



**Altérations membranaires du  
globule rouge dans  
la drépanocytose**

**Red cell membrane alterations  
in sickle cell disease**

**تشوهات غشاء الكويرات الحمراء في داء المنجليات**

*A. Masrar, S. Benkirane, M. Aghrouch, N. Benkirane Agoumi.*

**المخلص:** يعتبر داء المنجليات من الاعتلالات الجينية الوراثية للهيموغلوبين الناجمة عن طفرة وحيدة بالصيغية 11. لدى المصابين بهذا الداء تعتبر أزمات فقر الدم و انسداد الأوعية الدموية من الأزمات الخطيرة. نتطرق في هذا العمل للعلل الجزيئية و الخلوية لمرض المنجليات مع التركيز على الاختلالات بغشاء الكويرات الحمراء.

**Résumé :** La drépanocytose est une maladie génétique de l'hémoglobine qui se transmet sur le mode autosomique récessif et résulte d'une mutation ponctuelle du sixième codon du gène  $\beta$ globine. Cette mutation provoque la synthèse d'une hémoglobine anormale, hémoglobine S, dont sa polymérisation à l'état désoxygéné entraîne une falciformation du globule rouge qui perd ses propriétés de déformabilité et d'élasticité nécessaires pour passer à travers les petits vaisseaux ce qui rend compte de l'anémie hémolytique. Par ailleurs, l'augmentation de la viscosité sanguine et l'acquisition de propriété d'adhésion à l'endothélium vasculaire expliquent les complications vaso-occlusives de la maladie.

Dans ce travail nous nous intéressons aux aspects physiopathologiques moléculaires et cellulaires de la drépanocytose en soulignant la place des altérations de la membrane du globule rouge dans la maladie.

**Mots clés :** Drépanocytose.

**Abstract :** The sickle cell disease is a genetic pathology of the haemoglobin which is transmitted on the recessive autosomic mode and results from a mutation of the sixth codon of the gene  $\beta$ globine. This change causes the synthesis of abnormal haemoglobin, haemoglobin S, whose polymerization in a deoxygenized state involves a falciformation of the red globule which loses its properties of deformability and of elasticity necessary to pass through the microvessels what accounts for haemolytic anaemia. In addition, the increase in blood viscosity and the acquisition of property of adhesion to the vascular endothelium explain the vaso-occlusive complications of the disease.

In this work we are interested in the molecular and cellular physiopathology aspects of the sickle cell disease by underlining the place of deteriorations red cell membrane in physiopathology of the disease.

**Key Words :** Sickle cell disease.

**Tiré à part :** A. Masrar, Laboratoire d'hématologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Maroc.

## Introduction

La drépanocytose est l'hémoglobinopathie grave la plus fréquente [1]. Son gène est retrouvé au Maroc avec une prévalence de 1.2% [2,3]. Cette hémoglobinopathie est transmise sur le mode autosomique récessif et résulte d'une mutation ponctuelle d'une adénine par une thymine (GAG/GTG) au niveau du sixième codon de la chaîne  $\beta$  globine sur le chromosome 11 (11p11.5). Cette mutation provoque sur la protéine une substitution d'un résidu acide aminé hydrophile (Glu) par un acide aminé hydrophobe (Val) entraînant la synthèse de l'hémoglobine S (HbS) [1,4].

Deux mécanismes principaux sont impliqués dans la physiopathologie de la drépanocytose: la polymérisation de la déoxy-HbS à l'origine de l'anémie hémolytique et l'adhésion de la membrane érythrocytaire à l'endothélium initiant la vaso-occlusion [5].

L'objectif de ce travail est de rapporter les désordres de membrane du drépanocyte et leur rôle dans la physiopathologie de la maladie.

### Polymérisation de l'HbS et altérations de la membrane érythrocytaire.

Le mécanisme physiopathologique de base de la drépanocytose est la baisse de la solubilité de l'hémoglobine liée à la substitution d'un acide hydrophile par un acide aminé hydrophobe qui conduit à l'agrégation et la polymérisation de la molécule désoxygénée et par là même à la déshydratation des globules rouges [6] et les altérations structurales et fonctionnelles de la membrane érythrocytaire [1].

### Mécanismes intimes de la polymérisation de l'HbS [1]

Au cours de la désoxygénation dans la microcirculation, la molécule HbS subit un changement conformationnel qui permet à Val $\beta$ 6 d'établir des liaisons hydrophobes avec Phe $\beta$ 85 ou Leu $\beta$ 88 d'une chaîne  $\beta$  d'une autre molécule d'hémoglobine. Ce contact  $\beta$ - $\beta$  entraîne la formation d'un polymère en alignement de fibres hélicoïdales générant la

falciformation. Cette polymérisation est réversible dans les premières désoxygénations mais rapidement, l'autocatalyse du mécanisme la rend irréversible. La polymérisation de l'HbS désoxygénée diminue avec la baisse de la Concentration Corpusculaire Moyenne de l'Hémoglobine (MCHC) du GR, une teneur élevée d'HbF et la saturation en oxygène. Le rôle protecteur de l'HbF est corrélé à l'interruption de la croissance du polymère d'Hb S par la molécule qui s'intercale dans la fibre du polymère. Le rôle protecteur de l'HbF est bien illustré en clinique. En effet, chez l'enfant drépanocytaire, la maladie n'apparaît qu'avec la chute de l'HbF lors que le taux d'HbS devient supérieur à celui de l'HbF.

### Déshydratation des globules rouges [6]

La polymérisation de l'HbS entraîne la déshydratation des GR par augmentation non sélective de la perméabilité de la membrane du GR aux cations (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>), ce processus est réversible avec la ré-oxygénation. Lors des phases de désoxygénation, l'augmentation de la perméabilité membranaire favorise l'entrée de Ca<sup>2+</sup> extracellulaire qui active les canaux K<sup>+</sup> (canaux Gardos) rejetant ce dernier hors de la cellule. L'équilibre osmotique et hydrique conduit à une perte d'eau et de Cl<sup>-</sup> dans le milieu extracellulaire. L'augmentation de la concentration intracellulaire de Ca<sup>2+</sup> est corrélée à la densité cellulaire, ce Ca<sup>2+</sup> en excès s'accumule dans des vésicules endocytiques qui empêchent sa détection par les pompes ATP-dépendantes chargées d'évacuer le Ca<sup>2+</sup> de la cellule. À chaque épisode de falciformation, la concentration intraérythrocytaire de Ca<sup>2+</sup> augmente. L'utilisation d'un inhibiteur des canaux K<sup>+</sup>, le clotrimazole a permis dans des essais cliniques de diminuer la déshydratation des GR, soulignant le rôle de ces canaux.

La perte de KCl et d'eau induite par la déshydratation conduit à l'acidification du GR.

L'augmentation de la concentration globulaire de Mg<sup>2+</sup> induit une baisse de l'activité de transport KCl et de la perte d'eau favorisant ainsi l'hydratation du GR. C'est sur cette base physiopathologique que l'utilisation du Mg dans des essais thérapeutiques a été rapportée.

### Conséquences de la polymérisation sur la structure de la membrane du drépanocyte [1]

La membrane érythrocytaire normale est constituée d'une bicouche lipidique contenant des protéines extra ou trans membranaires. Elle est tapissée sur sa face interne par une structure protéique en réseau constituant le cytosquelette, support de la déformabilité et de la résistivité du globule rouge.

Si l'HbS polymérise en situation d'hypoxie, elle est caractérisée par une certaine instabilité en présence d'O<sub>2</sub> et forme des corps de Heinz qui augmentent sa fragilité mécanique, notamment dans le flux circulaire. Cette instabilité de l'HbS et la tendance à polymériser de la déoxyHbS induisent des altérations de la membrane du GR drépanocytaire au sein de la bicouche phospholipidique et celles des protéines transmembranaires et des protéines du cytosquelette. Des précipités de l'HbS s'agglomèrent à la face interne de la membrane, au niveau de la bande 3 avec une release de molécules d'hème et libération de Fe<sup>3+</sup> favorisant l'existence d'un microenvironnement oxydant de la membrane.

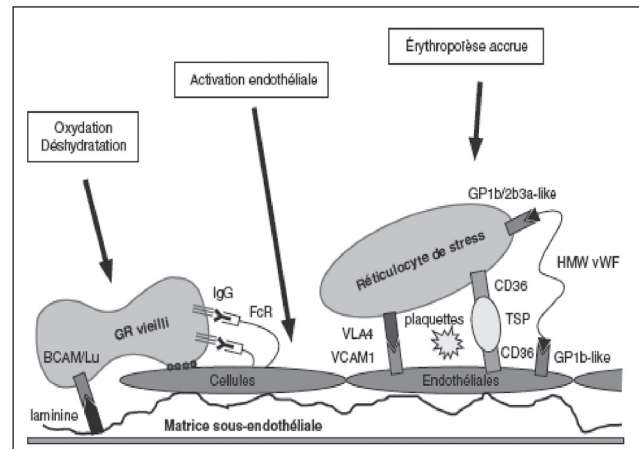
Nous observons aussi une altération de l'asymétrie normale des phospholipides membranaires, avec exposition à la surface cellulaire de phosphatidylsérines anioniques [1].

### Adhésion du drépanocyte à l'endothélium

#### Mécanismes

L'adhésion à l'endothélium [1,5,7] s'effectue à la faveur des récepteurs de membranes du drépanocyte, ceux de la cellule endothéliale et des ligands libérés du sous endothélium lésé.

Les réticulocytes dits de stress et qui répondent à l'hyperhémolyse de la maladie portent à leur surface des protéines intégrines utilisées normalement pour leur fixation intra médullaire se fixent à l'endothélium selon les complexes : [VCAM-1 = VLA4] et ultérieurement [CD36 ou GPIV = Thrombospondine = CD36]. (voir figure 1).



**Figure 1 :** Adhésion des globules rouges à l'endothélium vasculaire dans la drépanocytose [5].

L'endothélium lésé entraîne une explosion des ligands du sous endothélium (laminine, thrombospondine et fibronectine) et l'adhésion des drépanocytes à leur tour. La glycoprotéine de l'antigène Luthéran du GR participe à cette adhésion.

Chez les drépanocytaires, il existe une exacerbation de l'activation des cellules endothéliales au moment des crises vaso-occlusives, une libération de cellules endothéliales activées dans la circulation. Ces cellules expriment en excès des molécules adhésives : VCAM-1, ICAM-1, sélectine. L'hydroxyurée, médicament actif très utilisé dans la drépanocytose et permettant une majoration du taux d'HbF, semble modifier l'expression des protéines d'adhérence aussi bien sur l'endothélium que sur les érythrocytes [7,8]. L'adhésion serait le facteur essentiel du ralentissement de la vitesse sanguine dans la microcirculation favorisant l'agrégation et la polymérisation de l'hémoglobine, elle conduit à la vaso-occlusion.

#### Effets procoagulants de l'activation cellulaire.

L'activation cellulaire s'accompagne d'une augmentation du calcium cytosolique aboutissant à la protéolyse du cytosquelette et la formation de microparticules membranaires circulantes [9]. Ces particules et la phosphatidylsérine exposée en surface, associées à la release des cellules

endothéliales sont des facteurs procoagulants [10]. Une activation de la thrombine, une hyperactivation des plaquettes sont démontrés au cours de la crise vaso-occlusive [1].

Dans la phase chronique de la drépanocytose, ces microparticules proviennent des cellules endothéliales, des plaquettes et de monocytes alors qu'au cours de la crise drépanocytaire, elles sont produites en plus par les globules rouges. Leur recherche qui se fait par ELISA ou cytométrie en flux, est un outil permettant de surveiller la maladie au cours de la phase chronique et de prévenir la survenue des crises drépanocytaires [9].

## Conclusion

Des essais thérapeutiques ciblés sur les mécanismes physiopathogéniques de la maladie drépanocytaire sont de plus en plus rapportés visant d'une part à favoriser la déformabilité du GR (pentoxisylline), et d'autres part à neutraliser la polymérisation par la majoration de l'HbF (acides gras de courte chaîne et surtout l'hydroxyurée), à neutraliser l'adhésion ou à éviter la déshydratation.

## Références

1. Stuart MJ., Nagel RL. Sickle-cell disease. *Lancet*, 2004; 364:1343-60.
2. Thèse de Médecine, Rabat ; 2002. Les hémoglobinopathies au Maroc : A travers l'activité du laboratoire d'hématologie du CHU Ibn Sina Rabat.
3. Benkirane Agoumi N., Sebbar A. Les hémoglobinopathies au Maroc. *Arch de pédiatrie*, Vol 10 ; Juillet 2003 : 654-5.
4. Winfred CW. Sickle cell anemia and other sickling syndromes. In *Wintob's clinical of hematology*, 2004; 1263-311.
5. Labie D., Elion J. Bases moléculaires et physiopathologiques des maladies de l'hémoglobine. EMC (Elsevier SAS, Paris), Hématologie, 13-000-S-10 ; 2005.
6. Gibson JS., JC. Ellory. Membrane Transport in Sickle Cell Disease. *Blood Cells, Molecules and Diseases*, 2002; 28 : 303-314.
7. Elion J., Brun M., Odievre MH., Lapoumeroulie CL., Krishnamoorthy R. Vaso-occlusion in sickle cell anemia: role of interactions between blood cells and endothelium. *Hematol J* 2004; 5 (suppl3): 195-98.
8. Brun M., Bourdoulous S., Couraud PO., Elion J., Krishnamoorthy R., Lapoumeroulie C. Hydroxyurea downregulates endothelin-1 gene expression and upregulates ICAM-1 gene expression in cultured human endothelial cells. *Pharmacogenomics J*, 2003; 3: 215-26.
9. Piccin A., Murphy WG., Smith OP. Circulating microparticles: pathophysiology and clinical implications. *Blood Reviews*, 2007; 21: 157-171.
10. Morel O., Morel N., Hugel B., Jesel L., Vinzio S., Goichot B., Bakouboula B., Grunebaum L., Freyssinet J.M., Toti F. Les microparticules circulantes : rôles physiologiques et implications dans les maladies inflammatoires et thrombotiques. *La revue de médecine interne*, 2005 ; 26 : 791-801.