moi.

Tu m'avais soutenu et encouragé tout au long de mon parcours.

Pour ton amour constant, je suis et je resterai pour toujours obéissante.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon respect et de ma gratitude pour ton soutien constant et sans limites dont ont fait de moi ce que je suis.

J'espère de tout mon cœur qu'en ce jour tu es fier de moi.

Puisse Dieu, le tout puissant, te combler de santé, de bonheur et te procurer longue vie.



*A ma chère grande sœur ILHAM
et sa fille Aya*

Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer à sa juste valeur, l'ampleur de l'Amour, l'attachement, la reconnaissance et l'admiration que j'éprouve pour toi.

Tu avais été pour moi au long de mes études le plus grand symbole d'amour, de dévouement qui ont ni cessé ni diminué.

Je te remercie pour tout le soutien exemplaire et l'amour exceptionnel que tu me portes depuis mon enfance et j'espère que ta bénédiction m'accompagnera toujours.



A mon très cher frère Rabie

*Aucun mot ne saurait exprimer mes sentiments les plus profonds envers toi.
Je t'assure que sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail
n'aurait vu le jour.*

A mes chères sœurs

*Kawtar
Nouha
Khadija*

*Aucune dédicace ne pourrait traduire ma gratitude et mon profond amour.
Je vous dédie ce travail comme témoignage de mon respect et mon amour...*



A ma grand-mère

Ta présence dans la famille est le secret de notre bonheur...

Que dieu te procure santé et joie pour le restant de ta vie...

A mes oncles, ma tante et ma cousine fatima-ezzahera

Aucun dédicace ne pourrait traduire ma gratitude et mon profond amour

Je vous dédicace ce travail comme témoignage de mon respect

A la mémoire de mes grands parents paternels

*Puisse Dieu tout puissant, assurer le repos de votre âme par sa sainte
miséricorde.*

A mon cher Nabil Ainouche et sa petite famille

Merci pour votre soutien et votre amour. Merci de m'avoir rendue forte par la

fierté que vous m'avez montrée.



*A tous les membres de la grande famille Achajri et la
grande famille Jaadour
petits et grands*

*Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et
mon affection la plus sincère*

A mes ami(e)s

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon
affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères sur qui je peux compter.*

*En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que
nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie
pleine de santé et de bonheur.*

A toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

A tous ceux à qui je pense et que j'ai omis de citer



Remerciements



A notre maître
Madame le Professeur Souad BENKIRANE
Professeur assistant d'hématologie

*Je tiens à vous exprimer ici mes plus sincères
remerciements pour m'avoir accompagnée tout au long de ce
projet.*

*J'ai pu apprécier à vos côtés votre implication, votre réactivité,
votre grande disponibilité ainsi que votre pédagogie et votre
bonne humeur.*

J'ai été très heureuse de travailler avec vous.



*A notre maître et président de thèse
Monsieur le professeur Mohamed KHATTAB
Professeur de Pédiatrie*

*Vous avez bien voulu nous faire honneur en acceptant de
présider le Jury de cette thèse.*

*Vos qualités humaines et professionnelles sont pour nous un
exemple à suivre.*

*Soyez assuré de notre vive reconnaissance et de notre profond
respect.*



*A notre maître et rapporteur de thèse
Monsieur le professeur Azlarab MASRAR
Professeur d'Hématologie biologique*

*Vous avez bien voulu nous confier ce travail riche d'intérêt et nous
guider à chaque étape de sa réalisation.*

*Vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil, malgré vos
obligations professionnelles.*

*Vos encouragements inlassables, votre aimabilité, votre gentillesse
méritent toute admiration.*

*Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde
gratitude tout en vous témoignant notre respect.*



*A notre maître et juge de thèse
Monsieur le professeur Abdelkader BELMEKKI
Professeur d'Hématologie*

*Vous avez accepté en toute simplicité de juger ce travail et c'est
pour
nous un grand honneur de vous voir siéger parmi notre jury de
thèse.*

*Nous tenons à vous remercier et à vous exprimer notre
respect.*



*A notre maître et juge de thèse
Mme le professeur Abdellah DAMI
Professeur de Biochimie*

Vous avez accepté avec grande amabilité de juger cette thèse.

*Cet honneur nous touche infiniment et nous tenons à vous
exprimer nos sincères remerciements et notre profond respect.*



Liste des abréviations

2,3-BPG : 2,3-bisphosphoglycérate

2,3-DPG : 2,3-diphosphoglycérate

ADN : Acide désoxyribonucléique

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : Acide ribonucléique messenger

AVC : accident vasculaire cérébral

CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

EDTA : acide éthylène diamine tétraacétique

HU : hydroxurée

IEF : isoelectrofocalisation

kDa : kilodalton

LDH : Lactate déshydrogénase

NAD : nicotinamide adénine dinucléotide

pH : Potentiel hydrogène

PO : Pression partielle en O₂

PS : phosphatidylserine

S.F.B.C : Recommandations de la Société Française de Biologie Clinique.

TCMH : teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine

TF : transfusion

tR : temps de rétention

VGM : Volume globulaire moyen

SOMMAIRE



INTRODUCTION	1
HISTORIQUE	3

**PREMIERE PARTIE :
LES HEMOGLOBINES NORMALES et PATHOLOGIQUE**

I – LES HEMOGLOBINES	7
I.1. Fonction	7
I.2. Structure	7
I.3. Le processus d’oxygénation de la molécule d’hémoglobine	8
I.4. Gènes de globine	11
A-Description	11
B- Activation ontogénique des gènes de globine	13
C- Hémoglobines normales exprimées au cours de la vie	14
II – Les hémoglobinopathies	17
II.1. Anomalies de structure de la protéine	19
A-L’hémoglobine S	21
B- L’hémoglobine C	29
C- L’hémoglobine D	31
D- L’hémoglobine E	32
E- Les hémoglobines instables	33
F- L’hémoglobinoase O’Arab	35
G- L’hémoglobine G-Philadelphie	35
H- Les autres hémoglobines anormales	36
II.2. Anomalies de synthèse des chaînes de globine : les thalassémies ..	36
A- Les β -thalassémies	36
B- Les α -thalassémies	42
C- Les $\delta\beta$ -thalassémies	46
D- Les persistances héréditaires de l’hémoglobine fœtale	47
E- Les hémoglobines Lepore	47
II.3. Autres anomalies	48
A- Hémoglobines hyperaffines et hémoglobines hypoaffines	48
B- Hémoglobines M	51

DEUXIEME PARTIE :
LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES HEMOGLOBINOPATHIES

I. CIRCONSTANCES D'ETUDE DES HEMOGLOBINOPATHIES AU LABORATOIRE	55
II. LES SIGNES D'APPEL	56
II.1. L'anémie.....	56
II.2. Microcytose isolée.....	56
II.3. Polyglobulie.....	56
II.4. Cyanose	57
II.5. Autres signes	57
III. ENQUETE BIOLOGIQUE	57
III.1. Hémogramme	57
III.2. Bilan d'anémie	59
III.3. Bilan martial	59
III.4. Bilan d'hémolyse	59
IV. STRATEGIE D'ETUDE DE L'HEMOGLOBINE	59
IV.1. Techniques biochimiques	61
A-Prélèvement	61
B- L'électrophorèse de l'hémoglobine	62
C- Chromatographie liquide à haute pression ou CLHP.....	75
IV. 2. Techniques complémentaires	84
A- Techniques d'étude des chaînes de globine	84
B-Test de solubilité de l'hémoglobine S ou test d'Itano	85
C- Test d'instabilité de l'hémoglobine à l'isopropanol ou test de Carrell.....	87
IV.3. Techniques hématologiques	88
A-Test de falciformation d'Emmel.....	88
B-Test de Kleihauer	90
C-Recherche des corps de Heinz spontanés ou provoqués.....	91
IV.4. Exploration génotypique des lésions moléculaires	93

VI. Exemples96

Conclusion.....104

RESUMES

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

Les hémoglobinopathies, responsables d'anémies hémolytiques, sont reconnues comme un important problème de santé publique dans le monde. On estime à 7 % de la population mondiale le nombre de sujets hétérozygotes. Ces pathologies, endémiques dans certaines populations, sont de plus en plus fréquemment observées partout au monde du fait des mouvements de population [1].

Le Maroc est une région de prédilection des désordres de l'hémoglobine (Hb) de par sa situation géographique et des origines ethniques de sa population. Les mariages consanguins sont bien acceptés par sa culture et favorisent les complications cliniques dans les familles à risque [2]. Parmi ces maladies, la drépanocytose est la plus fréquente. En effet, 120 millions de personnes sont porteuses, au moins à l'état hétérozygote, de la mutation dans le monde[3]. Par ailleurs, à ce jour, plus de 1100 variants de l'hémoglobine sont dénombrés[4]. L'identification précise des hémoglobines anormales, fait appel à un ensemble de techniques, nous permettant à la fois l'identification des différents variants de l'hémoglobine ainsi que la quantification des hémoglobines (normales ou non). Ces 2 étapes sont une base indispensable pour un diagnostic fiable des hémoglobinopathies, qui permettra non seulement une prise en charge thérapeutique la plus optimale possible des patients atteints, mais aussi l'évaluation du risque de transmission de ces pathologies aux descendants de parents porteurs d'une anomalie de l'Hb.

L'utilisation en routine de l'électrophorèse capillaire a révolutionné la façon d'appréhender ce diagnostic. En effet, d'autres techniques comme l'électrophorèse à pH alcalin commencent à devenir désuètes. Néanmoins la Chromatographie Liquide à Haute Pression ou CLHP, méthode de référence pour la quantification des hémoglobines F et A2 notamment, tient toujours une place de grande importance.

Les objectifs de notre travail sont de :

- Rappeler les caractéristiques principales des hémoglobinopathies les plus courantes en soulignant la complexité des mécanismes impliqués.
- Définir les différentes techniques d'étude de l'hémoglobine pour le diagnostic et la prise en charge de ces hémoglobinopathies.

Historique (figure 1)

Lorsque le physiologiste allemand Hoppe-Seyler a créé en 1862 le mot « hémoglobine » pour désigner le pigment respiratoire contenu dans les globules rouges [5], la communauté scientifique d'alors était loin d'imaginer les multiples hémoprotéines aux fonctions différentes qui, 140 ans plus tard, seraient regroupées sous ce terme. Ce pigment est appelé myoglobine quand il est contenu dans des cellules non circulantes, comme celles des muscles.

Dans les années 1960, les mieux connues de ces molécules étaient les hémoglobines et myoglobines de vertébrés. Leurs fonctions étaient respectivement le transport de l'oxygène de la périphérie aux tissus et son stockage au voisinage des mitochondries.

En 1962, Perutz et Kendrew ont été récompensés par le prix Nobel de chimie pour avoir élucidé, par diffraction des rayons X, la structure spatiale de ces deux molécules [6,7]. La myoglobine utilisée dans ces études a été extraite du muscle de cachalot, où elle est présente en quantité abondante. Elle apparaissait comme formée d'une chaîne polypeptidique, appelée globine, constituée de huit segments hélicoïdaux, repliés autour d'un groupement prosthétique, l'hème. Ce dernier est une protoporphyrine IX, centrée par un atome de fer. Dans cette structure, appelée dans la littérature anglo-saxonne globin fold ou three-on-three structure, la molécule d'hème est prise en sandwich, avec, sur chacune de ses deux faces (proximale et distale), un groupe de trois hélices α .

L'hémoglobine de cheval, alors définie à plus faible résolution que la myoglobine, s'avérait être un tétramère hétérologue, constitué de deux types de chaînes de globine, appelées α et β , dont la structure spatiale était identique à celle de la myoglobine.

L'hémoglobine des vertébrés n'est en fait que le descendant d'une très ancienne famille de protéines présente dans tout le monde vivant, végétal et animal, de la bactérie à l'homme [8]. Le caractère commun à toutes ces molécules, affirmant leur appartenance à la famille des hémoglobines est leur structure tridimensionnelle, constituée par six à huit hélices enroulées.

La fonction des hémoglobines n'est sans doute devenue le transport et le stockage de l'oxygène que chez les organismes complexes pluricellulaires.

Chez les êtres unicellulaires et les invertébrés les plus primitifs, le transport et la diffusion d'oxygène semblent physiologiquement moins importants que ne l'est la protection contre l'effet toxique de l'O₂, du CO et du NO• [9–10].

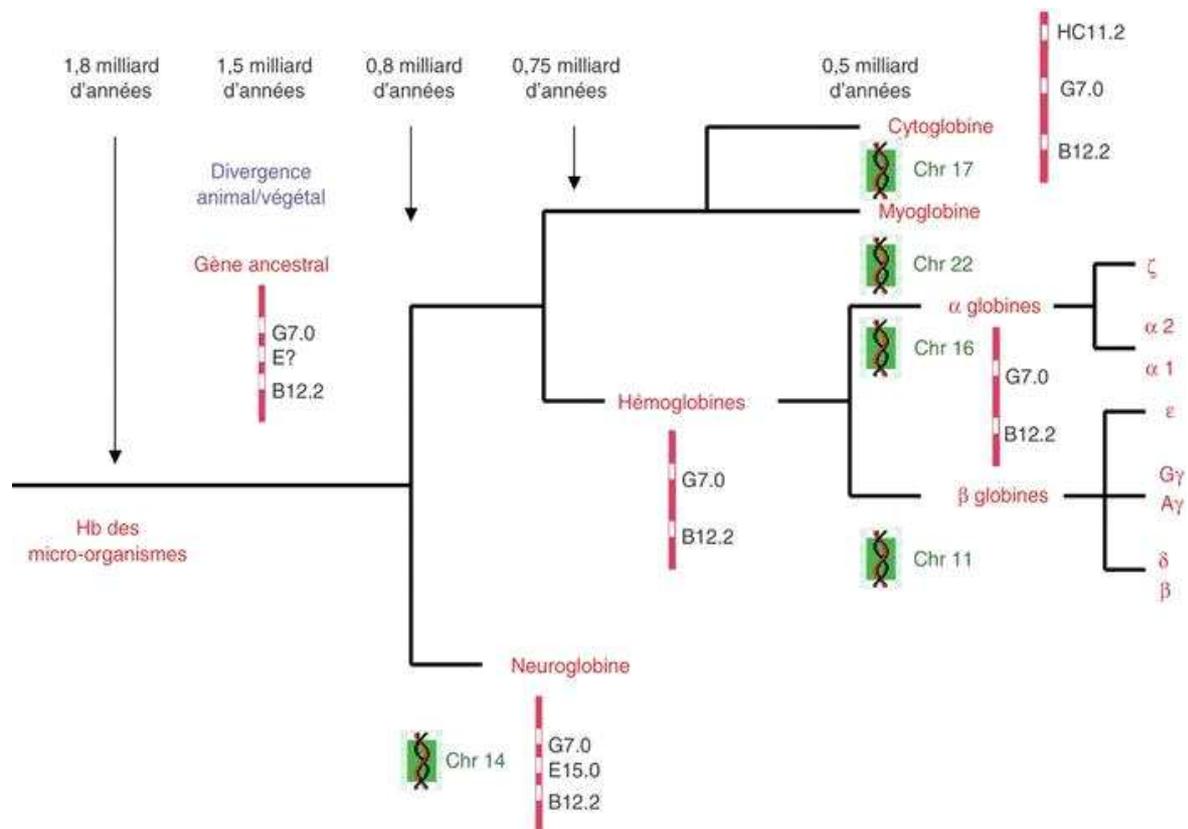


Figure 1 : Histoire de l'hémoglobine humaine [11]

Les hémoglobines ancestrales sont apparues il y a 1,8 milliard d'années, soit 0,5 milliard d'années après les algues bleues. Dans les gènes de ces hémoglobines les limites entre exons et introns occupent déjà les positions qu'elles ont actuellement. La divergence entre myoglobine et hémoglobine remonte à 750 millions d'années et la séparation entre chaînes alpha et bêta à 500 millions d'années.

Chez tous les vertébrés, à l'exception des poissons agnathes, témoins des espèces les plus anciennes, l'hémoglobine est donc sous forme de tétramère hétérologue. Les duplications qui ont conduit aux diverses chaînes de type alpha et bêta sont bien plus récentes, remontant à environ 50 millions d'années.

PREMIERE PARTIE :
HEMOGLOBINES NORMALES
ET PATHOLOGIQUES

I .LES HEMOGLOBINES [11]

1.1. Fonction

Les hémoglobines, pigments respiratoires présents dans les hématies, ont pour rôle principal le transport de l'oxygène des poumons vers les tissus, ainsi que l'élimination du dioxyde de carbone des tissus vers les poumons. Elles participent ainsi au maintien du pH intra érythrocytaire.

1.2. Structure (Figure2)

Les hémoglobines humaines sont des tétramères d'environ 65 kDa, constitués de 4 sous unités: les globines, identiques deux à deux (2 chaînes de type α et 2 chaînes de type non- α), de nature protéique. Dans chacune de ces chaînes de globine se trouve un groupement prosthétique appelé hème, logeant dans une poche hydrophobe. Grâce à ses 4 sous unités, une molécule d'hémoglobine peut fixer 4 molécules d'oxygène.

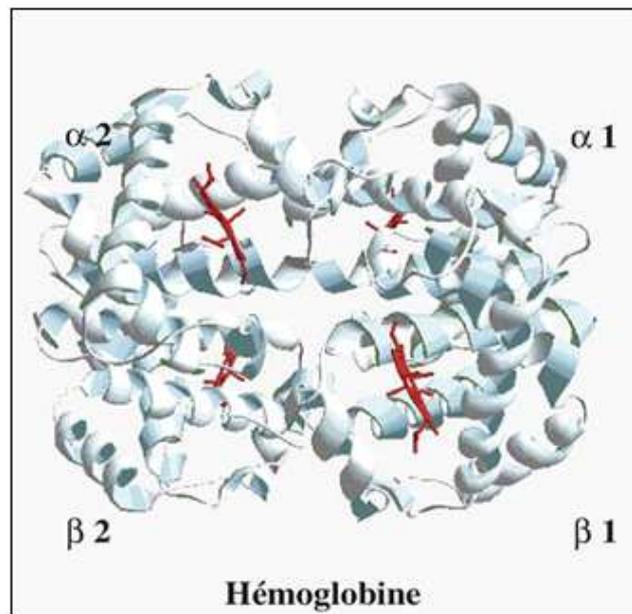


Figure 2 : Représentation tridimensionnelle d'un tétramère d'hémoglobine [12]

A- L'hème (figure3)

L'ensemble "fer incorporé à une porphyrine" constitue un hème. Dans le cas de l'hémoglobine, la porphyrine abritant l'atome de fer est la protoporphyrine, molécule hautement conjuguée, plane et donneuse d'électrons. L'hème coordonné à l'histidine proximale de la chaîne protéique globine et à l'oxygène [13].

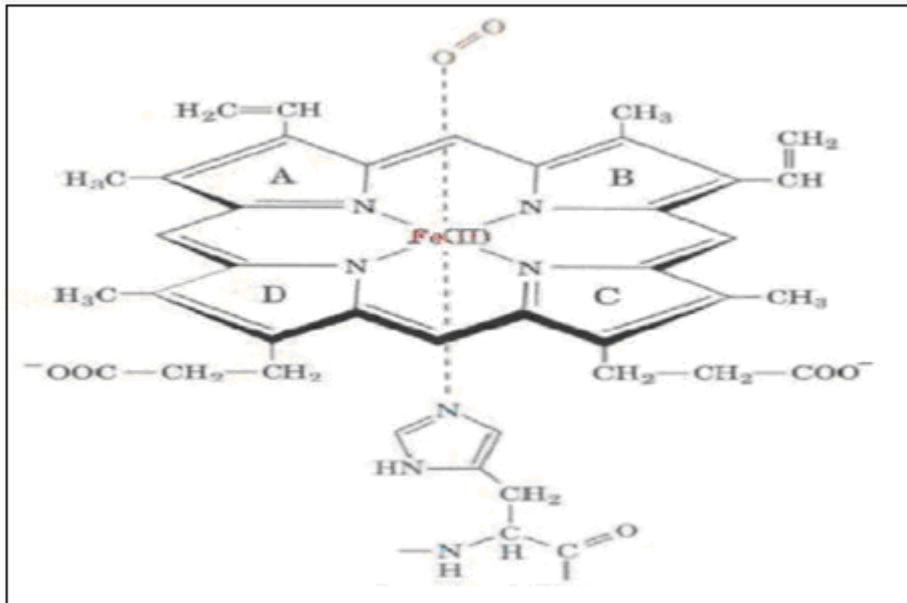


Figure 3 : Structure de l'hème [14]

1.3. Le processus d'oxygénation de la molécule d'hémoglobine

Comme nous le verrons plus loin, l'hémoglobine retrouvée de façon majoritaire est l'Hb A, tétramère constitué de 2 chaînes α et de 2 chaînes β .

La structure de l'hémoglobine se modifie au cours de la fixation et de la libération de l'oxygène. L'efficacité du transport de l'oxygène peut être mesurée par la courbe d'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène.

Cette courbe a une allure sigmoïde en raison du caractère allostérique de l'hémoglobine et de la coopérativité des globines dans la cinétique de fixation de l'oxygène : la fixation d'une molécule d'oxygène stimule la fixation de molécules additionnelles. Selon le modèle allostérique de Monod, Wyman et Changeux [15] (figure 4), l'hémoglobine existe sous deux formes en équilibre : l'une relâchée ou forme R à forte affinité pour l'oxygène, l'autre contrainte ou forme T, à affinité plus faible.

La fixation d'oxygène sur une des sous-unités de la molécule entraîne la transition concertée des autres sous-unités du tétramère vers la forme R. L'affinité pour l'oxygène varie en fonction des conditions environnementales: elle est sous l'influence de la température, du pH, de la teneur en CO₂ et d'anions comme le 2,3 diphosphoglycérate (DPG) : il s'agit d'un phosphate inorganique dont la concentration érythrocytaire est similaire à celle de l'hémoglobine. Il se fixe à l'intérieur d'une poche ménagée entre les deux chaînes bêta de l'hémoglobine et stabilise la forme T. Il est expulsé lors du processus d'oxygénation et la transition vers la forme R.2 [16] (figure 5).

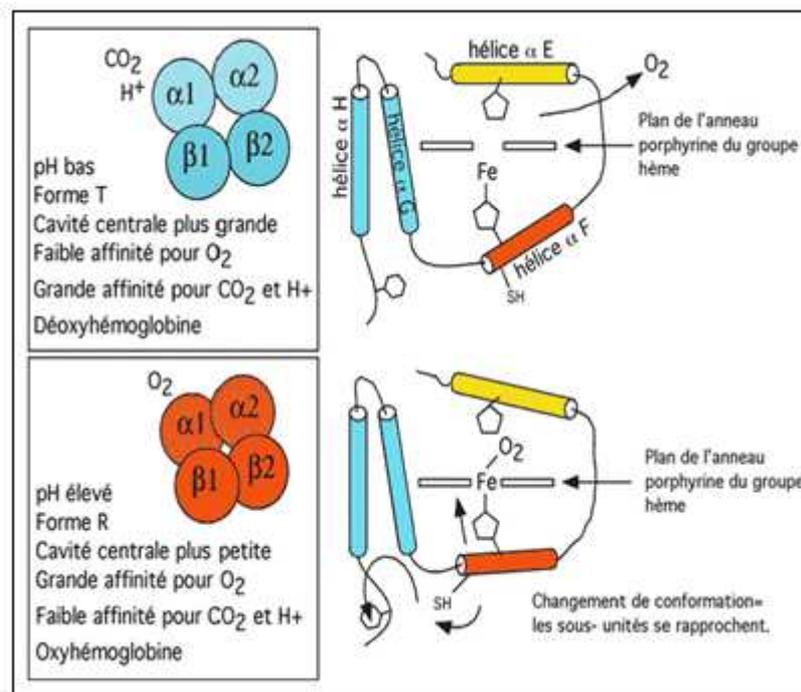


Figure 5 : Forme T et forme R de l'hémoglobine [17]

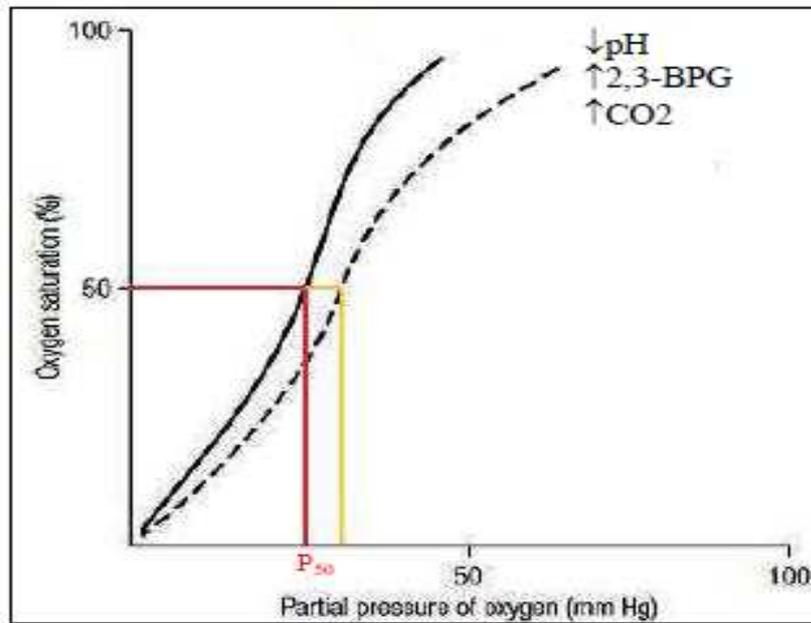


Figure 4 : Courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine [18]

On peut ainsi définir la P50 qui est la pression partielle en dioxygène correspondant à une saturation de l'hémoglobine de 50% (en rouge sur la **figure 4**). Certaines situations vont être à l'origine d'une déviation de la courbe vers la droite, comme l'augmentation de la pCO₂, la baisse du pH ou encore l'augmentation de la température ou de la production du 2,3-BPG (en altitude par exemple). Cela entraîne ainsi une diminution de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène se traduisant par une augmentation de la P50 (en jaune sur la **figure 4**) et par une plus grande quantité d'oxygène délivrée aux tissus. A l'inverse, une variation de ces paramètres dans l'autre sens (pCO₂, température, pH, production de 2,3-BPG) entraînera une déviation de la courbe vers la gauche et une diminution de la délivrance tissulaire d'oxygène [19].

I.4. Gènes de globine

A- Description (figure 6)

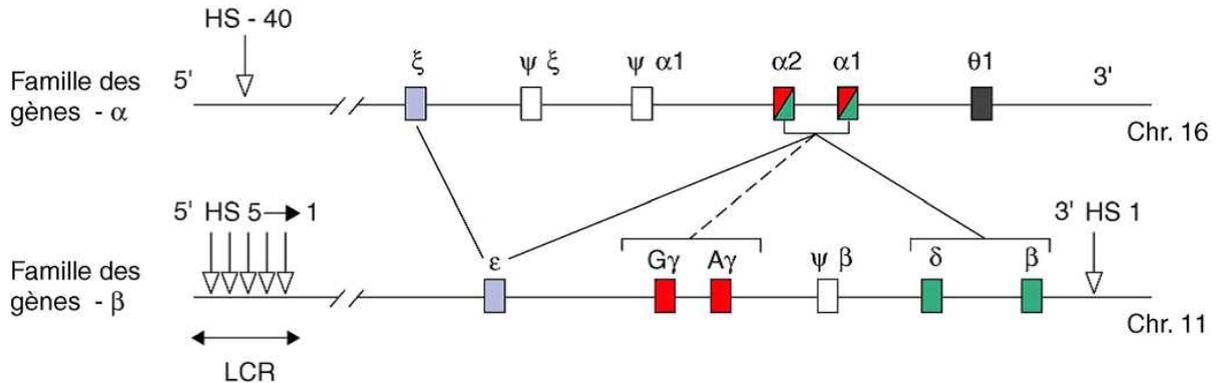


Figure 6 : Structure et organisation des deux familles de gènes-globine [19]

1)- Les gènes du locus α (Figure 7)

Les gènes de type α sont regroupés sur le chromosome 16, sur la partie terminale du bras court.

La famille α comporte 3 gènes fonctionnels : le gène ζ code pour la chaîne embryonnaire ζ , et précède les deux gènes des chaînes α : $\alpha 1$ et $\alpha 2$.

Les gènes $\psi\zeta$, $\psi\alpha 1$ et $\psi\alpha 2$ sont, quant à eux, des pseudogènes non fonctionnels.

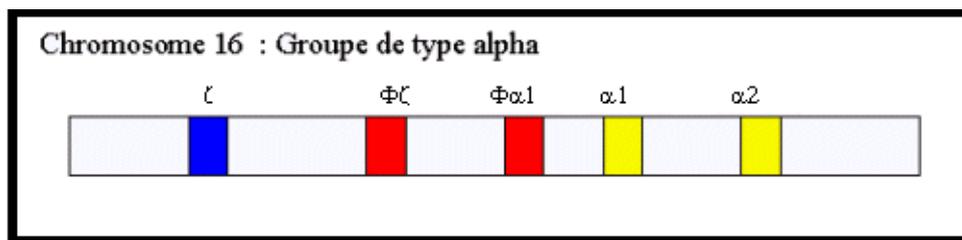


Figure 7 : Les gènes embryonnaires sont représentés en bleu, les gènes adultes en jaune et les pseudogènes en rouge : on trouve de gauche à droite les gènes ζ en bleu, $\psi\zeta$ et $\psi\alpha 1$ en rouge et $\alpha 2$ puis $\alpha 1$ en jaune. [20]

Ce domaine génomique est caractérisé par la répétition de longues séquences homologues, localisées aussi bien dans les gènes eux-mêmes (α_1 et α_2) que dans les séquences inter-géniques. Ceci évoque une duplication ancestrale de ces séquences géniques et inter géniques, mais aussi leur évolution concertée.

Les gènes α_1 et α_2 codent tous deux pour la même chaîne de globine α , et ce de manière équivalente : en effet, l'ARNm du gène α_2 , transcrit en plus grande quantité du fait de la meilleure efficacité de son promoteur, contre balance la traduction plus active de l'ARNm du gène α_1 [21].

2)- Les gènes du locus β (figure 8)

Les gènes de type β se trouvent à l'extrémité distale du bras court du chromosome 11 (Figure8).

La famille β compte 5 gènes fonctionnels : le gène de la chaîne embryonnaire ϵ , qui est suivi par les deux gènes des chaînes fœtales γ ($G\gamma$ et $A\gamma$), puis par les deux gènes des chaînes adultes δ et β .

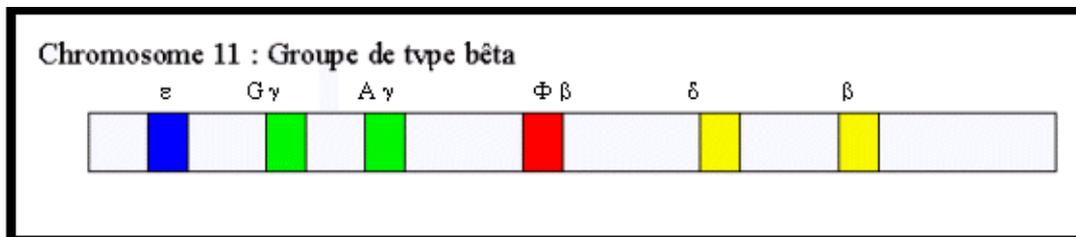


Figure 8 : Les gènes embryonnaires sont représentés en bleu, les gènes foetaux en vert, les gènes adultes en jaune et les pseudogènes en rouge : on trouve de gauche à droite les gènes ϵ en bleu, $G\gamma$ et $A\gamma$ en vert, $\psi\beta$ en rouge, δ et β en jaune. [20]

B- Activation ontogénique des gènes de globine (Figure 9)

La position des gènes de la globine humaine le long des chromosomes correspond à l'ordre dans lequel ils sont exprimés au cours du développement.

Au niveau du locus α , le gène ζ est exprimé uniquement pendant la période embryonnaire, puis le relais est pris par les gènes $\alpha 1$ et $\alpha 2$ exprimés dès le stade foetal puis tout au long de la vie.

Pour ce qui est du locus β , l'expression du gène ε se restreint à la vie embryonnaire. Les gènes γ sont très actifs pendant la période foetale avec un rapport γ G/ A γ de 3/1, puis leur expression s'affaiblit à partir de la naissance avec une modification du rapport γ G /A γ , qui devient de 2/3. Le gène β , à la base de l'hémoglobine majeure de l'adulte (hémoglobine A), commence à s'exprimer vers la fin du 1er trimestre de grossesse pour atteindre un taux d'expression maximal dans l'année qui suit la naissance. Enfin, le gène δ ne s'active qu'après la naissance et demeurera d'expression faible tout au long de la vie.

On observe donc une commutation (ou « Switch ») embryon foetus pour la famille alpha et une double commutation embryon foetus puis foetus adulte pour les gènes de la famille bêta.

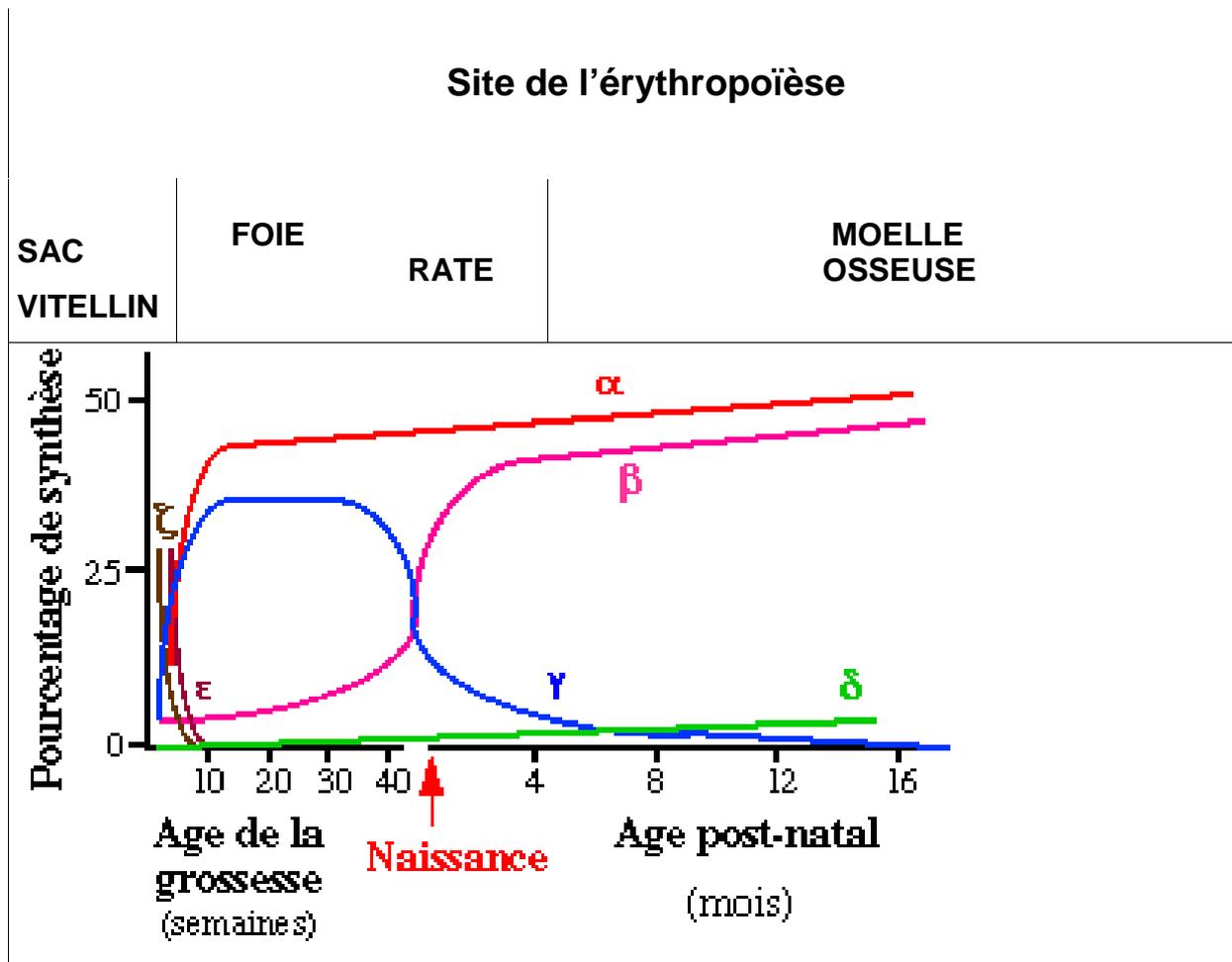


Figure 9 : Synthèse des chaînes de globine chez le fœtus et le nourrisson [19-21].

C-Hémoglobines normales exprimées au cours de la vie (Tableau I)

La proportion des différentes hémoglobines évolue en fonction du changement de lieu de l'érythropoïèse dans les étapes successives de la vie :

1)- Chez l'embryon

L'érythropoïèse a lieu dans le sac vitellin. Il y a coexistence de 2 chaînes de type α : dans l'ordre d'apparition la chaîne ζ puis la chaîne α retrouvée à l'âge adulte, et de 2 chaînes de type β les chaînes ε et γ .

De ce fait, il existe 3 types d'hémoglobines embryonnaires :

- L'**Hb Gower 1** : $\zeta 2 \varepsilon 2$
- L'**Hb Gower 2** : $\alpha 2 \varepsilon 2$
- L'**Hb Portland** : $\zeta 2 \gamma 2$

2)- Chez le fœtus

Chez le fœtus, c'est au niveau du foie et de la rate que se déroule l'érythropoïèse.

A partir du 37^{ème} jour apparaît l'**Hb F ou foetale** : $\alpha 2 \gamma 2$, dont les proportions vont atteindre 90% entre la 8^{ème} et la 10^{ème} semaine de grossesse puis rester constantes jusqu'à la naissance.

La synthèse de l'hémoglobine adulte **Hb A** ($\alpha 2 \beta 2$) débute mais à taux faible.

3)- Chez l'adulte

Ici la synthèse des hémoglobines se déroule dans la moelle osseuse.

L'enfant atteint son profil hémoglobinique adulte vers l'âge de 6 mois, et on retrouve :

- L'**Hb A**, qui représente plus de 97 % de l'Hb. L'Hb A est en réalité constituée de l'Hb A0 (constituant majeur) et de l'Hb A1, forme obtenue par glycation.
- L'**Hb A2** : $\alpha 2 \delta 2$, qui représente 2,2 à 3,2 % de l'Hb, sa synthèse débute dans la période néonatale.
- L'**Hb F** qui demeure à l'état de traces (<1%).

Tableau I : Hémoglobines normales exprimées au cours de la vie

Age	Types d'hémoglobines rencontrées	Proportion des différentes hémoglobines	Chaînes de globine
Adulte	Hb A Hb A ₂ Hb F	97 % 2,2 – 3,2 % < 1 %	$\alpha 2\beta 2$ $\alpha 2\delta 2$ $\alpha 2\gamma 2$
Fœtus	Hb F Hb A	80 – 95 % 5 – 20 %	$\alpha 2\gamma 2$ $\alpha 2\beta 2$
Embryon	Hb Gower 1 Hb Gower 2 Hb Portland		$\zeta 2 \epsilon 2$ $\alpha 2\epsilon 2$ $\zeta 2\gamma 2$

II – Les hémoglobinopathies

Les pathologies dues à des anomalies de structure, de fonction ou de production de l'hémoglobine sont appelées hémoglobinopathies. Il s'agit en général de pathologies héréditaires qui sont consécutives à des mutations dans les groupements des gènes de globine. Cependant, des hémoglobinopathies acquises peuvent être consécutives à des expositions toxiques (par exemple la méthémoglobinémie) ou à des hémopathies malignes [22-23].

Elles sont responsables d'anémies hémolytiques constitutionnelles, et présentent une répartition géographique assez caractéristique (**figure 10**). On constate en effet que l'incidence des formes graves d'hémoglobinopathies est beaucoup plus significative au niveau des zones où le paludisme est endémique [24] (**Figure 11**). Ceci est expliqué par le fait que les hémoglobinopathies à l'état hétérozygote protègent contre les formes graves de paludisme, entraînant ainsi une pression de sélection qui confère à ces patients un avantage de survie.

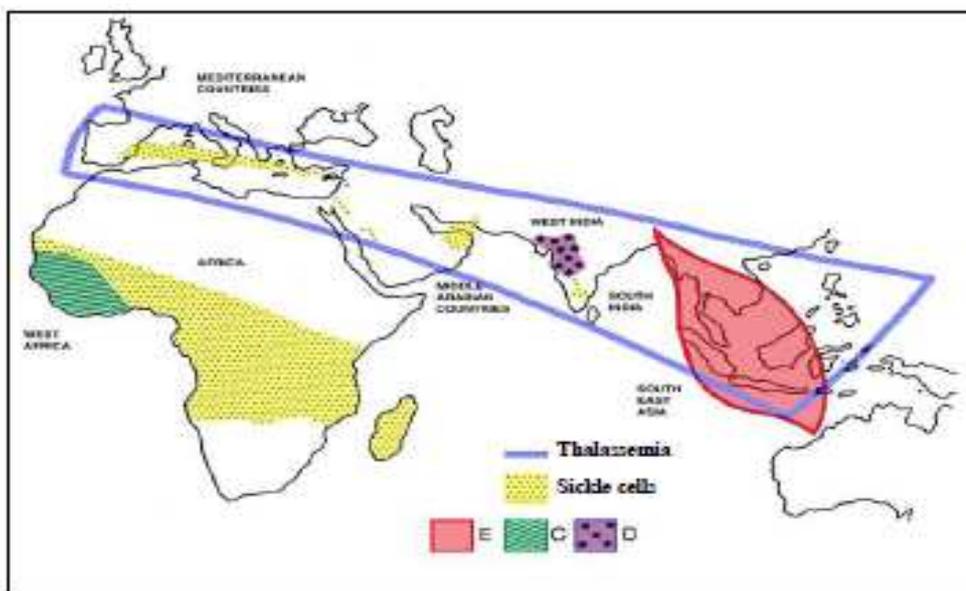


Figure 10 : Répartition géographique des principales hémoglobinopathies [25]

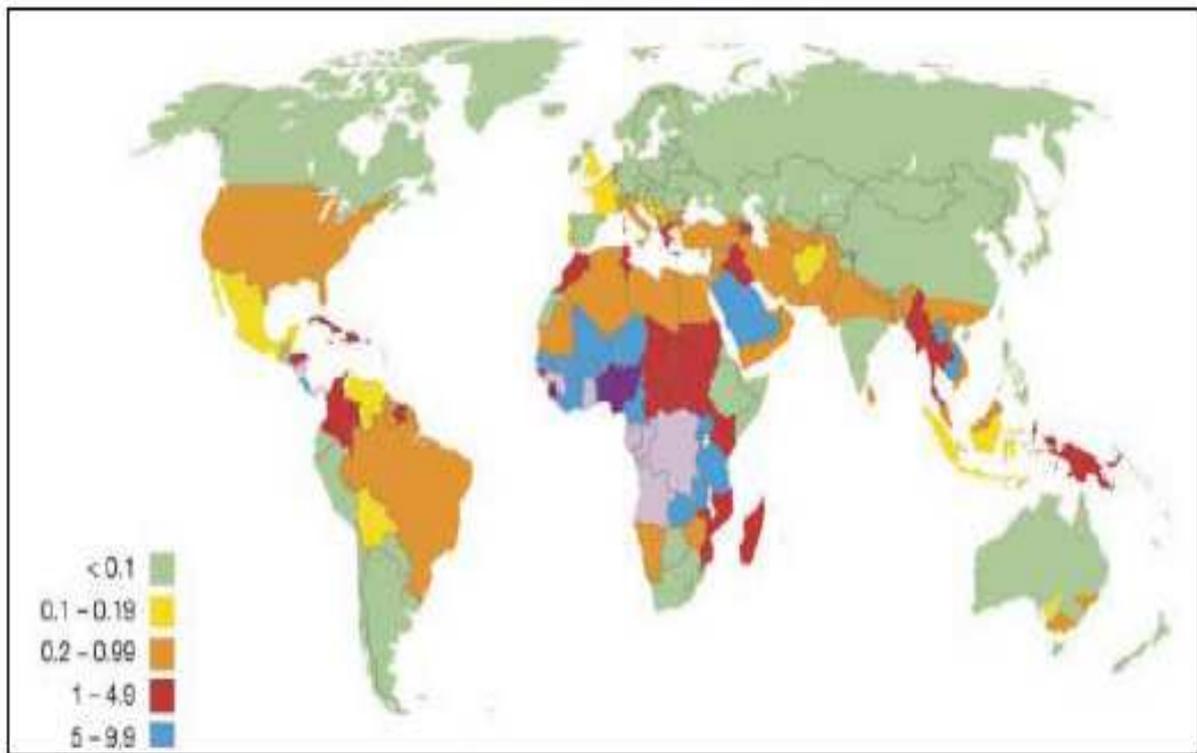


Figure 11 : Répartition géographique des naissances présentant une forme grave d'hémoglobinopathie (pour 1000 naissances) [26]

On peut répartir les anomalies de l'hémoglobine en 2 grands groupes :

- Les anomalies structurales, responsables de la formation d'hémoglobines anormales et dues le plus souvent à une mutation sur une des chaînes de globine, conduisant aux anémies, plus rarement de polyglobulie ou de cyanose. C'est dans cette catégorie que se situe la drépanocytose par exemple.

- Les thalassémies, correspondant à un déficit de synthèse total ou partiel d'une des chaînes de globine.

On rencontre également les associations de ces 2 types d'anomalies (par exemple : S/ β thal, S/Lepore, E/ β thal), de plus en plus fréquentes en raison des migrations de populations.

II.1. Anomalies de structure de la protéine :

Les Hb anormales sont le plus souvent dues à une mutation ponctuelle (substitution d'une base par une autre d'où changement du codon et remplacement d'un acide aminé par un autre), comme c'est le cas pour l'Hb S (β 6 Glu \rightarrow Val).

Il existe également des mécanismes de délétion ou d'insertion entraînant un décalage du cadre de lecture et donc la formation d'une protéine de structure totalement différente de celle de l'hémoglobine.

Avant de débiter la description des principales hémoglobines anormales, il est important d'en avoir une vision globale et d'en connaître la nomenclature par ordre alphabétique, dont l'origine vient de leur profil de migration en électrophorèse à pH alcalin (**Tableau II**).

Tableau II : Nomenclature des principales hémoglobines anormales par ordre alphabétique [27]

Nom de l'hémoglobine	Mutation décrite ou caractéristiques
Hb A	Hb adultes (A ₀ , A ₁ , A _{1c} , A ₂ ..)
Hb C	β6 Glu→Lys
Hb D	Mutations β du groupe +1
Hb E	β26 Glu→Lys
Hb F	Hb foetale
Hb G	Mutations α du groupe +1
Hb H	Tétramère β
Hb I	Mutations α du groupe -2
Hb J	Variants α et β du groupe -1
Hb K	Variants α et β rapides entre -1 et -2
Hb M	Variants responsables de méthémoglobinémies
Hb N	Variants rapides β du groupe -2
Hb O	O-Arab β121 Glu→Lys
Hb P	P-Nilotic Gène-fusion
Hb Q	Variants α du groupe +1
Hb S	β6 Glu→Val
Hb T	T-Cambodia

Les hémoglobines sont nommées par une lettre ou par un nom, le plus souvent correspondant au lieu où la première hémoglobine de ce nom a été décrite. Cette lettre peut correspondre à un variant bien précis, comme l'Hb S ou l'Hb C, mais elle peut aussi englober une famille de variants, caractérisée par le fait que la mutation porte sur la famille de gènes α ou β, et par une migration particulière en électrophorèse à pH alcalin.

On attribue ainsi par défaut la charge 0 à l'Hb A₀ et on classe les autres variants en fonction de leur position sur l'électrophorégramme (**Figure 12**). Par exemple, les hémoglobines J sont décrites comme une famille de variants ou migrant plus vite que l'Hb A₀ en électrophorèse à pH alcalin (de charge relative « -1 »).

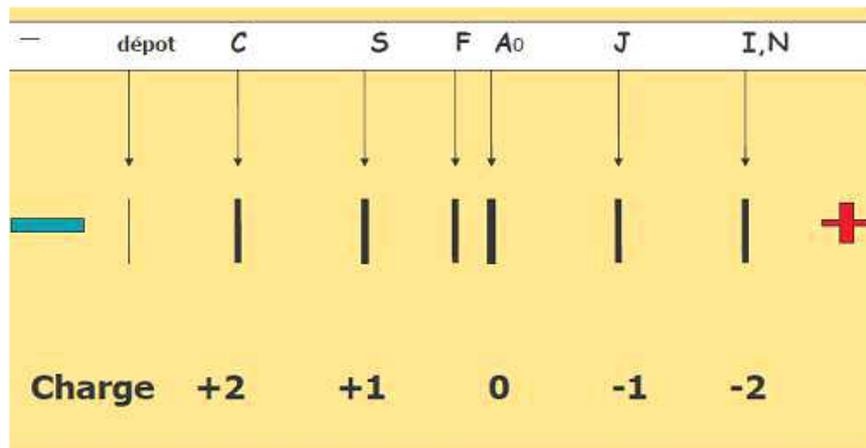


Figure 12 : Migration de quelques hémoglobines en électrophorèse à pH alcalin (pH 8,6) [27]

A- L'hémoglobine S

1)- Définition

La drépanocytose appelée encore anémie falciforme, Sicklanémie ou maladie de Herrick est une affection qui touche surtout la race noire.

La drépanocytose est une maladie autosomique récessive, due à une mutation du sixième codon de la chaîne β -globine (GAG devient GTG) entraîne le remplacement de l'acide glutamique présent dans l'hémoglobine A par une valine (6 Glu→Val), à l'origine de synthèse d'une hémoglobine anormale : l'hémoglobine S.

L'hémoglobine S entraîne : une anémie hémolytique chronique, des complications aiguës par vaso-occlusion des micro-vaisseaux, des complications viscérales chroniques d'origine ischémique pouvant atteindre pratiquement tous les organes et enfin, un risque d'infections bactériennes lié à l'asplénie fonctionnelle.

Les syndromes drépanocytaires « majeurs » regroupent la forme homozygote S/S et les formes hétérozygotes composites S/C et S β + ou S β thalassémie.

La forme homozygote SS a une évolution plus sévère, mais la plupart des complications y compris les plus graves peuvent être observées au cours des formes hétérozygotes composites. Par opposition, les sujets hétérozygotes AS (transmetteurs sains) sont en règle générale asymptomatiques [28].

2)- Répartition géographique

La drépanocytose est la première maladie génétique de l'Afrique intertropicale. Dans certaines zones, la prévalence du génotype hétérozygote AS peut atteindre 25 % à 30 % de la population [29]. Selon l'OMS , 300 000 enfants naissent avec cette maladie dans le monde chaque année [30]. En France métropolitaine, 10 000 personnes sont touchées, 2000 en Martinique et 1500 en Guadeloupe [31].

3)- Syndromes drépanocytaires

➤ Syndromes drépanocytaires majeurs

On parle de drépanocytose pour les patients homozygotes pour la mutation (S/S) mais il existe de nombreuses formes dites « hétérozygotes composites » dues au brassage des populations. C'est ainsi que l'on retrouve des profils S/C, S/ β -thalassémique (S/ β + ou S/ β 0), ou encore S/E par exemple, associés à une clinique variable.

4)- Physiopathologie

La mutation de la chaîne β de globine ($\beta^6\text{val}$) est la cause de la drépanocytose. Les molécules d'hémoglobine S (HbS) diffèrent de l'hémoglobine A normale (HbA) par une nouvelle propriété, celle de former des polymères quand elles sont désoxygénées, ce qui induit la falciformation [32]. La falciformation et la polymérisation de l'HbS sont réversibles lors de la réoxygénation, les hématies reprenant une forme normale. Des études de la polymérisation de l'hémoglobine S, par une désoxygénation brusque, ont montré un rôle essentiel de la concentration intracellulaire de l'hémoglobine S dans le délai de survenue de la polymérisation de l'HbS, qui est d'un ordre exponentiel élevé de la concentration de l'hémoglobine S.

La polymérisation de l'hémoglobine S induit une déshydratation cellulaire par perte d'ions et d'eau. Elle augmente ainsi la densité cellulaire, la concentration de l'Hb et accélère la formation des polymères en cas de désoxygénation des globules rouges drépanocytaires.

Les globules rouges déshydratés et denses sont capables de contenir des polymères dans des conditions d'hypoxie modérée et même dans le sang artériel, en raison de la concentration intracellulaire particulièrement élevée de l'HbS, jusqu'à 50. La proportion des hématies déshydratées joue un rôle important sur le pourcentage de globules rouges rigides et déformés dans les capillaires et les veinules post-capillaires où la viscosité accrue et le ralentissement circulatoire favorisent leurs interactions avec l'endothélium qui peut être activé.

Les études de la physiopathologie ont montré que les globules rouges denses et déshydratés jouent un rôle central dans les manifestations aiguës et chroniques de la maladie drépanocytaires basées sur les vaso-occlusions et la réduction du flux sanguin dans les vaisseaux, conséquence de la falciformation dans les petits vaisseaux (**figure 13**) [19].

Les altérations membranaires secondaires à la polymérisation de l'hémoglobine S favorisent également la génération de globules rouges rigides et déformés en permanence. Ceci contribue à des événements vaso-occlusifs additionnels et à la destruction des globules rouges dans la circulation.

Ces globules rouges altérés ont également une perte de l'asymétrie des phospholipides avec l'externalisation de la phosphatidylsérine, qui joue un rôle significatif dans leur reconnaissance par les macrophages et leur élimination prématurée, l'apoptose cellulaire et l'activation de la coagulation [33].

Les événements vaso-occlusifs dans la microcirculation résultent d'un scénario complexe impliquant les interactions entre différents types cellulaires incluant les globules déshydratés et denses, les réticulocytes, les cellules endothéliales anormalement activées, les leucocytes, les plaquettes et des facteurs plasmatiques [34].

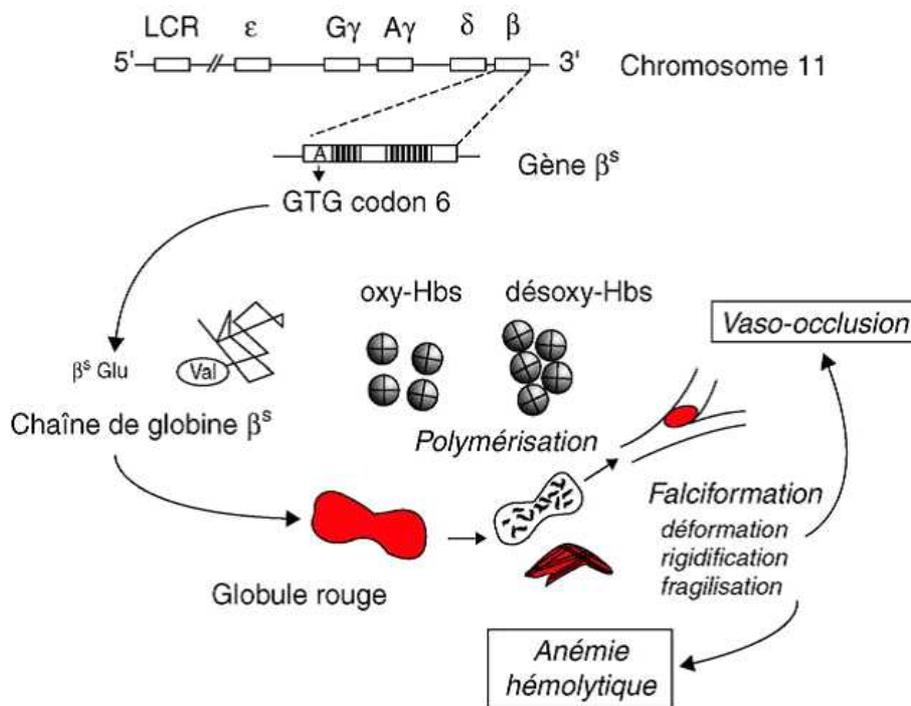


Figure 13 : Mécanisme physiopathologique de base de la drépanocytose [33]

5)- Aspects cliniques [35]

a) Drépanocytose homozygote

Les premiers signes cliniques n'apparaissent qu'après l'âge de six mois, période où l'hémoglobine S remplace progressivement l'hémoglobine F.

Le tableau clinique comporte trois sortes de situations : les phases stationnaires, les complications aiguës et les complications chroniques.

Les phases stationnaires :

A l'état basal, il existe une anémie qui se traduit par une pâleur cutanéomuqueuse puis par des signes cardiaques.

La splénomégalie est constante chez le nourrisson puis régresse. L'hépatomégalie est inconstante.

Il existe un retard staturo-pondéral chez les enfants en zone tropicale et souvent un retard de la puberté et de la maturation osseuse.

Les complications aiguës :

Les crises douloureuses aiguës, appelées crises drépanocytaires, associent des douleurs à de la fièvre. Elles sont fréquentes chez le petit enfant mais s'espacent au cours de l'adolescence.

L'hétérogénéité des symptômes (thoraciques, abdominaux...) génère des problèmes diagnostiques.

Les infections ont une forte incidence dans les premières années de vie et diminuent, sans disparaître, avec l'âge. Elles sont responsables d'une part importante de la morbidité et de la mortalité de la drépanocytose. Ce sont des méningites, des septicémies, des pneumopathies, des ostéomyélites.

Des épisodes d'aggravation de l'anémie chronique peuvent résulter d'une situation fébrile, de crises de séquestration splénique (particulières au petit enfant), d'une infection par le parvovirus B19.

Les accidents vaso-occlusifs graves sont des complications aiguës qui comportent des manifestations neurologiques, pulmonaires, des thromboses (thrombose de l'artère centrale de la rétine, priapisme...) et des hématuries microscopiques.

Les complications chroniques :

Elles sont fréquentes pendant l'adolescence et la vie adulte. Ce sont des ulcères de jambe, des nécroses osseuses aseptiques (des hanches par exemple), des lésions oculaires (rétinopathie avec hémorragies), des complications pulmonaires (infarctus, infections, insuffisance respiratoire chronique), des atteintes cardiaques, des altérations rénales, des complications hépatobiliaires (lithiase biliaire).

Il a été trouvé des corrélations entre l'évolution clinique et le taux d'hémoglobine F. Les sujets ayant le plus d'hémoglobine F (supérieure à 20 %) ont une forme moins sévère.

b) Drépanocytose hétérozygote

C'est en général un état asymptomatique. Des symptômes évocateurs de syndrome drépanocytaire (hémolyse, douleurs) doivent faire rechercher un facteur aggravant associé (hétérozygotie A/S Antilles).

Le trait drépanocytaire expose toutefois à une atteinte rénale (hématuries, défaut du pouvoir de concentration des urines...), certaines manifestations vaso-occlusives comme l'infarctus splénique, dans des conditions d'hypoxémie profonde par exemple.

c) Autres syndromes drépanocytaires

La coexistence d'une ou deux mutations caractéristiques de la drépanocytose et d'une autre anomalie génétique peut être à l'origine de syndromes drépanocytaires majeurs dont la sévérité est variable.

6)- Dépistage prénatal

Il est proposé à tous les couples se trouvant dans la situation où un risque existe de donner naissance à un enfant porteur d'un syndrome drépanocytaire majeur, c'est-à-dire essentiellement une drépanocytose homozygote ou hétérozygote composite S β^0 thalassémique, qui restent, malgré les progrès thérapeutiques, des maladies graves et pénibles. La drépanocytose hétérozygote composite SC n'est pas considérée comme relevant du diagnostic prénatal en raison de sa sévérité clinique réduite par rapport à celle de la drépanocytose homozygote. Le principe de l'information génétique qui précède le diagnostic prénatal repose sur l'explication claire du risque au couple, afin qu'il puisse exprimer son souhait librement en respectant ses convictions morales, philosophiques et religieuses. Il est surtout fondamental d'expliquer les conséquences éventuelles de la maladie chez l'enfant à naître, en tenant compte de la difficulté posée par la variabilité et l'imprévisibilité de l'expression phénotypique. Il faut qu'il soit clair que le diagnostic prénatal, parce qu'il fait courir un risque faible de complication, n'est proposé qu'aux couples qui souhaiteraient une interruption médicale de grossesse dans le cas où une drépanocytose serait retrouvée.

Les techniques utilisées sont la biopsie de trophoblaste, réalisables à 10-12 semaines d'aménorrhée, et l'amniocentèse, à 15 semaines d'aménorrhée. Les prélèvements recueillis sont ensuite analysés par biologie moléculaire [36].

7)- Dépistage néonatal

Un programme de dépistage néonatal national de la drépanocytose chez les nouveau-nés dont les parents font partie d'un groupe à risque existe en France depuis 1995. Son but est de permettre la mise en place précoce d'une prise en charge adaptée comportant notamment une prophylaxie antipneumococcique chez les enfants malades.

8)- Mesures préventives et traitement

Ø Mesures préventives

Elles constituent principalement en la prévention des crises vaso-occlusives et des complications:

- Prévention précoce des infections (pneumocoque, Haemophilus)
- Hydratation orale régulière et adaptée aux circonstances
- Traitement précoce des épisodes infectieux
- Education du malade
- Prise en compte des problèmes sociaux
- Evaluation médicale régulière du patient

Ø Traitement

- Hyperhydratation
- Traitement des crises : utilisation progressive des antalgiques (paracétamol, AINS, dérivés morphiniques)
- Programme transfusionnel (transfusions, échanges transfusionnels)
- Traitement chélateur du fer
- Les mécanismes d'actions de l'HU sont incomplètement connus. Le mécanisme principal repose sur l'augmentation de l'hémoglobine F, qui s'intercale entre les molécules d'hémoglobine S et ainsi réduit leur polymérisation dans les globules rouges drépanocytaires. En effet, l'HU augmente le nombre de globules rouges contenant de l'hémoglobine F, la concentration d'HbF dans les hématies drépanocytaires, et la quantité d'hémoglobine F circulante [37].
- Allogreffe de moelle osseuse : seul traitement curatif de la maladie.

B- L'hémoglobine C

1)- Définition

L'hémoglobine C est une maladie génétique due à la synthèse d'une hémoglobine anormale, l'hémoglobine C (HbC) qui remplace l'hémoglobine A (HbA) normale.

Un variant de l'hémoglobine formé suite à la mutation du codon 6 de la chaîne β , mais avec cette fois remplacement de l'acide glutamique par une lysine ($6 \beta \text{ Glu} \rightarrow \text{Lys}$). On peut la trouver à l'état hétérozygote (génotype A/C ou « trait » A/C), à l'état homozygote (C/C ou hémoglobine C) ou combinée à d'autres anomalies, formant ainsi des hétérozygotes composites : génotype C/ β thalassémique (β^+ ou β^0), ou profil S/C, dont la clinique est classiquement moins sévère que celle de la drépanocytose [38].

2)- Répartition géographique

On retrouve l'hémoglobine C principalement en Afrique de l'Ouest, notamment au Ghana, en Côte d'Ivoire, au Burkina Faso, au Togo et au Bénin, mais aussi chez les populations noires d'origine africaine vivant aux Etats Unis ou dans les Caraïbes. L'Afrique du Nord (Maroc, Algérie) et le sud de l'Europe, notamment l'Italie et la Turquie, sont également concernés.

3)- Physiopathologie [35]

Les hématies contenant l'hémoglobine C sont des cellules partiellement déshydratées, de petite taille, ayant une charge d'hémoglobine normale. L'augmentation de la concentration en hémoglobine explique la présence des cristaux observés à l'intérieur des hématies. Il existe une perturbation des échanges ioniques transmembranaires.

Cette forte concentration hémoglobinique rend compte de la sévérité de l'hétérozygotie composite « hémoglobine S / hémoglobine C ».

4)- Clinique [39]

a) Hémoglobinose C

Les patients homozygotes pour cette mutation présentent généralement une anémie légère à modérée, associée à une fréquente splénomégalie. Le risque de lithiase biliaire et de déficit en folates est augmenté en raison de la chronicité de l'hémolyse. De rares cas de rétinopathies ont été rapportés.

b) Trait A/C

Le profil hétérozygote A/C ou trait hémoglobine C est totalement asymptomatique.

c) Hétérozygotes composites

Les hétérozygotes composites C/ β -thalassémiques présentent une symptomatologie assez proche de celle des homozygotes C/C, à savoir une anémie modérée à sévère ainsi qu'une splénomégalie. Si l'allèle de la β -thalassémie est de type β^0 ;

Les signes peuvent être plus graves. L'association de l'hémoglobine C à l'hémoglobine Lepore, au $\delta\beta$ -thalassémie ou encore à l'hémoglobine E conduisent à une clinique comparable.

Les hétérozygotes composites S/C souffrent de symptômes comparables à ceux de la drépanocytose, mais cependant légèrement atténués : anémie hémolytique chronique modérée, avec des crises vaso-occlusives moins fréquentes voire absentes, et risque de syndrome thoracique aigu diminué.

Les complications demeurent toutefois les mêmes et sont même plus fréquentes que chez les patients drépanocytaires dans 2% des cas : nécrose des têtes fémorales, rétinopathies, infarctus spléniques répétés, risque d'accident vasculaire cérébral perte d'audition.

A noter chez ces patients une augmentation de la viscosité sanguine, entraînant des complications, notamment chez la femme enceinte, avec un risque accru de crises vaso-occlusives, de syndrome thoracique aigu et de toxémie gravidique.

C- L'hémoglobine D [40]

1)- Définition et répartition géographique

L'hémoglobine D représente en réalité un groupe de plusieurs variants rares de l'hémoglobine adulte, dont l'origine est une mutation du codon 121 de la chaîne β , où l'acide glutamique est remplacé par la glutamine (β 121 Glu \rightarrow Gln).

On la rencontre principalement dans le sud de l'Asie, à savoir dans le Nord-Ouest de l'Inde (région du Punjab), au Pakistan et en Iran.

Parmi ces variants, le plus fréquemment rencontré est le variant D-Punjab, également nommé D-Los Angeles, retrouvé au Punjab et dans d'autres états de l'Inde, ainsi que chez quelques cas sporadiques chez des Noirs et Européens de pays ayant un passé commun avec l'Inde.

2)- Clinique

a) Hémoglobinose D

Les patients homozygotes pour cette mutation sont très rares, ils présentent souvent une anémie hémolytique légère et une discrète splénomégalie.

b) Trait A/D

Les patients hétérozygotes n'ont pas de symptômes cliniques ni hématologiques.

c) Hétérozygotes composites

Les patients hétérozygotes composites pour l'hémoglobine D et l'hémoglobine S présentent une symptomatologie variable selon le variant D en cause. Pour les patients hétérozygotes S/D-Punjab, il s'agit d'un syndrome drépanocytaire d'expression clinique identique à la drépanocytose, alors que les hétérozygotes S/D-Iran ou S/D-Ibadan présentent plutôt un trait drépanocytaire, alors bénin.

On trouve également des patients D/ β 0-thalassémiques, chez qui l'anémie hémolytique chronique est modérée.

D- L'hémoglobine E [35]

1)- Définition et répartition géographique

Elle est un variant de l'hémoglobine, résultant d'une mutation du codon 26 du gène β -globine qui entraîne le remplacement d'un acide glutamique par une lysine (β 26 Glu→Lys). Elle se trouve à l'état hétérozygote (trait A/E), homozygote (hémoglobinoase E) ou forme des hétérozygotes composites E/ β thal, ou encore S/E.

L'hémoglobine E est en fréquence, la 2ème des hémoglobines anormales après l'hémoglobine S. Elle se rencontre surtout dans le sud-est asiatique, où elle s'associe d'ailleurs fréquemment avec d'autres anomalies comme les α ou les β -thalassémies.

2)- Physiopathologie

La séquence nucléotidique proche du site normal d'épissage est modifiée suite à la mutation responsable de la formation de l'hémoglobine E. Ceci dévoile un site d'épissage cryptique qui décale alors le cadre de lecture, d'où un signal de terminaison précoce. La chaîne β mutée est ainsi synthétisée à taux faible par rapport au taux de l'hémoglobine adulte normale (Hb A). Ce déficit de synthèse de la chaîne β de la globine explique pourquoi l'hémoglobine E s'apparente plutôt aux syndromes thalassémiques au niveau clinique.

3)- Clinique

a) Trait A/E

Les hétérozygotes A/E sont asymptomatiques.

b) Hémoglobinoase E

Les homozygotes E/E présentent habituellement un tableau d'anémie hémolytique modérée bien supportée. La présence d'une splénomégalie reste rare.

c) Hétérozygotes composites E / β -thalassémie

On retrouve aussi bien des patients hétérozygotes composites E/ β 0-thalassémiques que des hétérozygotes composites E/ β +-thalassémiques. En général, ces patients présentent une forme de β -thalassémie intermédiaire de sévérité variable. Les cas les plus graves sont dépendants des transfusions sanguines (β -thalassémie majeure), présentent une hépatomégalie ainsi qu'une splénomégalie, un ictère intermittent, un retard de croissance ainsi qu'une extension de la cavité de la moelle osseuse conduisant à des déformations faciales et à une implantation dentaire défectueuse. Dans ces cas-là, une splénectomie s'avère généralement efficace pour modérer la dépendance aux transfusions.

d) Hétérozygotes S/E

Le tableau clinique est similaire à celui des hétérozygotes composites S/ β -thalassémiques : anémie hémolytique chronique modérée, avec crises vaso-occlusives rares mais dont la fréquence augmente durant la grossesse.

E- Les hémoglobines instables

1)- Définition

Les hémoglobines instables constituent un groupe particulier d'hémoglobines anormales responsables d'anémies hémolytiques caractérisées par la présence de corps de Heinz.

La première description d'anémie hémolytique par hémoglobine instable a été effectuée en Grande-Bretagne chez un enfant ayant une cyanose associée à une splénomégalie.

Il s'agissait de l'hémoglobine Köln dont la chaîne β présente une méthionine en position 98 à la place d'une valine (β 98 Val \rightarrow Met).

Actuellement une centaine de ce type de mutants de l'hémoglobine est connue. Certaines hémoglobines instables, détruites précocement dans l'érythrocyte, correspondent pratiquement à des thalassémies. [35]

2)- Physiopathologie [41]

A l'heure actuelle, plus de 100 mutants instables cliniquement significatifs ont été décrits, il existe ainsi de très nombreuses anomalies moléculaires différentes qui en sont à l'origine. En général, il s'agit d'une mutation ponctuelle entraînant une modification de la structure primaire de la globine et donc une instabilité de la globine concernée ou du tétramère. Plusieurs mécanismes à l'origine d'une fragilisation des interactions hème-globine, ou interférant avec la structure secondaire, tertiaire ou quaternaire de l'hémoglobine sont incriminés.

L'hémoglobine instable s'auto-oxyde en méthémoglobine anormale, formant alors des hémichromes (ou dérivés de méthémoglobine instable), d'abord réversibles puis irréversibles qui finissent par précipiter en corps de Heinz intra-érythrocytaires. Les globules rouges perdent alors de leur élasticité, ce qui entraîne leur destruction par la rate et une hémolyse. Il faut noter qu'il est possible, si la mutation en cause touche une région située proche de la poche de l'hème, que l'hémoglobine instable présente une altération de sa fonction oxyphorique, soit une augmentation ou une diminution de l'affinité de la chaîne mutée pour l'oxygène. C'est pour cette raison qu'il est souvent réalisé, en parallèle du test d'instabilité, une détermination de la P50 et un dosage du 2,3-BPG.

3)- Clinique

Le tableau clinique est celui d'une anémie hémolytique chronique, souvent associée à une hépato-splénomégalie et à un ictère. L'intensité de cette anémie est variable et dépend de la nature de la mutation. Indépendamment du degré d'hémolyse, on peut retrouver une émission inconstante de pigments dans les urines, issus du catabolisme des corps de Heinz.

Des infections virales ou bactériennes, ou la prise de médicaments oxydants peuvent déclencher des crises d'hémolyse.

Si l'hémoglobine du patient présente une diminution de son affinité pour l'oxygène, l'anémie peut se révéler plus profonde que chez un patient ayant une hémoglobine instable dont la fonction oxyphorique n'est pas altérée.

4)- Traitement

Le plus souvent, le traitement se résume à la prévention des infections et à l'évitement des médicaments oxydants. Pour les cas graves, la question de la splénectomie peut se poser, en sachant toutefois que la rate présente un rôle important dans la lutte contre les infections bactériennes dans la petite enfance, et que son ablation s'accompagne généralement d'une augmentation du risque thromboembolique. Il conviendra donc d'en évaluer soigneusement le rapport bénéfice-risque ; la vaccination anti-pneumococcique ainsi que la prévention des infections par antibiothérapie étant de leur côté jugées nécessaires.

F- L'hémoglobine O'Arab

C'est un variant qui trouve son origine en Afrique. L'acide glutamique en position 121 de la chaîne β globine est remplacé par une lysine ($\beta 121 \text{ Glu} \rightarrow \text{Lys}$).

Le trait A/O ne présente aucune manifestation clinique ou hémolytique.

L'homozygote Hb O'Arab associe une anémie faible à modérée. Aux doubles zygotes S/O s'associe une anémie sévère semblable à celle rencontrée dans la drépanocytose.

G- L'hémoglobine G-Philadelphie

L'Hb G, contrairement aux variantes structurales étudiées ci-dessus, est une variante structurale qui implique plutôt la chaîne α que la chaîne β . C'est une pathologie qui affecte les afro-américains.

Elle est le résultat d'une substitution de l'asparagine par la lysine en position 68 de la chaîne α ($\alpha 68 \text{ Asn} \rightarrow \text{Lys}$). Heureusement, c'est une variante qui en elle-même n'as pas de conséquences cliniques.

H- Les autres hémoglobines anormales

On a décrit à l'heure actuelle plus de 900 variants [41], et on trouve encore d'autres. Ils posent rarement des problèmes de santé publique, mais peuvent poser des problèmes aux biologistes, et enrichir les connaissances physiopathologiques.

II.2. Anomalies de synthèse des chaînes de globine : les thalassémies

Les thalassémies sont définies par un déficit total ou partiel de synthèse de chaînes de l'hémoglobine. Elles peuvent concerner toutes les chaînes de l'hémoglobine. Nous nous limiterons aux thalassémies suivantes : α , β , et $\delta\beta$ -thalassémies.

Le déséquilibre du rapport des chaînes α et non- α entraîne la précipitation des chaînes non appariées dans les érythroblastes, ce qui conduit à une érythropoïèse inefficace et à une anémie. Les signes cliniques dépendent étroitement du nombre de chaînes de globine mutées ou déficientes, allant de l'affection inapparente à des formes très sévères d'anémie hémolytique microcytaire.

A- Les β -thalassémies

1)-Définition

Les β -thalassémies sont définies par un déficit total ou partiel de synthèse de chaînes β de globine de l'hémoglobine. On peut notamment distinguer les β^0 -thalassémies où la synthèse est absente et les β^+ -thalassémies où la synthèse est présente mais diminuée (classification phénotypique et non clinique).

2)-Répartition géographique (Figure 14)

Les plus fortes densités de β -thalassémies sont décrites sur le pourtour méditerranéen : Italie, Sardaigne, Sicile, Grèce (la fréquence du trait est de l'ordre de 8 % de la population), Afrique du Nord, Proche et Moyen-Orient sauf le Japon. En Afrique intertropicale, la fréquence varie de 1 à 5 % selon les régions. [24-35]



Figure 14: Répartition géographique des cas atteints de la bêta-thalassémie dans le monde [42]

3)- Physiopathologie des β -thalassémies

En raison de l'absence ou de la diminution de synthèse des chaînes β , le tétramère hémoglobinique normal est peu ou pas formé et les chaînes α non appariées, moins solubles, précipitent et altèrent l'érythroblaste provoquant sa destruction.

Les troubles sont d'avantage liés à la dysérythropoïèse qu'à l'hémolyse. La précipitation des chaînes libres s'effectue dès les étapes précoces de l'érythropoïèse. Il s'en suit une érythropoïèse inefficace ainsi qu'une prolifération du tissu érythroïde.

Cependant dans les hématies du sang périphérique, la précipitation des chaînes α libres conduit à des altérations membranaires et à une hémolyse.

La chaîne δ n'étant synthétisée qu'en faible quantité, la seule compensation possible est une production accrue des sous-unités γ , qui constituent, associées aux sous-unités α , l'hémoglobine F.

L'hémoglobine F circulante, quantitativement insuffisante et ayant une affinité élevée pour l'oxygène, ne peut corriger le défaut d'oxygénation des tissus. L'anoxie tissulaire, à l'origine d'une stimulation de la synthèse de l'érythropoïétine, accroît encore le processus érythropoïétique. [35]

4)- Classification des lésions moléculaires des β -thalassémies

Les lésions moléculaires à l'origine des β -thalassémies sont nombreuses et la liste ne peut en être exhaustive.

- Les délétions étendues : Elles sont rares (contrairement au cas des α -thalassémies)
- les mutations non-sens : Elles aboutissent à l'apparition d'un codon de terminaison prématurée (par exemple : apparition d'un codon-stop β 0 39).
- les mutations décalantes du cadre de lecture par insertion ou délétion d'une ou de plusieurs bases (mutations « frame-shift »).
- les mutations affectant l'épissage normal du transcrit primaire en ARN messenger : anomalie de la charnière exon-intron, anomalies de séquences consensus, anomalies à l'intérieur d'un intron...
- les mutations dans le promoteur du gène.
- les mutations dans le site de polyadénylation (extrémité 3' de l'ARN messenger)
- les mutations du site CAP (extrémité 5' de l'ARN messenger)
- les mutations du codon d'initiation
- des hémoglobines hyper-instables peuvent entraîner une β -thalassémie comme l'hémoglobine Cagliari (β 60 Val \rightarrow Glu) par exemple.
- certaines hémoglobines anormales comme l'hémoglobine E (β 26 [B8] Glu \rightarrow Lys) ou l'hémoglobine Knossos (β 27 Ala \rightarrow Ser) s'accompagnent d'un syndrome thalassémique. [35]

5)- Classification clinique des β -thalassémies (Tableau III) [43]

Tableau III : la classification schématique des quatre formes de beta-thalassémie.

	<i>β-thalassémie mineure ou trait thalassémique</i>	<i>β-thalassémie intermédiaire</i>	<i>β-thalassémie majeure</i>	<i>HbE/β-thalassémie</i>
<i>Génétique</i>	<i>Mutation hétérozygote du gène β-globine</i>	<i>Bases moléculaires hétérogènes : le plus souvent association de 2 mutations avec synthèse résiduelle d'HbA</i>	<i>Mutations sévères des 2 gènes β-globine</i>	<i>Hétérozygotie composite β-thalassémie et HbE</i>
<i>Signes cliniques</i>	<i>Asymptomatique</i>	<i>Anémie de degré variable Principales complications liées à la dysérythropoïèse</i>	<i>Anémie sévère et précoce, principales complications liées aux TF au long cours en particulier à la surcharge en fer</i>	<i>Anémie de degré variable Principales complications liées à la dysérythropoïèse</i>
<i>Degré d'anémie et indices érythrocytaires</i>	<i>Taux d'Hb normal ou très modérément abaissé Pseudopolyglobulie microcytaire et hypochrome</i>	<i>Anémie de degré variable microcytaire et hypochrome, Hb > 7 g/dl Besoins en TF occasionnels ou absents</i>	<i>Anémie microcytaire et hypochrome, Hb < 7 g/dl Besoins en TF Permanent</i>	<i>Anémie de degré très variable microcytaire et hypochrome Besoins en TF Variable</i>
<i>Étude de l'hémoglobine</i>	<i>HbA2 augmentée > 3,5 % HbF normale ou faiblement augmentée</i>	<i>HbF augmentée HbA abaissée mais présente le plus souvent</i>	<i>HbF majoritaire HbA absente ou en quantité très faible</i>	<i>HbF augmentée, HbA absente ou en quantité très faible HbE le plus souvent majoritaire</i>

a) β -thalassémie mineure

C'est la forme la plus souvent observée chez les sujets hétérozygotes.

La traduction en est essentiellement hématologique avec une discrète anémie microcytaire pseudo-polyglobulique. Toutes les complications des β -thalassémies intermédiaires peuvent être observées mais leur fréquence et leur gravité sont infiniment moindres : splénomégalie, ulcères de jambes, lithiase vésiculaire.

b) β -thalassémie intermédiaire

La définition de cette entité est purement clinique : elle est caractérisée par une bonne tolérance à l'anémie sans asthénie. Le retentissement sur l'état général est le plus souvent modéré.

Cependant la puberté est souvent retardée, mais généralement complète. La splénomégalie est habituelle dans ces formes de thalassémie ; elle peut évoluer vers un hypersplénisme et rendre compte des besoins transfusionnelles.

Sur le plan génétique, il peut s'agir d'une anomalie homozygote dans laquelle le déséquilibre de synthèse des chaînes de globine est plus modéré que dans les β^0 -thalassémies. Mais certaines β -thalassémies intermédiaires surviennent chez des hétérozygotes dans le cadre de certaines mutations du troisième exon en particulier.

c) β -thalassémie homozygote majeure

La forme homozygote habituelle est l'anémie de Cooley .

La maladie apparaît au cours des premiers mois de la vie lorsque s'effectue la commutation entre hémoglobine foetale et hémoglobines adultes. Elle se traduit par un syndrome anémique très sévère, une hépato-splénomégalie, un retard de croissance.

Non traitée, la maladie évolue spontanément vers le décès en quelques mois ou années dans un tableau d'anémie parfois aggravé par des infections intercurrentes.

Cette pathologie nécessite des transfusions sanguines régulières accompagnées d'un traitement chélateur du fer et généralement d'une splénectomie en attendant une greffe de moelle.

6)- Anomalies hématologiques

Tableau IV : Classification des anomalies hématologiques selon l'anomalie génétique

Anomalie	Numération	Aspect sur lame
β^0 thal homozygote	Hb : 2-10 g/dl VGM : 60-75 fl	Anisocytose hypochromie poikilocytose érythroblastes
β^+ thal homozygote	Hb : 2-10 g/dl VGM : 60-75 fl	Anisocytose hypochromie poikilocytose érythroblastes
β thal hétérozygote	Hb : 10-13 g/dl VGM : 65-75 fl	Anisocytose Poikilocytose

7)- Traitement

La base du traitement de la forme majeure repose sur les transfusions répétées afin de maintenir le taux d'hémoglobine à des valeurs subnormales mais également pour réduire l'hypersécrétion d'érythropoïétine et les conséquences de l'hyperplasie érythroblastique. On y associe un traitement chélateur de fer. Cette association permet de conférer à ces patients une espérance de vie de plus de 30 ans.

Des essais pour des molécules réactivant la synthèse d'hémoglobine F (azacytidine, hydroxyurée, 5-fluoro-uracile) sont en cours. On place également de grands espoirs dans la thérapie génique [44-45].

Le traitement curatif ou par greffe, reste un traitement efficace mais les informations suivantes doivent participer au choix auquel les familles et les médecins sont confrontés :

- 1- Le donneur doit être un frère ou une soeur HLA compatible.
- 2- Les meilleurs résultats sont observés chez les malades dont la ferritine est inférieure à 3 000 ng/ml, sans gros foie ni fibrose hépatique et qui ont reçu une chélation régulière par la déféroxamine.
- 3- les malades qui ont un gros foie avec une fibrose hépatique, une ferritine supérieure à 3 000 ng/ml et qui n'ont pas été soumis à une chélation régulière par la déféroxamine ne sont pas les meilleurs candidats à la greffe car le risque de complications à court et moyen terme est élevé chez eux. [46].

B- Les α -thalassémies

1)-Définition

Les α -thalassémies correspondent à un défaut de synthèse des chaînes α de globine de l'hémoglobine. Elles résultent le plus souvent d'une délétion ou d'une mutation d'un ou de plusieurs gènes parmi les 4 gènes α de la globine (2 gènes par chromosome 16).

2)-Répartition géographique

Elles ont une fréquence encore plus importante que les β -thalassémies en Afrique, en Asie et autour de la Méditerranée. En général, elles n'ont de conséquence clinique que dans les formes où trois ou quatre gènes α sont anormaux ou absents. La délétion des quatre gènes α -concerne particulièrement les populations du Sud-Est asiatique.

3)- Physiopathologie et classification des lésions moléculaires des α -thalassémies [35]

a) Les α -thalassémies délétionnelles

Elles sont liées à une perte de matériel génétique. Celles-ci sont secondaires à des phénomènes de recombinaison génétique inégale entre les chromosomes homologues 16 (exemple de la thalassémie α -3.7)

b) Les α -thalassémies non délétionnelles

Les causes en sont multiples :

- mutation décalante du cadre de lecture (mutations « frameshift »)
- épissage aberrant par délétion de nucléotides au niveau d'introns
- perturbation de l'extrémité 3' de l'ARN messager au niveau du site de polyadénylation
- mutation dans le codon de terminaison avec élongation de chaîne et production de globine hyper instable (par exemple : hémoglobine Constant Spring).

c) Les α -thalassémies acquises

Il a été décrit quelques cas d' α -thalassémie acquise : hémoglobinose H associée à un syndrome de prolifération leucémique, le plus souvent chez des sujets âgés de sexe masculin. Le mécanisme moléculaire responsable de l'absence de synthèse des chaînes α dans ces érythrocytes anormaux est encore totalement inconnu.

4)-Classification clinique des α -thalassémies (Tableau V)

Les α -thalassémies s'expriment selon quatre formes cliniques, en fonction du nombre de gènes défectueux ou absents. En pratique, cette classification doit être nuancée par la différence d'expression des gènes $\alpha 1$ et $\alpha 2$.

Tableau V : la classification schématique des quatre formes de α thalassémie [43]

	<i>Alphathalassémie silencieuse</i>	<i>Alphathalassémie mineure</i>	<i>Hémoglobinoses H</i>	<i>Hydrops Fetalis de Bart's</i>
<i>Génétique</i>	<i>1 gène α altéré -α/$\alpha\alpha$: Thalassémie α + hétérozygote Les délétions -α3.7 et -α4.2 sont les plus fréquentes</i>	<i>2 gènes α altérés -α/α : Thalassémie α + homozygote OU -α/$\alpha\alpha$: Thalassémie α0 hétérozygote Les délétions -- SEA en Asie du sud-est, --MED dans le bassin méditerranéen sont les plus répandues</i>	<i>3 gènes α altérés --/α : Hémoglobinoses H délétionnelle (par ex --SEA/ -α 3.7) OU plus rarement hémoglobinoses H non délétionnelle (par ex --SEA/ α constant spring _)</i>	<i>4 gènes α altérés --/-- : par ex -- SEA/--SEA</i>
<i>Signes cliniques</i>	<i>Asymptomatique</i>	<i>Asymptomatique en règle</i>	<i>Anémie hémolytique chronique</i>	<i>Anémie foetale létale</i>
<i>Degré d'anémie et indices érythrocytaires</i>	<i>Pas d'anémie Microcytose inconstante</i>	<i>Taux d'Hb normal ou très modérément abaissé Microcytose et Hypochromie</i>	<i>Anémie régénérative de degré variable microcytaire et hypochrome</i>	<i>Anémie sévère in utero, en règle incompatible avec la survie</i>
<i>Étude biochimique de l'Hb à la naissance</i>	<i>Présence inconstante d'Hb Bart en faible quantité (1-2 %)</i>	<i>5-10 % d'Hb Bart</i>	<i>20-40 % d'Hb Bart</i>	<i>- Hb Bart > 80 % - Présence d'HbH et d'Hb embryonnaire de type Portland - HbF et HbA Absentes</i>

a) α -thalassémie 2 ou α -thalassémie silencieuse

Quand il reste trois gènes normaux, l' α -thalassémie est pratiquement asymptomatique en dehors de la présence d'hémoglobine Bart's (tétramères γ_4) présente à un taux de 1 à 2 %, à la naissance.

Elle peut cependant être suspectée quand elle est associée à une hémoglobine anormale, par exemple : hémoglobine S, C ou E, ou en cas de β -thalassémie de sévérité intermédiaire chez un homozygote β_0 -thalassémique.

b) α -thalassémie 1 ou α -thalassémie mineure

Deux gènes sont délétés et seule existe une discrète anémie microcytaire.

c) Hémoglobinose H

Elle se rencontre le plus souvent chez des patients d'origine asiatique ou méditerranéenne et exceptionnellement dans la race noire. Elle se présente comme une anémie hémolytique assez grave, accompagnée de pâleur, d'ictère cutanéomuqueux et de splénomégalie ; la survenue d'une lithiase en est une complication fréquente.

Des épisodes hyperhémolytiques avec séquestration splénique sont une indication de splénectomie.

d) Anasarque foetal de Bart's

Il s'agit de l'absence totale de gène α fonctionnel. Cette anomalie est à l'origine d'une anémie hémolytique extrêmement sévère durant la vie foetale, conduisant à la mort *in utero* dans un tableau d'*hydrops foetalis*.

5)- Anomalies hématologiques

- Dans les α -thalassémies 2, le volume globulaire moyen est souvent normal.
- Dans les α -thalassémies 1, le frottis sanguin montre une microcytose, une hypochromie et des cellules cibles.
- Dans l'hémoglobine H, on observe :
 - une microcytose importante (souvent inférieur à 50 fl)
 - des anomalies de la morphologie érythrocytaire : hypochromie, ponctuations basophiles, schizocytose, cellules cibles...
 - une réticulocytose supérieure à 5 %.

C- Les $\delta\beta$ -thalassémies

1)- Définition moléculaire

Les $\delta\beta$ -thalassémies se caractérisent par une atteinte concomitante des chaînes β et δ de globine.

Elles résultent d'une délétion plus ou moins étendue des deux gènes.

2)- Tableaux cliniques

- La forme hétérozygote de $\delta\beta$ -thalassémie est asymptomatique.
- La forme homozygote réalise un tableau d'anémie de Cooley.

D- Les persistances héréditaires de l'hémoglobine fœtale : PHHF [47]

1)-Définition moléculaire

Ce terme désigne un groupe d'affections caractérisées chez l'homozygote par la production exclusive d'hémoglobine F, sans aucune conséquence clinique, ni hématologique sérieuse.

La synthèse des chaînes β et δ est diminuée à des degrés variables. Cependant la synthèse en compensation de chaîne γ est suffisante.

2)- Aspect clinique

- La forme hétérozygote se caractérise par l'absence de signes cliniques et hématologiques.
- Les cas de PHHF homozygote sont rares et sont bien tolérés puisqu'il existe une augmentation vraie de la synthèse de l'hémoglobine F.

E- Les hémoglobines Lepore

L'hémoglobine Lepore est un variant composé de 2 chaînes de globine de type α et de 2 chaînes hybrides $\delta\beta$.

Cette anomalie est assez répandue, mais est surtout retrouvée dans les pays d'Europe du Sud, en Asie et chez les Américains d'origine africaine.

1)- Définition moléculaire

Les hémoglobines Lepore sont caractérisées par un gène de fusion $\delta\beta$ qui résulte d'un crossing-over entre gènes δ et β de deux chromosomes, dû à un mauvais alignement des gènes au cours de la méiose. Les différentes localisations du crossing over définissent plusieurs hémoglobines Lepore ; la plus fréquente est l'hémoglobine Boston.

Par ailleurs, il existe également des hémoglobines anormales appelées anti-Lepore (hémoglobines P-Congo...) dont la chaîne mutée commence par la séquence β et se termine par la séquence δ .

2)-Tableaux cliniques

Chez le patient hétérozygote, la clinique est celle d'une thalassémie mineure, avec anémie microcytaire hypochrome modérée et augmentation de l'hémoglobine foetale.

Chez le patient homozygote, le tableau est celui d'une thalassémie majeure, type anémie de Cooley.

Enfin, de nombreux phénotypes différents existent pour les hétérozygotes composites, qui varient selon l'hémoglobinopathie associée à l'Hb Lepore.

II.3. Autres anomalies

A- Hémoglobines hyperaffines et hémoglobines hypoaffines

Certaines mutations entraînent une modification de l'affinité pour l'oxygène de la molécule d'hémoglobine. On obtient ainsi une courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine qui dévie vers la droite ou vers la gauche, selon que l'affinité pour l'oxygène est diminuée ou au contraire augmentée (**Figure 15**).

A noter : Un rappel sur le processus d'oxygénation a été développé dans la partie : les hémoglobines.

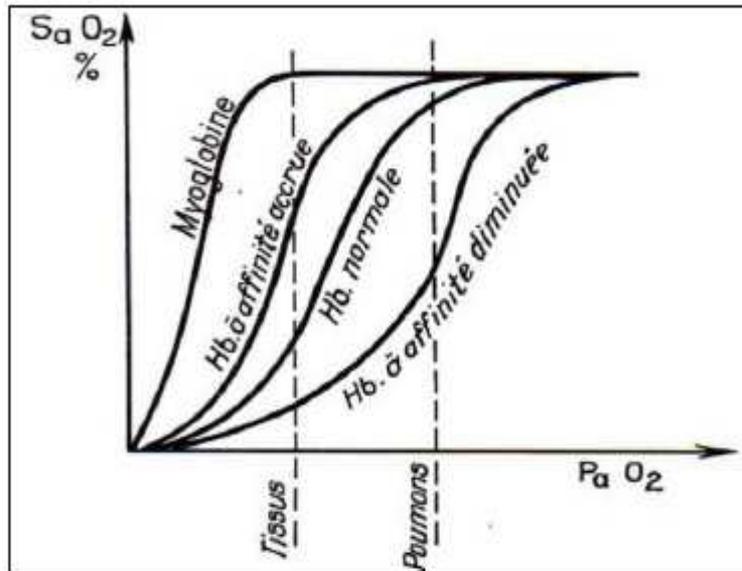


Figure 15 : Courbe d'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène

1)- Hémoglobines hyperaffines

a) Définition

Les hémoglobines hyperaffines sont des mutants de l'hémoglobine à affinité anormalement élevée pour l'oxygène, la 1^{ère} d'entre elles ayant été décrite par Charache en 1966 [48], et fut nommée l'hémoglobine Chesapeake (92 Arg→Leu). Pour ces variants, on observe une déviation vers la gauche de la courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine. (**figure15**)

b) Physiopathologie

Chaque fois, la mutation est responsable d'une anomalie structurale, localisée de façon spécifique au niveau de certaines zones de la molécule d'hémoglobine, et le plus souvent en favorisant la forme R (en la stabilisant ou en déstabilisant la forme T).

Dans la majorité des cas, l'anomalie porte sur le contact $\alpha 1-\beta 2$, car c'est là que se situe l'essentiel du mouvement accompagnant la transition de la forme R vers la forme T [49].

Cependant, il arrive que la mutation porte sur la liaison entre le 2,3-BPG et l'hémoglobine, par exemple par perte de l'un des sites de fixation du 2,3-BPG, ce qui diminue l'affinité de l'hémoglobine pour celui-ci, favorisant ainsi la forme R [41].

c) Clinique

Les hémoglobines hyperaffines sont toujours retrouvées à l'état hétérozygote, on peut supposer que la forme homozygote serait létale. Chez certains patients, l'affinité du variant pour l'oxygène n'est que très modérément augmentée, et il n'y a donc aucune traduction clinique. Mais dans les cas les plus graves, l'affinité de l'hémoglobine mutée est équivalente à celle d'une chaîne isolée de globine, toute notion de coopérativité entre les globines pour la fixation de l'oxygène est alors abolie, et les patients présentent une polyglobulie sévère. Environ 1/3 des patients porteurs d'une hémoglobine hyperaffine présentent une polyglobulie [49], les signes cliniques sont alors corrélés à son importance.

On observe notamment des symptômes aspécifiques, reliés au syndrome d'hyperviscosité : érythrose faciale et muqueuse, céphalées, vertiges, acouphènes, érythromélgie...

Ce tableau est aggravé par le tabagisme, une carence martiale y est souvent associée en raison de besoins accrus en fer, et une anémie hémolytique est possible si le variant hyperaffine est instable, ce qui complique d'avantage encore le diagnostic. Les complications thrombotiques sont rarement observées, et il n'y a généralement pas de splénomégalie. L'espérance de vie reste sensiblement normale.

Cette polyglobulie est détectable dans l'enfance dès l'âge de 3 mois [50], cependant la polyglobulie sévère néonatale reste exceptionnelle (cas rapportés avec l'hémoglobine Suresnes) [49].

2)- Hémoglobines hypoaffines

Comme on peut s'y attendre, les hémoglobines hypoaffines sont des mutants à affinité diminuée pour l'oxygène. La courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine est alors déviée vers la droite (**Figure 15**).

A l'heure actuelle, très peu de variants de ce type ont été décrits, parmi lesquels on peut noter l'hémoglobine Kansas (β 102 Asn→Thr), l'hémoglobine Yoshizuka (β 108 Asn→Asp), ou encore l'hémoglobine Agenogi (β 90 Gln→Lys).

Pour la majorité de ces variants, la délivrance d'oxygène aux tissus est favorisée, ce qui entraîne une diminution de la synthèse d'érythropoïétine et par conséquent une discrète anémie. Ce tableau n'est pas celui retrouvé pour l'hémoglobine Kansas, pour laquelle l'affinité pour l'oxygène est si basse que la désaturation est suffisante pour que l'on observe une cyanose clinique. Dans ce cas, il est important de faire le diagnostic différentiel avec toutes les autres causes de cyanose, notamment l'exposition à des toxiques, ou encore une anomalie cardiaque ou pulmonaire. Une fois le diagnostic d'hémoglobine hypoaffine établi, un traitement spécifique n'est que très rarement mis en place [51].

B- Hémoglobines M

1)- Rappel concernant la méthémoglobine

La méthémoglobine correspond à une hémoglobine non fonctionnelle dans laquelle le fer héminique Fe^{2+} a été oxydé en Fe^{3+} , la rendant alors impropre au transport de l'oxygène, on observera alors une cyanose et une coloration brun-chocolat du sang.

Trois mécanismes distincts peuvent en être à l'origine :

- la présence d'une mutation génétique entraînant la formation d'une hémoglobine anormale, appelée hémoglobine M, on parle alors de méthémoglobinémie héréditaire dominante. Cette hémoglobine anormale présente une anomalie structurale à l'origine de son oxydation quasi permanente.

- un déficit enzymatique en NADH-cytochrome b5 réductase. En réalité, dans l'érythrocyte normal, l'oxydation spontanée de l'hémoglobine est favorisée par de nombreux facteurs, mais ce phénomène est contrebalancé en permanence par des systèmes enzymatiques réducteurs tels que la NADH-cytochrome b5 réductase. Cet enzyme étant ubiquitaire, on retrouve 2 types de déficits, le type I qui est purement érythrocytaire, et le type II, correspondant à un déficit généralisé en cet enzyme. Dans les deux cas, on parlera de méthémoglobinémie héréditaire récessive [52].

- la présence de drogues oxydantes ou autres toxiques chimiques induisant l'oxydation de l'hémoglobine.

Nous ne développerons ici que le cas de l'hémoglobine M.

2)-Les hémoglobines M

a) Définition

Les hémoglobines M sont connues de longue date, puisqu'elles ont été les premières hémoglobines anormales à avoir été décrites en 1948 par Horlein et Weber [53-54]. Leur transmission est autosomique dominante.

b) Physiopathologie

Quel que soit le variant d'hémoglobine M, la mutation entraîne une oxydation de l'atome de fer de l'hème de la chaîne mutée, formant ainsi un dérivé phénolate ou carboxylate très résistant à la réduction enzymatique cellulaire [49]. L'hémoglobine M est en fait une méthémoglobine anormale, dont le spectre d'absorption est différent de la méthémoglobine A non mutée, et correspondant à un tétramère hybride où un type de chaîne est à l'état Fe^{3+} , et l'autre à l'état normal Fe^{2+} , entravant la fixation et le transport de l' O_2 . Les chaînes normales restent capables de transporter l'oxygène. La mutation peut toucher la chaîne α de globine comme la chaîne β , certaines mutations touchent même la chaîne γ , entraînant alors une cyanose néonatale, qui se résout spontanément avec le remplacement progressif de l'Hb F par de l'Hb A.

c) Clinique

Chez les patients porteurs d'une hémoglobine M, le taux dépasse rarement 25 à 30 % [52]. Cliniquement on observe une cyanose isolée cutanéomuqueuse, présente dès la naissance quand la mutation touche la chaîne α (présente dans l'Hb F), et d'apparition plus intense et à partir de l'âge de 3 mois pour les mutations touchant la chaîne β , progressant au fur et à mesure du remplacement de l'hémoglobine foetale par l'hémoglobine adulte.

DEUXIEME PARTIE :
LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE
DES HEMOGLOBINOPATHIES

I. CIRCONSTANCES D'ETUDE DES HEMOGLOBINOPATHIES AU LABORATOIRE

Les situations entraînant la recherche d'une hémoglobinopathie sont variées. Elles comprennent :

- Les consultations prénatales chez la femme enceinte d'ethnie « à risque » (Afrique, bassin méditerranéen, Asie, Antilles) avec étude de l'hémoglobine également chez le conjoint si nécessaire.
- Le dépistage systématique chez un nouveau-né d'ethnie dite « à risque », avec confirmation de ce dépistage périnatal par étude complète de l'hémoglobine à 1 mois chez les enfants F/S ou « F/S like ».
- L'enquête familiale suite à la découverte d'une hémoglobinopathie chez un proche.
- La découverte fortuite d'une fraction hémoglobinique anormale au cours du dosage de l'Hb A1c pour le suivi des diabétiques.
- Le diagnostic étiologique d'anomalies biologiques évocatrices d'une anomalie de l'hémoglobine, comme un hémogramme anormal (anémie ou au contraire polyglobulie), des anomalies au niveau du frottis sanguin (microcytose), ou encore des signes d'hémolyse.
- Le diagnostic étiologique d'anomalies cliniques, comme des signes d'anémie (pâleur cutanéomuqueuse, asthénie, dyspnée, souffle cardiaque), de cyanose, de polyglobulie, ou encore des signes d'hémolyse comme une splénomégalie par exemple.

II. LES SIGNES D'APPEL [55-56]

Le caractère familial du signe d'appel, souvent associé à un contexte ethnique particulier, est un élément important d'orientation. Il n'est, cependant pas absolument constant [57].

II.1. L'anémie

L'anémie est le signe le plus fréquent. Elle est très variable dans son intensité ; tous les intermédiaires existent entre les porteurs sains et les formes extrêmes des thalassémies majeures. Dans le cas d'un mutant de l'hémoglobine, l'anémie est normocytaire et une microcytaire doit faire rechercher une thalassémie associée ou une carence en fer. Dans les thalassémies, la microcytose est constante avec une TCMH abaissée et une CCMH normale. Le fer sérique est normal ou parfois augmenté. Les signes d'hémolyse sont variables. Le taux de réticulocytes est également variable. La splénomégalie est fréquente, parfois associées à une hépatomégalie.

II.2. Microcytose isolée

La microcytose isolée, sans anémie ni diminution de la sidérémie, est fréquente dans les thalassémies hétérozygotes.

II.3. Polyglobulie

Une pseudo globulie microcytaire est en faveur d'une β -thalassémie hétérozygote. Une polyglobulie vraie, démontrée par une élévation de la masse globulaire, doit faire évoquer, surtout chez un sujet jeune, une augmentation de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène, due à une hémoglobine anormale ou à un défaut de synthèse du 2,3 DPG.

II.4. Cyanose

Une cyanose est observée chez les porteurs d'une Hb M et exceptionnellement dans les cas de diminution de l'affinité des globules rouges pour l'oxygène. Il est important d'explorer l'hémoglobine dans ce cas avant d'envisager des investigations invasives telles qu'une cathétérisation cardiaque.

II.5. Autres signes

Parmi les signes évocateurs d'une maladie de l'hémoglobine, figurent également les lithiases vésiculaires et les urines épisodiquement foncées pour certaines hémoglobines instables. Enfin, l'hydrops foetalis est la présentation classique des α -thalassémies homozygotes observées exclusivement dans les populations asiatiques.

III. ENQUETE BIOLOGIQUE

Avant toute recherche d'anomalie de l'hémoglobine, un bilan biologique relativement complet doit être réalisé, il comprend les paramètres suivants :

III .1 Hémogramme (Tableau VI)

Il reprend les paramètres de base qui sont :

- la numération des globules rouges en T/L
- l'hémoglobine en g/dL
- le VGM ou volume globulaire moyen en Fl
- la CCMH ou concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine en g/dL
- la TCMH ou teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine en pg

Tableau VI : Valeurs de référence de la numération globulaire et des paramètres érythrocytaires en fonction de l'âge et sexe [58]

Paramètres (unités)	1ère semaine	8 jours à 3 mois	3 mois à 3 ans	3 à 6ans	6 à 15 ans	Adulte	
						Homme	Femme
Hématies (T/L)	5,0 à 6,0	3,8 à 4,8	3,6 à 5,2	4,1 à 5,3	4,0 à 5,4	4,5 à 5,8	3,8 à 5,4
Leucocytes (G/L)	10,0 à 30,0	6,0 à 18,0	6,0 à 15,0	5,0 à 13,0	5,0 à 11,0	4,0 à 10,0	
Plaquettes (G/L)	150 à 400	150 à 400	150 à 400	150 à 400	150 à 400	150 à 400	
Hémoglobine (g/dL)	14,5 à 22,5	11 à 16	11 à 13,5	11 à 13,5	12 à 14,5	13,5 à 17,5	12,5 à 15,5
Hématocrite (%)	44 à 58	38 à 44	36 à 44	36 à 44	37 à 45	40 à 50	37 à 47
VGM (fL)	100 à 120	85 à 96	70 à 86	73 à 89	77 à 91	82 à 98	
TCMH (pg)	34 à 38	24 à 34	23 à 31	24 à 30	24 à 30	> ou = 27	
CCMH (g/dL)	32 à 36	32 à 36	32 à 36	32 à 36	32 à 36	32 à 36	

Ces valeurs vont nous permettre de déterminer s'il y a une anémie et de caractériser sa nature (hypochrome ? microcytaire ?) et son intensité (sévère ? modérée ?).

Bien sûr, les numérations leucocytaire et plaquettaire seront comprises dans cet examen. La numération des réticulocytes pourra également être demandée, nous permettant de connaître la nature régénérative ou non de cette éventuelle anémie. On considère ainsi une anémie comme régénérative si les réticulocytes dépassent le seuil de 120 G/L.

Enfin on portera une attention particulière aux potentielles anomalies morphologiques des érythrocytes (poikilocytose, drépanocytes, cellules-cibles...) et on notera la présence éventuelle d'inclusions érythrocytaires (corps de Howell-Jolly, corps de Heinz, ponctuations basophiles...).

III .2 Bilan d'anémie

Pour compléter l'hémogramme dans l'exploration de cette anémie, le dosage de la vitamine B12 et des folates érythrocytaires et sériques peut être utile.

III .3 Bilan martial

Avant de rechercher une éventuelle hémoglobinopathie, il est impératif d'éliminer une anémie ferriprive, c'est pourquoi le dosage du fer sérique, de la transferrine (avec calcul du coefficient de saturation de la transferrine), et de la ferritine est un préalable indispensable à toute exploration plus poussée.

III.4 Bilan d'hémolyse

Enfin, le bilan d'anémie est à compléter par un bilan d'hémolyse qui comprend notamment le dosage de la bilirubine libre et conjuguée, le dosage de l'haptoglobine, et éventuellement la quantification de la LDH.

IV- STRATEGIE D'ETUDE DE L'HEMOGLOBINE :

Afin de diagnostiquer au mieux une éventuelle hémoglobinopathie, il est primordial de confronter plusieurs techniques. L'isoélectrofocalisation ou l'électrophorèse à pH alcalin est en première intention, et au moins la Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP) en complément [59]. 3 techniques au minimum sont nécessaires pour la recherche d'une anomalie de l'hémoglobine (au moins une technique d'électrophorèse et 2 autres tests) [60].

C'est la complémentarité de celles-ci qui permet d'être le plus exhaustif possible dans le dépistage des anomalies de l'hémoglobine. En effet, le changement de la charge électrique de l'hémoglobine selon la technique utilisée entraînera une modification de sa migration, ce qui explique la nécessité de combiner ces différentes méthodes. De plus, il faut à la fois bénéficier d'une bonne technique séparative, mais qui nous permette également une quantification précise des fractions mineures que sont l'Hb A2 et l'Hb F, utile pour le diagnostic des thalassémies. En effet, une augmentation de l'Hb A2 et de l'Hb F orientera plutôt vers une β -thalassémie alors qu'une diminution de l'Hb A2 nous dirigera d'avantage vers la recherche d'une α -thalassémie. La quantification des variants anormaux est aussi nécessaire pour éliminer par exemple une α -thalassémie associée.

En effet, si l'on retrouve un taux d'expression à l'état hétérozygote d'Hb S ou d'Hb C inférieur à 35%, ou d'Hb E inférieur à 25%, une α -thalassémie associée doit être suspectée [61].

Enfin, quelle que soit la technique utilisée, il est important de souligner qu'un contrôle de qualité interne est indispensable pour s'assurer de la correcte identification des hémoglobines, mais aussi pour valider leur répartition quantitative [60].

En 2003, la SFBC, par l'intermédiaire de son groupe de travail «Recommandations dans le domaine des diagnostics des hémoglobinopathies » a publié un recueil de « bonnes pratiques de l'étude de l'hémoglobine». Il est proposé une démarche standardisée et actualisée afin d'obtenir des diagnostics fiables en vue de la prise en charge des patients, du conseil génétique et du diagnostic anténatal (**figure 16**).

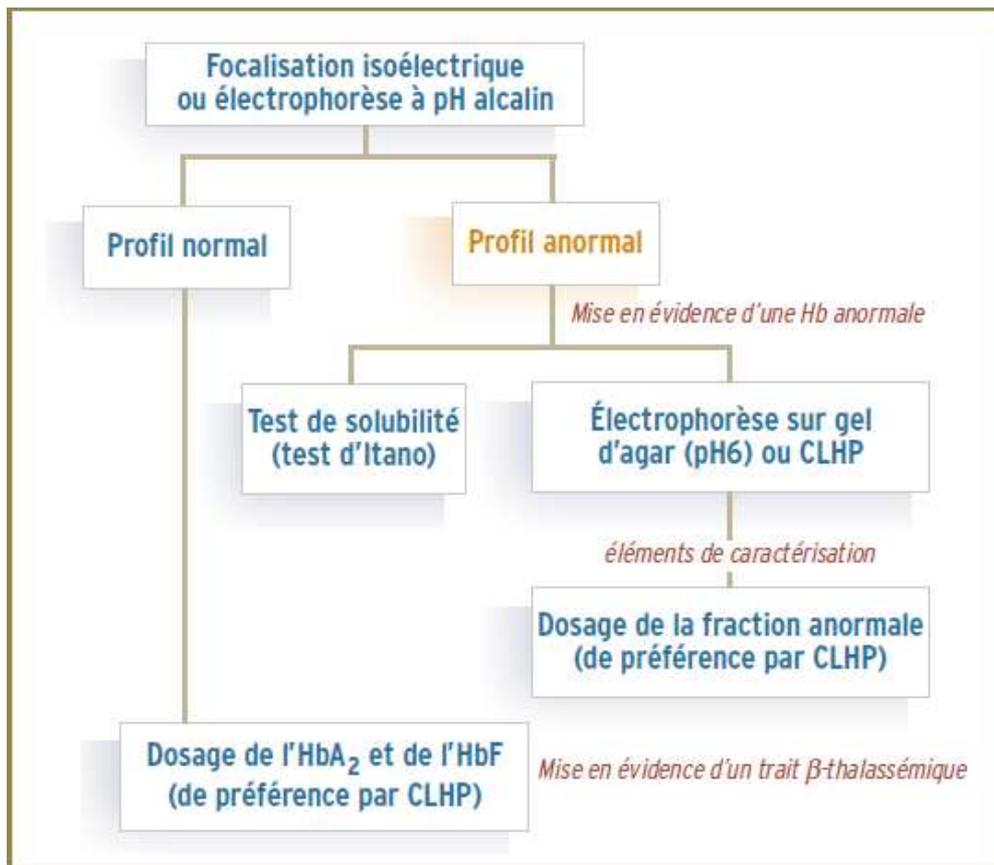


Figure 16 : Stratégie proposée par la SFBC pour la recherche d'une anomalie de l'Hb [62].

IV.1 Techniques biochimiques

A- Prélèvement

La plupart des techniques d'exploration des hémoglobinopathies se réalisent sur sang total recueilli sur EDTA, l'idéal étant de travailler sur du sang frais (moins de 4 jours) afin de minimiser les difficultés d'interprétation liées à l'apparition de fractions hémoglobiniques dénaturées ou à l'augmentation possible de la méthémoglobine dans les prélèvements vieillissants. L'analyse sera effectuée après un délai minimum de 3 mois après toute transfusion sanguine.

B -l'électrophorèse de l'hémoglobine

1)- Electrophorèse à pH neutre

Cette méthode se pratique sur des plaques d'acétate de cellulose, sur lesquelles on dépose les hémolysats (au toluène). On applique ensuite une tension de 200V pendant 30 minutes pour déclencher la migration. L'intérêt principal de cette technique est la séparation de l'hémoglobine I de l'hémoglobine H. En effet, l'hémoglobine I ne migre pas à pH 7 tandis que l'hémoglobine H migre vers l'anode, ce qui permettra de les différencier.

2)- Electrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin et électrophorèse sur agar à pH acide [35]

Ces 2 techniques, largement utilisées dans le passé, sont aujourd'hui devenues obsolètes depuis l'utilisation en routine de la CLHP et de l'électrophorèse capillaire.

a) Electrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin (Figure 17)

C'est la technique standard la plus simple à mettre en oeuvre. Elle sépare les différentes hémoglobines en fonction de leur charge et de la position de l'acide aminé muté dans la molécule.

Elle permet une bonne séparation des différentes fractions hémoglobiniques normales : A, F, A2 et le dépistage des syndromes thalassémiques.

Cependant il faut doser l'hémoglobine A2 pour confirmer le diagnostic de β -thalassémie et utiliser un autre système de séparation pour identifier les hémoglobines anormales. Un tracé normal n'exclut pas une hémoglobinopathie.

b) Electrophorèse sur agar à pH acide (Figure 17)

Cette technique complète l'électrophorèse à pH alcalin. La migration d'une hémoglobine anormale en agar dépend d'abord de la localisation de la mutation et secondairement du changement de charge ; cette migration résulte de l'électroendosmose, de la liaison à l'agaropectine et de l'effet de l'ion citrate.

En effet, elle permet de séparer les variants ayant la même mobilité que les hémoglobines A, S ou C sur acétate de cellulose. Elle permet une très bonne séparation des hémoglobines A et F, ce qui n'est pas le cas dans l'électrophorèse à pH alcalin.

Cependant la mise en évidence de mutants de même mobilité que l'hémoglobine A n'est pas possible par cette seule technique. De plus, les anomalies qualitatives observées sur les tracés doivent être précisées par dosage.

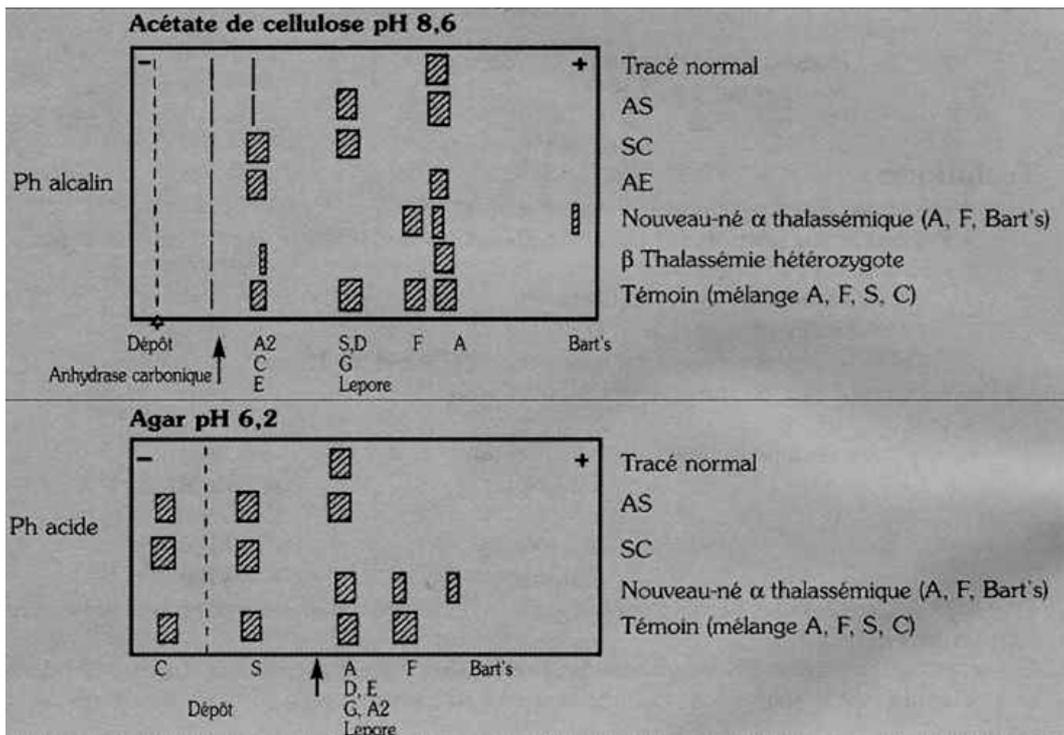


Figure 17 : migration électrophoretique des hémoglobines [63]

3)- Isoélectrofocalisation (Figure 18) [64]

L'isoélectrofocalisation ou focalisation isoélectrique est une technique d'électrophorèse sur gel utilisant un gradient de pH 6 à pH 8, sous voltage élevé. La migration et donc la séparation des variants d'hémoglobine se feront en fonction de leur pI ou point isoélectrique. Pour rappel, le point isoélectrique (ou potentiel hydrogène isoélectrique pHi) d'une molécule est le pH pour lequel la charge globale de la molécule est nulle, on dit alors qu'elle est sous forme zwitterionique. Les différentes hémoglobines vont donc migrer dans ce gradient de pH jusqu'à ce que celui-ci atteigne leur pI.

L'identification d'un mutant inconnu se fera par comparaison de son pI avec celui d'un mutant de référence. Pour exemple, les pI de l'HbA1 et de l'Hb A2 sont respectivement de 6,98 et de 7,42 alors que celui de l'Hb S est de 7,20 (**figure 19**). Cette technique est applicable aussi bien chez l'adulte que chez le nouveau-né plus de six mois. Elle bénéficie d'un pouvoir de résolution exceptionnel, les bandes obtenues étant plus fines que celles obtenues en électrophorèse à pH alcalin, alors que l'ordre de migration reste inchangé. Sa résolution, mais aussi la possibilité de travailler directement sur sang total, et de réaliser un screening pour un grand nombre d'échantillons simultanément sont des avantages indéniables. Les seuls écueils restent la qualité de l'interprétation, qui nécessite une certaine maîtrise, ainsi que le fait que cette technique ne soit pas adaptée à la quantification des variants mais soit seulement une méthode qualitative.

L'IEF est une technique très sensible, et plus spécifique mais également plus coûteuse. C'est la méthode de référence pour le diagnostic néonatal des hémoglobinopathies. Le prélèvement consiste en une simple goutte de sang prélevée au talon et absorbée sur papier buvard. Comparée à une électrophorèse simple, l'IEF permet la réalisation d'un plus grand nombre de tests en une seule série, ce qui est intéressant pour les dépistages massifs de la drépanocytose au sein d'une population.

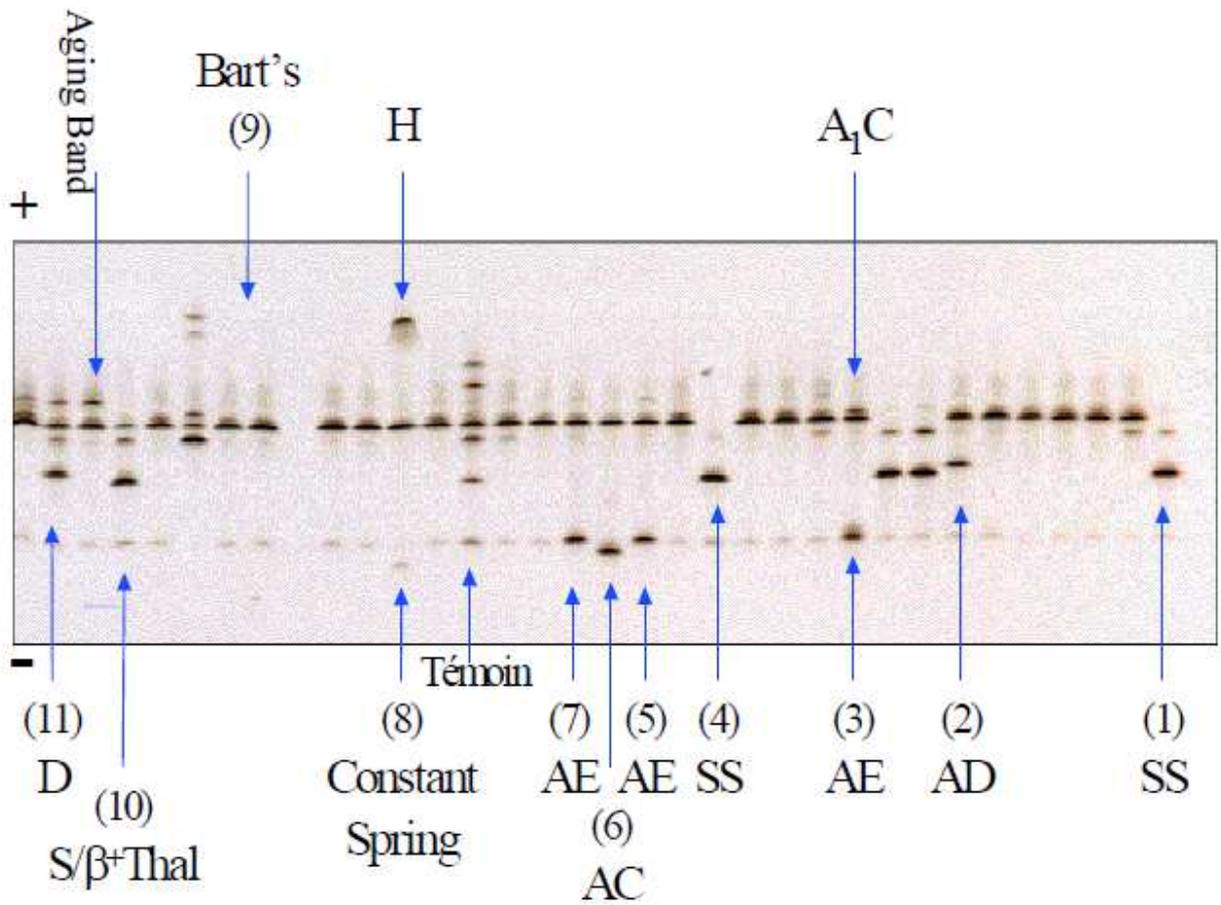


Figure 18 : Isoélectrofocalisation en gel d'agarose [65]

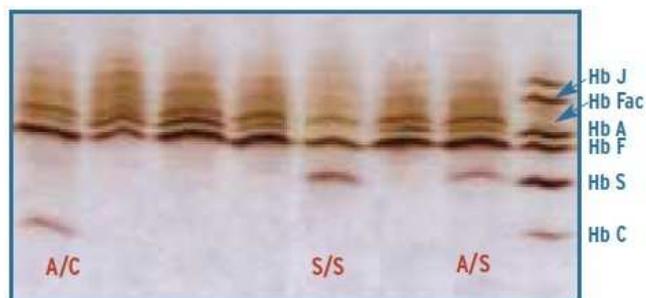


Figure 19 : Détail d'une focalisation isoélectrique utilisée pour le diagnostic néonatal de la drépanocytose

4)- Electrophorèse capillaire

a) Principe

L'électrophorèse implique la séparation d'espèces chargées sous l'influence d'un champ électrique, généralement sur base de leur rapport charge/masse. L'invention de l'électrophorèse capillaire remonte à la fin des années 1960, quand Hjertén puis Everaerts et Keulemans montrèrent que les problèmes de convection liés à l'effet Joule observés en électrophorèse sur support solide pouvaient être contrôlés en réalisant l'électrophorèse dans des tubes en Téflon [66].

Classiquement, l'électrophorèse capillaire est pratiquée dans un tube de silice fondue recouvert d'une couche de polyimide de 20 à 200 cm de longueur pour un diamètre interne de 20 à 200 μm (**Figure 20**). Le capillaire, enfermé dans un système de thermostatisation, est rempli de tampon et plonge dans deux réservoirs contenant cette même solution. Chaque réservoir est connecté à une électrode reliée à un générateur de courant. L'appareillage comporte de plus un système de détection, le plus souvent un spectrophotomètre UV-visible ou un fluorimètre. La connexion à un spectromètre de masse est également possible.

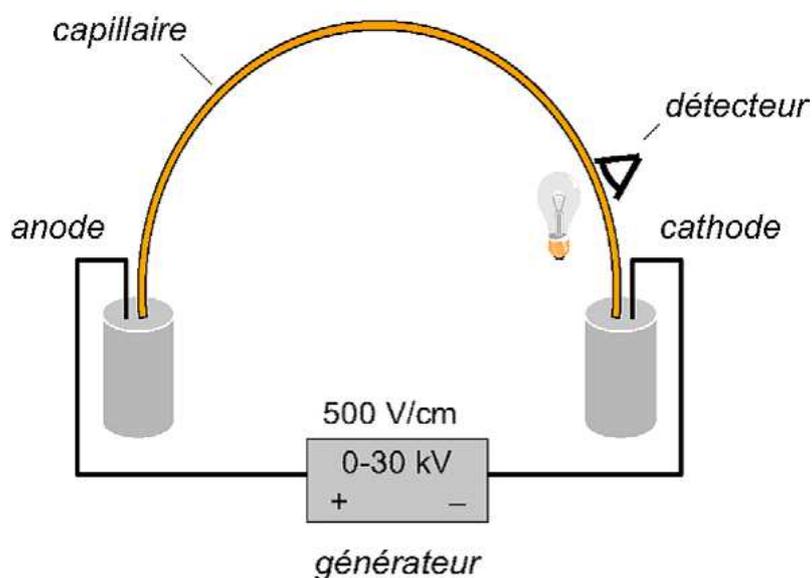


Figure 20 : Représentation schématique d'un appareillage d'électrophorèse capillaire.

La caractéristique essentielle de l'électrophorèse capillaire vient de l'interface solide-liquide entre la paroi du capillaire en silice et le tampon qui le remplit. En fonction du pH, les groupements silanols de la silice s'ionisent, conférant à la paroi des charges négatives à l'origine du flux électro-osmotique (EOF) orienté vers la cathode.

L'EOF prend naissance au niveau des parois du capillaire et génère un profil de migration élution plat (plug flow), contrairement à l'écoulement laminaire observé en chromatographie liquide. Cela se traduit en un pouvoir de séparation supérieur à celui de la chromatographie liquide.

Les avantages de l'électrophorèse capillaire sont nombreux :

Elle permet, avec une efficacité supérieure à la chromatographie liquide et presque comparable à la chromatographie gazeuse, d'analyser des composés hydrosolubles. Toutes les molécules, chargées ou non, peuvent potentiellement être analysées : ions inorganiques, molécules organiques et macromolécules.

La principale qualité de l'électrophorèse capillaire est sa grande versatilité. Elle regroupe de nombreuses techniques présentant des principes et des avantages différents :

- L'électrophorèse capillaire en zone (CZE) classique où les molécules sont séparées en fonction de leur rapport Q/r ;
- L'électrophorèse capillaire micellaire (MEKC), dans laquelle le tampon de séparation contient un tensioactif à un taux supérieur à sa concentration micellaire critique, constituant ainsi une phase hydrophobe dans un système comparable à la chromatographie en phase inverse ;
- La focalisation isoélectrique en capillaire (CIEF) où des ampholytes sont introduits dans le tampon de manière à créer un gradient de pH et à séparer les molécules selon leur point isoélectrique ;
- L'électrophorèse en gel et en capillaire (CGE) utilisant un polymère linéaire introduit dans le capillaire pour séparer des macromolécules par rapport à leur taille comme en PAGE.

De nombreuses applications dans le domaine médical ont été développées et font de l'électrophorèse capillaire un outil de grande utilité pour les laboratoires de diagnostic et de recherche [67–68]. Dans le cadre particulier de l'analyse protéique, l'électrophorèse capillaire présente des avantages par rapport aux méthodes en gel : faible volume d'échantillon, détection en ligne sans étape de coloration, quantification immédiate et possibilité de collecte de fractions.

b) Électrophorèse capillaire et hémoglobine

L'Hb est la protéine largement majoritaire des globules rouges. Grâce à son pic d'absorbance à 415 nm, elle peut être détectée avec une bonne spécificité. Ces deux particularités en ont fait une analyse idéale pour l'étude de la séparation des protéines par électrophorèse capillaire. Dès les premières années de développement de cette technique, des méthodes fondées sur l'isotachophorèse puis l'électrophorèse en zone sont apparues. Par la suite, en raison de son haut pouvoir résolutif, la focalisation isoélectrique fut adaptée en capillaire. Dans un second temps, des méthodes commerciales sont apparues sur le marché.

c) Etude de quelques profils électrophorétiques des malades selon les différent type des hémoglobinopathies.

• Les β -thalassémies hétérozygotes (A/F)

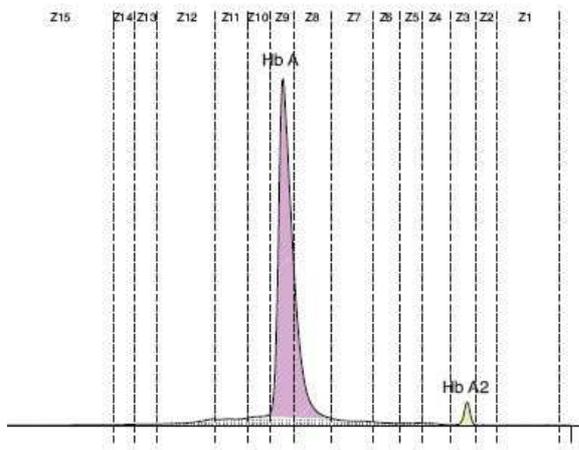


Figure 21. Profil électrophorétique d'un sang normal

Hb A = 96, 8 à 97, 8 %
 Hb F < 0, 5 %
 Hb A2 = 2, 2 à 3, 2 %

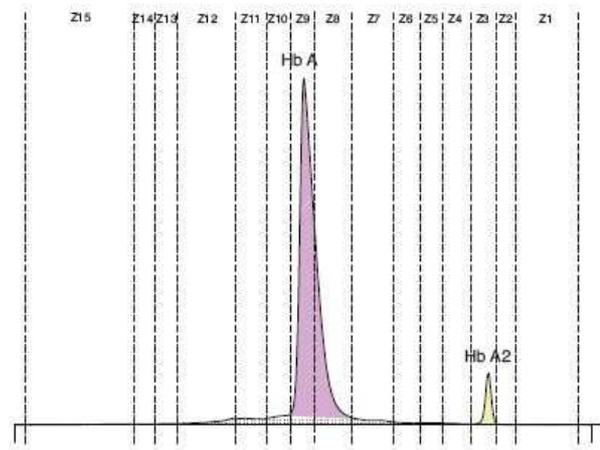


Figure 22. Profil électrophorétique d'un sang β -thalassémique hétérozygote

Hb A = 94, 5 %
 Hb A2 = 5, 5 %

Dans la technique électrophorèse capillaire les valeurs des différentes hémoglobines normales obtenues permettent de détecter les cas des β -thalassémies (**figure 21**). Un taux d'Hb A2 supérieur à 3,5 %, généralement entre 4 et 8 %, est le plus souvent associé à un β -thalassémie hétérozygote (**figure 22**) [69], alors que chez le sujet normal, il est entre 2,2 et 3,2 %.

Il faut savoir que la majorité des β -thalassémies hétérozygotes ne présentent pratiquement aucune des anomalies habituelles (une pseudo polyglobulie microcytaire), y compris l'élévation de l'Hb A2 [70]. Par ailleurs, l'Hb A2 peut s'élever modérément au cours d'anémies mégalo-blastiques, d'hyperthyroïdies ou d'érythro-leucémies [71].

• *Les β -thalassémies homozygotes*

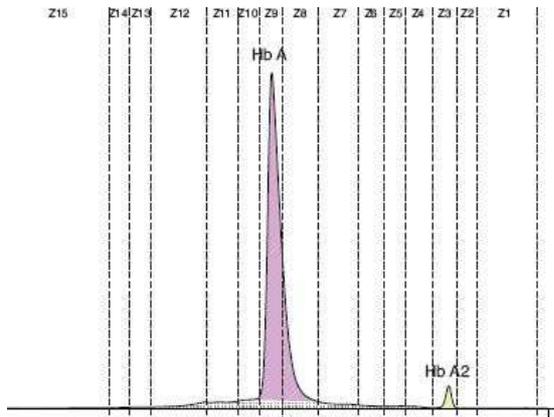


Figure 21. Profil électrophorétique d'un sang normal

Hb A = 96, 8 à 97, 8 %

Hb F < 0, 5%

Hb A2 = 2,2 à 3,2 %

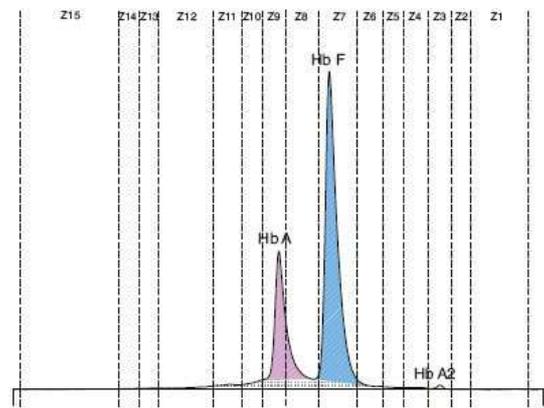


Figure 23. Profil électrophorétique d'une β -thalassémie homozygote

Hb A = 5 à 45 %

Hb F = 50 à 80 %

Hb A2 = 3 à 7 %

Chez l'adulte normal, le taux d'Hb F est inférieur à 0,5 % mais il existe des variations génétiques et liées à l'âge [72]. La coexistence d'un taux d'Hb F entre 50 et 80 % et d'une anémie microcytaire hypochrome évoque une β -thalassémie majeure [73] (figure 23). En effet, il existe une répartition hétérogène de l'Hb F dans les hématies : une population d'hématies contient de l'Hb F, l'autre non [74]. Un taux élevé d'Hb F sans anémie, ni microcytose, ni signes cliniques correspond en général à une PHHF. [69] La persistance d'Hb F après la période néonatale, persistance dont le mécanisme est encore mal compris. On l'explique partiellement par une sélection des cellules contenant de l'HbF, mais une augmentation absolue de synthèse est également possible, expliquant alors une moindre gravité de l'évolution. Comment cette surproduction serait contrôlée est un domaine de recherche très exploré [75].

• La drépanocytose homozygote

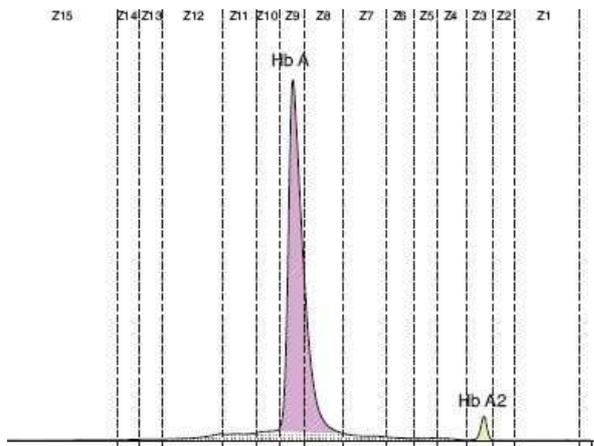


Figure 21. Profil électrophorétique d'un sang normal

Hb A = 96,8 à 97,8 %

Hb F < 0,5 %

Hb A2 = 2,2 à 3,2 %

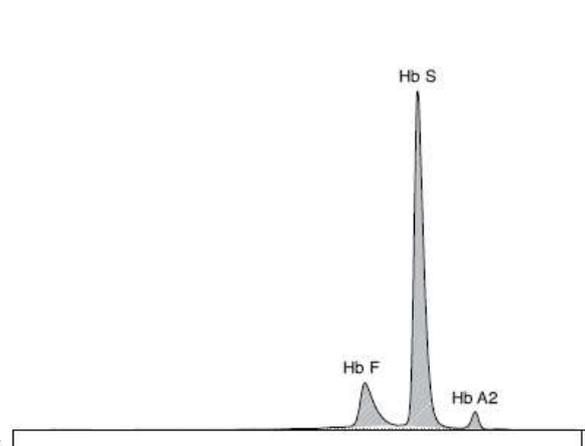


Figure 24. Profil électrophorétique d'un sang avec variant homozygote HbS

Hb S = 77 à 98 %

Hb F = 2 à 20 %

Hb A2 = 2 à 3 %

La drépanocytose est due à une mutation d'un acide glutamique de la chaîne β (acide aminé n°6) par une valine (acide aminé neutre) [76]: elle présente ainsi un point isoélectrique augmenté par rapport à l'hémoglobine A [73]. Sa charge négative globale est donc diminuée au pH de l'analyse : cette hémoglobine migre plus rapidement que l'hémoglobine A. Dans la technique électrophorèse capillaires, en tampon alcalin, l'hémoglobine S migre entre les fractions A et A2, à environ 1/3 de la distance A-A2, coté A2 (figure 24).

Il existe une absence d'Hb A, deux cas peuvent se présenter : soit l'Hb S est nettement majoritaire et elle est en général associée à une bande minoritaire d'Hb F, soit l'Hb S est associée à une autre hémoglobine anormale.

Dans le premier cas de figure, un taux d'Hb S en moyenne entre 77 et 98 % permet d'évoquer une drépanocytose homozygote SS associée ou non à une α -thalassémie, ou un syndrome drépanocytaire $S\beta^0$; en cas de trait α -thalassémique associé, il peut y avoir atteinte d'un seul gène (sujets $SS \alpha^-/\alpha\alpha$) ou de deux gènes ($SS \alpha^-/\alpha^-$).

Chez tous ces sujets, une bande F de faible intensité (de 5 à 10 % en moyenne) est visible. Dans le cas de PHHF associée à de l'Hb S (sujets S PHHF), le taux d'Hb F est de l'ordre de 30 % et ces sujets ne sont pas anémiques. Enfin, rappelons qu'un traitement des drépanocytaires par HU fait augmenter le taux d'Hb F, qui peut alors s'élever jusqu'à 25 % [76].

• Les drépanocytoses hétérozygotes

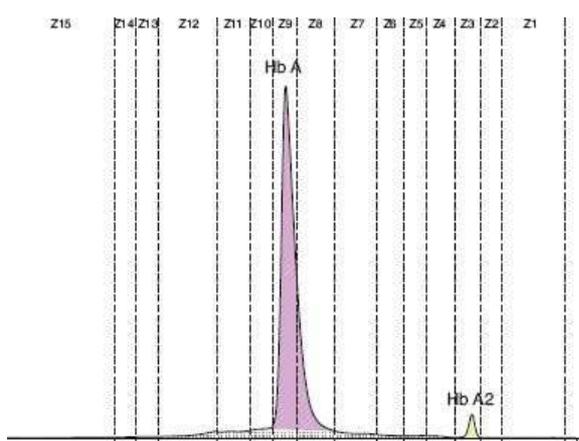


Figure 21. Profil électrophorétique d'un sang normal
Hb A = 96,8 à 97,8 %
Hb F < 0,5%
Hb A2 = 2,2 à 3,2 %

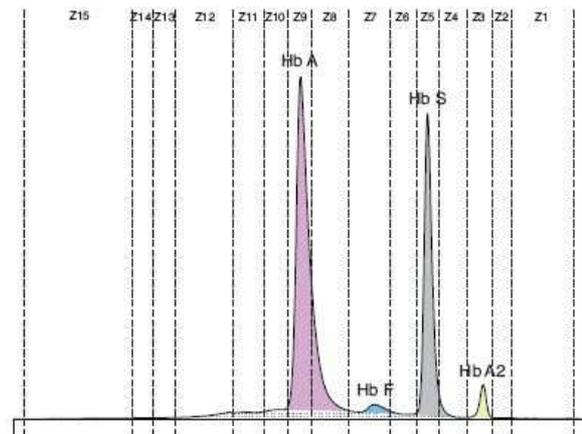


Figure 25. Profil électrophorétique d'un sang avec variant hétérozygote HbS
Hb A = 61,6 %
Hb F = 1,8 %
Hb A2 = 3,0 %
Hb S = 33,6 %

La drépanocytose hétérozygote est caractérisée par la présence d'Hb A [77-76]. Il est alors important de quantifier les différentes fractions A, A2 et S (figure 25). En l'absence de trait thalassémique associé, l'Hb S représente une fraction de l'ordre de 33,6 % de l'hémoglobine totale. Les sujets AS ont un hémogramme normal et sont cliniquement asymptomatiques.

Un taux d'Hb S inférieur à 30 % est en faveur d'une α -thalassémie mineure associée à la drépanocytose hétérozygote AS. En revanche, un taux d'Hb S supérieur à 50 % évoque l'association d'une drépanocytose hétérozygote avec une β + -thalassémie (S/ β +), l'Hb S étant, rappelons-le, un variant de la chaîne β .

Dans ce cas, l'Hb A représente alors 5 à 20 % de l'hémoglobine totale. Ces sujets S/ β^+ présentent une microcytose avec ou sans anémie, et un taux d'Hb A2 élevé ($\geq 5\%$) [76]

• L' hémoglobine C (hétérozygote)

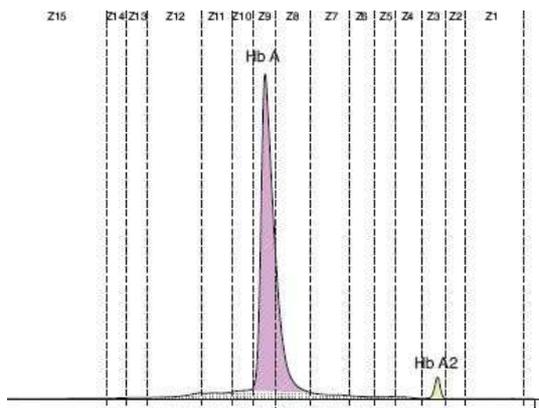


Figure 21. Profil électrophorétique d'un sang normal

Hb A = 96,8 à 97,8 %
Hb F < 0,5 %
Hb A2 = 2,2 à 3,2 %

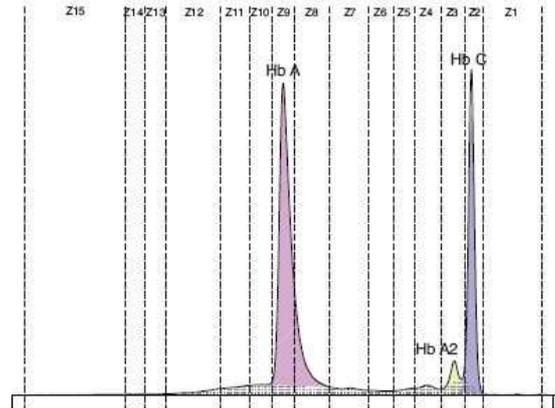


Figure 26. Profil électrophorétique d'un sang avec hémoglobine C hétérozygote

HbA = 66,5 %
Hb A2 = 2,5 %
Hb C = 31,0 %

L'hémoglobine C est due à une substitution d'un acide glutamique de la chaîne β par une lysine (acide aminé basique n°6) ; elle présente ainsi un point isoélectrique augmenté par rapport à l'hémoglobine A. Sa charge négative globale est donc diminuée au pH de l'analyse : cette hémoglobine migre plus rapidement que les hémoglobines A et A2, dont elle est partiellement séparée, ce qui améliore nettement le diagnostic (figure 26).

Les hétérozygotes (A/C) peuvent être assimilés aux hétérozygotes (AS), ils ne manifestent aucun symptôme de la maladie, à l'exception du risque génétique de transmettre le gène anormal, ils sont détectés au cours d'une enquête familiale. [76]

• Les doubles hétérozygotes (S/C)

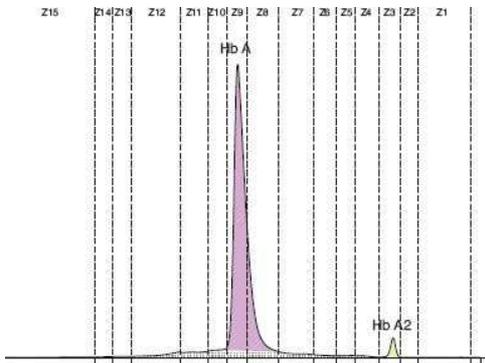


Figure 21. Profil électrophorétique d'un sang normal

Hb A = 96, 8 à 97, 8 %
Hb F < 0, 5 %
Hb A2 = 2, 2 à 3, 2 %

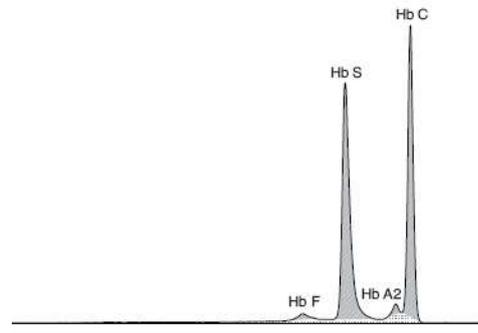


Figure 27. Profil électrophorétique d'un sang avec double hétérozygote S/C

Hb S = 54, 1 %
Hb F = 1, 5 %
Hb A2 = 2, 3 %
Hb C = 42, 1 %

Les hétérozygotes composites (SC), chez qui l'électrophorèse de l'hémoglobine montre 50% d'HbC et 50% d'HbS (**figure 27**), associé à une anémie modérée microcytaire ou normocytaire.

Ils doivent être considérés comme des drépanocytaires homozygotes SS, bien que la symptomatologie soit en général un peu moins sévère que chez les sujets SS **[76]**.

C- Chromatographie liquide à haute pression ou CLHP

Avant l'apparition, dans les années 1970, de la chromatographie liquide haute performance (CLHP), les techniques chromatographiques classiques étaient déjà largement utilisées dans l'étude et la caractérisation des hémoglobines anormales.

La CLHP a apporté une dimension supplémentaire aux techniques classiques de séparation en les optimisant et en permettant l'utilisation, en plus de la chromatographie d'échange d'ions, celle en phase inversée.

La chromatographie d'échange d'ions est essentiellement utilisée dans les études analytiques alors que la chromatographie en phase inversée l'est dans les études structurales des hémoglobines anormales (séparation des sous-unités, séparation des peptides, détermination de la composition en acides aminés).

Si les techniques de dosage de l'hémoglobine glyquée par CLHP sont actuellement les plus utilisées en biologie médicale, plusieurs systèmes CLHP de séparation des hémoglobines et de dosage des fractions Hb F et Hb A2 ont été décrits. Certains sont intégrés à une chaîne CLHP conventionnelle, d'autres sont entièrement automatisés. Toutes les chaînes CLHP actuellement commercialisées sont de qualité et le choix d'un module dépend de l'application à laquelle il est destiné, des préférences personnelles de l'utilisateur pour un système particulier et, enfin des considérations financières[79].

1)- Principe de la chromatographie liquide à haute pression (ou à haute performance)

La chromatographie est une technique de séparation analytique au cours de laquelle un échantillon est entraîné par un liquide, constituant la phase mobile, à travers une colonne remplie d'une phase stationnaire. La différence de solubilité des hémoglobines entre ces 2 phases va permettre leur séparation, chacune étant plus ou moins retenue par la phase stationnaire et ayant donc un temps de rétention (t_R) caractéristique qui lui est propre (Figure 28).

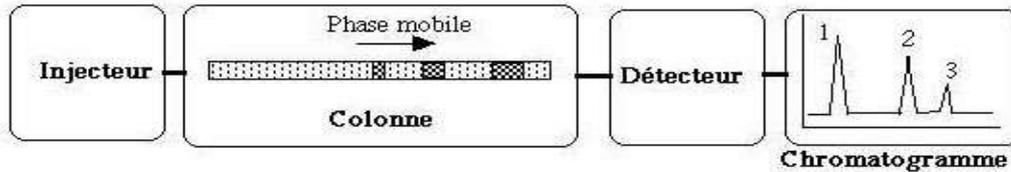


Figure 28 : Schéma simplifié de la chromatographie [80]

La phase mobile est injectée dans la colonne par un injecteur, et un détecteur placé en sortie de colonne va pointer l'élué de chaque composé et ainsi permettre le tracé d'un chromatogramme, chaque pic correspondant à un composé différent, élué à un temps de rétention spécifique. Dans le cas de la chromatographie liquide à haute pression, le débit d'écoulement de la phase mobile sera élevé grâce à une pompe à haute pression, ce qui va diminuer le temps nécessaire à la séparation des différents composés (**Figure 28**).

Cette technique permet la séparation d'un très grand nombre d'hémoglobines, par échange sur des résines cationiques. De plus, les différentes fractions HbA, HbA₂, HbF et HbS, présentes même à de faibles taux, peuvent être quantifiées.

2)-Un exemple de système CLHP entièrement automatisé : Variant Bio-Rad [79]

Cet automate utilise les principes de la CLHP par échange de cations. Il représente actuellement le seul exemple de système CLHP entièrement automatisé sur le marché. Il comporte plusieurs programmes.

Le "**β-thalassemia short program**" permet de séparer et de doser spécifiquement les fractions Hb A₂ et Hb F et de mettre en évidence, dans le sang total, la présence des hémoglobines anormales les plus fréquentes.

a) Appareil

L'automate Variant-Bio-Rad est constitué de deux pompes double piston, d'un passeur d'échantillon thermostaté, d'un injecteur automatique (une injection toutes les 6,5 minutes pour une cadence de 9 échantillons par heure), d'un contrôleur de gradient préprogramme et d'un photomètre à filtres double longueur d'onde (415 et 690 nm). Le filtre à 415 nm enregistre les variations d'absorbance des éluats d'hémoglobine, le filtre à 692 nm corrige les variations de la ligne de base.

L'enregistrement des variations d'absorbance en fonction du temps (chromatogramme) et les calculs sont effectués automatiquement par un intégrateur et sont imprimés.

La colonne analytique est une colonne échangeuse de cations ; sa longueur est de 30 mm et son diamètre intérieur de 4,6 mm ; une colonne permet environ 250 analyses. L'élution est obtenue par un mélange de deux tampons de force ionique différente. L'augmentation de la force ionique de la phase éluante au cours de la manipulation permet d'obtenir un gradient d'élution. Les différentes hémoglobines contenues dans le mélange à analyser sont éluées en fonction du temps de rétention qui les caractérise.

La préparation des hémolysats est faite à partir de 5 microlitres de sang total prélevé sur EDTA et dilué dans 1 ml de solution hémolysante contenant d'eau désionisée et 0,05 % d'azide de sodium.

Un caliateur (hémolysats de globules rouges humains lyophilisés) avec des concentrations connues en Hb F et Hb A2 est analysé en début de chaque série dans le but d'établir un facteur de calibration pour l'Hb F et l'Hb A2.

De plus, un contrôle normal (Hb F: 1 - 2 %, Hb A2 :1,8 - 3,2 %) et un contrôle anormal (Hb F : 5 - 10 %, Hb A2 : 4 - 6 %) sont passés dans chaque série. Ils sont destinés à suivre la précision des dosages d'hémoglobine F et de l'hémoglobine A2.

Les échantillons de sang à analyser se conservent 7 jours à 2-8 °C et au moins 3 mois congelés à - 80 °C sous forme de globules rouges lavés. Le calibrateur et les contrôles de qualité sont des hémolysats de globules rouges humains lyophilisés vendus par le fabricant. Reconstitués dans le diluant (eau désionisée), ils se conservent 10 jours à 2-8 °C. Il est fortement déconseillé d'utiliser des réactifs après leur date de péremption et de mélanger différents lots.

Le "**β-thalassemia short program**" permet d'individualiser l'Hb F, l'Hb A et l'Hb A2 ; il fournit une présomption d'identification des Hb S, C et D et d'augmentation de l'Hb A1C. L'Hb E est éluée, dans ce programme, en même temps que l'Hb A2. La différenciation entre l'Hb A2 et l'Hb E repose sur une différence de pourcentage ; les pourcentages d'Hb A2 restent inférieurs à 10 % alors que le pourcentage d'Hb E chez les hétérozygotes A/E est le plus souvent supérieur à 30 %.

b) Avantages et limites de cet automate

*** Avantages**

- L'intérêt de la CLHP, quel que soit le système choisi, est actuellement :
 - d'être très performante avec une bonne séparation des différentes fractions d'hémoglobine dans le mélange analysé.
 - de doser spécifiquement les fractions Hb A1c, Hb F et Hb A2. En particulier le dosage de l'Hb F est linéaire de 0,5 à 100 % ; ce qui constitue un avantage certain par rapport aux techniques classiques.
 - de nécessiter un volume faible d'échantillon. Cette propriété permet en particulier son utilisation dans le dépistage néonatal de la drépanocytose.
 - de fournir des résultats dans un délai rapide (moins de 15 minutes).

- **Les avantages particuliers du Variant sont :**

- le Variant est un appareil entièrement automatisé, de manipulation simple et aisée qui permet de traiter, en un laps de temps limité, de grandes séries d'échantillons sans surveillance extérieure .
- des contrôles, introduits systématiquement dans chaque série d'analyse, garantissent la précision des mesures. Un calibrateur corrige automatiquement les variations observées d'une série à une autre.
- le programme "**la β -thalassemia short program**" permet une bonne séparation des hémoglobines F, A et A2 sans superposition entre elles. Le dosage de l'Hb F et de l'Hb A2 est effectué avec une précision acceptable et une bonne linéarité .
- un autre intérêt de ce système est la bonne séparation des hémoglobines anormales éluées dans les "fenêtres" Hb D, Hb S et Hb C .
- cet automate, enfin, est évolutif puisque d'autres programmes existent et / ou sont prévus (10 au total). Le programme "sickle cell short program" est disponible : il est particulièrement adapté au dépistage néonatal de la drépanocytose soit à partir d'hémolysat de sang total soit à partir d'éluant de sang de nouveau-né recueilli sur papier buvard.

*** L i m i t e s**

- Elles sont celles de la CLHP par échanges de cations.
- Le programme " **β -thalassemia short program**" permet de mettre en évidence les hémoglobines anormales les plus fréquentes (S, C et D) mais ne permet pas de les quantifier avec exactitude. En cas de suspicion de la présence d'une hémoglobine anormale, une étude de ses caractéristiques en électrophorèse, et si besoin avec des examens complémentaires, s'impose pour l'identifier.

- D'autre part, le Variant est un appareil fermé avec un domaine d'application précis, n'offrant aucune souplesse dans son utilisation, dans le choix de la colonne ou des gradients d'élution.

- Enfin le cout de l'appareil et des réactifs reste élevé.

3)-Etude de quelques profils chromatographiques des malades selon les types des hémoglobinopathies.

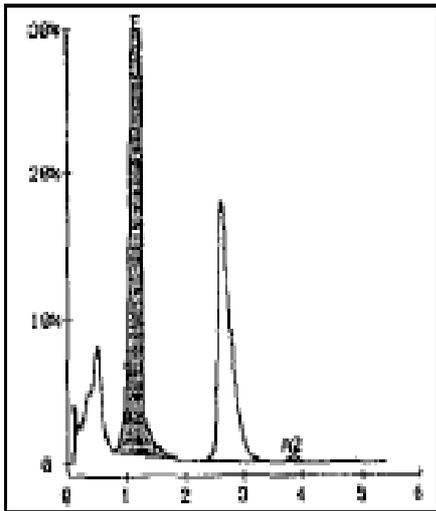


Figure 29 : Profil chromatographique d'un sang normal chez un nouveau né [81]

Hb A = 19.5%
Hb F = 45.6%
Hb A2 = 0.6 %

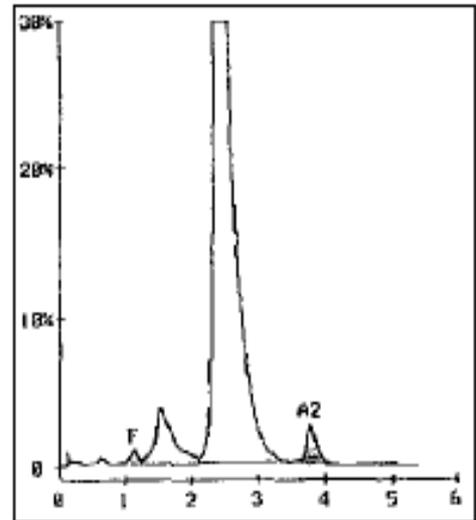


Figure 30 : Profil chromatographique d'un sang normal chez un adulte normal [81]

Hb A = 30%
Hb A2 = 2.9%
Hb F = 1 %

- Le syndrome drépanocytaire (figure 31)

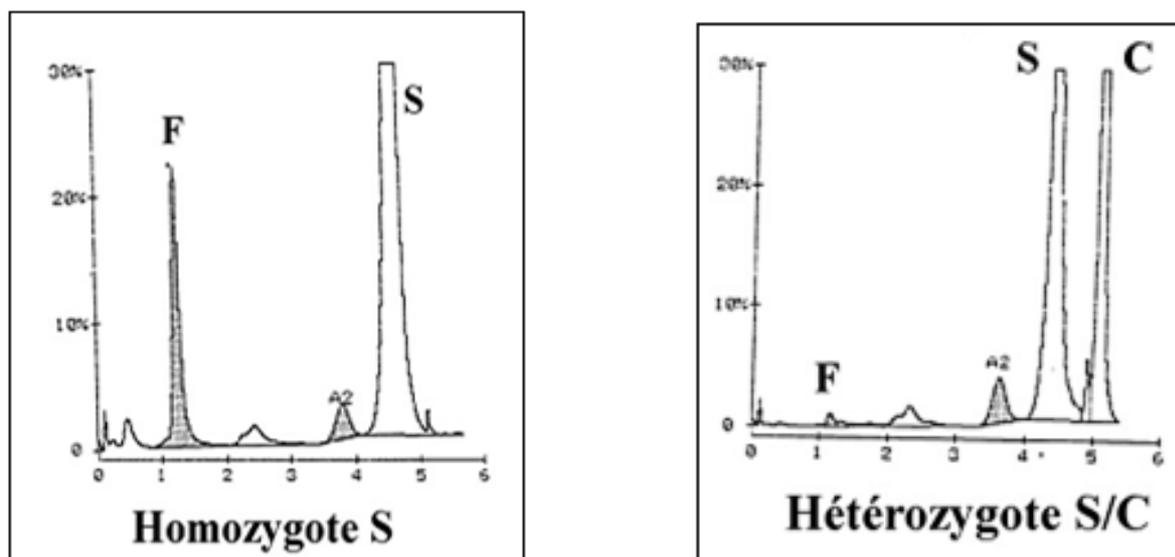


Figure 31 : Comparaison des profils chromatographiques en CLHP d'un homozygote SS et d'un hétérozygote composite SC [82]

La chromatographie liquide à haute performance est une étape indispensable pour préciser le diagnostic des syndromes drépanocytaires. Cette technique permet de quantifier précisément les fractions d'hémoglobines A2, F, A et S.

Un patient hétérozygote A/S présente un taux d'hémoglobine S entre 35 et 45 %.

Pour un taux d'hémoglobine S inférieur à 35 % (en dehors de toute transfusion sanguine), on peut évoquer l'existence d'une carence martiale ou d'une α -thalassémie associée.

Quand la concentration d'hémoglobine S dépasse celle de l'hémoglobine A, plusieurs situations sont possibles, dont l'association $S\beta^+$ thalassémie (et éventuellement l'association S hémoglobine instable) [35].

- Hémoglobinose C (figure 32 et 33)

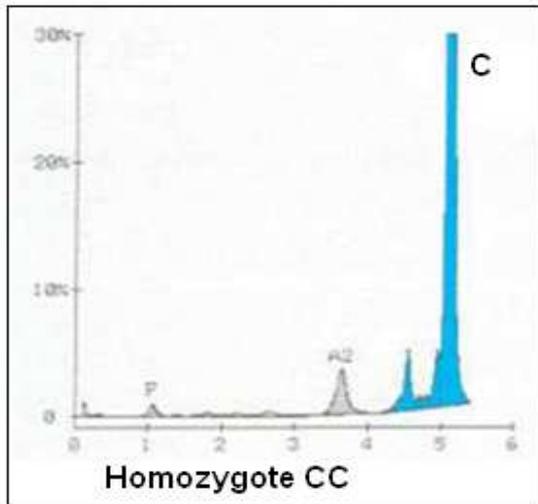


Figure 32

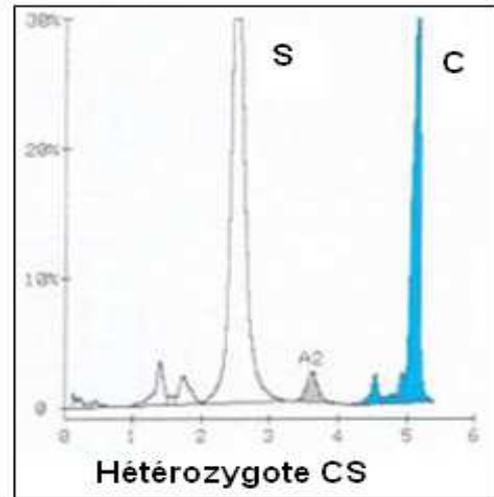


Figure 33

Comparaison des profils chromatographiques en CLHP d'un homozygote CC et d'un hétérozygote composite SC [83]

La chromatographie liquide à haute performance permet d'évaluer le taux de l'hémoglobine C.

A l'état hétérozygote, l'hémoglobine C représente 35 à 45 % des hémoglobines ; les hémoglobines F et A2 ne sont pas quantitativement modifiées. Cette technique permet de suspecter une association avec une α -thalassémie ou l'existence d'une carence martiale quand le taux de l'hémoglobine C est inférieur à 35 %.

A l'état homozygote, on constate l'absence d'hémoglobine A ; les taux des hémoglobines A2 et F ne sont pratiquement pas modifiés [35].

IV.2 Techniques complémentaires

A- Techniques d'étude des chaînes de globine

1)- Electrophorèse des chaînes de globine

Cette méthode est utile pour mettre en évidence la présence de variants anormaux ou d'une hémoglobine pathologique. On réalise tout d'abord un hémolysat au toluène après lavage du culot globulaire recueilli sur EDTA. Après traitement de l'hémoglobine par de l'urée concentrée qui permet la dissociation des chaînes de globine et par du mercaptoéthanol qui élimine l'hème, on réalise une électrophorèse sur acétate de cellulose à pH 6 ainsi qu'une autre à pH 8,9. Cette méthode nous montre la présence de tout changement d'acide aminé impliquant une différence de charge. La comparaison des électrophorégrammes réalisés à ces 2 pH différents (acide et basique) nous informe également sur certains types de substitutions pouvant inclure une histidine [84]. Il est primordial de réaliser cette technique avec des témoins normaux et pathologiques connus, en parallèle du patient, pour pouvoir bénéficier d'un outil de comparaison.

C'est une technique très longue, nécessitant 3 jours de travail, et de ce fait très rarement utilisée.

2)- Séparation des chaînes de globine par CLHP

On utilise ici la CLHP en phase inverse, c'est-à-dire dont la phase stationnaire est apolaire et hydrophobe. Les chaînes de globine sont séparées selon leur hydrophobicité. Cette technique de séparation et de quantification des chaînes de globine normales ou mutées permet une identification présomptive de certains variants peu communs [85].

B- Test de solubilité de l'hémoglobine S ou test d'Itano

Ce test met en évidence in vitro la polymérisation de l'hémoglobine S et son caractère insoluble [86]. Il consiste à désoxygéner une solution diluée d'hémoglobine, dont l'activité est fortement accrue par l'utilisation d'un tampon phosphate de force ionique élevée. En présence d'HbS et à température ambiante, un trouble apparaît.

La centrifugation montre qu'il s'agit d'un précipité d'hémoglobine. Le test de solubilité peut également servir de test de confirmation à une électrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin révélant une bande de migration suspecte.

1)- Principe

L'hémoglobine S, réduite par action de l'hydrosulfite de sodium, précipite dans une solution tampon phosphate de 2,24 M.

2)- Réactifs

- hydrosulfite de sodium : $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$
- solution tampon 2,8 M en phosphate pH 6,8 :
 - K_2HPO_4 (1,62 M) anhydre : 28,2 g
 - K_2HPO_4 (1,18 M) anhydre : 16 g
 - H_2O fraîchement distillée ou déminéralisée : QSP 100 mlConservation à température ambiante
- solution A : Hydrosulfite de sodium : 25 mg
Solution tampon 2,8 M: 2 ml
Bien dissoudre

3)- *Technique*

Le test est réalisé à température ambiante (environ 20°C).

a) Préparer un hémolysat

Pour chaque échantillon à tester, à partir du culot globulaire lavé en eau physiologique :

- culot globulaire = 100 ml
- eau distillée = 600 ml
- bien agiter les tubes et les laisser à + 4°C pendant 15 mn,
- centrifuger 10 mn.

b) Test

- faire un tube témoin :
 - solution tampon 2,8 M = 800 ml
 - hémolysat = 200 ml
- tube test :
 - solution A = 800 ml
 - hémolysat = 200 ml

Procéder en déposant les hémolysats à la surface du tampon puis en agitant simultanément tous les tubes.

Si l'on est en présence d'hémoglobine S, il se produit immédiatement un trouble net dans le tube contenant la solution A. Le tube témoin doit rester limpide (**Figure 34**).

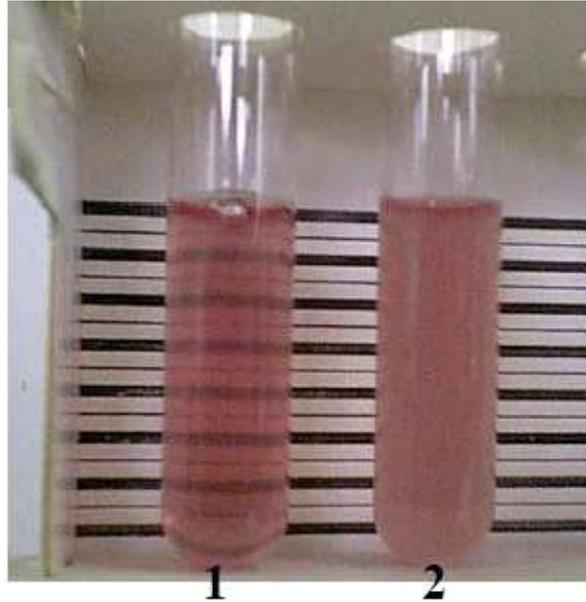


Figure 34 : Test d'Itano

1- Témoin normal

2- Présence d 'HbS

C- Test d'instabilité de l'hémoglobine à l'isopropanol ou test de Carrell [87]

Ce test a pour objectif de dépister les hémoglobines instables. L'isopropanol est un milieu apolaire dans lequel les forces de cohésion internes de l'hémoglobine diminuent, entraînant au final une précipitation de celle-ci. L'hémoglobine A précipite en 50 à 60 minutes à 37°C. Si on observe une précipitation plus précoce (dès 5 minutes) et une floculation à partir d'environ 20 minutes, on suspecte alors la présence d'une hémoglobine instable.

IV .3 Techniques hématologiques

A- Test de falciformation d'Emmel

Il s'agit d'un test simple consistant à provoquer in vitro la désoxygénation puis la polymérisation de l'hémoglobine. [88] Après incubation d'une goutte de sang avec une substance réductrice comme le métabisulfite de sodium, on observe au microscope la falciformation des hématies (**figure 35**). 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 de l'hémoglobine S. Le test de falciformation ne peut être utilisé isolément pour diagnostiquer l'anémie SS, par manque de sensibilité et de spécificité : de nombreux faux positifs et faux négatifs sont observés et la distinction entre forme hétérozygote et forme homozygote ne peut être faite de façon fiable.

1)- Matériel et réactif

- Lame et lamelle de verre - Solution de métabisulfite de sodium à 2 % préparée
- Boîte de Pétri avant chaque utilisation :
- Pipette pasteur. métabisulfite de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) 0,50g
- Eau distillée q.s.p 25 ml

2)- Technique :

- déposer une petite goutte de sang capillaire (prélevé sur EDTA) au centre de la lame,
- ajouter une goutte de métabisulfite de sodium, d'un volume égal, mélanger soigneusement avec le coin d'une lamelle.
- couvrir avec la lamelle en s'assurant qu'il ne se forme aucune bulle,
- placer la lame sur deux bâtonnets dans une boîte de Pétri, dont le fond est garni de papier filtre humide, pour éviter la dessiccation de la préparation,

- attendre 15 mn,
- examiner la lame au microscope : si le résultat est négatif, répéter la lecture après encore 15 mn, puis 1 heure et à nouveau 2 heures plus tard.

3)- Résultats : (figure 36)

- si le test est négatif, les hématies gardent leur forme ronde,
- si le test est positif, les hématies prennent progressivement une forme de faucille ou de banane aux extrémités pointues, souvent dentelée.

Il est recommandé d'examiner plusieurs zones de la préparation car la falciformation ne s'effectue pas de façon homogène. Il ne faut pas confondre les hématies falciformes avec des hématies crénelées (échinocytes) qui n'ont pas les extrémités pointues.



Figure 35 : falciformation type [89]

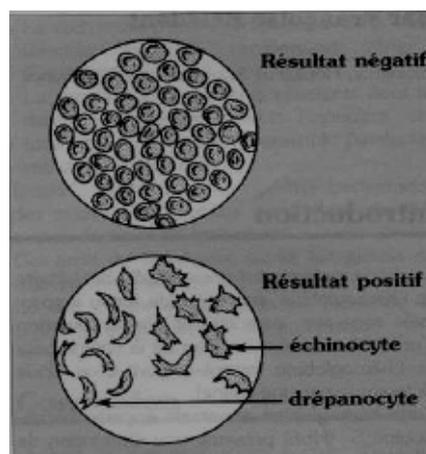


Figure 36 : résultats du test de falciformation [89]

B- Test de Kleihauer [90]

A l'origine, Kleihauer a mis au point ce test en 1957, appelé test de Kleihauer-Betke de son nom complet, afin de mettre en évidence la présence d'hématies foetales dans la circulation sanguine maternelle. Il s'agit d'un test cytochimique dont le principe repose sur la résistance à pH acide de l'hémoglobine foetale, contrairement à l'hémoglobine adulte, soluble quant à elle dans un tel milieu.

On réalise des frottis sanguins à partir de sang maternel recueilli sur EDTA, qui seront séchés puis fixés à l'éthanol. Les lames seront ensuite dénaturées par immersion dans une solution acide de citrate de sodium de pH 3,2 à 3,4 à 37°C, cette étape va dissoudre l'hémoglobine adulte (Hb A) tandis que l'hémoglobine foetale, résistante, restera à l'intérieur des cellules. Enfin on réalisera une coloration à l'éosine, qui fera apparaître les hématies foetales en rouge-rose foncé tandis que les hématies maternelles ou adultes seront dites « fantômes » car décolorées (**Figure 37**). Les frottis seront ensuite lus au microscope et on comptera ainsi le nombre d'hématies foetales pour 10 000 hématies [91].

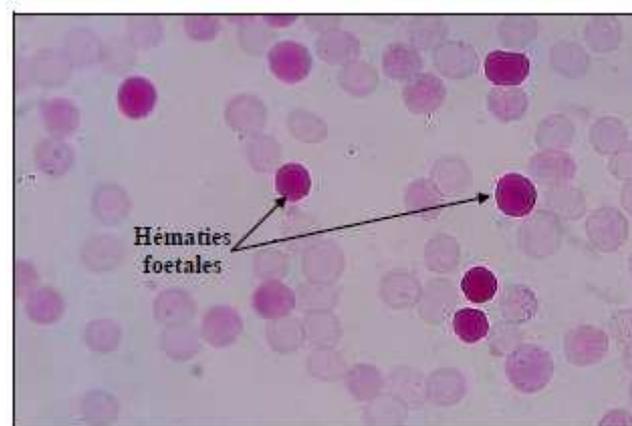


Figure 37 : Test de Kleihauer [92]

Dans le cadre des hémoglobinopathies qui nous concernent, cette technique peut permettre de préciser le caractère pancellulaire ou hétérocellulaire d'une **Persistance Héritaire de l'Hémoglobine Foetale**.

Cependant, ce test présente de nombreuses limites qui sont le nombre de cellules comptées, l'épaisseur du frottis, la demi-vie courte des réactifs ou encore la subjectivité de la lecture. Il est ainsi évident que l'ensemble de ces paramètres influent de façon non négligeable sur la fiabilité du résultat rendu.

C- Recherche des corps de Heinz spontanés ou provoqués (Figures 38 à 40)

Leur recherche est effectuée quand on suspecte la présence d'une hémoglobine instable, ou une hémoglobinose H (**Figure 38**).

Ces corps de Heinz, qui correspondent en réalité à la précipitation d'hémoglobine dénaturée, sont recherchés par simple réalisation d'un frottis coloré par le bleu de crésyl brillant pendant 1h à 37°C.

En effet, une coloration traditionnelle au May-Grünwald-Giemsa ne permet pas leur mise en évidence. Pour l'hémoglobine H, les corps de Heinz sont petits, les hématies ont alors un aspect « en balle de golf » (**Figure 38**). L'aspect est un peu différent pour les autres hémoglobines comme les hémoglobines instables (taches colorées bleutées et plus grosses) (**Figure 39**).

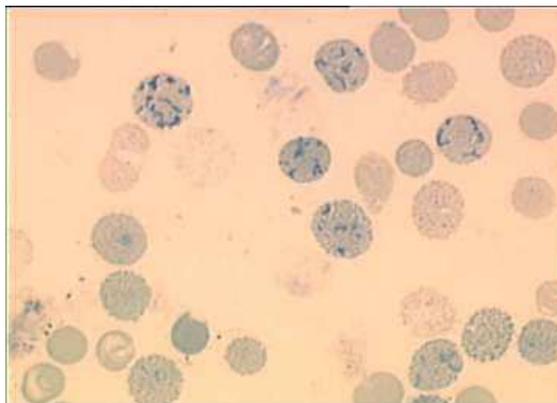


Figure 38 : Aspect en balle de golf de l'hémoglobine H

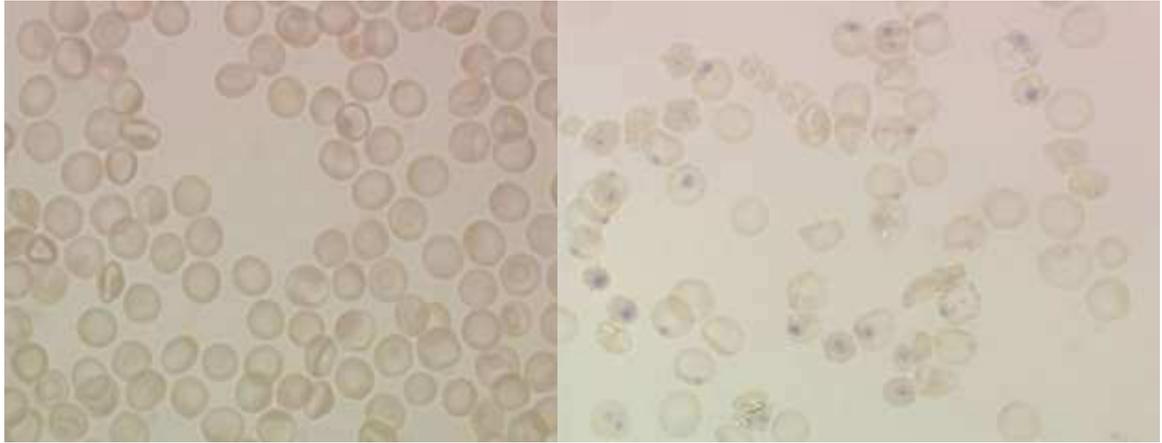


Figure 39: Corps de Heinz spontanés (Témoin négatif à gauche, Patient malade à droite)

La formation des corps de Heinz *in vitro* peut aussi être provoquée par ajout d'acétylphénylhydrazine [93]. On considère que la recherche est positive quand plus de 30% des hématies présentent au moins 5 grains colorés (**Figure 40**).

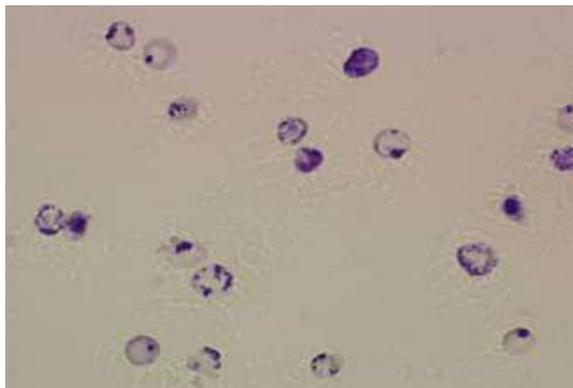


Figure 40 : Recherche positive de corps de Heinz provoqués

IV.4 Exploration génotypique des lésions moléculaires

Les techniques de biologie moléculaire sont les seules techniques à pouvoir déterminer avec exactitude les anomalies au niveau des gènes responsables des hémoglobinopathies.

Deux séries de techniques sont d'usage fréquent, actuellement normalisé :

- les techniques de cartographie après clivage enzymatique mettent en évidence des délétions ou remaniements de l'organisation des gènes.
- la technique d'amplification ciblée par PCR permet, dans une deuxième étape, une analyse fine et la mise en évidence d'altérations minimales ou ponctuelles.

Le choix d'une stratégie précise est variable selon les cas.

L'évolution très rapide des connaissances fait que cette stratégie, également, est susceptible d'évoluer [94].

A- Préparation d'ADN

L'ADN est le même dans toutes les cellules nucléées. En général on utilise les leucocytes.

Il subit une étape d'extraction-purification. La quantité de l'ADN est contrôlée par une migration électrophorétique en gel d'agarose, qu'on regardera sous lumière UV après coloration au bromure d'éthidium.

B- Cartographie génétique et hybridation moléculaire

A la base de ces techniques est la mise en évidence que des sondes marquées peuvent s'hybrider à un fragment d'ADN ou d'ARN à étudier.

La cartographie elle-même a été rendue possible par la découverte des enzymes de restriction qui reconnaissent et coupent l'ADN au niveau de séquences spécifiques. Cette technique est utilisée pour le diagnostic des α -thalassémies délétionnelles.

C- La P C R : une révolution méthodologique

Toutes les méthodes précédentes ont, en effet, été distancées par la technique d'amplification ciblée de séquences d'ADN : PCR pour "polymerase chain reaction",

Le principe en est l'action répétitive d'une polymérase qui amplifie de façon exponentielle une séquence déterminée d'ADN située entre deux amorces oligonucléotidiques .

Sélective et spécifique, cette amplification permet d'obtenir ensuite de grandes quantités de la séquence choisie, et d'effectuer dans un second temps diverses recherches diagnostiques.

Elle comporte une série de cycles de trois temps chacun : un temps de dénaturation de l'ADN génomique ; un temps d'hybridation des amorces nucléotidiques aux matrices d'ADN simple brin alors disponible, et allongement de ces amorces par polymérisation enzymatique des précurseurs nucléotidique. **[95]**

La techniques d'amplification ciblée par PCR permet, dans une deuxième étape une analyse fine(recherche de la présence ou l'absence d'un site de restriction modifié par la mutation, l'emploi d'oligosondes spécifique, ect..)et la mise en évidence d'altérations minimales ou ponctuelles d'où son indication comme outil de diagnostic des β -thalassémies et hémoglobinoses telle la drépanocytose. **[95] (figure 41)**

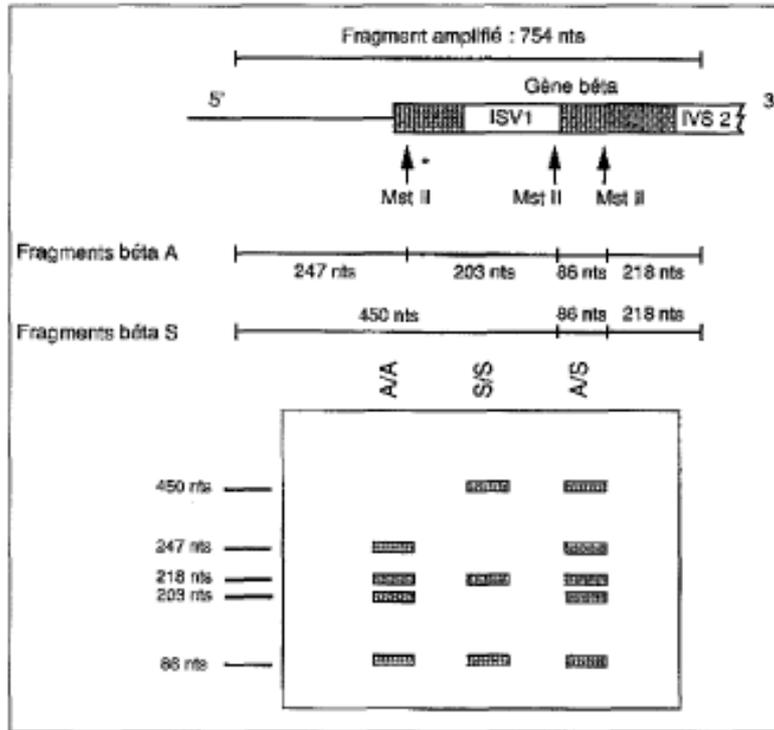
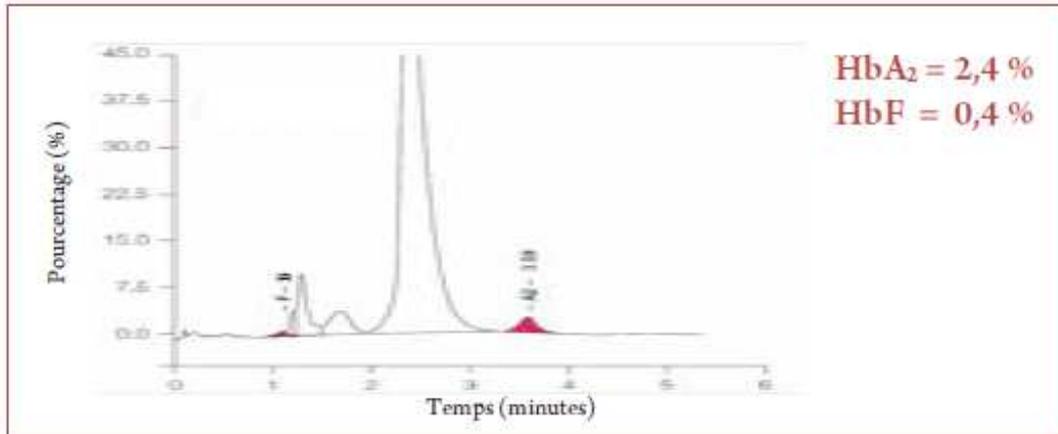


Figure 41 : Le diagnostic de la drépanocytose après amplification d'un fragment défini d'ADN [94].

VI. Exemples [62]

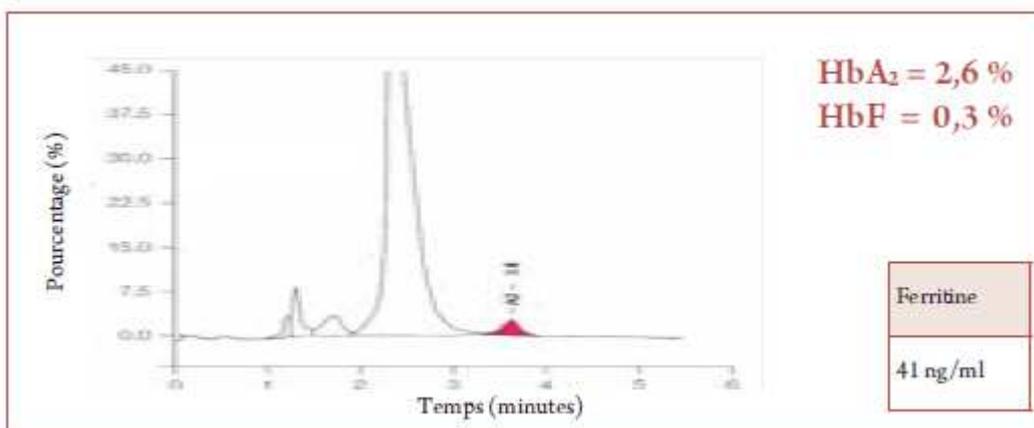
1) Profil normal :

Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
5,33	16,5	30,9	36,9	44,7	84



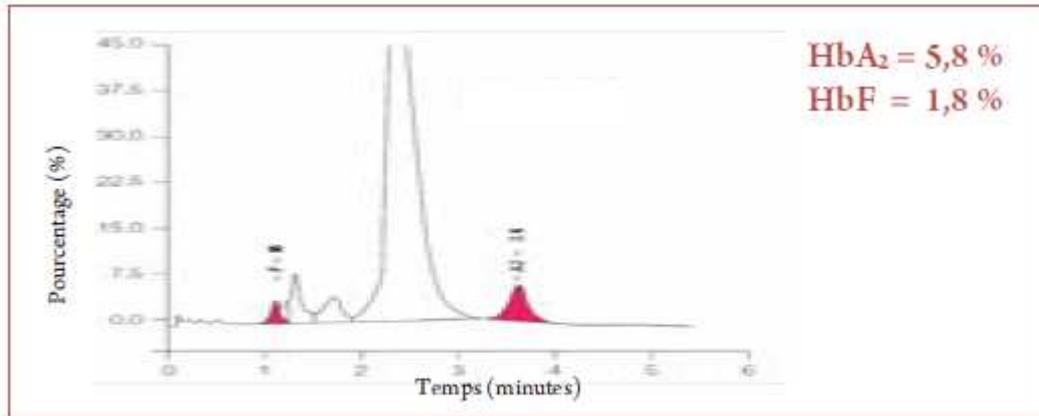
2) α -thalassémie mineure :

Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
6,12	12,9	21,1	30,8	42	68



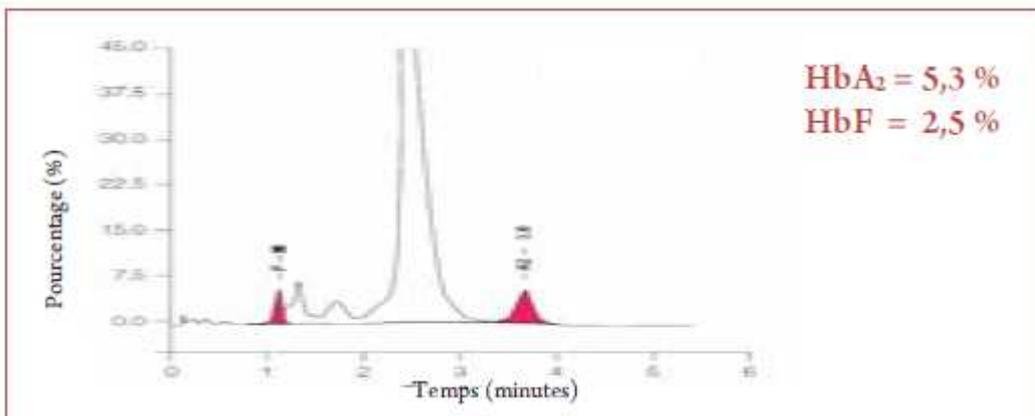
3) β -thalassémie mineure :

Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
5,49	11,8	21,5	31,7	3,37	68



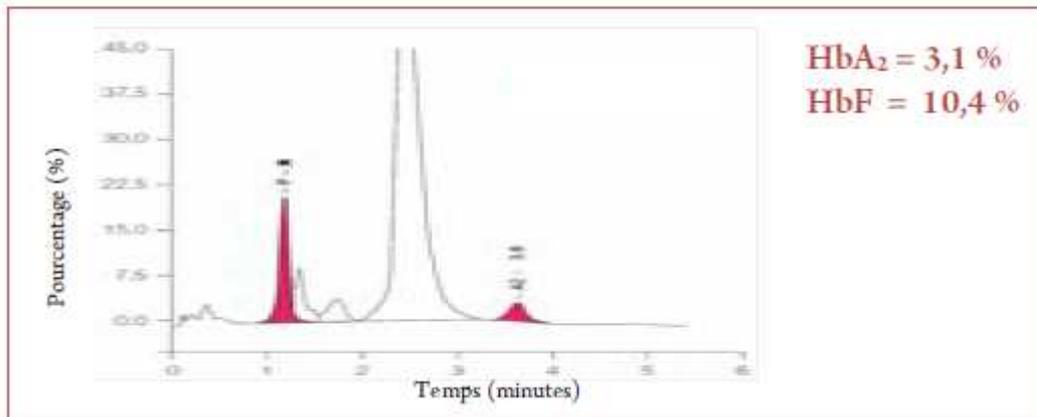
4) α - et β -thalassémies mineures associées :

Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
5,28	12,4	23,4	32,4	38,2	72



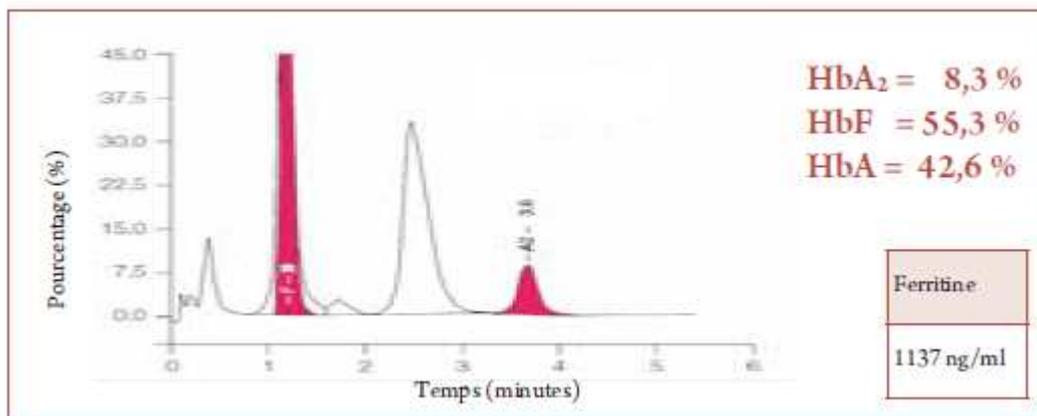
5) $\delta\beta$ -thalassémie mineure :

Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
6,32	12,9	20,4	33,2	38,9	62



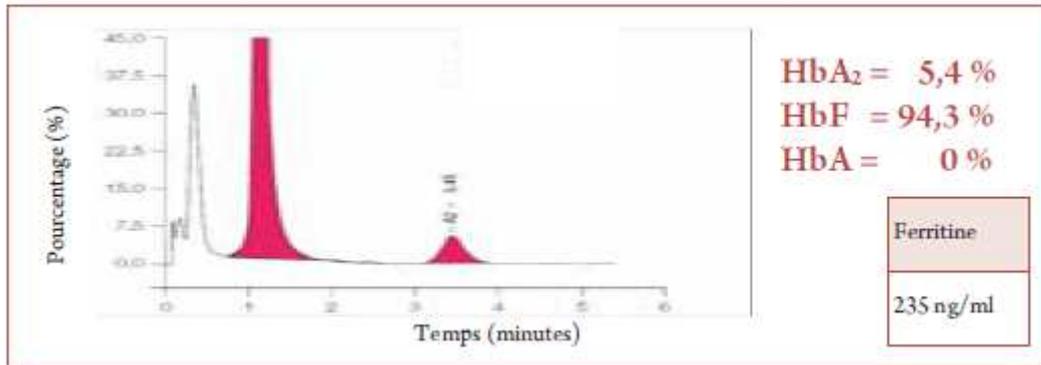
6) β -thalassémie intermédiaire :

Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
4,79	10,3	21,5	32,0	32,1	67



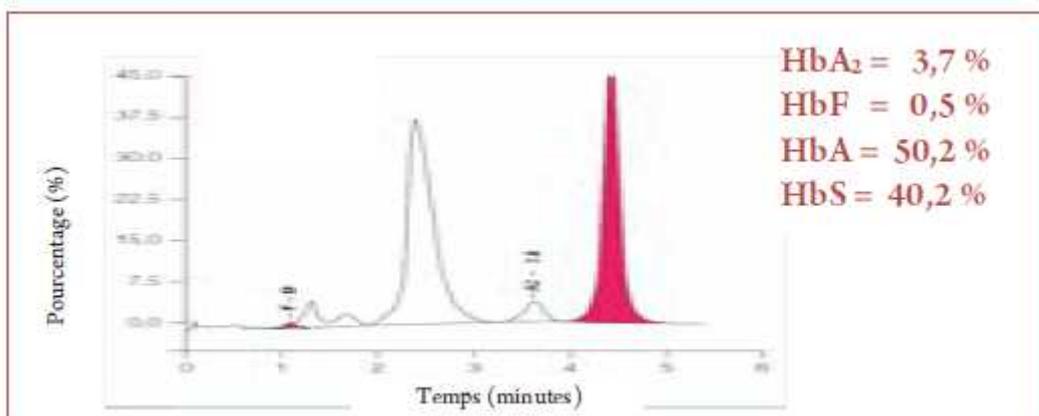
7) β -thalassémie majeure :

Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
3,18	6,9	21,7	30,8	22,4	70



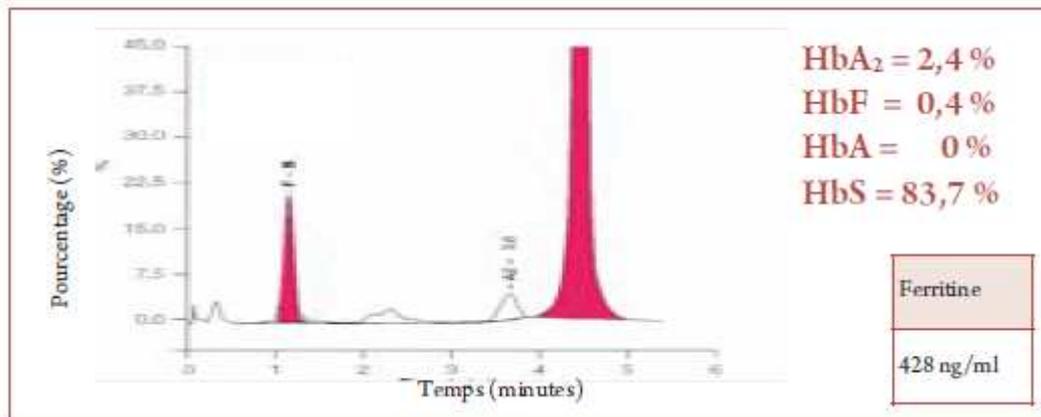
8) Drépanocytose hétérozygote :

Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
4,42	13,1	29,7	33,1	39,6	89



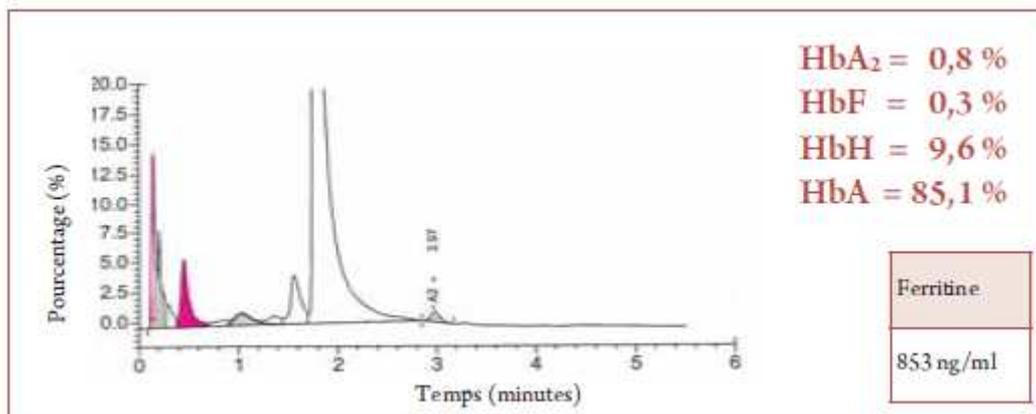
9) Drépanocytose homozygote :

Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
3,91	7,9	23,3	30,6	26,0	66



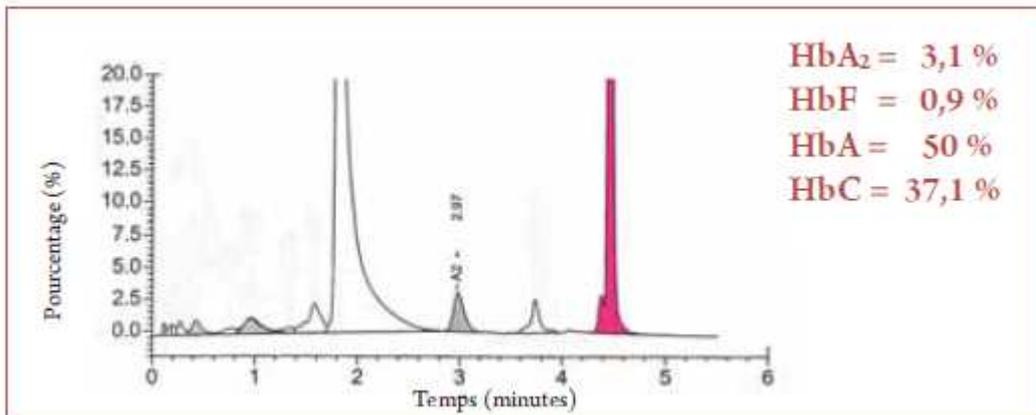
10) Hémoglobine H :

Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
6,46	11,7	18,1	31,2	37,5	58



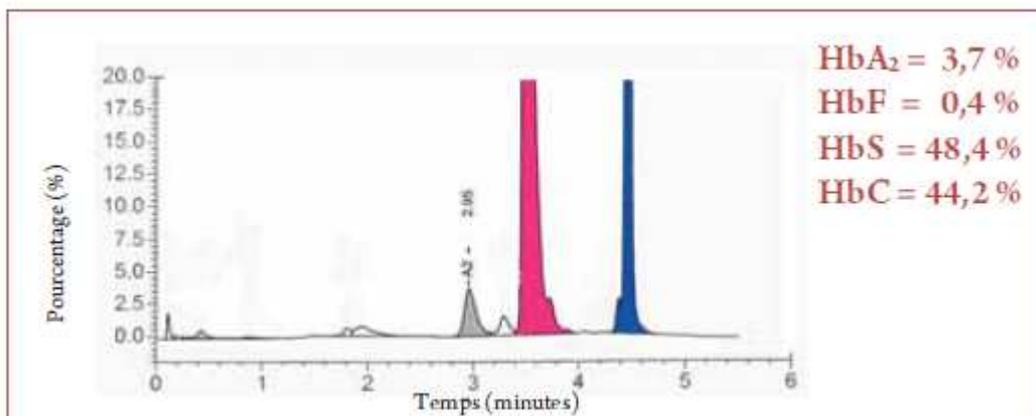
11) Hémoglobinosse C hétérozygote :

Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
4,87	14	28,7	36	39	80



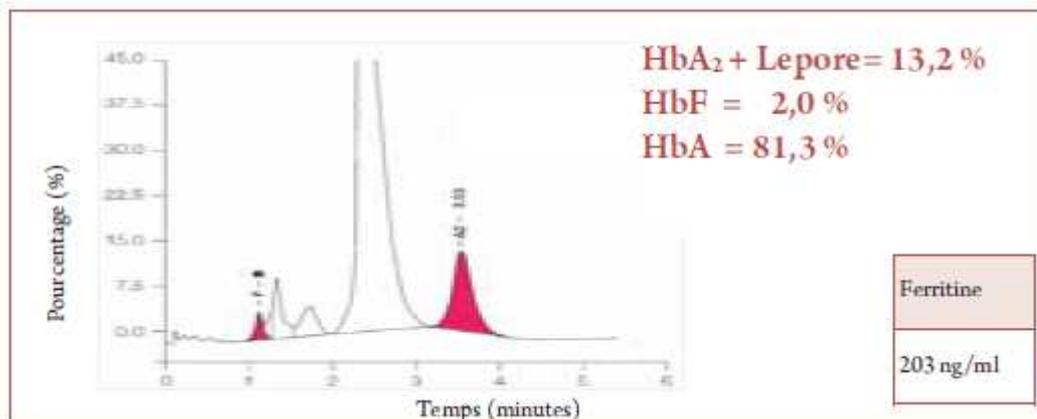
12) Hétérozygotie composite SC :

Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
4,03	10,5	26	32	33	82



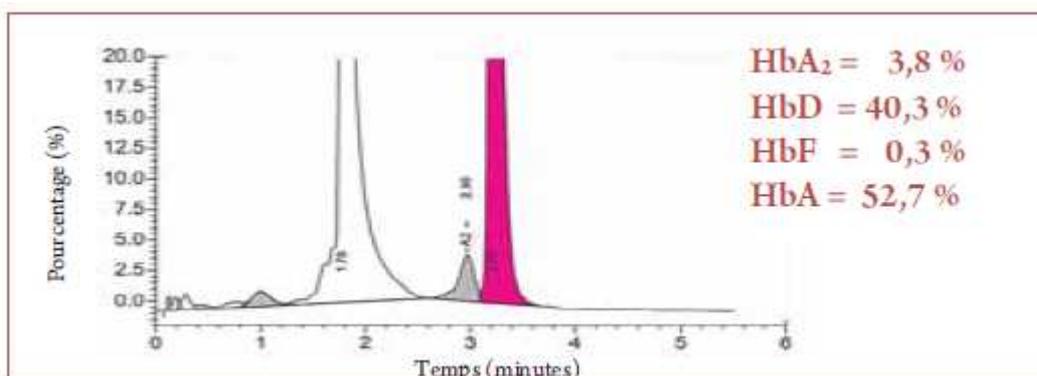
13) Hémoglobine Lepore hétérozygote :

Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
6,12	12,9	21,1	30,8	42	68



14) Hémoglobine D-Los Angeles (D Punjad) :

Hématies (T/l)	Hb (g/dl)	TCMH (pg)	CCMH (%)	Hématocrite (%)	VGM (fl)
4,09	13,9	34,1	34,3	40,6	99



CONCLUSION

Les hémoglobinopathies constituent un problème de santé publique dans plusieurs parties du monde. Les praticiens sont confrontés de plus en plus souvent à ces affections en raison des migrations de populations. Ils doivent poser un diagnostic précis pour prendre en charge les patients, donner un conseil génétique et, si nécessaire, porter un diagnostic prénatal. Pour la plupart de ces hémoglobinopathies, les méthodes classiques (électrophorèse à pH alcalin et acide, test de falciformation,...) permettent de les diagnostiquer. Cependant, d'autres cas nécessitent des techniques spécialisées telles isoélectrofocalisation, l'analyse génotypique ou encore la chromatographie liquide haute performance.

La technique de dépistage la plus informative est actuellement la CLHP, elle fournit des données qualitatives et aussi quantitatives (pour les hémoglobines A2 et F), ainsi la focalisation isoélectrique confirme l'approche chromatographique et permet de porter un diagnostic d'hémoglobinopathie dans la majorité des cas rencontrés.

Les anomalies non élucidées par ces deux techniques nécessitent parfois des investigations complémentaires.

La prise en charge thérapeutique la plus adaptée des hémoglobinopathies nécessite une démarche diagnostique hiérarchisée et passe par une coopération cliniciens-biologistes afin de faire profiter nos patients de ces avancées actuelles.

RÉSUMÉS



REUME

TITRE : Hémoglobines humaines : Moyens de diagnostic biologique.

MOTS CLES: Hémoglobine – Hémoglobinopathie – Moyens d'étude – Diagnostic.

AUTEUR : AHAJRI IMANE

Les maladies de l'hémoglobine se divisent en deux groupes :

- Les hémoglobinoses essentiellement représentées par les hémoglobines S, C, et E...
- Les thalassémies représentées par les α et β thalassémies.

L'objectif de notre travail est de rapporter les moyens d'études des principales hémoglobinopathies en soulignant leur intérêt dans le diagnostic de ces pathologies.

En effet, les électrophorèses sur gel à pH alcalin et acide sont les techniques les plus utilisées en routine. Cependant, ces dernières manquent de spécificité pour le diagnostic de certains variants, d'où l'intérêt d'utiliser d'autres techniques électrophorétiques comme l'isoelectrofocalisation, technique hautement résolutive et l'électrophorèse capillaire qui a permis une avancée dans le diagnostic de nombreux variants de l'hémoglobine. Aussi, la CLHP caractérisée par sa sensibilité, efficacité, rapidité permettant le diagnostic de la plupart des hémoglobinopathies, mais avec un coût de fonctionnement important à celui d'un capillaire.

Ces méthodes d'analyse restent encore chères dans les pays où ces pathologies sont en forte prévalence. Le dépistage précoce des hémoglobinopathies associé au conseil génétique, permettent une prise en charge conséquente et une prévention efficace de ces pathologies notamment au Maroc.

SUMMARY

TITRATE: Human haemoglobins: Means of biological diagnosis.

KEY WORDS: Haemoglobin – Hémoglobinopathie - means of study – Diagnosis.

AUTHOR: AHAJRI IMANE

The diseases of haemoglobin are divided into two groups:

- Hémoglobinoses primarily represented by haemoglobins S, C, and E....
- The thalassaemias represented by the α and β thalassaemias.

The objective of our work is to bring back the means of studies of the principal hémoglobinopathies by underlining their interest in the diagnosis of these pathologies. Indeed, the electrophoreses on freezing with alkaline and acid pH are the techniques most used in routine. However, these last miss specificity for the diagnosis of certain variable, from where the interest to use other electrophoretic techniques like the isoelectrofocalisation, highly resolvent technique and the capillary electrophoresis which has allows a projection in the diagnosis the many variable ones of haemoglobin. Also, the CLHP characterized by its sensitivity, effectiveness, speed allowing the diagnosis of the majority of the hémoglobinopathies, but with a cout of important operation to that of a capillary.

These methods of analysis remain still expensive in the countries where these pathologies are in strong prevalence. The early tracking of the hémoglobinopathies associated with the genetic council, allow a consequent assumption of responsibility and an effective prevention of these pathologies in particular Morocco.

ملخص

العنوان : هيموغلوبينات الإنسان : طرق التشخيص المختبري.
الكلمات الأساسية : الهيموغلوبين ; مرض الخضاب الدموي ; دراسات و تشخيص.
من طرف : الشجري إيمان

يتم تقسيم اضطرابات الهيموغلوبين إلى مجموعتين :

-ممثلة أساسا من الهيموغلوبين إس، س، أوه...

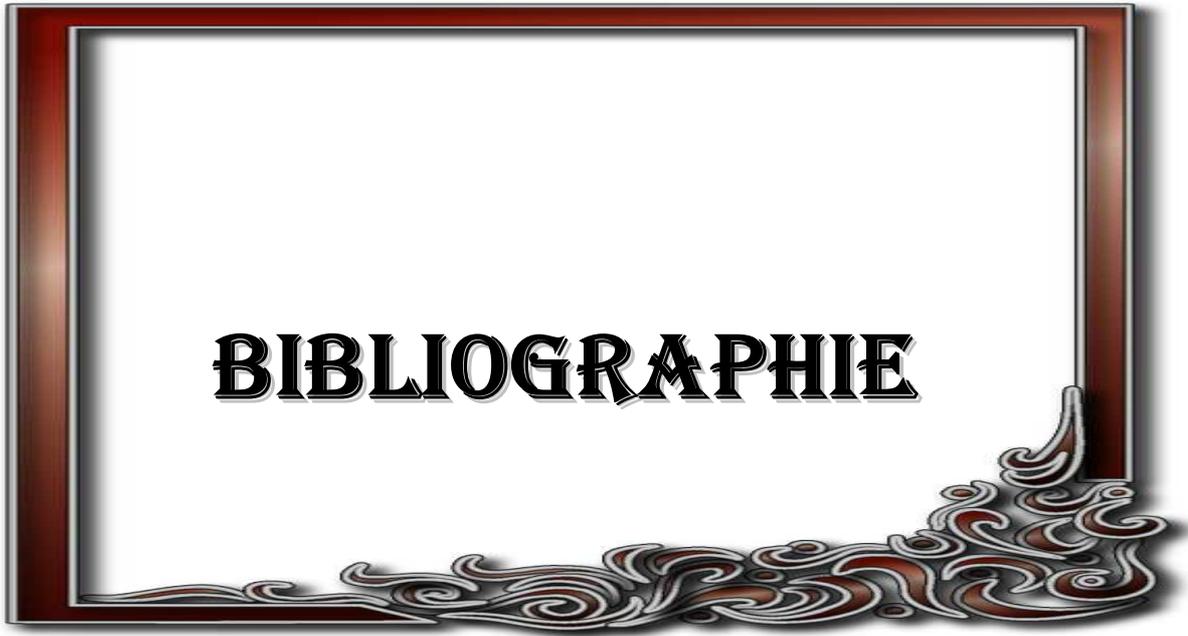
-التلاسيما ممثلة بالتلاسيما ألفا و بيتا.

والهدف من عملنا هو تقديم تقرير كيفية تسليط الضوء على أهم الدراسات لمرض الخضاب الدموي و تشخيص هذه الأمراض.

في الواقع، الكهربائي للهلام في درجة الحموضة القاعدية و الحمضية هي أكثر التقنيات استخداما في الروتين. ومع ذلك، فإن هذه الخصوصية تفقد التشخيص الدقيق لبعض المتغيرات، مما يؤدي إلى أهمية استخدام تقنيات أخرى مثل تساوي الكهربائية الكهربائي التركيز، وهي تقنية عالية والحد الكهربائي الشعري الذي مكن من تشخيص العديد من المتغيرات من الهيموغلوبين. أيضا تتميز الكروماتوغرافيا السائلة بالحساسية والكفاءة والسرعة لتشخيص معظم هذه الاضطرابات، ولكن مع تكلفة تشغيلية هامة من شعري.

هذه الأساليب التحليلية لا تزال مكلفة في البلدان التي تنتشر فيها هذه الأمراض. الكشف المبكر عن مرض الخضاب الدموي، المرتبطة بالاستشارة الوراثية، يمكن من الوقاية الفعالة لهذه الأمراض خاصة في المغرب.

BIBLIOGRAPHIE



[1]. Bain BJ.

Haemoglobinopathy diagnosis. – 2nd edition. Oxford : Blackwell Publishing, 2006 ; 313 p.

[2]. Les hémoglobinopathies au Maroc

Service de pédiatrie, centre hospitalier Sud-Réunion, BP 350, 97448 Saint-Pierre, La Réunion, France 10.1016/S0929-693X(03)00293-8, 13 mars 2003

[3]. Bardakdjian J., Wajcman H.

Epidemiology of sickle cell anemia. La Revue du Praticien (2004), 54(14): p. 1531-3.

[4]. <http://globin.bx.psu.edu/cgi-bin/hbvar/counter>.

[5] F. Hoppe-Seyler, Über das Verhalten des Blutfarbstoffs im Spectrum des Sonnenlichts,

Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin 23 (1862) 446–449.

[6] J. Kendrew, R.E. Dickerson, B.E. Strandberg, R.G. Hart, D.R. Davis, D.C. Phillips, V.C. Shore,

Structure of myoglobin. A three-dimensional Fourier synthesis at 2 Å resolution, Nature 185 (1960) 422–427.

[7] M.F. Perutz, M.G. Rossmann, A.F. Cullis, H. Muirhead, G. Will, A.C.T. North,

Structure of haemoglobin. A three-dimensional Fourier synthesis at 5.5 Å resolution, obtained by X-ray analysis, Nature 185 (1960) 416–422.

[8] R.E. Dickerson, I. Geis,

Hemoglobin structure, function, evolution and pathology, Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, CA, USA, 1983.

[9] R. Hardison,

Hemoglobins from bacteria to man: evolution of different patterns of gene expression, J. Exp. Biol. 201 (1998) 1099–1117.

[10] M. Bolognesi, D. Bordo, M. Rizzi, C. Tarricone, P. Ascenzi, Nonvertebrate

hemoglobins: structural bases for reactivity, Prog. Biophys. Mol. Biol. 68 (1997) 29–68.

[11-12] H. Wajcman Haemoglobins:

Structure and function EMC-Hématologie 2 (2005) 145–157

[13] De Franceschi L ; Corroche R. ; Established and experimental treatments for sickle cell disease. Haematologica ; 89 : 348-56. (2004).

[14] **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 ; 41 :8 -100. (2005).

[15] **Monod J, Wyman J, Changeux J.**

On the nature of allosteric transition. A plausible model. J Mol Biol 1985;12:88–118.

[16] **Rosa J, Wajcman H, Blouquit Y.**

Hémoglobine. Encycl Méd Chir (Elsevier SAS, Paris), Hématologie, 13-000-S-10 1993

[17] Leblanc B. Cours BCM-514. <http://pages.usherbrooke.ca/bcm-514-bl/2d.html>.

[18] **Marengo-Rowe A.J.**

Structure-function relations of human hemoglobins. Proceedings "Baylor University. Medical Center" (2006), 19(3): p. 239-45.

[19] **D. Labie a,* , J. Elion b**

Bases moléculaires et physiopathologiques des maladies de l'hémoglobine ; 10.1016/j.emch.2005.10.001

[20] **Jacques Barrère**

La famille multigénique des globines ,Lycée Paul Louis Courier, Tours. 2005

[21] <http://www.inrp.fr/Acces/biotic//gpe/dossiers/drepanocytose/html/synthese.htm>

Le phénotype drépanocytaire. Institut national de recherche pédagogique.

[22] **Allen HA et al.**

Lack of haemoglobin response to iron supplémentation in anaemic Mexican preschoolers with multiple micronutrient deficiencies. Am J Clin Nutr 2000; 71:1485-94.

[23] **Edward J. Benz. Jr.**

Hémoglobine et hémoglobinopathie. CECIL traité de Médecine Interne. 136, 868-873.

[24] **Stephen H.Embury.**

drépanocytose et hémoglobinopathie associée. CECIL Traité de Médecine Interne. 137, 882-892.

[25] **Bauduer F.**

Hématologie et populations. Encycl Méd Chir (Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Hématologie, 13-000-M-56, 2003

[26] **Organisation Mondiale de la Santé 2008**

[27] **Godart C., Riou J.**

Place de l'HPLC dans le diagnostic des hémoglobinopathies, BIO-RAD (2007).

[28] A. Habibi, B. Godeau, F.

Galacteros Unité des maladies génétiques du globule rouge médecine interne, hôpital Henri-Mondor, APHP, 94000 Créteil, France 15 juin 2007.

[29] Serjeant GR, Serjeant BE.

Distribution of sickle cell disease. In: Serjeant GR, Serjeant BE, editors. Sickle cell disease. Oxford: Oxford University Press; 2001. p. 16-30.

[30] Organisation Mondiale de la Santé 2006

[31] www.drepaction.org [archive].

[32] Morris CR; Kato GJ; Poljakovic M; et al.

Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and mortality in sickle cell disease. JAMA ; 294 : 81-90 (2005).

[33] Solovey AA; Solovey AN; Harkness J; Hebbel RP.

Modulation of endothelial cell activation in sickle cell disease: a pilot study. Blood ; 97 : 1937-41. 2001

[34] Ataga KI; DeCastro LM ;Swerdlow P; Saunthararajay Y; Smith W .

Efficacy and safety of the Gardos channel inhibitor, ICA-17043, in patients with sickle cell anemia. Blood; 104 : 33a. 2004

[35] Nicole Couprie FC_Hémoglobinopathie.doc

Laboratoire Marcel Mérieux – Hématologie Spécialisée, Formation Continue du 10/02/2000

[36] Benkerrou M, Denamur E, Elion J.

Information génétique et diagnostic prénatal dans la drépanocytose. In: Girot R, Bégué P, Galactéros F, editors. La drépanocytose. Paris: John Libbey; 2003. p. 293-301.

[37] Steinberg MH, Barton F, Castro O, Pegelow CH, Ballas SK, Kutlar A, et al.

Effect of hydroxyurea on mortality and morbidity in adult sickle cell anemia: risks and benefits up to 9 years of treatment. JAMA 2003; 289:1645-51.

[38] M. Nagaraa, , C. Alba-Sauviat a, D. Simeona, M.-F. Gaudeau-Toussainta, F. Fontvielle b, G. Faucherb,

L'hémoglobinoase C homozygote : à propos d'un cas de découverte fortuite, Immuno-analyse et biologie spécialisée (2009) 24, 210—216

[39] Bachir D., Galacteros F. Hemoglobin C disease.

Orphanet Encyclopedia (2004).

[40] Desai D.V., Dhanani H., Shah M., Dayal N., Kapoor A., Yeluri S.V.

Homozygous Hemoglobin D Disease: A Case Report. The Internet Journal of Pathology (2004), 3(1)

[41] Gulbis B., Cotton F., Vertongen F.

Hémoglobines anormales rares. (2004), 13-006-D-15.

[42] Mouna AGOUZAL / contribution à l'étude des profils Épidémiologiques de la

β-thalassémies au nord –ouest du Maroc Et du traitement chélateur du fer / 19 Juin 2010.

[43] GUIDE - AFFECTION DE LONGUE DURÉE / Syndromes thalassémiques majeurs et intermédiaires Protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare. Juin 2008

[44] Persons D.A. Gene therapy: Targeting beta-thalassaemia. Nature (2010), 467(7313): p. 277-8.

[45] Cavazzana-Calvo M., Payen E., Negre O., Wang G., Hehir K., Fusil F., Down J., Denaro M., Brady T., Westerman K., Cavallesco R., Gillet-Legrand B., Caccavelli L., Sgarra R., Maouche-Chretien L., Bernaudin F., Girot R., Dorazio R., Mulder G.J., Polack A., Bank A., Soulier J., Larghero J., Kabbara N., Dalle B., Gourmel B., Socie G., Chretien S., Cartier N., Aubourg P., Fischer A., Cornetta K., Galacteros F., Beuzard Y., Gluckman E., Bushman F., Hacein-Bey-Abina S., Leboulch P. Transfusion independence and HMGA2 activation after gene therapy of human beta-thalassaemia. Nature (2010), 467(7313): p. 318-22.

[46] Girot R.2003. La bêta-thalassémie. Enc. Orphanet, p 9 -10.

[47] Sylvie Langlois, MD, Vancouver (C.-B.) Jason C. Ford, MD, Vancouver (C.-B.)

David Chitayat, MD, Toronto (Ont.) Dépistage des porteurs de thalassémie et d'hémoglobinopathies au Canada N° 218, octobre 2008

[48] Charache S., Weatherall D.J., Clegg J.B.

Polycythemia associated with a hemoglobinopathy. Journal of Clinical Investigation (1966), 45(6): p. 813-22.

[49] Pavic M., Rousset H.

Les polyglobulies héréditaires. La Revue de Médecine Interne (2003), 24(8): p. 514-21.

[50] Wajcman H., Galacteros F.

Anormal hemoglobins with high oxygen affinity and erythrocytosis. Hematology and Cell Therapy (1996), 38(4): p. 305-12.

[51] Marengo-Rowe A.J.

Structure-function relations of human hemoglobins. Proceedings "Baylor University. Medical Center" (2006), 19(3): p. 239-45.

[52] Beauvais P.

Les méthémoglobulinémies héréditaires. Archives de Pédiatrie (2000), 7(5): p. 513-8.

[53] Horlein H., Weber G. Über chronische familiäre Methämoglobinämie und eine neue Modifikation des Methämoglobins. Deutsches Medizinisches Wochenschrift (1948), 73(39-40): p. 476-8.

[54] Horlein H., Weber G. Chronic familial methemoglobinemia. Zeitschrift für die Gesamte Innere Medizin und Ihre Grenzgebiete (1951), 6(7-8): p. 197-201.

[55] Elion J, Ducrocq R.

le diagnostic des hémoglobinopathies en 1990. Sem Hop paris, 1991, 67, n 24, 1118-1126

[56] North ML, Piffaut MC et Duwig

L'hémoglobinopathies : actualisation du diagnostic biologique .Revue française des laboratoires, avril/mai 1995, n 275

[57] Bardakdjian-M J, Dhondt JL, Ducrocq R, Galactéros F, Guyard A, Huchet FX, Lahary A, Lena-Russo D, Maboudou P, North ML, Prehu C, Soummer AM, VERSCHELEDE M, Wajcman H.

bonnes pratiques de l'étude de l'hémoglobine .ANN biol clin 2003, 61 :401-9

[58] Zandecki M., Geneviève F.

Hémogramme: valeur de référence. http://med2.univ-angers.fr/discipline/lab_hema/page2g.html

[59] Bardakdjian-Michau J., Dhondt J.-L., Ducrocq R., Galactéros F., Guyard A., Huchet F.-X., Lahary A., Lena-Russo D., Maboudou P., North M.-L., Prehu C., Soummer A.-M., Verschelde M., Wajcman H.

Bonnes pratiques de l'étude de l'hémoglobine. Annales de Biologie Clinique (2003), 61: p. 401-9.

[60] http://www.codage.ext.cnamts.fr/cgi/nabm/cgifiche?p_code_nabm=1120&p_date_jo_arrete=%25&p_menu=FICHE&p_site=AMELI (2011).

[61] Kaddari-Himeur F., Couprie N., Ducrocq R., Préhu C., Francina A., Cailliez M., Rivière-Albinet H., Cartier B., Couaillac J.-P., Gibaud C., Poulin G., Szymanowicz A. Groupe de travail CNBH, Laboratoire de Biochimie, CH de Saint-Denis. Recommandations pour le diagnostic des anomalies de l'hémoglobine en pratique quotidienne.

[62] Isabelle Vinatier, Biologiste Recommandations pour la mise en œuvre et l'interprétation de l'étude de l'hémoglobine - laboratoire CERBA / **Bain BJ.** Haemoglobinopathy diagnosis. 2ème édition. Oxford : Blackwell Publishing, 2006

[63] Pr GOOSSENS Dora BACHIR et Josiane BARDAKDJIAN-MICHAU
BONNES PRATIQUES DE L'ETUDE DE L'HEMOGLOBINE Groupe de travail
hémoglobinopathies Laboratoire de Biochimie Centre de la drépanocytose / 2003.

[64] Alioune Badara Diandy

Etat Parodontal et forme homozygote de la drépanocytose : Etude cas-temoins sur 82 sujets
agés de 15 à 34 ans. Thèse 2006 N°30.

[65] Godart C., Riou J.

Place de l'HPLC dans le diagnostic des hémoglobinopathies, BIO-RAD (2007).

[66] F. Cotton *, F. Vertongen, B. Gulbis/

Capillary electrophoresis and haemoglobinopathies Immuno-analyse & Biologie spécialisée
21 (2006) 45–50

[67] Thormann W, Wey AB, Lurie IS, Gerber H, Byland C, Malik N, et al.

Capillary electrophoresis in clinical and forensic analysis: recent advances and breakthrough
to routine applications. *Electrophoresis* 1999;20: 3203–36.

[68] Hempel G. Biomedical applications of capillary electrophoresis. *Clin Chem Lab Med*
2003;41:720–3.

[69] Elion J ; Ducrocq R ; (1991). Le diagnostic des hémoglobinopathies en 1990. *SemHôp*
Paris ; 67 : 1118-26.

[70] Cao A ; Galanello R ; Rosatelli MC . Pathologie moléculaire et diagnostic de la beta-
thalassémie intermédiaire. *Hématologie* ; 4 : 289-94. (1995).

[71] Steinberg MH; Adams JG.; Hemoglobin A2.; origin, evolution, and aftermath. *Blood* ;
78 : 2165-77. (1991).

[72] Maier-Redelsperger M ; Girot R. ;

Les aspects cellulaires de la distribution et de la production de l'hémoglobine foetale.
Hématologie; 2 : 437-42. (1996).

**[73] Bardakjian-Michau J; Dhondt JL; Ducrooq R; Galactéros F; Guyard A ; Huchet
FX Lahary A ; Lena-Russo D ; Maboudou P ; North ML ; Prehu C ; Soummer AM ;
Vershelde M ; Wajcman H. ;**

Bonnes pratiques de l'étude de l'hémoglobine. *Ann. Bio. Clin*, 61, 401-409. (2003).

[74] Montalembert M. ; Syndromes thalassémiques. *Encycl Med Chir* (Editions
Scientifiques et Médicales Elsevier), *Hématologie*, 13-006-D17.

Syndromes thalassémiques. *Encycl Med Chir* (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier),
Hématologie, 13-006-D17. (2002).

[75] Forget BG. ;

Molecular mechanisms of beta-thalassemia.. Disorders of hemoglobin. CambridgeUniversity Press: 252-76. (2001).

[76] Mme BELHADI Kamilia / Etude des hémoglobinopathies dans la population de la

région de Batna , année 2010/2011

[77] Steinberg MH. ; Management of sickle cell disease. N Engl J Med; 340: 1021-30. (1999).

[78] Joutovsky A; Hadzi-Nesic J and Nardi MA. ;

HPLC retention time as a diagnostic tool for hemoglobin variants and hemoglobinopathies : a study of 60 000 samples in a clinical diagnostic laboratories. Cli. Chem; 50, 10, 1736-1747. (2004).

[79] M.-L. NORTH *, M.-C. PIFFAUT ** et I. DUWIG *

Les hémoglobinopathies: actualisation du diagnostic biologique /1995

[80] <http://www.masterchimie1.u-psud.fr/Chromatoweb/Generalites%20chromato.html>
Généralités sur la chromatographie

[81] P.C. Giordano

"Carrier Diagnostics and Prevention of hemoglobinopathies Using High Performance Liquid Chromatography" Nov. 2005

A new HPLC analyser for Thalassemia and Haemoglobinopathy screening.Clin. Chem and Labor. Med 2003; 41; Special Supplement, S148, M-25

Evaluation of the HA-8160 analyser for the haemoglobinopathy diagnosis.Clin. Chem and Labor. Med 2003; 41; Special Supplement, S141, M-231

International Congress of Clinical Chemisry and Laboratory Medicine.Kyoto, Japan, October 20-25, 2002. Clinical Chemistry Lab. Med 2002, Vol 40 Special Supplement, 2002, S.106

[82] K. Bouzida, ,d, M.-H. Odièvreb, G. Ithier c, M. Benkerrouc, N. Couqued, J. Elion d, R. Ducrocqd

Atypical sickle cell syndromes: A report on two cases 0923-2532/\$ – see front matter © 2011 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés. doi:10.1016/j.immbio.2011.10.003

[83] M. Nagaraa, C. Alba-Sauviat a, D. Simeona, M.-F. Gaudeau-Toussainta, F. Fontvielle b, G. Faucherb / The hemoglobinopathy C homozygous: About a case of discovery,adventitious / juin 2009

[84] Wajcman H., Riou J.

Globin chain analysis: an important tool in phenotype study of hemoglobin disorders. *Clinical Biochemistry* (2009), 42(18): p. 1802-6.

[85] Wajcman H., Riou J., Yapo A.P.

Globin chain analysis by reversed phase high performance liquid chromatography: recent developments. *Hemoglobin* (2002), 26(3): p. 271-84.

[86] Itano HA.

Solubilities of naturally occurring mixture of human Hemoglobin. *Arch. Bioch. Bioph* 1953;47:148-149.

[87] Carrell R.W., Kay R. A

Simple method for the detection of unstable haemoglobins. *British Journal of Haematology* (1972), 23(5): p. 615-9.

[88] Emmel VE.

A study of the erythrocytes in case of severe anemia with elongated and sickle shaped red blood corpuscles. *Arch Inter Med*, 1933; 7:769-789.

[89] Baledent F.

Diagnostic biologique de la drépanocytose. *Développement et santé* 2000;n°150.

[90] Kleihauer E., Braun H., Betke K.

Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear. *Klinische Wochenschrift* (1957), 35(12): p. 637-8.

[91] Cheutet S., Bretelle F., Demeester A., Gamerre M.

Diagnostic des hémorragies foeto-maternelles et test de Kleihauer. *La Revue Sage-femme* (2007), 6: p. 5-13.

[92]http://tulane.edu/som/departments/pathology/training/hematopathology_images_21.cfm.

[93]http://tulane.edu/som/departments/pathology/training/hematopathology_images_21.cfm.

[94] Labie D.

Analyse génotypique au cours des hémoglobinopathies. *Revue française des laboratoires*, avril/mai 1995, n 275D. D. L

[95] BenkerouM, brahim L,denamurE.

Information et diagnostic prénatal dans .la drépanocytose.année 1999

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*

جامعة محمد الخامس
مكتبة الطب والصيدلة
- الرباط -

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أيجل أساتفتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بلجميل وأبقى دوما وفيما لتعليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأبج السلك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلي أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتراماتي.

شهد " والله على ما أقول

جامعة محمد الخامس - ا لسويسي -

كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 78

سنة : 2012

هيموغلوبينات الإنسان:

طرق التشخيص المختبري.

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :
من طرف

الآنسة : إيماز الشجري

المزادة في 22 ابريل 1988 بوزان

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: الهيموغلوبين - مرض الخضاب الدموي - دراسات و تشخيص

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد : محمد خطاب

مشرف

أستاذ في علم امراض الاطفال
السيد: عز العرب مسرار

أعضاء

أستاذ في علم الدم البيولوجي
السيد: عبد القادر بلمكي

أستاذ في علم الدم البيولوجي
السيد: عبد الله الدامي

أستاذ مبرز في الكيمياء الاحيائية و الكميائية